Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von Plasmodiophora Brassicae Woron. im Laufe ihres intracellularen Lebens.

Von
Dr. S. Nawaschin.

(Hierzu Tafel XX.)

Durch Woronin's classische Arbeit über die Krankheit der Kohlgewächse, welche in Russland als *„Kapustnaja Kila“* (Kohlhernie) bezeichnet wird, wurde es festgestellt, dass die erwähnte Krankheit durch einen parasitischen Organismus verursacht wird, welcher von Woronin für eine neue Gattung der Schleimpilze anerkannt wurde und den Namen *Plasmodiophora Brassicae* erhalten hat. Die Anreihung des fraglichen Organismus an die Schleimpilze wurde von Woronin darauf begründet, dass sich der Schmarotzer der Kohlgewächse durch die Sporen vermehrt, die bei der Keimung amöboide Schwärmer erzeugen; ferner aber, dass der aus diesen Schwärmern entstehende, sich in den Parenchymzellen der Wurzeln entwickelnde Pilzkörper ein Plasmodium darstellt, und schliesslich, dass die Sporenbildung bei *Plasmodiophora* einfach durch simultane Theilung des ganzen Körpers in eine sehr grosse Zahl von Theilen geschieht.

Auch wurde von Woronin der Unterschied zwischen der neugegründeten Gattung und den übrigen, saprophytischen Schleimpilzen (*Myxogasteres*) nachgewiesen, darin bestehend, dass *Plasmodiophora* keine Sporangien mit der eigentlichen Hüllmembran (Peridium) ausbildet; ihre Sporenmassen lagern frei in der stark ausgedehnten Membran der durch den Pilz verwüsteten Nährzellen. Dieser Unterschied wird jedoch von Woronin als unwesentlich angesehen, aus dem Grunde, weil sich die Abwesenheit der Hüllmembrane auf die parasitäre Lebensweise von *Plasmodiophora* zurückführen lässt; die Sporenmasse, im Innern der Nährzellen gebildet, wird während des Reifens durch die Zellmembran umhüllt, so dass die Bildung einer eigenen Hüllmembran in der That überflüssig wäre.

Nun sind mehr als zwanzig Jahre verflossen, seitdem Woronin sein grundlegendes Werk veröffentlicht hat. *Plasmodiophora* nimmt aber bis jetzt eine ziemlich absonderliche Stellung ein in der augenscheinlich „biologischen“ Gruppe (*Phytomyxinae* Schröter) parasitischer

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00408-9

Organismen (*Phytomyxa, Tetramyxa, Sorosphaera*), die weder zwischen einander, noch mit *Plasmodiophora* und den echten Schleimpilzen viel Aehnlichkeit zeigen. Bis jetzt ist auch der Bau von *Plasmodiophora* der Gegenstand keiner Detailforschung gewesen, während die echten Schleimpilze mit Hilfe sich in den letzten Jahrzehnten rasch entfaltenden Untersuchungsmethoden mehrmals cytologisch geprüft worden sind. Es wurde daher die vorliegende Arbeit zunächst in der Absicht vorgenommen, zur Kenntniss der Organisation von *Plasmodiophora* durch neue Thatsachen beizutragen.

Aus der Schilderung des ganzen krankhaften Vorgangs bei der Kohlpflanze, wie auch aus der Schlussbemerkung Woronin's leuchtet es aber hervor, dass *Plasmodiophora* auch in einer ganz speciellen Beziehung unsere Aufmerksamkeit in hohem Grade verdient, und zwar als intracellularer Erreger einer specifischen Geschwulst, welche unzweifelhafte Analogien mit den sog. „bösartigen" Neubildungen bei den Thieren und dem Menschen aufweist. Ihrer gegenwärtigen systematischen Stellung nach soll ferner *Plasmodiophora* nicht allzuweit von den Sporozoen verschieden sein, die bekanntlich als specifische Erreger von allerhand Krankheiten bei den Thieren gelten. Das vorgenommene Studium versprach also auch vom Standpunkte der vergleichenden oder allgemeinen Pathologie nicht ohne Interesse zu sein.

Die Arbeit wurde von mir schon im Jahre 1893 in Angriff genommen. Nach vielen Versuchen aber, eine zweckmässige Untersuchungsmethode ausfindig zu machen, gelangte ich erst im Jahre 1897, hauptsächlich mit Hilfe der in unserer Zeit so verdienstvoll gewordenen Flemming'schen Fixirungs- und Färbungsmethode, zu dermassen befriedigenden Resultaten, dass ich dieselben jetzt als der Veröffentlichung nicht unwerth ansehen zu dürfen glaube. Jedenfalls sind viele Fragen der ursprünglichen Aufgabe hier nur theilweise berührt oder sogar nur angedeutet geblieben. Daraus wird der Leser hoffentlich nur ersehen, wie complicirt der betreffende Gegenstand ist!

Ja, ich bin sogar überzeugt, dass sowohl die Organisation und Entwickelung dieses Schmarotzers, wie auch die Reactionsvorgänge der Nährpflanze selbst auf die Einwirkung des Pilzes noch eine Zeit lang als ein dankbares Thema für etwaige Detailforschungen auf dem Gebiete der allgemeinen Pathologie dienen könnten. Vor allem möchte ich daher durch die vorliegende Publikation die Aufmerksamkeit der Pathologen auf diesen höchst interessanten pathogenen Organismus lenken.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00409-7

Da wir in der Arbeit Woronin's eine lückenlose Reihe der vorwurfsfreien Beobachtungen an lebendem Material haben, beschränkte ich mich mit Untersuchungen der fixirten Objecte, somit mit Untersuchung der Vorgänge, die während des intracellularen Lebens von *Plasmodiophora* vor sich gehen. Es wurden zu diesem Zwecke sehr kleine Stückchen der kranken Wurzel von vorschiedenem Alter in die starke Flemming'sche Lösung eingelegt. Die Objecte blieben in derselben etwa 20—24 Stunden. Eine längere Einwirkung der Flemming'schen Lösung erwies sich als nachtheilig, obgleich sich die auf diese Weise behandelten Objecte an nicht allzu feinen Schnitten bequem untersuchen liessen. Dieser Vortheil der längeren Wirkung der Fixirungsflüssigkeit ist aber ganz illusorisch, weil die damit erzielte Klarheit der Präparate eigentlich durch mehr oder weniger vollkommenes Schwinden der feinsten Details bedingt wird, welche letztere sich vielmehr erst an den viel feineren Schnitten aus dem nicht so stark „macerirten" Material mit Genauigkeit studiren lassen. Meistens bediente ich mich daher der 2—3 μ dicken Mikrotomschnitte. Beim Aufkleben der Schnittserien wandte ich ausschliesslich destillirtes Wasser an. Die bekannte partielle Schwärzung der Objecte, von Osmiumsäure verursacht, war in manchen Fällen nur von Nutzen; sonst wurden die Schnitte vor der eigentlichen Färbung durch Behandlung mit Wasserstoffhyperoxyd entfärbt. Die fertigen Präparate wurden meistens in eingedicktem Cedernholzöl montirt.

Was die Färbung betrifft, so bewährte sich von verschiedenen Methoden das Flemming'sche Dreifärbungsverfahren, wie schon oben erwähnt, am besten. Die beiden folgenden Methoden wandte ich nur in speciellen Fällen oder zur Controlle an: 1. die Färbung mit verdünnter Hämatoxylinlösung (Delafield's), combinirt mit Nachfärbung mit Eosinlösung in Nelkenöl; 2. Gentianaviolettmethode nach Gram, combinirt mit der unter 1. erwähnten Nachfärbung mit Eosin. Das Flemming'sche Verfahren habe ich übrigens etwas modificirt, indem ich anstatt die concentrirte wässerige Lösung von Orange, wie sonst üblich, anzuwenden, diesen Farbstoff erst bei dem definitiven Differenziren der Präparate mit Nelkenöl einschaltete. Dabei werden die auf die bekannte Weise mit Safranin und Gentiana-Violett gefärbten Schnitte durch Alkohol gut entwässert und in die gesättigte Lösung von Orange in Nelkenöl übergetragen, worin sie fast eine beliebige Zeit lang verbleiben können. Bei der richtig vorgenommenen Hauptfärbung (Safranin und Gentianaviolett) gelingt auf diese Weise die Differenzirung, wie auch die Nachfärbung mit Orange am

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00410-8

besten (wenigstens an allen von mir bis jetzt untersuchten pflanzlichen Objecten), wobei man auch etwas Zeit ersparen kann. Das Nelkenöl mit Orange wird durch Abspülen in Xylol oder, wenn man das Präparat in Cedernholzöl montiren will, in dem käuflichen (nicht eingedickten) Cedernholzöl entfernt.

Da sich die sämmtlichen Details des Baues von *Plasmodiophora* durch besondere Kleinheit auszeichnen, so wandte ich bei der Zeichnung ausserordentlich starke Ocularvergrösserungen bis 2500 Mal an. Dies geschah jedoch ausschliesslich wegen grösserer Bequemlichlichkeit beim Entwerfen der Bilder mit dem Zeichenapparat; für die eigentliche Beobachtung kamen immer nur die üblichen Vergrösserungen bis 1000 Mal (z. B. Zeiss' Apochr. 3 mm Oelimmers. n. Ap. 1.40 mit Comp.-Oc. 8. und 12) zur Verwendung.

Als Untersuchungsmaterial dienten mir junge Kohlpflanzen eines Mistbeetes, dessen Erde ich durch Einlegen von mehreren kranken Kohlwurzeln inficirt habe. Während des Sommers säete ich Kohlsamen in dieselbe Erde mehrmals aus, so dass verschiedene Entwickelungsstadien der Krankheit mir fortwährend zur Verfügung standen.

Das ursprüngliche Material wurde mir von Herrn Dr. M. Woronin gütigst zugesandt. Für diese freundliche Hilfe sage ich dem Herrn Woronin meinen herzlichsten Dank!

Was die allgemeine Schilderung der äusseren Krankheitserscheinungen der Kohlhernie betrifft, so verweise ich auf die zahlreichen, meisterhaften Abbildungen und die betreffende Beschreibung in der Arbeit Woronin's. Diesem Gelehrten verdanken wir auch sehr ausführliche Angaben über die inneren Vorgänge in den kranken Zellen der Kohlwurzel, woraus man leicht den Aufschluss ziehen kann, dass die Krankheit in zwei Hauptphasen zerfällt. Die erste Phase wird nach Woronin durch den mehr oder weniger spärlichen halbflüssigen, trüben Inhalt der kranken Zellen charakterisirt; in dem Maasse aber, als die letzteren sich vergrössern, vermehrt sich stark auch deren Inhalt, indem er immer dichter und trüber wird. Die älteren kranken Zellen zeichnen sich demgemäss dadurch aus, dass sie von einer trüben, feinkörnigen Masse fast vollkommen erfüllt sind. Dies ist der Anfang der zweiten Phase, im Verlaufe deren die Sporenbildung eingeleitet und abgeschlossen wird. Im Nachstehenden bezeichne ich daher die erste Phase als vegetativen, die zweite als sporenbildenden Zustand des Schmarotzers. Der Bau des Körpers

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00411-3

von *Plasmodiophora* und dessen Umwandlungen während der Sporenbildung werden von mir in den beiden ersten Kapiteln behandelt, während sich das dritte Kapitel mit den gegenseitigen Beziehungen zwischen der Nährzelle und dem Schmarotzer beschäftigt.

I. Der vegetative Zustand des Schmarotzers.

1. Die Lage des Schmarotzers im Innern der Nährzelle.

Das Schwärzen der Präparate, von Osmiumsäure verursacht, erwies sich als das geeignetste Mittel zur Entdeckung der jüngsten Entwickelungsstadien von *Plasmodiophora*, besonders aber zum Orientiren über die Lagerung des Pilzes in der Nährzelle. Die schwarze Farbe beschränkt sich nämlich ausschliesslich auf den Pilzkörper, während das Protoplasma und die übrigen Inhaltstheile der Nährzelle, wie auch die sämmtlichen Gewebselemente des Wurzels vollkommen farblos bleiben. Färbt man auch diese von Osmium freien Theile indem man das Präparat auf eine beliebige von den oben angegebenen Weise behandelt, so bekommt man sehr anschauliche Bilder, welche zeigen, dass jede kranke Zelle eine Anzahl von unregelmässig gestalteten, schwarzen Körpern enthält, die durch die Zwischenschichte des Protoplasmas von einander abgetrennt sind (Fig. 1 und 2). Auf den ersten Blick erscheinen diese Körper als Anhäufungen von winzigen, rundlichen, schwarzen Körnern; so dicht zusammengedrängt sind meistens die letzteren. Jedoch bei der näheren Untersuchung entdeckt man zwischen den Körnern einige farblosen Flecke mit je einem centralen, rothen (Safraninfärbung) Punkte. Diese Flecke sind, wie es im Nachstehenden nachgewiesen wird, die Kerne mit ihren nucleolenartigen Binnenkörperchen, während die schwarzen Körner den Tröpfchen des aufgespeicherten Fettes offenbar entsprechen, welches letztere bekanntlich eben auf diese Weise an den mit Osmiumsäuregemischen behandelten Präparaten zum Vorschein kommt. Die kernhaltigen Körper, die ich nach ihrem Bau und nach ihrer unregelmässigen Gestalt als Amöben bezeichnen will, repräsentiren die allerersten Entwickelungsstadien von *Plasmodiophora*, welche an den Schnitten der jüngsten Wurzelanschwellungen überhaupt wahrzunehmen sind. Zunächst in einer sehr geringen Anzahl, dann aber sich stark vermehrend, lagern die Amöben meistens rings um den Zellkern der Nährzelle.

Der Inhalt der Nährzellen besteht aus der wandständigen Protoplasmaschicht, welche mit dem Zellkerne vermittelst mehrerer Protoplasmabänder communicirt; dann, selbstverständlich, aus dem Zell-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00412-9

safte, der die zu dieser Zeit noch reichlich vorhandenen Vacuolen oder das ganze Zelllumen erfüllt. Die mannigfaltig gestalteten Stärkekörner von verschiedener Grösse (von Gentianaviolett blau gefärbt) sind stets in den protoplasmatischen Theilen der Nährzelle selbst eingebettet. Beim eingehenden Studium der zahlreichen Präparate dieser Art konnte ich nicht einmal spurweise die Stärkekörner im Innern der Amöben nachweisen, woraus mir der Schluss erlaubt zu sein scheint, dass die Amöben von *Plasmodiophora* unfähig sind, eine feste Nahrung, wenigstens die Stärke, aufzunehmen; dieselben seien vielmehr, ähnlich wie die Sporozoen, auf die Ernährung durch aufgelöste Substanzen angewiesen, in unserem Falle aber offenbar durch diejenigen, welche im Zellsafte vorhanden sind.

Dass die Amöben im Innern der Nährzelle als von einander unabhängige Gebilde, d. h. als Individuen schmarotzen, ohne mit einander zu einem Plasmodium zu verschmelzen, zeigen ganz übereinstimmend die Präparate, in welchen die schwarze Osmiumfärbung der Amöben entfernt ist. Am besten sind dazu die nach der Flemming'schen Dreifärbungsmethode gefärbten Schnitte geeignet, an welchen man den Körper der Amöbe nach seinem charakteristischen Bau von dem Protoplasmakörper der Nährzelle leicht unterscheiden kann (Fig. 8). Es ist mir niemals gelungen, ein Paar in Verschmelzung begriffene Amöben zu finden, noch weniger Anastomosen zwischen denselben wahrzunehmen. Vielmehr erscheinen die einzelnen Amöben stets durch die leicht erkennbaren Protoplasmaschichten abgesondert, wobei die blau gefärbten Stärkekörner die Grenzen zwischen den Amöben besonders scharf markiren.

Allein indem die Anzahl der Amöben in der Nährzelle wächst, wird es immer schwieriger, den Nachweis zu bringen, dass die Amöben als unabhängige Individuen auch ferner bestehen bleiben, und man denkt unwillkürlich an die allmähliche Verschmelzung derselben und an die Bildung des Plasmodiums. Die Schwierigkeit dieses Nachweises wird zum Theil dadurch bedingt, dass die zahlreichen Amöben zuletzt sehr gedrängt liegen, so dass die Zwischenschichte des Protoplasmas der Nährzelle zu feine Häutchen werden. Auch wird die Nährzelle mit der Zeit so gross, dass eine ununterbrochene Schnittserie durch dieselbe keine sichere Orientirung in der Zusammengehörigkeit der Bilder der einzelnen Amöben mehr zulässt, so dass über den Beobachter immer die Frage schwebt, ob die zahlreichen Partien, in welche der Pilz in dem Schnitte zerfällt (Fig. 3), in der That den Durchschnitten der einzelnen Amöben entsprechen oder

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00413-5

vielmehr den Gesammtdurchnitt eines stark verzweigten, gewundenen Plasmodiums darbietet.

Diese Schwierigkeit lässt sich jedoch glücklicherweise umgehen. Es stellte sich nämlich heraus, dass sich die Kerne des Pilzes im Laufe der ganzen vegetativen Entwickelung desselben fortwährend vermehren; dabei theilen sich die sämmtlichen Kerne jeder einzelnen Partie stets simultan, wie es z. B. die Figur 9 zeigt, wo sich alle der einen Partie angehörigen Kerne in demselben Theilungsstadium befinden. Ausserdem zeichnet sich die betreffende Partie durch eine merkliche Veränderung der Struktur ihres Protoplasmas aus. Nach diesen Thatsachen zu urtheilen, haben wir es hier mit vielkernigen Protoplasmakörpern zu thun, welche als abgeschlossene physiologische Einheiten angesehen werden dürfen, was mit der Annahme, es seien alle Partien nichts anderes, als Theile eines morphologisch einheitlichen Ganzen, offenbar unvereinbar ist.

2. Die Gestalt und der Bau der Amöben.

Im Vorangehenden haben wir gesehen, dass die Amöben keine bestimmte Gestalt besitzen. Dies scheint aber durch ihre gegenseitigen Beziehungen in der Nährzelle und durch die Beziehungen gegen den Inhaltstheilen der Nährzelle selbst bedingt zu werden, mit anderen Worten, — durch den Druck, welchen jede Amöbe von Aussen erfährt. Es ist nämlich leicht die Thatsache festzustellen, dass diejenigen Amöben, die keinen Druck erfahren, mehr oder weniger regelmässig sphärische Gestalt annehmen. Dies wurde von Woronin bemerkt, der von den kugelartigen, wasserhellen Tropfen spricht, die aus den Schnitten der frischen Wurzelanschwellungen auf dem Objectträger ins Wasser heraustreten. Wahrscheinlich habe ich dieselben Gebilde, allein in fixirtem Zustande, beobachtet. An der Peripherie der Wurzeldurchschnitte sieht man häufig kreisrunde Scheibchen, die sich ihrer Struktur nach nicht im mindesten von den normalen, intracellularen Amöben unterscheiden. Die Scheibchen bieten, aller Wahrscheinlichkeit nach, die Durchschnitte der Woronin'schen Kugel dar, welche letztere sich beim Zerschneiden der Wurzelanschwellung bilden und sofort fixirt werden, indem sie an der Oberfläche der Wurzelstückchen haften bleiben.

Eine ähnliche Erscheinung lässt sich aber auch im Innern der Nährzelle beobachten im Falle, dass eine bedeutende Masse des Wirthprotoplasmas noch vorhanden ist. In den Anhäufungen desselben, meistens in den Ecken der Nährzelle, nehmen die Amöben die Gestalt von beinahe sphärischen Körpern an und liegen in den

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00414-1

ebenso abgerundeten Vacuolen des Wirthplasmas (Fig. 4). In solchen Verhältnissen scheint die Amöbe fähig zu sein, ihre Gestalt activ zu verändern, indem sie stumpfe Ausstülpungen nach Aussen bildet, wie es bei der grössten von den auf der Figur 4 abgebildeten Amöbe zu sehen ist. Solche Ausstülpungen erinnern jedoch sehr wenig an die Pseudopodien der meisten bekannten Amöben; meines Erachtens bieten sie vielmehr diejenigen Abschnitte des Körpers, die später als junge Amöben abgeschnürt werden.

Weder bei den im Innern des Gewebes fixirten Amöben, noch bei denjenigen, welche zufällig an der Oberfläche der Wurzel getroffen werden, vermisst man jede Differenzirung des Körpers in Ekto- und Endoplasma. Das Protoplasma des ganzen Körpers weist entweder gleichmässig körnige oder regelmässig wabige Struktur auf, mitunter aber erscheint es netzartig gebaut (vgl. Fig. 3, 4, 8 und 9). Es ist schwer zu sagen, inwiefern jene oder diese von den erwähnten Strukturen dem Körper der Amöben normalerweise eigen sei, denn die Vollkommenheit der Wirkung der Fixage scheint dabei eine gewisse Rolle zu spielen. Es mag aber hier zunächst hervorgehoben werden, dass in allen Fällen, wo man die schnellste Wirkung der Fixage vermuthen kann, entweder die wabige, oder die netzartige Struktur hervortritt, je nachdem sich die Kerne der betreffenden Amöben im Ruhezustande, bezw. in der Theilung befanden. Im Gegentheil ist die körnige Struktur eher als Resultat einer unvollkommeneren Wirkung der Reagentien zu deuten, da sie in den am tiefsten liegenden Theilen des Objectes constant hervortritt. Auf den Figuren 8, 9 und 15 sind solche Amöben abgebildet, deren Protoplasmastruktur ich als am besten erhaltene ansehen zu dürfen glaube, weil die betreffenden Schnitte den äussersten Zelllagen des Objectes herrührten. Die Figuren 8, 10 und 16—18 zeigen deutlich den Unterschied zwischen den die ruhenden Kerne enthaltenden Amöben und denjenigen, deren Kerne sich theilen. Das Protoplasma der ersteren ist von fein wabiger Struktur, das der letzteren bietet ein ziemlich weitmaschiges Netz dar, dessen beinahe farblose Fäden an den Knotenpunkten bläuliche Körner tragen (Fig. 10, 16—18).

Es wollte mir nicht gelingen, eine bestimmte Vorstellung vom Bau des Körpers der jüngsten Amöben zu gewinnen. Ihr Protoplasma unterscheidet sich von demjenigen der Nährzelle bei weitem nicht so scharf, als es bei den erwachsenen Amöben der Fall ist. Der Körper einer sehr jungen Amöbe scheint vielmehr mit dem Wirthprotoplasma beinahe zu verschmelzen, indem die Amöbe zahl-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00415-7

reiche, feine Fortsätze nach allen Richtungen sendet (Fig. 5—7). Neben den Kernen solcher jungen Amöben lassen sich gewöhnlich homogene Klümpchen beobachten, die meistens charakteristische, beinahe halbmondförmige Gestalt aufweisen (Fig. 6 und 7) und sich olivenbraun färben. Zur Deutung dieser Gebilde fehlen mir alle Gründe. Sie scheinen in vorgerückterem Alter der Amöbe ihre Gestalt aufzugeben und lösen sich allmählich auf. An Stelle derselben erscheint im Körper einer erwachsenen Amöbe ein neuer Bestandtheil in Form von homogenen Häutchen, die, quer durchgeschnitten, natürlich, wie Fäden aussehen. Diese scheinbaren Fäden ziehen sich bogenartig durch das Protoplasma, indem sie die Kerne untereinander paarweise zu verbinden pflegen (Fig. 15). Untersucht man das Verhalten der „Fäden" bei der abwechselnden Einstellung, so überzeugt man sich, dass dieselben in Wirklichkeit mannigfaltig gekrümmte Häutchen repräsentiren. Aus der am Ende dieser Arbeit folgenden Beschreibung der Kerntheilung wird ersichtlich, dass sich die Bildung der erwähnten Häutchen in einen gewissen Zusammenhang mit jenem Vorgange bringen lässt.

Als ein wesentlicher Bestandtheil des Körpers der Amöben wurde schon oben das Fett genannt, welche Substanz in feinen Tröpfchen das ganze Protoplasma durchtränkt. Das genaue Vergleichen der mit Osmium imprägnirten mit den osmiumfreien Präparaten macht die Annahme wahrscheinlich, dass die Fetttröpfchen in den Alveolen des wabigen Protoplasmas lagern. In der That bietet das Protoplasma auf der Figur 15 gleichsam ein negatives Bild der Fettablagerung in den auf den Figuren 1 und 2 abgebildeten Amöben. Ich glaube ferner annehmen zu dürfen, dass das Fett hier kaum im Zustande von freien, homogenen Tropfen vorkommen wird, sondern von gewissen proteïnartigen Körnern gebunden ist. Die letzteren lassen sich nämlich, nach dem Entfernen von Osmium, durch Hämatoxylinfärbung kenntlich machen, welche letztere dem Körper der Amöbe einen grobkörnigen Anschein verleiht (Fig. 3). Uebrigens dürfen diese Hämatoxylin stark aufnehmenden Körner nicht als selbständige Gebilde angesehen werden; dieselben können vielmehr bloss als Inhalt der Alveolen des wabigen Protoplasmas, vielleicht als Grundsubstanz desselben, gelten.

Weit sicherere Resultate, als die in Betreff der Protoplasmastruktur eben mitgetheilten, gewähren meine Beobachtungen über den Bau des Kernes, da sich derselbe gegen die Wirkung der Reagentien viel weniger empfindlich erwies.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00416-3

Sehr selten gelingt es, eine Amöbe aufzufinden, die weniger als vier Kerne enthält. Die jüngsten Individuen, die mir vorgekommen sind (Fig. 6 und 7), besassen bereits je ein Paar Kerne. Allein es lässt sich der Bau des Kernes an solchen jungen Amöben nicht bequem genug studiren, so dass ich die folgenden Angaben auf die Untersuchungen der späteren Entwickelungsstadien stütze.

Die Gestalt der Kerne von *Plasmodiophora* ist eiförmig, elliptisch oder rundlich, wenn übrigens das Vorkommen der letzteren Gestalt nicht auf die Querdurchschnitte der elliptischen oder eiförmigen Kerne zurückgeführt werden muss, was ich als wahrscheinlich betrachte. Das angrenzende Protoplasma bildet mitunter deutliche, calotenförmige Ansätze an den beiden Polen des Kernes, was demselben eine noch mehr ausgesprochene oblonge Gestalt verleiht.

Der Kern besitzt eine deutlich differenzirte Membran, welche die bläschenförmige Kernhöhlung mit einem stark tingirbaren, meistens im Centrum der Höhlung liegenden Binnenkörperchen umschliesst. Dies sind die Kernbestandtheile, welche an den gut differenzirten Präparaten sofort in die Augen springen. In besonders günstigen Fällen aber gelingt es, an den ruhenden Kernen noch einen a priori wohl denkbaren Bestandtheil festzustellen. Dies ist ein Chromatingerüst, welches sich in Gestalt eines ausserordentlich zarten Netzes erst mit Hilfe der vollkommensten optischen Mittel entdecken lässt (Fig. 15).

Die Kernmembran scheint gewöhnlich in die oben erwähnten Häutchen direct überzugehen. Die letzteren bieten, in optischen Querdurchschnitten gesehen, gleichsam rankenförmige Anhängsel, vermittelst deren die Kerne in Verbindung miteinander treten (Fig. 15).

Das Chromatingerüst, dessen Bau man ebenso gut als wabig, denn als netzartig ansehen dürfte — die thatsächlichen Beobachtungen zur Entscheidung der Frage scheinen mir wegen der Kleinheit des Objectes vollkommen unzulänglich zu sein —, bleibt bei der Behandlung der Schnitte nach Flemming beinahe farblos; Gentianaviolett färbt dasselbe nur schwach bläulich. Mitten in der Kernhöhlung weist das Chromatingerüst einen rundlichen Hof auf, der das Binnenkörperchen enthält.

Es wurden bekanntlich die ruhenden Kerne mancher Sporozoen und Pilze einfach als bläschenförmige Gebilde, die ein stark tingirbares, nucleolenartiges Binnenkörperchen enthalten, beschrieben. Nachdem es mir in den günstigsten Fällen selbst erst nach vielen Bemühungen das Chromatingerüst in den ruhenden Kernen von *Plasmodiophora* festzustellen gelingen wollte, gestatte ich mir an dieser Stelle die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00417-9

Vermuthung auszusprechen, dass sich dieser Bestandtheil des Kernes auch in den gemeinten Fällen an der Hand von passenden Färbungsmethoden würde entdecken lassen.

Das Binnenkörperchen der Kerne von *Plasmodiophora* bezeichne ich als Nucleolus, obgleich dessen Verhalten bei der Kerntheilung, wie es später gezeigt werden muss, viel Eigenartiges bietet. Seinen Reactionen nach gleicht dieser Körper im Allgemeinen den Nucleolen der höheren Pflanzen, da er bei verschiedenen Differenzialfärbungen stets anders tingirt wird, als die Chromatinsubstanz. Die Nucleolen von *Plasmodiophora* lassen sich auch nicht als proteïnartige Einschlüsse der Kerne deuten, weil ihnen eine active Rolle bei der Kerntheilung anheimfällt.

3. Vermehrung der Amöben.

Der Vermehrung gehen ein bedeutendes Anwachsen des Körpers und wiederholte Theilung der Kerne der Amöbe voran. Die Kerntheilung geschieht stets simultan, was schon oben hervorgehoben wurde. Eine bedeutend angewachsene Amöbe enthält somit zahlreiche Kerne, die merklich kleiner sind, als die einer jüngeren Amöbe. Merkwürdigerweise sind mir unzweifelhafte Bilder der in Theilung begriffenen Amöben niemals vorgekommen. Ich nehme jedoch die Nothwendigkeit dieses Vorganges ohne Bedenken an, da die Anzahl der Amöben in jeder stark vergrösserten Zelle sehr bedeutend ist. Eine andere denkbare Erklärung dieser Thatsache — es sollen die Amöben in die kranke Zelle aus den benachbarten Zellen einwandern — scheint mir unthunlich zu sein, einerseits, weil ich die Wanderung der Amöben durch die Zellwandungen, bezw. durch die Poren derselben, niemals beobachten konnte, andererseits weil die sämmtlichen Amöben im Innern der Nährzelle stets in dem ununterbrochenen, dichten Schlauche des Wirthprotoplasmas eingesperrt liegen. Ausserdem sind die kranken Parenchymzellen eben während ihres Wachsthums, also zur Zeit, wo Einwanderung der Amöben am meisten stattfinden sollte, von mehreren Lagern vollkommen normaler, pilzfreier Zellen umgeben. Dies konnte ich sowohl an den Querschnitten, wie auch an den Längsschnitten der kranken Wurzel feststellen, so dass ich annehmen muss, dass die Wanderung der Amöben während des secundären Wachsthums der Wurzel nicht geschehen kann. Vielmehr wird dieser Vorgang in den jüngsten Stadien der Entwickelung der Wurzelanschwellungen im Innern der primären Gewebe der Wurzel vor sich gehen, und zwar auf die Weise, dass die von aussen einwandernden Amöben zahlreiche, primäre

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00418-5

Krankheitsherde im Innern der Wurzel bilden. Solche Stadien zu untersuchen, war ich leider nicht im Stande, so dass die höchst interessante Frage über die Wanderung der Amöben durch die Gewebe als Thema einer künftigen Untersuchung offen stehen bleibt. Es wird aber im Nachstehenden von mir gezeigt, dass die Verbreitung der Krankheit in den secundären Geweben ausschliesslich durch die Vermehrung der inficirten Zellen bedingt wird.

Es erübrigt mir an dieser Stelle nur, auf die schon oben geäusserte Vermuthung in Bezug auf den Theilungsmodus der Amöben zu verweisen. Auf Grund der zahlreichen Bilder, die mir vorgekommen, glaube ich annehmen zu dürfen, dass sich die erwachsenen Amöben von *Plasmodiophora* durch Sprossung vermehren, indem die kurzen, stumpfen Ausstülpungen, die solche Amöben zu bilden pflegen (Fig. 4), als junge Amöben abgeschnürt werden. In der That habe ich öfters beobachtet, dass neben den grösseren, lappigen Amöben mehrere kleinere, rundliche vorkommen, wie es die erwähnte Abbildung zeigt.

II. Der sporenbildende Zustand des Schmarotzers.

1. Das vorbereitende Stadium.

Die Sporenbildung bei *Plasmodiophora* wird dadurch eingeleitet, dass die zahlreichen erwachsenen Amöben, die die stark vergrösserte Nährzelle erfüllen, sich merklich zusammenziehen und eine beinahe regelmässig rundliche Gestalt annehmen (Fig. 11 *a*). In der Arbeit Woronin's (Taf. V, Fig. 36, 42, 43 und 45) sind solche kugelförmigen Gebilde in mehreren Zellen, bald in vollkommen abgesondertem Zustande, bald gleichsam im Zusammenfliessen begriffen, sehr deutlich erkennbar. Ich sehe diese Kugeln als die eben erwähnten, sich zusammenziehenden und abgerundeten Amöben an. An meinen Präparaten fand ich dieselben stets in unmittelbarer Nähe der Zellen, wo die Sporenbildung bereits vor sich geht (Fig. 11 *f*), d. h. gerade in denselben Verhältnissen, wie es die Abbildungen Woronin's zeigen.

Solche abgerundete Amöben liegen, wie vorher, in den Vacuolen des Wirthprotoplasmas eingeschlossen, obgleich das letztere zu dieser Zeit bedeutend erschöpft wird. Die Amöben sind jetzt nur mit sehr dünnen Häutchen des Wirthprotoplasmas überzogen, die sich beinahe gelbbraun färben. Diese Häutchen gehen unmittelbar in die Protoplasmastränge über, die sich ihrerseits an die wandständige Protoplasmaschicht anschliessen, welche letztere auch ganz erschöpft und

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00419-3

dünn geworden ist. Die Stärke ist zu dieser Zeit in dem Wirthprotoplasma meistens noch zu finden (Fig. 11*a*).

Das Studium der zahlreichen Präparate dieses Entwickelungszustandes gestattet mir den Schluss zu ziehen, dass erst zu dieser Zeit das Zusammenfliessen der Amöben unter der Bildung des Plasmodiums vor sich gehen muss. Als nothwendige Bedingung nehme ich dabei an, dass die zwischen den Amöben bis hierher gebliebenen Protoplasmahäutchen entweder resorbirt oder durchbrochen werden müssen. Die Figur 11 repräsentirt uns in der Zelle *a* eine grosse, beinahe biscuitförmige Amöbe, welche gleichsam durch Verschmelzung zweier kleineren Amöben entstanden ist. In anderen Fällen fand ich auch solche Zellen, die zum Theil bereits ein continuirliches Plasmodium, zum Theil aber einige noch abgesonderte, rundliche Amöben enthielten.

Noch bevor die abgerundeten Amöben zur Verschmelzung untereinander kommen, weisen dieselben manche Unterschiede in ihrem Bau von den vegetativen Amöben auf. Diese Unterschiede betreffen die Kerne, und zwar hauptsächlich deren Nucleolus, der jetzt auffallend kleiner wird und sich eher violett als roth färbt (Fig. 11*a*). In dem continuirlichen Plasmodium aber erscheinen die Kerne vollkommen umgeändert; es lässt sich in denselben kein Nucleolus mehr finden, während die bis dahin fast unkenntliche Chromatinsubstanz in Form zahlreicher, winziger Körner deutlich auftritt, welche zu unregelmässig gewundenen Fäden perlschnurartig gebunden zu sein scheinen (Fig. 11*b*). Durch diese Umänderung der Kerne wird das vorbereitende Stadium der Sporenbildung abgeschlossen; die von diesem Zeitpunkt an beginnende, lebhafte Kerntheilung führt direct zur Bildung der unzähligen Kerne der künftigen Sporen.

2. Die eigentliche Sporenbildung.

In dem durch den eben geschilderten Process entstandenen Plasmodium treten die folgenden Umwandlungen ein. Der Körper des Plasmodiums wird allmählich voluminöser infolge lebhafter Bildung der Vacuolen; das Plasmodium erfüllt jetzt meistens beinahe das ganze Lumen der Nährzelle (Fig. 11*b*). Vom Inhalte der letzteren bleibt die sehr dünn gewordene, jedoch augenscheinlich sehr feste, homogene wandständige Protoplasmaschicht noch übrig. Die spärlich zurückgebliebenen Stärkekörner liegen nun in dem Körper des Schmarotzers selbst eingebettet. Zwischen den reichlich gebildeten Vacuolen vertheilen sich die Kerne, deren Volum allmählich zunimmt,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00420-3

die Chromatinsubstanz aber sich wiederum immer schwächer zu färben anfängt (cf. Fig. 11 *b* und *c*). Mit dieser Erscheinung geht aber eine auffallende Veränderung des Protoplasmas Hand in Hand, indem dasselbe immer körnchenreicher wird. Da die sich stark vermehrenden Körnchen des Protoplasmas sich dabei chromatinartig verhalten, d. h. hellblau färben, bildet das Protoplasma zuletzt einen continuirlichen blauen Grund, worauf die ebenso blaukörnigen Kerne, gleichsam verschwommen, kaum erkennbar sind. Nun tritt während dieser Umwandlung des Protoplasmas ein gewisser Moment ein, woselbst die Kerne so gut wie ganz verschwinden, das ganze Plasmodium aber wird durch unzählige, feinste Fibrille, die aus Körnchen bestehen, in allen Richtungen durchgezogen. Diese Struktur ist von solcher Feinheit und Complicirtheit, dass ich darauf verzichten musste, dieselbe durch eine naturtreue Abbildung zu veranschaulichen, obgleich die erwähnte Erscheinung mir von hervorragendem Interesse zu sein schien. In manchen Fällen nämlich konnte ich in der That keine Spuren von differenzirten Kernen nachweisen; die Chromatinsubstanz derselben schien sich über die ganze Masse des Plasmodiums gleichmässig zu vertheilen, als ob es sich dabei um wirkliche Auflösung der Kerne und Vermischung ihrer Bestandtheile handelte. Merkwürdigerweise fand ich aber an allen meinen Präparaten nur ein und dasselbe Bild wieder, wo das ganze Plasmodium bereits beinahe gleichmässig fibrillär körnig aussah; es liessen sich einzelne Phasen der vermuthlichen Auflösung der Kerne nicht feststellen. Es muss also dahingestellt sein, ob dieser Vorgang in Wirklichkeit existirt, denn es bleibt auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die Kerne nur ausserordentlicher Buntheit des Gesammtbildes wegen der directen Beobachtung sich entziehen könnten.

Der Zustand der Sporenbildung bei *Plasmodiophora* wird also durch Vorhandensein eines echten Plasmodiums charakterisirt, welches dem Bau seines Körpers nach von den vegetativen Amöben weit verschieden ist, denn sowohl das Protoplasma, wie die Kerne, werden während der Bildung des Plasmodiums wesentlich umgeändert. Besonders auffallend ist aber die Umänderung der Kerne, weil diese letzteren, nachdem sie in dem sich zur Sporenbildung anschickenden Plasmodium von Neuem zum Vorschein gekommen sind, einem ganz anderen Theilungsmodus folgen, als es den Kernen des vegetativen Zustandes eigen ist. Die Kerne des Plasmodiums theilen sich nämlich zwar ebenso wie früher simultan, jedoch erfolgt diese Theilung dem gewöhnlichen Typus der mitotischen Kerntheilung der höheren

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00421-9

Pflanzen ganz ähnlich, wie es unsere Abbildung (Fig. 12) zeigt. Besonders schön ist dabei das Stadium der Aequatorialplatte zu beobachten, die entweder in Form eines sehr tief gefärbten Stäbchens (Seitenansicht), oder in Form eines viel blasseren Scheibchens (Polansicht) auftritt. Die achromatische Figur ist auch deutlich genug sichtbar (Fig. 12), in manchen, besonders günstigen Fällen aber waren sogar centrosomenähnliche Körperchen wahrzunehmen. An mehreren Präparaten hatte ich auch die Gelegenheit, sowohl die Spaltung der Aequatorialplatte, wie die Bildung der jungen Tochterkerne zu beobachten. Da aber die Theilungsfiguren hier ausserordentlich klein sind, so hielt ich es für unmöglich, an diesem Objecte ein näheres Studium der Kerntheilung anzustellen.

Es ist anzunehmen, dass die simultane Kerntheilung in dem Plasmodium wiederholt stattfinden muss; denn es lassen sich ausser den dem an der Fig. 12 abgebildeten Plasmodium ähnlichen Fällen auch solche öfters beobachten, wo die Kerne, bezw. Mitosen, viel zahlreicher und von bedeutend kleineren Dimensionen sind. Es wird endlich der Zustand erreicht, wo die unzähligen Kerne in dem Plasmodium zwischen den fast ebenso zahlreichen, kleinen Vacuolen zu liegen kommen, welcher Zustand, wie ich glaube, an der Figur 41 der Arbeit Woronin's dargestellt ist. Darauf folgt der Schlussact des uns beschäftigenden Processes: die kernhaltigen Portionen des Plasmodiums trennen von einander los, und es entsteht eine Unzahl von einkernigen, unregelmässig gestalteten Amöben, wie es unsere Abbildung (Fig. 11 *d*) zeigt, welche, wie ich glaube, der Figur 42 der Woronin'schen Arbeit entspricht. Die Kerne der eben gebildeten Amöben sind ebenso, wie die Amöben selbst, unregelmässig gestaltet; ihr Chromatinsubstanz lagert sich rings um ein centrales, bläschenförmiges Körperchen und bildet mehrere kurze, strahlenförmige Vorsprünge aus (Fig. 11 *d*). Dann runden sich die Amöben ab, indem sie die eben erwähnte Kernstruktur zeitweilig noch behalten (Fig. 11 *e*). Während der bald darauf folgenden Ausscheidung der Sporenmembran tritt aber eine Umgestaltung der Kerne wiederum auf; die Chromatinsubstanz zieht sich merklich zusammen, so dass in den reifenden Sporen die Kerne als winzige Bläschen schliesslich kaum zu unterscheiden sind (Fig. 11 *f*). Freilich wird auch der ganze Sporeninhalt bald nicht mehr kenntlich infolge der Verdichtung der Membran, die sich zunächst intensiv roth, dann aber dunkel violett färbt.

Wie es von Woronin festgestellt wurde, bildet sich keine eigene Hüllmembran oder Peridium rings um die fertige Sporenmasse

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00422-5

aus. Nach meinen eigenen Beobachtungen kann ich diese Angabe nur bestätigen. Ausser dem vielfach erwähnten Protoplasmaschlauche der Nährzelle, lässt sich keine andere differenzirte Schicht an der Peripherie des Plasmodiums nachweisen (Fig. 11 *b*). Die Reste dieses Schlauches kann man während der Sporenbildung noch deutlich erkennen (Fig. 11 *d*). Bei der Sporenreifung verschwinden jedoch auch diese Reste gänzlich, so dass die Sporen augenscheinlich nur vermittelst einer Zwischensubstanz in Form der bekannten Sporenballen (Taf. VI Fig. 48 der Arbeit Woronin's) zusammengehalten werden.

III. Die gegenseitigen Beziehungen zwischen dem Schmarotzer und den Geweben des Wirthes.

Dass die anomale Neubildung der Gewebe in den Kohlwurzeln — die Bildung der Geschwulst — durch das Vorhandensein und die Thätigkeit eines intracellularen Schmarotzers, *Plasmodiophora,* verursacht wird, ist durch die Untersuchung Woronin's genügend aufgeklärt. Ueberdies hat Woronin gezeigt, dass der Schmarotzer einen directen Einfluss auf die inficirten Zellen ausübt, die infolge dessen ein starkes, anomales Wachsthum aufweisen und zahlreiche Krankheitsherde in der Geschwulst bilden; ferner aber, dass das Wachsthum der Geschwulst nicht allein durch Bildung dieser Herde bedingt wird, sondern zum grössten Theil auf die anomale Vermehrung der sämmtlichen Gewebselemente der Wurzel, hauptsächlich des Parenchyms, zurückgeführt werden muss. Diese pilzfreien Elemente, Parenchymzellen, junge Gefässe, stehen also unter einem indirecten Einflusse des Schmarotzers, was namentlich nicht nur in ihrer anomalen Vermehrung, sondern auch in einer atypischen Ausbildung, d. h. anomalen Gestaltung, gekennzeichnet wird. Der Bau der Wurzel wird im Verlaufe des pathologischen Processes in wesentlichen Zügen gestört, wird also ebenfalls atypisch.

Nach dem damaligen Stande der Untersuchungsmethoden konnte Woronin nicht die beiden protoplasmatischen Wesen — den Wirthzell- und den Pilzkörper — mit voller Bestimmtheit von einander unterscheiden. Daher bleibt uns seine schöne Arbeit die Antwort schuldig, auf welche Art und Weise eine inficirte Zelle ihre Lebensthätigkeit, bezw. das Wachsthumsvermögen behält, was allein durch Untersuchung der gegenseitigen Beziehungen zwischen der Wirthzelle und dem Pilze aufgeklärt werden könnte. In dieser Richtung

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00423-1

die Angaben Woronin's zu ergänzen war die Aufgabe dieses Theiles der vorliegenden Arbeit.

Die im ersten Kapitel bereits angedeuteten Thatsachen zeigen mit voller Evidenz, dass eine zeitweilige Symbiose zwischen dem Pilze und der Nährzelle stattfindet. Der Schmarotzer bewohnt namentlich die Vacuolen des intacten Wirthprotoplastes in Form von individualisirten Körpern, Amöben, die sich vermehren, ohne das Protoplasma der Nährzelle zu verdrängen. Die wesentlichen Functionen in dieser letzteren bleiben dabei augenscheinlich ungestört. So ist die stetige Bildung der Stärke in der kranken Zelle mit grosser Wahrscheinlichkeit anzunehmen, wenigstens ist aber auf die dauernde Fähigkeit solcher Zellen zu schliessen, die Stärke von den benachbarten Zellen aufzunehmen und aufzuspeichern. Alle unsere Abbildungen zeigen namentlich, dass gerade die kranken Zellen immer reicher an Stärke werden. Auch der Zellkern behält eine ganze Zeit lang seine normalen Eigenschaften, was an den in Theilung begriffenen Zellen am besten zu beobachten ist. So zeigt unsere Figur 13 einen Theil einer solchen Zelle, worin in einer mächtigen Protoplasmaanhäufung der Zellkern sich mitotisch theilt; rings um den Zellkern aber sind mehrere Amöben eingenistet, allem Anschein nach, ohne irgend welchen Einfluss auf den Vorgang auszuüben.

Aus dem symbiotischen Verhalten des Pilzes sind aber die wesentlichen Bedingungen des Wachsthums der ganzen Geschwulst leicht erklärlich. Die normal eingeleitete Theilung einer inficirten Zelle wird auf die normale Weise auch vollzogen. Wie es aus der Figur 13 leicht zu ersehen ist, können die Amöben während der Theilung des Protoplastes in die beiden Tochterzellen sicher gelangen. Hier liegt wohl die Ursache, warum die kranken Zellen meistens in einer ansehnlichen Zahl dichte Gruppen oder „Krankheitsherde“ zu bilden pflegen. Sowohl die Lage und verschiedene Dicke der Scheidewände, wie auch die Anordnung der Zellen in solchen Gruppen (Fig. 1 und 2) können ohne Weiteres zeigen, dass diese Gruppen durch die Vermehrung einer einzigen kranken Zelle, d. h. durch wiederholte Theilung derselben und der darin wohnenden Amöben, entstanden sind. Dies macht die Annahme Woronin's über die Wanderung der Amöben von Zelle zu Zelle als eine Erklärung der Krankheitsverbreitung an diesem Entwickelungszustande der Geschwulst ganz entbehrlich. Dass die Nährzelle, wie man sieht, sich gegen den Pilz gewissermassen indifferent verhält, gestattet ferner darauf zu schliessen, dass die Vermehrung der benachbarten pilzfreien Gewebe eher durch den Druck

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00424-7

seitens der allmählich zunehmenden kranken Zellen als durch specifische Ausscheidungen des Pilzes verursacht wird, also rein mechanisch, ähnlich wie die Gallenbildung eingeleitet wird.

Die Menge des Protoplasmas in den inficirten Zellen erweist schon an den ersten Entwickelungsstufen der Krankheit merkliche Zunahme. Dies ist aus dem Vergleich der an der Fig. 1 abgebildeten inficirten und pilzfreien Zellen leicht ersichtlich; während in den letzteren das Protoplasma aus der ziemlich dünnen wandständigen Schicht besteht, die vermittelst einiger dünnen Stränge mit dem Zellkern communicirt, erfüllt das gleichsam schaumig gewordene Protoplasma fast das ganze Lumen der inficirten Zelle. Die Zunahme des protoplasmatischen Inhaltes, wie auch die oben erwähnte Stärkeanhäufung lassen sich als eine Art Hypertrophie der Nährzelle, infolge der Einwirkung des Schmarotzers, deuten. In diesen Verhältnissen wird die fernere Entwickelung des Pilzes consolidirt.

Im Gegentheil kann man eine andere, übrigens bei weitem nicht so auffällige Erscheinung als eine Selbstschutzreaction des Protoplastes deuten, welche den unmittelbaren Einfluss des Pilzes gewissermassen beschränken muss. Dies ist die Ausscheidung eines feinen Protoplasmahäutchens, welches jede Amöbe wie eine zarte Hülle umgibt. Deutlicher sind solche Hüllen um die jüngeren, rundlichen Amöben zu sehen (Fig. 4.) Jedenfalls ist die Ausscheidung derselben mit der Bildung der sog. Vacuolenhäutchen vergleichbar, was mit der oben ausgesprochenen Annahme, dass sich die Amöben von den im Zellsafte gelösten Stoffen allein ernähren, gut verträglich ist.

Die mit der Vermehrung der Amöben Hand in Hand gehende Hypertrophie der Nährzelle und das anomale Wachsthum derselben erreichen schliesslich einen gewissen Punkt, wo die symbiotischen Verhältnisse des Protoplastes und des Pilzes aufhören und die Lebensthätigkeit des ersteren gehemmt wird. Der Pilz kann von nun an nur auf Kosten von in der Zelle bereits vorhandenen Stoffen sich ernähren; und in der That sieht man an den darauf folgenden Stadien die Menge des Protoplasmas der Nährzelle und die Anzahl der Stärkekörner rasch abnehmen. So haben wir das Protoplasma beim Anfang der Sporenbildung auf einen allmählich dünner werdenden Schlauch reducirt gefunden (Fig. 11).

Es mag hier eine interessante Thatsache nicht unerwähnt bleiben, nämlich die häufig zu beobachtende Bildung von zahlreichen, homogenen, feinen, dem Anschein nach aber festen Lamellen im Innern der pilzfreien Hohlräume der kranken Zelle. Diese Lamellen, anfäng-

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00425-3

lich dem Protoplaste offenbar gehörend, repräsentiren vielleicht die Membranen der ehemaligen Vacuolen. Nachdem die Hauptmasse des Protoplasmas verschwunden ist, bleiben die Vacuolenhäute, freilich in einem stark veränderten Zustande, bestehen, indem dieselben den weiten Hohlraum der Zelle in zahlreiche, rundlich-polygonale Kammern theilen (Fig. 3) und ein festes Gerüst im Innern der stark ausgedehnten Zelle bilden. Da sich die erwähnten Lamellen gleich den Cellulosemembranen färben (mit Hämatoxylin blau, mit Orange gelb), so lassen sie sich als ein Produkt einer sehr tiefen Degeneration, bezw. Verdichtung des Protoplasmas deuten.

Die normalen Eigenschaften des Zellkernes bleiben in den erkrankten, sogar in stark hypertrophirten Zellen eine längere Zeit erhalten (Fig. 1, 2 und 5). Dass der Zellkern sich normal, d. h. mitotisch, zu theilen pflegt, wurde schon oben hervorgehoben. Als die ersten Anzeichen der Degeneration sind zunächst eine bedeutende Vergrösserung des Nucellus, alsdann das Auftreten zahlreicher, „erythrophiler" Körnchen in der Kernhöhle zu beobachten (Fig. 8). Wann eigentlich der Zellkern die normale Theilungsfähigkeit einbüsst, konnte ich nicht näher bestimmen. In den stark hypertrophirten Zellen findet man gewöhnlich auch den Zellkern stark vergrössert, doch immer inhaltsärmer geworden; die Chromatinsubstanz scheint dabei gänzlich verloren zu gehen (Fig. 3). Schliesslich sieht der degenerirte Zellkern aus, wie ein leerer zusammengefallener Schlauch, in dessen Falten ein bis mehrere Nucleolen, meistens aber auch viele kleinere, erythrophile Körnchen zu finden sind.

Im Laufe der Degeneration wechselt der Zellkern seine Gestalt sehr mannigfach; mitunter bildet er sehr lange Auswüchse oder wird sogar in mehreren Stellen zusammengeschnürt. Trotzdem erinnern diese Erscheinungen nicht im Mindesten an die bekannten Zufälle der directen, amitotischen Kerntheilung. Thatsächlich ist mir auch unter sehr vielen untersuchten, nicht selten riesenhaften Zellen kein einziges Mal eine zweikernige Zelle vorgekommen.

Auf Grund alles Mitgetheilten lassen sich die Angaben Woronin's über die Entwickelung von *Plasmodiophora* folgendermassen ergänzen.

1. Die abgeschlossenen Gruppen der kranken Parenchymzellen, die Krankheitsherde der Wurzelanschwellung, entstehen durch wiederholte Theilung der primär inficirten Zellen.

2. Im Laufe des Wachsens der Geschwulst kommen in den kranken

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00426-9

Zellen zahlreiche, mehrkernige Amöben vor, die sich stetig vermehren, ohne zu einem Plasmodium zu verschmelzen.

3. In diesem Zustande zeichnen sich die Amöben von *Plasmodiophora* durch den Bau, besonders aber durch eigenartigen Theilungsmodus ihrer Kerne aus.

4. Der Ernährungsmodus der Amöben scheint von dem bei den Schleimpilzen zu beobachtenden verschieden zu sein.

5. Dem Zusammenschmelzen der Amöben zu einem Plasmodium gehen charakteristische Veränderungen des Baues ihrer Körper und ihrer Kerne voraus.

6. Die Bildung des Plasmodiums erfolgt erst nach der vollständigen Erschöpfung der Nährzelle.

7. Im fertigen Plasmodium wird die Sporenbildung durch wiederholte Kerntheilung eingeleitet; die Kerne theilen sich dabei typisch mitotisch.

8. Im Laufe der ersten Periode seiner Entwickelung (der vegetative Zustand) tödtet der Schmarotzer die Nährzelle nicht, indem er nur die Hypertrophie derselben verursacht.

Anhang.

Ueber die Kerntheilung bei den vegetativen Amöben von *Plasmodiophora*.

Dieser Vorgang schien mir der aparten Behandlung nicht unwerth, da er sehr complicirt ist und viel Eigenartiges bietet.

Wie oben erwähnt, erscheint der ruhende Kern der vegetativen Amöbe in Gestalt eines mit einer deutlichen Membran versehenen Bläschens. Im Innern derselben lässt sich das schwammartige, sehr schwach tingirbare Chromatingerüst kaum unterscheiden; dagegen fällt ein rundliches Binnenkörperchen, der Nucleolus, nach seiner starken Tinctionsfähigkeit sofort ins Auge (Fig. 15).

Der erste Anfang der Kerntheilung ist äusserst selten zu beobachten. Die Fig. 14 stellt eben dieses augenscheinlich bald vorübergehende Stadium dar, wo anstatt des schwammartigen Chromatingerüstes deutlich differencirte Chromatinkörner auftreten. Dieselben stehen offenbar in keinem genetischen Verhältnisse mit dem Nucleolus, der in vollkommen unverändertem Zustande noch verbleibt. Wie es die Abbildung zeigt, steht mit dieser Umwandlung des Kerninneren auch eine Veränderung im Bau des Protoplasmas im Zusammenhange; namentlich wird dabei das Protoplasma unregelmässig grobwabig,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00427-5

gleichsam schaumig. Das folgende Stadium, das sich im Gegentheil sehr oft beobachten lässt, besteht darin, dass neben dem Nucleolus eine Platte erscheint, die augenscheinlich aus den dicht aneinander gelagerten Chromatinkörnern entstanden ist (Fig. 16, der Kern links). In dem etwas angeschwollenen Kerne ist dabei eine Art einseitig ausgebildeter „achromatischer Figur" zu beobachten und zwar ein Kegel, der mit seiner Basis auf der Chromatinplatte ruht, während seine Spitze die Kernmembran etwas nach aussen vorwölbt. Die ganze Figur hat eine auffallende Aehnlichkeit mit einer Wagschale und kommt fast ebenso oft vor, wie die andere, auf derselben Fig. 16 (der Kern rechts) abgebildete, einem zweifarbigen Kreuze ähnliche Figur. Diese beiden Zustände des sich theilenden Kernes sind durch den dritten Zustand, der wiederum ausserordentlich selten zu treffen ist, verbunden. Die Fig. 17 *a* stellt dieses seltene Stadium dar, wo man den Nucleolus in Form eines kurzen Stiftchens durch die Chromatinplatte durchdringen sieht. Darauf stellt sich der längliche Nucleolus gegen die Chromatinplatte vollkommen symmetrisch ein, indem er sich beiderends abrundet. Auch wird dabei die achromatische Figur ergänzt, indem dieselbe die Gestalt einer kurzen Spindel annimmt (cf. Fig. 17 *a* und 17 *c* der Kern rechts).

Die Fig. 16 (rechts), 17 *c* (links), *d* und *e* zeigen die eintretende eigentliche Theilung des Kernes, die durch die Quertheilung des Nucleolus eingeleitet wird; zunächst wird der letztere hantelförmig (Fig. 16), dann theilt er sich ganz gleichmässig in zwei rundliche Körperchen, die an den beiden Seiten der Chromatinplatten zu liegen kommen. Somit wird die Chromatinplatte zur Aequatorialplatte der von nun an vollkommen symmetrisch ausgebildeten, bipolaren Theilungsfigur. Die Aequatorialplatte bietet ein homogenes Scheibchen, an dessen Peripherie die Chromatinkörner eingebettet sind (Fig. 17 *d*, zwei Kerne unten in Polansicht). Bei der abwechselnden Einstellung des Mikroskopes kann man die erwähnte Struktur der Aequatorialplatte auch an den Seitenansichten der betreffenden Kerntheilungsstadien gut kennen lernen. So stellen die Abbildungen 17 *e* und *f* die optische Medianschnittansicht, bezw. die Seitenansicht des Kernes bei der Einstellung auf den oberen Rand der Aequatorialplatte dar.

Vor den beiden Tochternucleolen lässt sich in dem eben dargestellten Zustande des Kernes noch je ein Gebilde constant feststellen. Dies sind zwei helle, vollkommen unfärbbare Bläschen, die während der Ausbildung der achromatischen Spindel aufeinander auftreten (cf. *a* und *d* Fig. 17). Die beiden Bläschen nehmen ihre definitive Lage

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00428-0

fast an den Polen der Spindel ein und sehen wie winzige Vacuolen aus (Fig. 16 rechts, 17 *c* links).

Die Spaltung der Aequatorialplatte selbst ist äusserst selten zu beobachten. Ich habe die Erscheinung nur an wenigen, leider nicht genügend fixirten Stellen der Präparate kennen gelernt; sie scheint mit einer gar nicht zu erwartenden Erscheinung verbunden zu sein, namentlich mit einer Verschmelzung der beiden eben gebildeten Tochternucleolen, die wiederum ein einheitliches Ganzes in Form eines kurzen Stäbchens bilden, wie es die Fig. 17 *b* zeigt. Auf den Figuren 9 und 18 *a* findet man die darauffolgenden Stadien, wo die Spaltungsprodukte der Aequatorialplatte bereits ziemlich weit aus einander gerückt sind. Dies geschieht, wie ich annehme, nachdem sich der Nucleolus zum zweiten Mal getheilt hat; die Tochternucleolen erscheinen nun von den etwas dichter gewordenen Chromatinplatten theilweise maskirt, gleichsam verdeckt, indem ihre etwas ausgezogenen Spitzen allein nach innen hinausragen (Fig. 18 *a*). Man bemerkt dabei, dass die Nucleolen diesmal in einer deutlichen Verbindung durch eine unfärbbare Substanz mit einander bleiben, was an den vorgeschrittenen Theilungsstadien noch deutlicher hervortritt (Fig. 18 *b, c, d*), wo man meistens zwei feine Verbindungsfäden zwischen den beiden Nucleolen wahrnimmt. Auf diesen Stadien sind die Chromatinplatten sehr weit aus einander gerückt, dabei nimmt ihre Substanz deutlich ab, so dass die Nucleolen wiederum die auffälligsten Elemente der Theilungsfigur bieten.

Im Laufe dieser Vorgänge bleibt auch die chromatische Spindel nicht ohne Veränderung. Die winzigen Vacuolen an den beiden Polen derselben verschwinden, indem die achromatische Substanz allmählich aus einander weicht. Es bildet sich im Innern des Kernes um die sich theilenden chromatischen Kernelemente eine Art secundärer Kernmembran oder Hülle (Fig. 17 *e*), während die primäre Kernmembran bald unkenntlich, gleichsam aufgelöst wird (Fig. 18 *a*).

Es lässt sich oft bald nach der Spaltung der Aequatorialplatte eine leichte Krümmung der Spindel bereits beobachten (Fig. 18 *a*, der Kern rechts); während der vorgeschrittenen Theilung wird aber die Spindel mehr und mehr ausgesprochen ungleichseitig (Fig. 18 *b, c, d*). Nachdem die Tochterkerne bereits gebildet sind, bleiben sie eine Zeit lang durch die Membran der Spindel verbunden, die jetzt sehr stark umgebogen, sogar eingeknickt wird (Fig. 18 *e,f*). Darauf treten die Tochterkerne aus einander, indem das dieselben umhüllende Häutchen stark ausgedehnt wird. Die Kerne erweisen sich daher bis an die

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00429-8

folgende Theilung durch deutliche Reste dieses Häutchens gleichsam wie durch Ranken paarweise verbunden, was sich an den jüngeren Amöben besonders leicht beobachten lässt (Fig. 15).

In den erwachsenen Amöben findet man zahlreiche, meistens bedeutend kleinere Kerne, als in den jüngeren. Infolge dessen wird die Beobachtung der Theilungsvorgänge in diesem Falle sehr erschwert. So zeigt uns die Fig. 10 eine Amöbe (links) mit zahlreichen verschieden orientirten Kernen, die sehr mannigfach gestaltete Theilungsfiguren repräsentiren; die letzteren lassen sich jedoch nicht ohne Weiteres auf das oben besprochene Schema der Theilung zurückführen.

Nach den mitgetheilten Thatsachen bietet der Theilungsmodus des Kernes bei den vegetativen Amöben von *Plasmodiophora* eine stark abweichende Art der indirecten Kerntheilung. Im vorangehenden Kapitel haben wir dagegen gesehen, dass die Kerntheilung in dem sporenbildenden Plasmodium der typischen Karyokinese gleicht. Diese Beschaffenheit des Kernes, im Laufe der Entwickelung des Organismus eine wesentliche innere Umwandlung zu erfahren und infolge dessen unter zwei weit von einander verschiedenen Formen aufzutreten, bezw. sich nach zwei verschiedenen Modi zu theilen, lässt sich als Dimorphismus des Kernes bezeichnen.

Erklärung der Abbildungen.

Die Figuren 1—4, 11 und 12 sind bei der Vergrösserung 600:1, die Figur 13 ungefähr 1000:1, die Figuren 5—10, 14 und 15 ungefähr 1900:1 und die Figuren 16—18 bei der Vergrösserung 2500:1 entworfen. Ueberall, wenn nicht anders angegeben, wurden die Präparate nach Flemming's Dreifärbungsmethode behandelt. Die von Osmiumsäure herstammende schwarze Färbung wurde in allen Präparaten, ausser den auf den Figuren 1 und 2 abgebildeten, durch Behandlung mit Wasserstoffhyperoxyd entfernt.

Fig. 1. Drei jüngere inficirte Zellen, die einen kleinen Krankheitsherd zwischen den pilzfreien Zellen (oben links und unten) bilden.

Fig. 2. Ein grösserer Krankheitsherd, dessen sämmtliche Zellen offenbar durch Vermehrung einer einzigen Zelle entstanden sind.

Fig. 3. Inhalt einer stark ausgewachsenen kranken Zelle; das Protoplasma und der Kern sind stark verändert; zahlreiche Stärkekörner (blau gefärbt) vertheilen sich zwischen den tiefviolett gefärbten Amöben. Färbung mit Safranin und Hämatoxylin.

Fig. 4. Reiche Protoplasmaansammlung in einer stark hypertrophirten Zelle. Die Amöben liegen gleichsam wie in den grösseren Vacuolen des Protoplasmas. Die Stärkekörner sind rosenroth gefärbt. Färbung mit Safranin, Differenzirung und Nachfärbung mit Picro-Indigo-Carmin.

Fig. 5. Zwei sehr junge, inficirte Zellen aus dem inneren Parenchym der Wurzel.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00430-9

Fig. 6 u. 7. Junge Amöben in dem protoplasmatischen Wandbelege der Nährzelle.

Fig. 8. Inhalt einer kranken Zelle. Vier ausgewachsene, deutlich abgeschiedene Amöben und zahlreiche Stärkekörner liegen um den ziemlich veränderten Kern; in einer Amöbe sieht man den Kern in der am häufigsten vorkommenden Theilungsstadie.

Fig. 9. Drei Amöben im protoplasmatischen Inhalte der Nährzelle; die Amöbe, deren Kerne sich theilen, weist die veränderte, netzartige Protoplasmastruktur auf.

Fig. 10. Einige Amöben aus einer stark hypertrophirten Zelle. Die zahlreichen, winzigen Kerne der grösseren Amöbe sind in Theilung begriffen.

Fig. 11. Einige Parenchymzellen aus der Wurzelanschwellung. Der Pilz befindet sich in verschiedenen Zuständen der Sporenbildung (*e*, *d* und *f*); *a* stellt die abgerundeten Amöben vor der Bildung des Plasmodiums, *b* und *e* verschiedene Zustände des fertigen Plasmodiums dar.

Fig. 12. Die simultane Kerntheilung in einem Plasmodium.

Fig. 13. Theil einer inficirten Zelle; im Innern der Protoplasmaansammlung theilt sich der Zellkern mitotisch in Gegenwart mehrerer ihn umgebender Amöben.

Fig. 14. Zwei durch die Wirthprotoplasmahäute deutlich abgeschiedene Amöben, deren eine in Vorbereitung zur Kerntheilung begriffen (Bildung der Chromatinkörner).

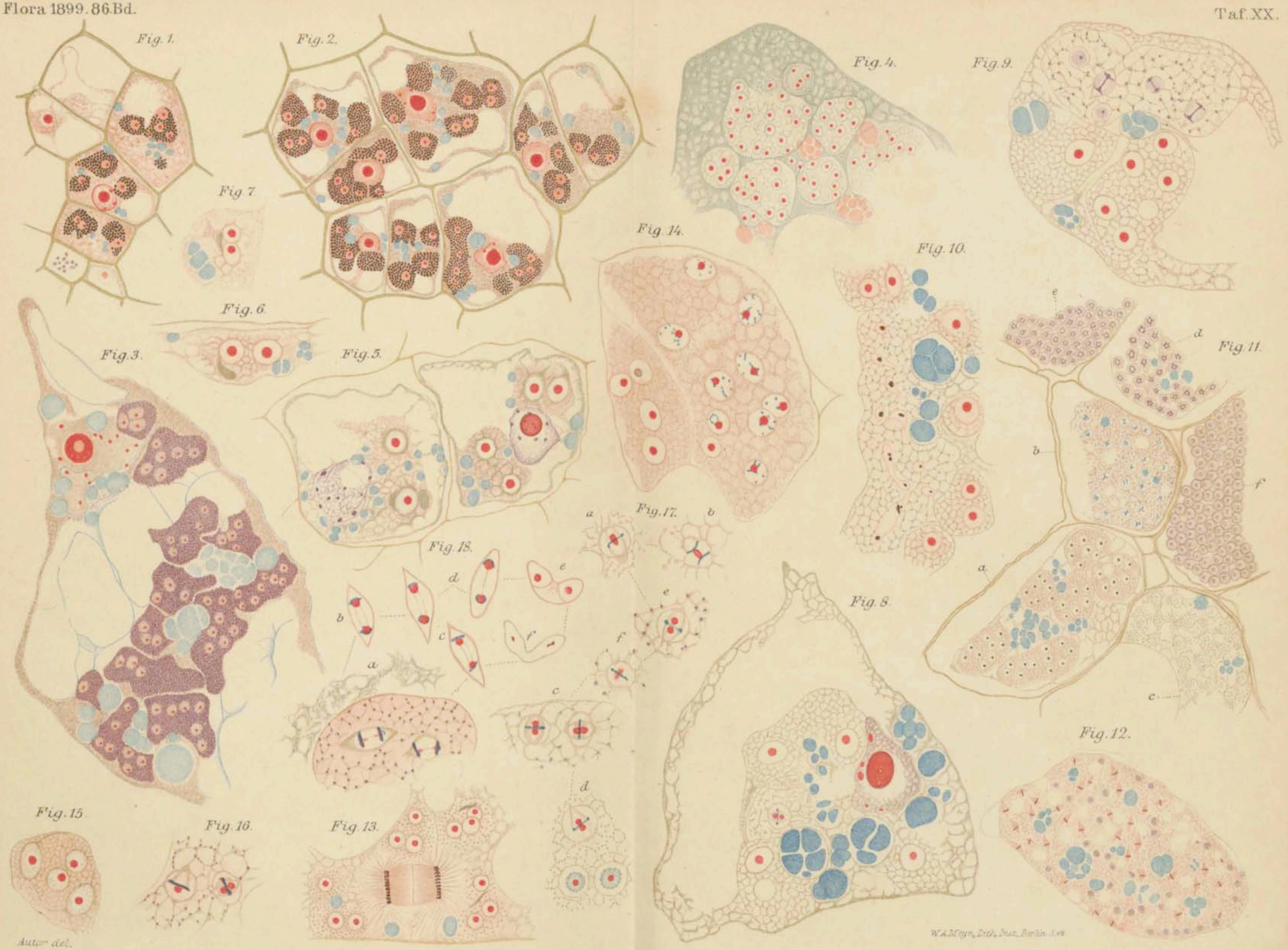
Fig. 15. Vegetative Amöbe mit vier ruhenden Kernen.

Fig. 16. Ein Theil einer vegetativen Amöbe. Die beiden Kerne befinden sich in zwei am häufigsten vorkommenden Prophasen der Theilung; der Kern links nach der Bildung der Chromatinplatte, rechts mit der ausgebildeten achromatischen Spindel nach der Spaltung des Nucleolus.

Fig. 17 *a*—*f*. Die aufeinanderfolgenden Stadien der Kerntheilung vor der Spaltung der Chromatinplatte (*b*).

Fig. 18 *a*—*f*. Desgleichen nach der Spaltung der Chromatinplatte.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00431-5



Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05155-00511-9

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1899

Band/Volume: 86

Autor(en)/Author(s): Nawaschin Sergei Gawrilowitsch

Artikel/Article: Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von Plasmodiophora Brassicae Woron. im Laufe ihres intracellularen Lebens. 409-427