

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Karls-Universität in Prag.)

Ergebnisse mit Nuclealfärbung bei einigen niederen Pflanzen.

Von

P. F. Milovidov.

(Hierzu 2 Textfiguren und Tafel 5 u. 6.)

MEINEM HOCHVEREHRTEN UND LIEBEN LEHRER

HERRN PROFESSOR DOKTOR BOHUMIL NĚMEC

*WIDME ICH IN DANKBARKEIT EHRERBIETIGST DIESE ARBEIT
MIT DEN BESTEN WÜNSCHEN ZU SEINEM 60. GEBURTSTAGE*

Einleitung.

Während die Nuclealreaktion schon an vielen Tierobjekten geprüft worden ist und interessante Resultate gegeben hat, hat sie leider bis jetzt im Gebiet des Pflanzenreiches keine breite Anwendung gefunden. Um diese Lücke auszufüllen, habe ich in größerem Maßstabe die Nuclealreaktion beim Untersuchen von Pflanzenobjekten angewendet. An anderer Stelle (MILVIDOV, 1932a) weise ich auf die Vorteile ihrer Anwendung in der Experimentalcytologie hin.

Bei den Gefäßpflanzen gelingt sie in den Antheren-, Blätter-, Stengel- und Wurzelgeweben vortrefflich; bei Schachtelhalmen, Farnpflanzen, Moosen und Lebermoosen habe ich mit ihr auch sehr gute Resultate bekommen.

Besonders vorteilhaft ist der Gebrauch der Nuclealreaktion in den Wurzelzellen, welche mit Reservestoffen beladen sind und wo die gewöhnlichen Färbungsmethoden nicht die Möglichkeit geben,

mit genügender Deutlichkeit das wahre Aussehen des Zellkernes zu erkennen.

Ich habe die Nuclealreaktion ebenfalls an einigen Vertretern von niederen Pflanzen erprobt.

Die vorliegende Arbeit enthält Resultate, welche mittels dieser Reaktion an Myxomyceten, *Plasmodiophora* und *Olpidium* erhalten worden sind (siehe vorläufige Mitteilung 1932).

Eigene Untersuchungen.

Myxomyceten.

Es wurden folgende Vertreter dieser Gruppe untersucht: *Didymium nigripes* (FR.), *Fuligo septica* (L.).

Die Kultur des ersten Myxomycetes habe ich von Herrn Prof. B. NĚMEC, einige fixierte Präparate von *Didymium difforme* von Herrn Prof. F. SKUPIEŃSKI erhalten, wofür ich ihnen meinen herzlichen Dank ausspreche. Die Plasmodien von *Fuligo* habe ich im Walde in Radošovice bei Prag gesammelt. *Didymium* ist mit einer Mischung von gesättigter Sublimatlösung (100 Teile) und Eisessig (2 Teile) fixiert worden, *Fuligo* mit 96 proz. Alkohol.

Außerdem habe ich noch einige näher nicht bestimmte mit Alkohol und mit Chromsäure-Formalin nach NĚMEC fixierte Myxomycetenarten untersucht.

a) *Didymium nigripes* (FR.).

Die Hydrolysedauer war 5—10 Minuten, die Wirkungsdauer von fuchsinschwefliger Säure 15 Minuten bis 24 Stunden. Es wurden schon nach 7 Minuten langer Hydrolyse und 15 Minuten langer Behandlung mit dem SCHIFF'schen Reagens sehr gute Resultate erhalten; nach einer Hydrolysedauer von 5 Minuten erhält man eine wenn auch schwächere, so doch deutliche Färbung. Es ist zwecklos, die Präparate in der fuchsinschwefligen Säure länger als 40 Minuten oder 1 Stunde zu halten, denn die Färbungsintensität bleibt fast die gleiche, ihre Elektivität nimmt aber ab. FEULGEN-BRAUNS (1924) hat nicht elektive, diffuse Färbung des ganzen Präparates nach langem Aufenthalte (mehr als 24 Stunden) in fuchsinschwefliger Säure beobachtet. Sie glaubt, die Ursache dieses Phänomens besteht darin, daß die chemische violette Verbindung der nuclealen Stoffe mit der fuchsinschwefligen Säure aus den Kernen herausgelaugt ist und das Protoplasma durchtränkt.

An den Kontrollpräparaten, die 24—48 Stunden in 96 proz. Alkohol gehalten und dann mit fuchsinschweflicher Säure ohne vorhergehender Hydrolyse behandelt wurden, haben wir nach 15—40 Minuten langem Liegen in derselben bloß ein sehr schwaches, kaum merkbares gelblichrosa körniges Cytoplasmafeld bemerken können, die Kerne aber waren nicht zu unterscheiden. Bei längerem Aufenthalt im Reagens (3—4 Stunden) färbt sich das Cytoplasma bei Tageslicht schwach rosaviolett, die Kerne sind etwas dunkler, aber unklar, bei starker Vergrößerung fast unsehbar.

In den reifenden Sporangien des *Didymium* sind nur sich teilende Kerne in den Metaphasenstadien gefunden worden. Die Äquatorialplatten erscheinen, von der Seite gesehen, wie nicht homogene Streifen, von der Fläche wie etwas heller gefärbte körnige Scheiben. Ihre Nuclealfärbung ist gut, typisch, elektiv.

In den Plasmodien eines anderen nicht bestimmten Myxomyceten sind Anaphasen der sporogenen Teilung gefunden worden. Obwohl in diesem Falle das Material mit Chromo-Formol nach NĚMEC fixiert worden war, ist eine starke und elektive Färbung erhalten worden ¹⁾.

Weder in diesem noch im vorigen Fall habe ich andere, Nuclealfärbung annehmende Gebilde konstatieren können. F. SKUPIEŃSKI (1928) erwähnt bei *Didymium difforme* Körnchen, welche die Färbung des Chromatins annehmen: „J'ai pu souvent constater dans les deux sommets ou dans un seul du fuseau achromatique la présence d'un petit corpuscule qui prend la coloration de la chromatine ²⁾“. Ces corpuscules n'apparaissent pas régulièrement dans toutes les divisions caryocinétiques de la même microculture, c'est ce qui m'autorise à admettre qu'ils n'ont rien de commun avec les centrosomes proprement dit“ (p. 331—332). F. HOWARD (1931) findet Centrosomen bei *Physarum polycephalum*. Beim Verwenden der gewöhnlichen Färbungsmethoden (HEIDENHAIN, CAJAL, VOLKONSKY) habe ich auf meinen Objekten keine echten Centrosomen konstatieren können. Dabei stellt die Nuclealreaktion in den Plasmodien nichts anderes als Kerne dar. Deswegen haben alle diese Körner auch mit dem Chromatin nichts gemeinschaftliches und stellen andere Einschlüsse, die in dem Myxomycetencytoplasma reichlich vorhanden sind, vor.

¹⁾ Da in NĚMEC's Flüssigkeit Formalin und Chromsäure vorhanden sind, kann die Färbung nach ihrem Gebrauch nicht als strenger Beweis von Nucleinsäuren dienen und wurde nur vergleichshalber als Färbungsmethode gebraucht.

²⁾ Von mir gesperrt.

An den Präparaten von *Didymium difforme*, welche Herr Prof. F. SKUPIEŃSKI für mich freundlichst angefertigt hat (Sublimat-Eisessig-Fixierung) habe ich ebenfalls die Nuclealreaktion probiert. Hier habe ich die Microcysten und junge Myxamöben gefunden. Die Nuclealfärbung gelingt hier sehr schön: die Kerne geben eine gute, elektive violette Färbung, die im Außenkern lokalisiert ist (Taf. 5 Fig. F, F²). Auch habe ich deformierte Kerne beobachtet, welche vielleicht während der Herstellung der Ausstrichpräparate zustande gekommen sind (Fig. F¹). Die die Microcysten umgebenden Bakterien geben auch eine positive Nuclealreaktion.

b) *Fuligo septica* (L.).

Nach 5—8 Minuten langer Hydrolyse sind gute Resultate erhalten worden. Die Färbungsdauer war 2—4 Stunden, jedoch erhält man ganz genügende Resultate schon nach 15 Minuten langer Einwirkung von fuchsinschwefliger Säure.

Auf den Kontrollpräparaten, die der Hydrolyse nicht unterworfen, sondern nur 24—48 Stunden in Alkohol gehalten wurden, sind nach Behandlung mit fuchsinschwefliger Säure nach 15 Minuten nur Spuren, nach 1—4 Stunden eine blasse rosaviolette Färbung der ganzen Plasmodienmasse gefunden worden, nach 24 Stunden erscheinen noch außerdem undeutliche Kernkonturen (Autohydrolyse mit SCHIFF'schem Reagens).

Es führt also die Abwesenheit von Hydrolyse in unseren beiden Fällen zu Mangel an echter Nuclealfärbung des Kernes oder, bei sehr langdauernder Einwirkung von fuchsinschwefliger Säure zu schwacher, nicht elektiver Färbung des ganzen Schnittes. Vielleicht hat man es hier auch mit Pseudofärbung zu tun. Möglich, daß eine große Menge von verschiedenen körnigen Einschlüssen in den Plasmodien zur Absorption des Reagens beitragen. Bei hydrolysierten Objekten aber erhält man eine elektive, deutliche und lebhaftere Kernfärbung in einem charakteristischen Violett.

Bei *Fuligo* sind bloß Stadien des ruhenden Kernes gefunden worden. Auf mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten haben diese Kerne das schon von HARPER (1900) beschriebene Aussehen, nämlich ein schwach ausgesprochen peripheres Kernnetz und einen schwarz gefärbten, zentral liegenden gehoftten Nucleolus (Caryosom) (vgl. Taf. 5 A, B, D). In anderen Fällen sehen die Kerne wie schwarze homogene Klümpchen aus und sind zuweilen kleiner (vgl. ROSEN, nach HARPER zitiert).

HARPER und DODGE (1924) erwähnen zwei Kerntypen bei *Hemirichia clavata* und vermuten, daß die kompakteren, kleineren Kerne entweder junge Tochterkerne oder degenerative Kerne vorstellen, nehmen aber eher das zweite an.

HOWARD (1931) findet in den Plasmodien von *Physarum polycephalum* auch zwei Kerntypen, die einen, größeren Kerne färben sich schwach mit Eisenhämatoxylin und sind körnig, die Kernhülle und das Caryosom sind schwach unterscheidbar, die anderen sind kleiner und intensiv gefärbt.

LEWITSKY (1924) hat beim Gebrauch von verschiedenen Färbungsmethoden gefunden, daß die Plasmodienkerne von *Fuligo septica* sich folgenderweise färben. Nach Gebrauch von Methylgrün-Essigsäure färbt sich am stärksten mit dem Kernfarbstoff der homogene oder ringförmige Nucleolus, schwächer das Kerngerüst und die Kernwand; die Cytoplasmaeinschlüsse färben sich nicht. Nach der Einwirkung von Säurefuchsin und Methylenblaugemisch wird der Nucleolus blau, das Kerngerüst rosa. Auf Grund dessen schließt LEWITSKY folgendes: „Aus diesen Färbungsversuchen erhellt erstens, daß das Chromatin bei *Fuligo septica* in dem „Nucleolus“ seinen Sitz hat, wie das bei den Protisten und niederen Pflanzen meist der Fall ist und zweitens, daß die mit Eisenhämatoxylin färbbaren Plasmaeinschlüsse sich abweichend von dem Chromatin verhalten“ (S. 75).

Den Forschungen von SKUPIEŃSKI (1928) nach bestehen bei *Didymium difforme* die Kerne der Zoosporen, der Myxamöben und Plasmodien aus zwei Teilen: dem sehr schwach mit Chromatinfarbstoffen sich färbenden achromatischen und dem chromatischen (Caryosom), der sich stark färbt und gewöhnlich die Kernmitte einnimmt (p. 308—309, vgl. z. B. auch Abbildungen auf Taf. 18). So stimmen die Forscher darin überein, daß in dem Myxomycetenkerne das Chromatin im Caryosom angesammelt ist.

In unserem Fall haben die Plasmodiumkerne von *Fuligo septica* nach der Färbung mit Eisenhämatoxylin das Aussehen, welches in der Taf. 5 abgebildet ist. Die Kerne liegen dicht dem Cytoplasma an (Taf. 5 Fig. D), in anderen Fällen liegt der Kern in einem breiten hellen Raum, der gewöhnlich von einer grau oder bräunlich färbbaren Hülle umgeben ist (Taf. 5 Fig. A, B). Diese beiden Fälle sind aber durch allmähliche Übergänge miteinander verbunden, was an einem und demselben Plasmodium oft gut zu sehen ist: bald weicht der Kern nur ganz wenig von dieser Hülle ab, bald aber sehr stark. An der Peripherie solcher Kerne sind nicht selten einzelne stärker gefärbte Körner sichtbar. Ist das Präparat nicht

genügend in Alaun differenziert, so finden wir gewöhnlich im Plasmodium die Kerne als homogene schwarze Flecken, bei weiterem Differenzieren erscheinen in ihnen grau gefärbte Kernperipherien und tief gefärbtes Caryosom, gewöhnlich ohne Hof. Die Kerne sind von verschiedener Größe, die kleineren, kompakteren Kerne stellen meistens die ruhenden Kerne der jungen Plasmodien oder der Myxamöben vor, die erst vor kurzem zusammengefloßen sind¹⁾.

F. SKUPIEŃSKI (l. c.) hält diesen hellen Raum für eine hyaloplasmatische Schicht, die den Kern umringt und mit ihm eng verbunden ist: „Während der Sporenkeimung ist der Kern der Energide von einer delikaten Schicht von völlig durchsichtigem, gleichmäßig verteiltem Hyaloplasma, die man leicht wie in vivo so auch nach Fixierung beobachten kann, umgeben. Die Dicke dieser Schicht kann verschieden sein: bei einigen Individuen ist sie sehr zart und kaum merkbar, bei anderen dagegen sehr stark entwickelt; dann macht das Ganze den Eindruck einer Vakuole, die mit einer durchsichtigen, körnchenlosen Substanz, in die der Kern versunken ist, gefüllt ist. Auch bei einigen französischen Forschern treffen wir den nicht passenden Ausdruck von einer Kernvakuole (*vacuole nucléaire*)“ (p. 306).

„Wie ich es höher bemerkt, ist der ganze Kern von einer Hyaloplasmaschicht, die leicht von dem das Caryosom umgebenden Kernteil zu unterscheiden ist, umringt. Diese Schicht ist sehr elastisch, ausdehnbar, so daß sie in verschiedenen Entwicklungsphasen des Individuums verschiedene Gestalt annehmen kann. So entspricht sie vollkommen der Kernform im Myxamöbenstadium, im Zoosporenstadium nimmt sie die Form eines ausgedehnten Sackes (einer Glocke) an, auf dessen Boden der Kern liegt. . . . Wir sehen, daß der Kern als solcher in keinem Fall den hyaloplasmatischen Raum verläßt und mit ihm fest verbunden ist“ (p. 309)²⁾ (vgl. auch seine Fig. 28).

Ich kann mich nicht von dem Eindruck frei machen, daß wir es hier, in einigen Fällen, mit einem Kernhof zu tun haben. Zugunsten dieser Ansicht spricht folgendes: 1. Der hyaline Raum färbt sich nicht, 2. oft hat die Hülle gut ausgeprägte, scharfe und dicke Konturen und färbt sich mit Eisenhämatoxylin grau oder

¹⁾ In anderen Fällen ist es möglich, daß es auch degenerative Kerne sind, dann sind sie aber unregelmäßig begrenzt und lassen nicht den Nucleolus unterscheiden.

²⁾ Aus dem Polnischen übersetzt.

bräunlich, 3. der Durchmesser des ganzen hellen Raumes, in dem die zusammengeschrumpften Kerne liegen, stimmt mit dem Durchmesser der nicht von der Hülle getrennten Kerne überein (vgl. Taf. 5 Fig. A, B und D).

Vielleicht ist solche Abtrennung des Kernes von der Hülle durch die Fixierung verursacht, es ist aber möglich, daß diese Erscheinung mit irgendwelchem Entwicklungsstadium des Myxomyceten verbunden ist; mit dem Anfang des sporogenen Prozesses zeigt der Kern wirklich das Streben sich zu verdichten und nimmt später das Aussehen von einem kompakten Klumpen an, so daß das Caryosom (Nucleolus) kaum oder gar nicht zu unterscheiden ist (Taf. 5 Fig. C).

Bei Anwendung von Nuclealreaktion färben sich die Kerne von *Fuligo* nur an der Peripherie, das Caryosom bleibt farblos. Bei flüchtigem Durchsehen gleichen gefärbte Kernperipherien den Caryosomen und scheinen das ganze Chromatin des Kernes zu enthalten. Jedoch sind sie dem Umfange nach größer als die Caryosomen der typischen Kerne, außerdem kann man in ihnen oft einen Nucleolus beweisen und demnach entsprechen die in den nach FEULGEN gefärbten Präparaten sichtbaren Scheiben und Ringe einem etwas vielleicht zusammengeschrumpften Kerne und nicht einem Caryosom. Der Sicherheit wegen habe ich folgende Methode angewendet: die Präparate wurden der Nuclealreaktion ausgesetzt. Eine an dem Präparate ausgesuchte Stelle wurde mit Hilfe eines Zeichenapparates abgezeichnet, die Koordinaten des Kreuztisches wurden genau mittels der Nonienteilungen gemerkt. Darauf wurde das Deckglas entfernt, das Präparat wurde durch Alkohole gebracht, in Wasser gespült und nach Beizung in Alaun mit Eisenhämatoxylin gefärbt, differenziert, ausgewaschen, dehydratiert und wiederum in Kanadabalsam eingeschlossen. Das Differenzieren soll am besten allmählich ausgeführt werden, wobei die geprüfte Stelle unter dem Mikroskop mit Ölimmersion kontrolliert wird. Zu diesem Zweck wird der Eisenalaun abgespült, dann bringt man einen Tropfen Glycerin auf den Schnitt, bedeckt ihn mit einem Deckglas und betrachtet ihn mittels Ölimmersionssystem; ist es notwendig, so setzt man das Differenzieren fort, indem man das Deckglas wegnimmt und das Glycerin mit destilliertem Wasser abspült. Ist das Präparat so umgefärbt, so findet man die richtige Stelle und zeichnet sie mit einem Apparat bei gleicher Vergrößerung nebenbei oder noch besser auf derselben Stelle auf durchsichtiges Papier in der Weise, daß die vorige Abbildung unter der neuen durchschimmert.

Ich habe auch die entgegengesetzte Umfärbung folgenderweise durchgeführt: nachdem ich typische ruhende Kerne mit hellgrauer Peripherie und schwarzem Caryosom gewählt und mit ABBE'schem Apparat gezeichnet habe, habe ich das Präparat in Eisenalaun entfärbt, gewaschen, 48 Stunden im 96 proz. Alkohol gehalten, dann hydrolysiert und der Nuclealreaktion unterworfen. Solche Umfärbung mißlingt oft wegen der Pseudofärbung. An gelungenen Präparaten erweisen sich an den Stellen der Nucleolen nichtgefärbte Räume, der Außenkern gibt aber eine intensive Nuclealreaktion (Taf. 5 Fig. A—A¹, B—B¹). Größere Kerne geben schwächere Nuclealfärbung, das Caryosom bleibt aber ebenso farblos.

So beweisen solche Versuche, daß der Körper, der im farblosen Raum scharf konturiert liegt, kein Caryosom, welches das ganze Kernchromatin enthält (Ringnucleolus, Chromatinnucleolus) ist, sondern den ganzen Kerninhalt, in dessen Innern es nicht schwer ist, einen echten Nucleolus nachzuweisen, vorstellt. Solche in Höfen liegende Kerne können auch deswegen nicht mit den echten Chromatinnucleolen verglichen werden, da diese auch ein achromatisches Kerngerüst, in dem sie liegen, voraussetzen, in unserem Falle aber liegt der Kern sozusagen in einer Leere oder er ist nur vom Hyaloplasma umringt.

Die Struktur der ruhenden Myxomycetenkerne gleicht also im allgemeinen der Kernstruktur anderer Pilze und entspricht auch mehr oder weniger der Kernstruktur höherer Pflanzen, wie es schon HARPER gezeigt hat (l. c. p. 232). Der Hauptunterschied zwischen dem Kerne der niederen und höheren Pflanzen würde darin bestehen, daß die Kerne der ersten einen großen zentralliegenden, sich tief färbenden Nucleolus (Caryosom) und ein relativ unbedeutendes peripheres Chromatin besitzen, während die Kerne der höheren Pflanzen im Gegenteil viel größere Mengen von Thymonucleinsäure und demgemäß ein gut entwickeltes Chromatinnetz und einen relativ kleineren Nucleolus oder Nucleolen enthalten. Wir haben schon gesagt, daß bei der Nuclealreaktion die älteren, größeren Plasmodienkerne schwächer, die jungen aber intensiver sich färben (kompaktere Chromatinstruktur), dabei bleibt im Zentrum eine farblose Scheibe. Zuweilen erscheint sie hell-violett, da sie durch die gefärbte Kernperipherie durchscheint (Taf. 5 A¹, B¹, E², Taf. 6 Fig. 16). Nach Umfärbung mit Eisenhämatoxylin erscheint dagegen die schwarze Nucleolusscheibe als der deutlichste Teil des Kernes, die Kernperipherie wird grau. Besonders überzeugend sind die Fälle, wo das Präparat nicht genügend mit Eisenhämatoxylin nachgefärbt oder

zu stark differenziert ist: dann bewahrt noch die Kernperipherie die violette Nuclealfärbung, die früher farblose Caryosomscheibe ist aber schon schwarz¹⁾).

Bei einer näher nicht bestimmten Myxomycetenart (Alkohol-Fixierung) habe ich die Sporenbildung verfolgt. Die Nuclealreaktion gelingt dabei sogar in reifen Sporen gut, die Kerne schimmern wie violette Scheiben durch eine bräunliche, skulpturierte Membran. Verschiedene Stadien des Sporenbildungsprozesses können leicht auf einem und denselben Schnitt verfolgt werden. Die Plasmodienkerne haben im optischen Schnitt das Aussehen von violetten Ringen; parallel mit dem Zerfall des Plasmodiums in vieleckige, später rundliche Teile werden die Kerne kompakter, der helle Nucleolusraum wird kleiner, aber sogar in den reifen Sporen haben die Kerne zuweilen ein ringförmiges Aussehen. Auch deformierte Kerne sind gut nach der Nuclealfärbung sichtbar (Taf. 5 Fig. E, E¹, E²).

So kann man einzelne Kerne identifizieren und feststellen, daß die Lokalisation von Nuclealstoffen nicht dem Caryosom, sondern der Kernperipherie entspricht und daß das Caryosom also nicht Thymonucleinsäure enthält, wie es auf Grund der Verteilung der gewöhnlichen „Kernfarbstoffe“ zu vermuten wäre. So besitzen die Myxomycetenkerne eine Struktur, die auch bei vielen Rhizopoden, Flagellaten und Sporozoen gefunden wurde (SCHUCKMANN, 1926, JIROVEC, 1927, REICHENOW, 1928, BOGDANOWICZ, 1930, VOLKONSKY, 1931).

LEWITSKY (l. c.) hat mikrochemisch bewiesen, daß verschiedene körnige Einschlüsse in dem Myxomycetencytoplasma den Chromidien nicht entsprechen. Wie wir schon bemerkt haben, bleiben nach der Nuclealreaktion alle diese Körner ganz farblos (sie erscheinen von neuem nach der Umfärbung) und können also nicht als Teilchen von Thymonucleinsäure angesehen werden.

Die positive Nuclealreaktion der Myxomycetenkerne entscheidet endgültig die Frage über das Vorhandensein von Thymonucleinsäure in den Plasmodien der Myxomyceten. KIESEL hat eine makroskopische Nuclealreaktion an den Nucleoproteiden, die er aus den Plasmodien von *Fuligo varians* und *Reticularia epidendron* isoliert

¹⁾ Nach der Beizung in Eisenalaun verschwindet die Nuclealfärbung nicht, wovon man sich leicht überzeugt, indem man die Präparate vor der Färbung mit Eisenhämatoxylin mit Mikroskop untersucht; das Hämatoxylin überfärbt die Nuclealfärbung der Kerne und färbt einige Zellkomponenten nach.

Wie es meistens bei der Nuclealreaktion der Fall ist, sind die Kernkonturen etwas (jedoch unbedeutend) kleiner, als die, welche wir bei der HEIDENHAIN-Färbung erhalten, da, wie es scheint, einige lösliche abgespaltene Stoffe herausgelauget werden.

hat, erhalten: „So konnte A. KIESEL (1925, 1929) eine deutliche Nuclealfärbung bei der aus den Plasmodien der Myxomyceten dargestellten Nucleinsäure erhalten, obgleich die Stellung dieser Organismen am untersten Ende der Organismenreihe wohl nicht zu bezweifeln ist“ (KIESEL, 1930, p. 227).

Unsere Untersuchungen bestätigen auch seine Vermutungen über die Lokalisation der Nucleoproteiden, nämlich in den Kernen der Plasmodien, wie es in den höheren Pflanzen der Fall ist: „Soweit sich also aus der Untersuchung von drei verschiedenen Arten von Myxomyceten ersehen läßt und soweit hierhin eine Verallgemeinerung zulässig ist, enthalten die Plasmodien der Myxomyceten immer gleichartige Nucleoproteide, die allem Anschein nach zu den Bestandteilen der Zellkerne gehören und deren Menge die Annahme einer extranuclearen Beteiligung von Nucleoproteiden am Aufbau des Plasmodiumsprotoplasmas überflüssig erscheinen läßt“ (Ibid. p. 259).

Plasmodiophora brassicae WORON.

Die Untersuchungen mittels Nuclealreaktion bestätigen die Resultate, die in unserer vorigen Arbeit über diesen Parasiten dargestellt sind (1931).

Es wurden Wurzelstückchen von Kohlrabi (*Brassica oleracea gongyloides*) mit einer Mischung von Sublimat und Eisessig (100:2) während 24 Stunden fixiert, in 75 proz. Alkohol gewaschen, ohne Jodierung durch Alkohol und Xylol übergeführt und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte waren 4—7 μ dick. Die Hydrolysedauer war 4—5 Minuten und höher, das Optimum ist ungefähr zwischen 5 und 8 Minuten, obgleich genügende Resultate sich noch bei einer Dauer von 11 Minuten erwiesen. Weitere Erhöhung der Hydrolysedauer hat Schwächung der Färbungsintensität zur Folge. Die Behandlungsdauer mit fuchsinschwefliger Säure ist von 15 Minuten bis 24 Stunden. Vollkommen genügende Resultate zeigten sich schon nach 30 Minuten, nach 15 Minuten ist die Färbung schwach, jedoch sind die Ringe der vegetativen Teilung ziemlich deutlich zu sehen. Bei einer 2stündigen Behandlung sind sehr gute Resultate erhalten worden, das Liegen in dem SCHIFF'schen Reagens bis 24 Stunden bringt keinen Vorteil, im Gegenteil kommt es oft vor, daß bei einer gleichen Intensität der Färbung noch der Effekt von einer Cytoplasmafärbung dazu kommt, die Elektivität fällt also weg. Die Kontrollpräparate geben gar keine Färbung nach 15—30 Minuten

Aufenthalt in fuchsinsehwefliger Säure ohne vorhergehende Hydrolyse; nach einem 1 stündigen Aufenthalt des Präparates im SCHIFF'schen Reagens kann man nur schwerlich unklare, helle Massen unterscheiden, nach 24 Stunden klarere, aber dennoch undeutliche, körnige bräunlich-violette Massen ohne Kerne.

Die Membranen einiger peripheren Schichten der Wurzelzellen, besonders ihre verdickten, äußeren Teile, färben sich, auch ohne Hydrolyse, schon nach einer $\frac{1}{2}$ stündigen Einwirkung der fuchsin-schweifigen Säure violett (auch bei elektrischer Beleuchtung). So kann man in ihnen die Anwesenheit von Aldehyden vermuten (Verkorkung, Kutinisierung). Verholzte Gefäßzellwände färben sich an Präparaten hell-rosa. FEULGEN (1926) meint, daß man es hier mit einer einfachen Adsorption und einer Reagenszersetzung zu tun hat. „Diese Unzuträglichkeit haben wir bei tierischen Objekten noch nicht beobachtet, wohl aber bei pflanzlichen, wo manche Zellmembranen das Reagens hartnäckig festhalten. Im fertigen Präparat erscheinen diese dann rot gefärbt. Die Farbe entsteht nicht etwa in der fuchsin-schweifigen Säure, auch nicht beim Abspülen dieser in SO_2 -haltigem Wasser, wie man leicht nach Eindecken mit SO_2 -haltigem Wasser feststellen kann, sondern erst beim Abspülen des letzteren mit Wasser bzw. beim Fertigmachen der Präparate. . . . Durch längeres Auswaschen mit SO_2 -haltigem Wasser kann man die störende Färbung zwar herabmindern, aber nicht gänzlich beseitigen. Nach dem Gesagten ist es ein Leichtes, diese Pseudofärbung von einer Nuclearreaktion zu unterscheiden. Auch Celloidin hat die Eigentümlichkeit das Reagens hartnäckig festzuhalten, was zur Folge hat, daß Celloidinschnitte, die der NF unterworfen waren, beim Fertigmachen der Präparate schwach rot diffus anlaufen“ (p. 1068). Es ist also möglich, daß Cellulose und Celloidin dank ihrem Bau besonders leicht das Reagens festhalten und ihre Färbung keine Aldehyd-, sondern eine Pseudofärbung ist; es scheint aber auch wahrscheinlich zu sein, daß die Zellwände der verholzten Gefäßelemente usw. Aldehydstoffe enthalten¹⁾. Die Färbung der

¹⁾ KAVINA (1932) weist z. B. an, daß die Ursache der Farbreaktionen von verholzten Zellwänden mit aromatischen Aminen und vielen Phenolen jedenfalls in einem Aldehydstoff liegt. Solche Reaktionen sind Spurenreaktionen, woraus man ableiten kann, daß ihr eigentlicher Träger im Lignin nur in unbedeutenden Mengen vorhanden ist.

CZAPEK (1899) hat aus dem Holz kleine Mengen von aromatischen Aldehyds, des Hadromals, isoliert.

Ausführliches siehe bei FUCHS (1926).

peripheren Membranen und Membranschichten ist aber jedenfalls eine typische Aldehydreaktion, denn sie ist reinviolett, intensiv¹⁾

Die Nuclealreaktion gelingt bei *Plasmodiophora* besonders gut an den Figuren der vegetativen Kernteilung in den Amöben, nämlich in den sog. Saturnusstadien, denn ihre Nuclealsubstanz (Chromatin) bildet kompakte Massen, als Ringe oder durchbohrte Scheiben (Taf. 6 Fig. 1—3). Das innen im Ringe durchgehende Caryosom, das bei gewöhnlichen Methoden sich intensiv färbt, bleibt bei der NR-Anwendung farblos, ebenso wie das Cytoplasma mit seinen Einschlüssen. Körner, die sich in großer Menge im Amöbencytoplasma befinden und wie Chromatin sich färben (blau oder violett nach FLEMMING'S Dreifachfärbung und grün nach VOLKONSKY-Behandlung z. B.) bleiben ganz ungefärbt nach Gebrauch von NR und haben also keine Beziehung zur chromidialen Kernsubstanz, wie es z. B. MAIRE et TISON (1909) für *Sorosphaera veronicae* SCHRÖT. (p. 231) und für *Tetramyxa parasitica* GOEB. (1911 p. 232—233) annehmen, sondern stellen, wie wir es vorher (l. c., p. 31) nachwiesen, andere Einschlüsse dar²⁾.

In diesen Stadien, die leicht eine ganz elektive NF geben, entspricht die Chromatinverteilung der früher bei den gewöhnlichen Färbungsmethoden gefundenen genau. Der Ring ist in allen Lagen sehr deutlich zu sehen; zuweilen ist er in der Fläche etwas gekrümmt (vgl. Abb. 17a von NAWASCHIN), bei starker Vergrößerung scheint er nicht ganz homogen zu sein. Es wurden auch Stadien des Vorbereitens zu dieser Teilung, die denen von uns früher dargestellten entsprechen, gefunden. Beim Gebrauch der NF sehen sie

¹⁾ STRASBURGER erwähnt in seinem Praktikum (1921) „durch schweflige Säure entfärbtes Fuchsin (SCHIFF'Sches Reagens), als Korkfarbstoff. Färbt ferner die dünne Cuticula verschiedener Wasser- und Landpflanzen und auch verholzte Zellwände violett. Die Färbung soll mit dem Vorhandensein eines Aldehydstoffes zusammenhängen“ (p. 745). Anlässlich zitiert er die Arbeit von L. GÉNEAU DE LAMARLIÈRE (Bull. Soc. Bot. d. France, 1903, p. 268). So bestätigen die bei Gebrauch von Nuclealfärbung erhaltenen Resultate das, was schon längst den Forschern, die die Zellmembranen studiert hatten, bekannt war.

Die violette Färbung einiger Membranschichten bei Farnen, Moosen und höheren Pflanzen (MILOVIDOV, 1932a) sowie auch der Zoosporangienwände bei *Olpidium*, usw. hängt also zweifellos von der Anwesenheit von verkorkter Schichten oder von Cuticula ab. Die Membranen der Haarzellen auf den Blütenknospen bei *Cicer arietinum* geben eine schöne elektive Aldehydreaktion schon nach einem minutenlangen Verweilen in der fuchsinschwefligen Säure ohne verhergehender Hydrolyse.

²⁾ In unserer Arbeit über *Plasmodiophora brassicae* (l. c.) hat sich auf S. 27, der ersten Zeilen von oben, ein Druckfehler eingeschlichen: die dort angebrachte Zitation bezieht sich nicht auf *Tetramyxa*, sondern *Sorosphaera*.

wie geschlossene oder noch nicht geschlossene Drei- und Vierecke, unregelmäßige, eckige Kreise, auf denen man zuweilen Knoten, dickere und dünnere Teile merken kann, aus (vgl. Fig. 18, 19 MAIRE und TISON, 1909; MILOVIDOV l. c., Taf. 2 Fig. 5, und Fig. 6 auf der beiliegenden Taf. 6). Das ist die Formation des Ringes. Die NR gibt jedoch nicht die Möglichkeit, die wahren Chromosomen zu unterscheiden, man kann nur behaupten, daß zu Anfang der Ring sich aus ungleichen Chromatinteilchen bildet.

Die Tochterringe sind deutlich in den Ana- und Telophasen zu sehen (Taf. 6 Fig. 2 u. 3). Wie auf diesen Abbildungen zu sehen ist, sind nur die Ringe (später vielleicht Klumpen) nucleal und sie entsprechen denen auf Fig. 18 b, c, d von NAWASCHIN oder auf unserer Taf. 2 Fig. 7, 8 u. 9, 1931 abgebildeten. Bei Anwendung der obenerwähnten Methode aufeinanderfolgender Färbung haben wir nach Umfärbung in Eisenhämatoxylin an der Stelle von violetten, elektiv gefärbten Ringen oder Scheiben, einen grauen Ring, ein graues oder schwarzes Caryosom und an den Polen der Figur ein schwarzes Spindelende gefunden. An der Stelle von zwei Anaphasenringen (Taf. 6 Fig. 2 u. 3) erscheinen charakteristische „doppelte Anker“ (Taf. 5 Fig. G¹).

TERBY (1924) findet bei *Plasmodiophora* während der vegetativen Kernteilung in die Länge sich spaltende Chromosomen und behauptet, daß das Caryosom der Tochterkerne gar kein Verhältnis zu dem Caryosom des Mutterkernes hat: „Le nucléole de la cellule fille¹) n'a aucun rapport avec le nucléole de la cellule mère; ce dernier disparaît dans la division.“

„Le nucléole de la cellule fille est d'origine télophasique; il est formé peu à peu par le nouveau noyau, au moyen d'une matière provenant des chromosomes“ (p. 17).

Nach TERBY ist es irrig die vegetative Teilung der *Plasmodiophora* Protomitose zu nennen²). Die Bildung der Tochtercaryosomen geht nach TERBY folgenderweise vor sich. Jede von den beiden in den Anaphasen der vegetativen Teilung sich zeigenden Chromatinmassen, wird nicht zu Caryosom neuer Kerne, sondern zerfällt während der Telophase in eine Gruppe von Chromosomen, von denen jedes mit einem Caryosomenteilchen verbunden, um sich dann

¹) Uns scheint der Gebrauch des Ausdrucks „cellule fille“ und „cellule mère“ in Anwendung auf die vielkernigen Amöben nicht zutreffend, besser wäre es vielleicht von Tochterkernen zu sprechen.

²) Auf die Ähnlichkeit der Protomitose mit der Mitose der höheren Pflanzen wies schon FAVORSKIJ (1906) hin.

von diesen Teilchen abzulösen, dabei sind sie in gleicher Weise orientiert. Beim Verlängern erhalten die Chromosomen das Aussehen von Bändern, auf und zwischen ihnen erscheinen von ihnen abgeteilte kleine Körperchen, die bei Verschmelzung einen neuen Nucleolus geben. Das Resultat ist ein neues kleines Caryosom und ein sehr intensiv gefärbtes Kerngerüst; später wird das Caryosom größer, während das Gerüst farblos wird. Diese Erscheinungen vergleicht TERBY sogar mit einigen Teilungsphasen des Zentralkörpers der Cyanophyceen nach KOHL (1903). Die Angaben von TERBY sind durch Figureninterpretation von ausschließlich nach BENDA fixierten und mit HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin gefärbten, zuweilen nur mit Congorot nachgefärbten Präparaten erhalten, deshalb können sie nicht als genügend beweisend angesehen werden. Die Fixierung kann teilweise die Chondriomelemente (besonders gut bei dem gegebenen Objekte, Kohlrabiwurzeln) bewahren; außerdem werden die Beobachtungen durch die große Anzahl verschiedener Cytoplasmaeinschlüsse erschwert. Wenn wir das alles und die unbedeutende Größe der Objekte (vgl. die Bemerkungen von TERBY auf S. 6 u. 12) berücksichtigen, müssen wir anerkennen, daß es etwas riskiert ist, so komplizierte Schlüsse nur auf den Unterschied zwischen den Färbungsnuancen von Eisenhämatoxylin zu basieren. Die Figuren können auch verschieden interpretiert werden, z. B. nicht wie Dissoziationsstadien des Caryosoms, sondern als Vorbereitungsstadien zur Ringbildung usw. Auch ist es z. B. unklar, weshalb das Erscheinen und die gleiche Orientierung der Chromosomen am Ende der Anaphase, ja sogar während der Telophase vorgeht, während in der Metaphase und der frühen Anaphase die voneinander undeutlich abgegrenzten Elemente auseinandergehen.

Die NR gibt nicht die Möglichkeit solche Details der vegetativen Teilung bei *Plasmodiophora* zu konstatieren. Wie auch bisher, scheint es uns wahrscheinlicher, daß die Teilung in der Weise, wie früher beschrieben, vor sich geht, wobei die Hälfte des Mutternucleolus, als Tochnucleolus sich bewahrt, die Chromatinkappen oder Klumpen aber sich über den ganzen Kern verteilen, hauptsächlich an seiner Peripherie. Übrigens gibt uns die NR nicht die Möglichkeit die von TERBY für späte Anaphasen beschriebenen Prozesse weder zu bestätigen, noch zu verneinen, denn bei der Winzigkeit der Kernsubstanzteilchen verschwindet die Färbung zu dieser Zeit fast völlig (vgl. den ruhenden Kern).

Die ruhenden Kerne geben eine schwache, diffuse Nuclealreaktion, wegen der Schwäche der Färbung und der Winzigkeit der

Objekte ist es aber sehr schwer festzustellen, wo sie lokalisiert ist. Anscheinend ist das Chromatin in ihnen in winzige Teilchen, die meistens an der Peripherie verteilt sind, zerstreut, weshalb auch andere distinktere Methoden nur schwer den Inhalt der ruhenden Kerne von *Plasmodiophora* konstatieren können. In den Übergangsstadien zu den Prophasen gelang es zuweilen winzige Körner, Fäden im ruhenden Kerne auch mit Hilfe der NR zu konstatieren. Da können sie auch mit der Methode von VOLKONSKY definiert werden. Die Peripherie des Kernes ist zuweilen durch Fäden mit dem Nucleolus verbunden. Bei Umfärbung mit Eisenhämatoxylin finden wir an der Stelle der ruhenden Kerne scharf gefärbte Figuren vom Typus der auf Taf. 5 Fig. G abgebildeten. Das Caryosom färbt sich schwarz. Also ist das Caryosom, das bei Anwendung der gewöhnlichen Methoden am färbbarsten ist, augenscheinlich ganz anucleal (vielleicht kann nur zuweilen seine Peripherie mit einer dünnen nuclealen Schicht umringt sein?). Nach der Umfärbung wird das Amöbencytoplasma mit allen seinen Einschlüssen gut sichtbar.

Die Prophasen der generativen Teilung geben gewöhnlich eine nicht intensive Nuclealfärbung, was jedoch verständlich wird, wenn wir die unbedeutende Chromatinkompaktheit ins Auge fassen. Die Chromatinmenge ist hier auch wirklich nicht groß. Es ist mir aber gelungen, ganz gute elektive Nuclealfärbung von Chromatinteilchen, die in der Kernhöhle als Körner und Fäden (Taf. 6 Fig. 5) liegen, zu konstatieren; sie entsprechen denen, die durch gewöhnliche histologische Färbungsmethoden (vgl. unsere Taf. 3 Fig. 6—9, 1931) demonstriert werden können. Da aber in diesen Plasmodien die Kernmenge sehr groß ist, bekommt man nicht selten den Eindruck, als wäre auch das Cytoplasma leicht gefärbt; dieser Effekt ist aber durch das Durchschimmern der tiefer liegenden Kerne verursacht und verschwindet bei einer anderen Tubuseinstellung. In diesen Phasen kann man zuweilen eine Elektivitätsverminderung beobachten, da zu der charakteristischen Kernfärbung, besonders bei längerer Einwirkung von fuchsinschwefliger Säure, noch eine Färbung von Cytoplasma beitrifft. Diese Erscheinung ist, allem Anschein nach, durch denselben Grund verursacht, wie bei Myxomycetenplasmodien (s. oben).

So können alle wichtigsten von uns in der vorigen Arbeit (I. c.) beschriebenen Phasen auch mit Hilfe von Nuclealreaktion konstatiert werden.

Das sog. „kernlose“ oder „chromidiale“ Stadium, dessen Existenz mir auch jetzt sehr zweifelhaft erscheint, habe ich auch mit

Hilfe der NR nicht konstatieren können. Weder Amöben, noch Plasmodien geben uns die Möglichkeit, in ihnen irgendwelche Teilchen von Nuclealstoffen, welche, wenn auch nur teilweise an die Körnchen oder Fäden im Kerninnern erinnern, aufzuweisen. Sorgfältiges Durchmustern der Präparate befestigt mich in meinen früheren Annahmen (l. c., p. 18—19), nämlich, daß in einigen Fällen der Parasit in verschiedenen Stadien aus verschiedenen Ursachen einer Degeneration in den Wirtzellen unterliegen kann. MAIRE und TISON (1911) finden im Entwicklungszyklus von *Tetramyxa parasitica* körnige Massen, welche sie bald wie Chromidialstadien, bald auch wie degenerierende Schizonten, d. h. vegetative Stadien, behandeln: „Nous avons observé dans les cellules des jeunes tumeurs des masses granuleuses de taille variable, à contours ordinairement assez nettement accusés, qui présentent le plus souvent des vacuoles arrondies de la taille des noyaux du *Tetramyxa* ou un peu plus petites. Dans certaines de ces vacuoles on voit encore un reste de karyosome peu colorable semblant en voie de dissolution. Le protoplasma de ces masses est extrêmement granuleux et modérément sidérophile. Tantôt ces corps coexistent dans une cellule avec un plasmode d'aspect normal (pl. 10 fig. 23), tantôt ils se rencontrent seuls . . .“ (1911, p. 232).

„On pourrait aussi interpréter ces masses granuleuses comme représentant des schizontes en voie de dégénérescence, ce qui concorderait avec la désorganisation et la disparition complète des noyaux que présentent certaines d'entre elles, et avec leur abondance et leur persistance dans les tumeurs qui prennent peu de développement“ (ibid., p. 233). FAVORSKIJ (1906) hat für den Parasit *Olpidium brassicae* gefunden, daß die Fälle des Sieges der Wirtzelle und des Unterganges des Parasiten, welcher seine charakteristische Färbbarkeit dann verliert, nicht selten sind (Taf. 6 Fig. 6—8). Solche Fälle sind wahrscheinlich auch für *Plasmodiophora* und andere verwandte Organismen möglich. Dann hätten wir außer den „Pilzwirtzellen“ (die Mehrzahl) auch „Verdauungszellen“ (= kernlose Stadien). Übrigens müßten in diesen Fällen Symptome solchen Sieges der Wirtzelle vorhanden sein, nämlich gut ausgesprochener Zellinhalt, der aber nur selten auftrat. Es kamen freilich sehr vergrößerte, stark ausgebuchtete amöboide Kerne vor, die für starke Reaktion der Wirtzelle zeugen, aber auch in diesen Zellen war es meistens der sich schon zur Sporenbildung nähernde Parasit, der triumphierte. Äußere, ungünstige Einflüsse, wie Austrocknen, Be-

schädigungen durch Bakterien und Larven¹⁾ usw., denen man oft in den Wurzeln begegnet, scheinen mir hier wahrscheinlicher zu sein.

In Wirklichkeit haben solche *Plasmodiophora*-Stadien (dasselbe gilt auch für *Olpidium*), welche unklare Struktur und unregelmäßige, atypische NF geben, immer deutliche Spuren von Degeneration, befinden sich oft in den peripheren Wurzelzellen und sind denen, deren Degeneration zweifellos ist, ganz gleich. Diese Stadien sind zusammengeschrumpft, ihre Kerne geben eine bräunliche, nicht elektive Nuclealreaktion, auch das Cytoplasma nimmt eine bräunlich-violette Färbung an. Meinen Beobachtungen nach erscheint eine solche Nuclealfärbung immer an den Objekten, welche vor der Fixation absterben. Auch in diesen Fällen kann man aber elektiv gefärbte Körner im Cytoplasma nicht auffinden. Halten wir also solche Stadien für chromidiale, so muß man auch die Stadien der klaren Degeneration als solche interpretieren, da kein sichtbarer Unterschied in ihrer NR vorhanden ist.

Die Nuclealreaktion gelingt sehr gut auch an den Metaphasen und Anaphasen der sporogenen Teilungen. Die Äquatorialplatten sehen von der Seite wie etwas körnige Streifen aus, von oben wie Scheiben. Also auch bei Sporenbildung erhält man elektive Kernfärbung, alle anderen Elemente bleiben farblos (Taf. 6 Fig. 7).

Trotz ihrer geringen Größe und der Anwesenheit von Zellmembranen gelingt es, eine schöne, elektive NF der Sporenkerne der *Plasmodiophora*, wo sie im optischen Schnitt ein Aussehen von Ringen haben, zu erhalten (vgl. Taf. 6 Fig. 4 und 1931 Taf. 3 Fig. 19).

Ich habe einige Fälle von Kernteilung in den infizierten Wirtszellen gefunden.

So sind die Kerne von *Plasmodiophora brassicae* nucleal, sie enthalten Thymonucleinsäure, deren Menge in einigen Stadien sehr gering ist und die zuweilen auch diffus verteilt ist, in anderen aber in kompakte Massen gesammelt ist. Die Verteilung der Thymonucleinsäure stimmt im ganzen mit der Verteilung des Chromatins, die mit anderen Methoden festgestellt war.

Olpidium brassicae (Woron.) Dangeard.

Dieser Parasit kommt, wie bekannt, in den peripheren Zellen derselben Kohlrabiwurzeln, wo auch *Plasmodiophora* parasitiert, vor. Es ist interessant, daß die Nuclealreaktion der Kerne in den verschiedenen Entwicklungsstadien von *Olpidium* viel intensiver ist als

¹⁾ Eine gute elektive NF ihrer Kerne beobachten wir öfters

bei der *Plasmodiophora*. Die Elektivität der Färbung ist völlig, zuweilen nur färben sich die Zoosporangienwände leicht (s. p. 149). Die Hydrolysedauer und die Wirkungsdauer von fuchsinschwefliger Säure sind dieselben wie bei *Plasmodiophora*.

Wie frühere Forscher, die mit *Olpidium*-Studien an fixierten Präparaten sich beschäftigten, habe ich auch die ersten Stadien dieses Parasiten konstatieren können. Sie sahen wie einkernige, später vielkernige Sphären aus; in diesen letzten (vgl. FAVORSKIJ, 1906, NĚMEC, 1912) enthalten die Kerne charakteristische linsenförmige Nucleolen und sind durch feine cytoplasmatische Fäden miteinander verbunden. Nach NAWASCHIN'S Fixierung und Färbung nach VOLKONSKY nimmt der Nucleolus eine rote, das Chromatin aber, das an der Kernperipherie gelegen ist, eine grüne Färbung an; das Cytoplasma färbt sich rosa und enthält grüne, denen bei *Plasmodiophora* ähnliche Körner. Nach NAWASCHIN'S Fixierung und CAJAL-Färbung sind die Nucleolen rot, das Chromatin blau-violett. Dieselbe Farbenverteilung findet auch an den Kernen der Wirtzellen statt. Bei Beobachtung von oben ist der Kern von *Olpidium* dem Kern von *Plasmodiophora* ähnlich, nur ist das Chromatinnetz bei *Olpidium* viel klarer. Nach NR-Anwendung ist der Nucleolus farblos, das zarte Chromatinnetz färbt sich schwächer als das Chromatin anderer Stadien, jedoch viel greller als im ruhenden Kern von *Plasmodiophora* (Taf. 6 Fig. 8). Cytoplasmakörner färben sich gar nicht, haben also nichts Gemeinschaftliches mit Chromatin.

Bei den weiteren Vergrößerungen der vegetativen Kugeln sind vielmals simultane Teilungsfiguren gefunden worden. Die Nuclealfärbung demonstriert hier die Äquatorialplatten (auch Anaphasen) als körnige, intensiv gefärbte, nicht regelmäßige Streifen (Taf. 6 Fig. 9), es ist mir nicht gelungen, einzelne Chromosomen zu unterscheiden. Ich bin geneigt, diese Teilungen als somatische zu betrachten. Dafür spricht folgendes: 1. Die Zahl der Teilungen ist meistens nicht groß und entspricht nicht der großen Sporenmenge im Zoosporangium, 2. die vegetative Kugel ist gewöhnlich arm an Cytoplasma und nicht groß, die Kerne sind weit voneinander entfernt, also wie in den typischen vegetativen Stadien des Parasiten, 3. die Kerne sind genügend groß.

Diese Teilungen sind wahrscheinlich mitotische (vgl. NĚMEC, 1912)¹⁾. In einem Falle konnte man Teilungsfiguren, die etwas

¹⁾ NĚMEC (1911) stellt auch bei *O. salicorniae* ähnliche Teilungsfiguren dar (Fig. 12 a); sie haben schwach ausgebildete Spindeln ohne Centriolen. Er konnte nicht entscheiden, ob sie vegetative oder generative Teilungen vorstellen (p. 7).

kleiner, aber in größerer Menge als gewöhnlich waren, beobachten.

KUSANO (l. c.) vermutet bei *Olpidium viciae* eine Protomitose während der vegetativen Periode und stellt ihre Stadien dar, obgleich es ihm nicht gelungen ist, echte Kreuzfiguren aufzudecken (p. 165—167). In späteren Stadien aber hat er charakteristische Mitosen beobachtet.

Nachdem es sich mit einer Membran, die nach NF oft eine violette Färbung annimmt, bekleidet und die Zahl seiner Kerne und die Cytoplasmamenge vergrößert hat, verwandelt sich das vegetative Stadium von *Olpidium* allmählich in ein Zoosporangium. NĚMEC vermutet hier mehr als eine bloße Teilung, da er Zoosporangien mit den Figuren der simultanen Teilung, die sich sogar in dem Entleerungsschlauche befanden, beobachtet hat. Es waren kleine Figuren, den Kreuzfiguren der Protomitose nicht ähnlich. Die Spindel war sehr schwach entwickelt, die Chromosomen nicht zu zählen.

Die ruhenden Kerne von *Olpidium brassicae* haben, wie gesagt, in vegetativen Stadien ein relativ blasses Chromatinnetz. Bei der Vorbereitung zur Reifung färben sich die Zoosporangiumkerne mit NF viel greller, in ihnen waren Körner, die an Prophasenfiguren von *Plasmodiophora* erinnern (Taf. 6 Fig. 10, 11), gut unterscheidbar¹⁾. Reife Zoosporangien öffnen sich mit einem Schlauche und entleeren ihren Inhalt nach außen oder in die Nachbarzellen (Textfig. 1, Taf. 6 Fig. 12)²⁾. Beim Anwenden von NR erhalten wir eine ganz elektive und sehr klare Färbung der Zoosporangiumkerne; bei gewöhnlichen Färbungsmethoden aber ist sein Inhalt sehr unklar. FAVORSKIJ (l. c.) sagt darüber folgendes: „Bei dieser Umwandlung (Zoosporenbildung) wird die Untersuchung des Baues des *Olpidium*s immer schwerer: der Nucleolus, der Kern, das Protoplasma unterscheiden sich immer weniger durch ihre Färbung, weswegen ihre früher so scharfen Konturen immer undeutlicher werden, die Lage des Nucleolus im Kern immer schwerer festzustellen ist, der Kern scheint ohne

SCHWARTZ und COOK (l. c.) sagen über die Teilungen bei der Zoosporangiumbildung von *O. radicale* folgendes: „The method of nuclear division is definitely mitotic, though the divisions often appear very irregular and suggest a kind of amitosis“ (p. 208). Siehe Taf. 14 Fig. 9. Zuweilen finden sie deutliche Chromosomen.

¹⁾ Nach NĚMEC (1912) sind sie grobkörnig bei der HEIDENHAIN-Färbung.

²⁾ WORONIN (1878), der diese Tatsache konstatiert hat, sieht in ihr einen Beweis dafür, daß der Entwicklungszyklus des Parasiten sich in den Wurzelzellen des Wirtes wiederholen kann. Die sekundäre Infektion der Nachbarzellen wurde auch von FAVORSKIJ (1906) an fixiertem Material konstatiert; NĚMEC hat ihn aber nicht gefunden (1912). .

Membran zu sein, indem er nur eine hellere Stelle im Protoplasma um den Nucleolus vorstellt (Taf. 6 Fig. 4). Im fertigen Zoosporangium erreicht diese Undeutlichkeit der Konturen und die Homogenität der Färbung ihr Maximum: der Kern ist sogar als klare Stelle um den Nucleolus nicht zu unterscheiden, im besten Falle ist statt des Nucleolus und des ganzen Kernes ein dunkler trüber Fleck in der Mitte jeder Zoospore (Taf. 6 Fig. 5) zu sehen. Das Protoplasma hat jetzt keine Vakuolen und sieht wie ein kompakter, sich färbender, körniger Klumpen aus“ (p. 162)¹⁾.

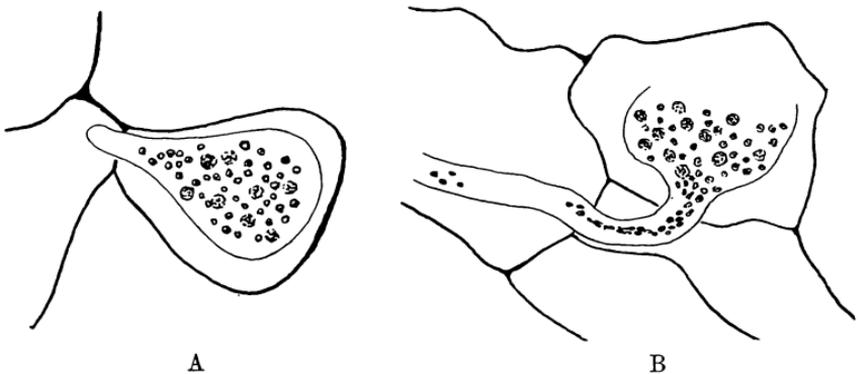


Fig. 1. Zoosporangien von *Olpidium brassicae*. A. Anfang der Schlauchbildung. B. Entleerung des Inhaltes in die Nachbarzelle. Kerndimorphismus. Nuclealreaktion. Vergrößerung $\times 700$.

Bei Färbung nach VOLKONSKY oder nach HEIDENHAIN sieht man an der Stelle der Kerne nur hellgrüne resp. graue Scheiben, die zuweilen ganz leer erscheinen, ein neues Beispiel des „kernlosen“ Stadiums für die Anhänger dieser Hypothese! An diesem Beispiel sieht man sehr deutlich den Vorzug der Nuclealfärbung bei Studium solcher Stadien.

Ich will hier noch einer Erscheinung erwähnen. Häufig erhalten die Zoosporangiumkerne verschiedenes Aussehen: die einen entsprechen mehr oder weniger den Spiremenstadien (siehe oben), sie sind groß, mit körnigem Inhalt, die anderen, die kleineren sehen als Ringe oder kompakte Klümpchen (Textfig. 1, Taf. 6 Fig. 12) aus. Aller Wahrscheinlichkeit nach haben wir es hier mit der Zoosporenbildung zu tun, denn die kleineren Kerne entsprechen der Größe und dem Charakter nach den Zoosporenkernen, es sind nur sie, nicht aber die großen Kerne, die in den Schlauch übergehen und sich also später als diese größeren und wahrscheinlich auf ihre Kosten bilden. Die wahrscheinlichste Erklärung dieses Kerndimorphismus wäre, daß die

¹⁾ Aus dem Russischen übersetzt.

größeren Kerne Prophasen der generativen Teilung darstellen, die kleineren Zoosporenkerne. In diesem Falle müßten wir zulassen, daß die Kerne sich nicht durch simultane, sondern durch sukzedane Teilung bilden (ein Teil der Kerne verspätet sich mit der Teilung oder teilt sich gar nicht?) und daß die sich bildenden Zoosporen allmählich in den Schlauch des Zoosporangiums eintreten.

Auch andere Vermutungen, z. B. Degeneration einiger Zoosporangiumskerne usw. sind möglich. Jedenfalls halte ich es nicht für überflüssig auf diese vielleicht zufällige Erscheinung hinzuweisen.

Außer den schon beschriebenen Stadien kommen oft noch andere, die an Taf. 6 Fig. 13 dargestellt sind, vor. In diesen Stadien stellen Kerne im optischen Schnitt elektiv und gut gefärbte Ringe vor, bei stärkerer Vergrößerung sind in ihnen oft charakteristische Querlamellen von Chromatin sichtbar. Wahrscheinlich sind es Kerne noch nicht ganz reifer Zoosporen, ihre Form ist den Sporenkernen von *Plasmodiophora* ähnlich (Taf. 6 Fig. 4). Nach KUSANO (l. c., p. 173) sind solche Kerne in den Dauersporangien und in den Zoosporangien vor der Sporenbildung ähnlich (vgl. Taf. 17 Fig. 35 und Taf. 16 Fig. 18, 20). Diese Stadien befinden sich oft in den Zellen an der äußersten Peripherie der Wurzel, in seltenen Fällen wurden auch Entleerungsschläuche gefunden. Ich habe hier keinen Kerndimorphismus, wie oben gefunden. Die Zoosporen, die sich hier bilden, haben nach der Fixierung von NAWASCHIN und nach CAJAL'S Färbung Kerne mit blau-grünlichem Chromatin an der Peripherie und einen roten Nucleolus. Das sie umgrenzende Cytoplasma teilt sich in polygonale, später rundliche Partien (Textfig. 2 D, B, C)¹). Ihre Bildung entspricht im ganzen der Zoosporenbildung, die KUSANO für *Olpidium viciae* (Taf. 16 Fig. 18, 20, 21, 25, 26) beschreibt: „In the nucleus of the zoospore we can recognize small chromatin granules along the nuclear membrane, but no prominent nucleolus (pl. 16 figs. 25, 26). A large chromatin²) nucleolus found in the youngest fungus in the host-cell is evidently formed by the condensation of these granules into a mass²) (pl. 16 fig. 1—6)“ (p. 168).

¹) Vielleicht ist es möglich, auch anders diese Bilder zu erklären, so z. B. als ein Dauersporangium (ein von KUSANO [Taf. 17 Fig. 35] abgebildeter Typus) mit Zoosporen oder als Isogametenbehälter oder endlich als Zoosporangium einer anderen *Olpidium*-Art usw.

SCHWARTZ und COOK (l. c.) nehmen für *O. radicale* die Bildung der dünn- und dickwandigen Zoosporangien an. Die letzten bilden sich durch Copulieren ungleicher Gameten (sog. „Sporangien“), die ersten bilden sich aus dem „Sporangium“ auf ungeschlechtliche Weise.

²) Von mir gesperrt.

Für *Olpidium brassicae* ist das letzte aber nicht der Fall, da eine differentielle Färbung uns in den Kernen der vegetativen Stadien des Parasiten und in den Zoosporen (auch in Zoosporangien) Chromatin und Nucleolen gut unterscheiden läßt. Die Nuclealfärbung beweist außerdem, daß der Nucleolus in keinem Entwicklungsstadium von *Olpidium* Thymonucleinsäure enthält. In leeren Wurzelzellen von Kohlrabi wurden auch bald einzelne, bald eng aneinanderliegende Zoosporen, ja sogar bisquitförmige Formen, die wahrscheinlich auf ihre Copulation deuten, gefunden (Textfig. 2 A). Nach der Nuclealreaktion färben sich auch einzeln liegende oder eng aneinander gedrängte Ringe (Kerne), was auch zugunsten der Copulation spricht (Taf. 6 Fig. 14). Die Zoosporencopulation bei *Olpidium brassicae*

hat NĚMEC (1920) in vivo beobachtet, sowohl in Bewegungs- wie auch in Amöbenstadien. In abgestorbenen Zellen der Wurzelrinde fand er auch Zoosporen, sie copulieren aber nicht, obgleich sie oft sich aneinander anlegen. KUSANO hat bei *Olpidium viciae* bei aus ein und demselben Zoosporangium abstammenden Zoosporen Copulation

gefunden. Diese beiden Forscher nehmen an, daß copulierende Zoosporen sich in ein Zygosporangium (Dauercyste, resting sporangium), das von neuem Zoosporen erzeugt, umwandeln, während nicht copulierte Zoosporen gewöhnliche Zoosporangien geben. In unserem Falle ist es schwer zu behaupten, daß wir es hier mit Zoosporencopulation gerade dieser *Olpidium*-Art zu tun haben, da es unzweifelhaft ist, daß in einer und derselben Wurzel auch andere *Olpidium*-Arten vorhanden sein können. Dasselbe betrifft auch Cysten, Sporangien und andere Stadien: „Vorsicht verlangt auch die Deutung der Zusammengehörigkeit der in derselben Nährpflanze vorkommenden Sporangien und Dauersporen, da nicht selten dieselbe Nährzelle von mehreren Parasiten bewohnt wird.“

„. . . ebenso können Zwergexemplare von Ancylistineen ganz den Eindruck einer *Olpidium*-Art machen“ (v. MINDEN, 1925, p. 235).

Auch Cysten wurden gefunden. Die Nuclealreaktion läßt uns in ihnen zuweilen zwei Kerne unterscheiden (Taf. 6 Fig. 15). Ge-

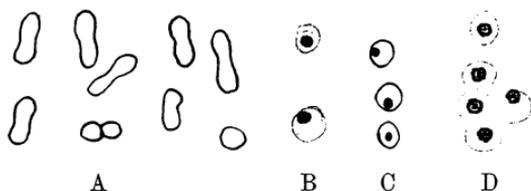


Fig. 2. *Olpidium brassicae*. Vergrößerung $\times 1450$. Etwas schematisiert. HEIDENHAIN. A. Copulation der Zoosporen (?) in einer abgestorbenen Wurzelrinde. Die Cilien sind schwach unterscheidbar und daher nicht abgebildet. B. In der Wirtszelle frei liegende Zoosporen. C. Nicht ganz reife Zoosporen. D. Zoosporen aus einem Zoosporangium.

wöhnliche Färbungsmethoden geben wegen dunkler, körniger Färbung des Cysteninhaltes nicht die Möglichkeit, seine Struktur zu erkennen. NĚMEC (1911) hat bei *Olpidium salicorniae* als erster gefunden, daß Cysten zweikernig sind, und daß diese Kerne verschmelzen können. Auf Grund dessen schließt er, daß Cysten sich auf geschlechtliche Weise bilden. KUSANO (1912) hat dasgleiche für *Olpidium viciae* bestätigt. Zweikernige Cysten bei *Olpidium brassicae* hat NĚMEC schon im Jahre 1917 beobachtet. NĚMEC fand bei *Olpidium brassicae* meistens einkernige Cysten: „Seltener fand ich in abgestorbenen Wurzelteilen vielkernige (Taf. 1 Fig. 16), die sich offenbar zur Bildung von Zoosporen anschickten“ (p. 4—5). Sehr gut ausgeprägte Cysten hat O. MAŠTÁLKA in großer Zahl bei der von ihm neu entdeckten Art *Olpidium potentillae*, die in Wurzeln von *Potentilla anserina* parasitiert, gefunden¹⁾.

Ich bin einer verschiedenen Zahl von Kernen in den Cysten begegnet, bin aber geneigt, viele von diesen Gebilden nicht für Stadien weiterer Cystenentwicklung, sondern für encystierte, bei ungünstigen äußeren Bedingungen verschiedene, auch vegetative, Entwicklungsstadien des Parasiten zu halten. Ich habe vielfach solche Cysten in den Wurzelzellen von Kohlrabi in der Nähe von Invasionsorten der Bakterien gefunden. Auch in ihnen gibt die Nuclealreaktion eine gute elektive Färbung der Kerne, während gewöhnliche Methoden nur unklare Kernumrisse oder nur trüben Inhalt in ihnen unterscheiden lassen²⁾. Nach der Nuclealreaktion sind in den mit dicken Wänden versehenen Cysten oft Kerne, als körnige Ringe gut sichtbar.

KUSANO (1912) findet ein Chromidialstadium in Dauersporangien von *Olpidium viciae*. SCHWARTZ und COOK (1928) erwähnen für *Olpidium radicale* den Ausgang von bedeutenden Chromatinmengen aus dem Kern in das Cytoplasma der Zygoten und der Sporangien (Taf. 14 Fig. 10, 19; Taf. 15 Fig. 1, 2, 14). Diese letzten Autoren benutzen aber für die kritische Schätzung dieser Stadien Präparate, die nur mit HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin gefärbt wurden (p. 206).

Bei *Olpidium brassicae* habe ich auch kein kernloses oder chromidiales Stadium entdeckt. Im Gegenteil sind, besonders in der

¹⁾ Mündliche Mitteilung.

²⁾ Eine von uns beobachtete schwache violette Färbung der dicken Cystenwand, wie auch eine gleiche Färbung bei einigen Amöben, die VOLKONSKY (1931, p. 327—328) dem Vorhandensein von Thymonucleinsäure zuschreibt, bin ich geneigt als eine, durch Adsorption und Zersetzung des Reagens in der Cellulosewand entstandene Pseudoreaktion oder als eine Aldehydreaktion anzusehen (vgl. ähnliches bei Gefäßmembranen).

Nähe der Beschädigungsstellen der Wurzel, verschiedene absterbende oder schon abgestorbene *Olpidium*-Stadien nicht selten. Die NR färbt sie nicht elektiv und nicht charakteristisch, die Kerne in ihnen degenerieren (vgl. FAVORSKIJ, l. c., p. 161).

Zusammenfassung.

1. Die Kerne der Myxomyceten sind nucleal, ihr Cytoplasma enthält keine anderen Nuclealgebilde. In den ruhenden Kernen von Plasmodien und Microcysten ist das Caryosom anucleal, die Thymonucleinsäure ist an der Kernperipherie (Außenkern) lokalisiert.

2. Die Kerne von *Olpidium brassicae* WORON. sind in allen Stadien der intracellularen Entwicklung des Parasiten nucleal. In den ruhenden Kernen ist das Caryosom (Nucleolus) anucleal, die Thymonucleinsäure ist an der Kernperipherie (besonders in den Zoosporen) lokalisiert.

3. Die Nuclealreaktion bestätigt die durch andere Methoden festgestellte Verteilung des Chromatins in verschiedenen Stadien der intracellularen Entwicklung der *Plasmodiophora brassicae* WORON. In den ruhenden Kernen ist die Thymonucleinsäure wahrscheinlich hauptsächlich an der Kernperipherie lokalisiert, das Caryosom ist anucleal.

4. Ruhende Kerne von Myxomyceten, *Olpidium* und *Plasmodiophora* weisen eine prinzipiell ähnliche Verteilung der nuclealen und anuclealen Stoffe auf. Diese Verteilung ist der vieler Rhizopoden, Flagellaten und Sporozoen ähnlich: das Caryosom (Nucleolus) enthält keine Thymonucleinsäure, das Chromatin ist hauptsächlich an der Kernperipherie gesammelt.

5. Die Nuclealreaktion bestätigt nicht die Anwesenheit eines „Chromidialstadiums“ bei irgendwelchem von den obenerwähnten Organismen.

6. Die an den niederen Vertretern des Pflanzenreiches erhaltenen Resultate stehen mit der FEULGEN'schen Hypothese, gemäß welcher die Kerne der niederen Organismen anucleal sind, im Widerspruch.

Literaturverzeichnis.

- BOGDANOWICZ, A. (1930): Ergebnisse mit der Nuclealfärbung bei einigen Rhizopoden. Zeitschr. f. Zellforsch. u. mikr. Anat. Bd. 10 H. 3 p. 471—480.
 CZAPEK, FR. (1899): H.-S. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 27 p. 141.
 FAVORSKIJ, W. (1906): Nouvelle recherche sur le développement et la cytologie du Plasmodiophora brassicae WORON. (russisch mit franz. Résumé). Mémoires d. l. Soc. d. Natural. de Kieff T. 20 p. 149—183.

- FEULGEN, R. (1926): Die Nuclealfärbung. *ABDERH. Handb. d. biol. Arbeitsmeth.* Abt. 5 Bd. 2 Lief. 213 p. 1055—1073.
- FEULGEN-BRAUNS, F. (1924): Untersuchungen über die Nuclealfärbung. *Pflüg. Arch. f. d. ges. Physiol.* Bd. 203 p. 415—435.
- FUCHS, W. (1926): Die Chemie des Lignins. Berlin.
- HARPER, R. (1900): Cell and nuclear division in *Fuligo varians*. *Bot. Gaz.* Vol. 30 p. 217—251.
- HARPER, R., and DODGE, B. (1914): The formation of the capillitium in certain Myxomycetes. *Ann. of Bot.* Vol. 28 p. 1—18.
- HOWARD, F. (1931): The life history of *Physarum polycephalum*. *Amer. Journ. of Bot.* Vol. 18 No. 2 p. 116—133.
- JÍROVEC, O. (1927): Protozoenstudien. II. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 59 p. 550—561.
- KAVINA, K. (1932): Anatomie dřeva. Praha.
- KIESEL, A. (1925): Untersuchungen über Protoplasma. I. Über die chemischen Bestandteile des Plasmodiums von *Reticularia epidendron*. *Zeitschr. f. physiol. Chemie* Bd. 150 p. 149.
- KIESEL, A. (1929): Die Plasmodien der Myxomyceten als Objekt der chemischen Protoplasmauntersuchung. *Protoplasma* Bd. 6 p. 332.
- (1930): Chemie des Protoplasmas. *Protoplasma-Monographien* Bd. 4. Berlin.
- KOHL, F. (1903): Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle. Jena.
- KUSANO, S. (1912): On the Life-History and Cytology of a new *Olpidium* with special Reference to the Copulation of motile Isogametes. *Journ. of the College of Agriculture Imp. Univ. of Tokyo* Vol. 4 No. 3 p. 141—199.
- LEWITSKY, G. (1924): Über die Chondriosomen bei den Myxomyceten. *Zeitschr. f. Bot.* Bd. 16 p. 65—89.
- MAIRE, R., et TISON, A. (1909): La cytologie des Ptasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae. *Ann. Mycol.* T. 7 p. 226—253.
- (1911): Nouvelles recherches sur les Plasmodiophoracées. *Ibid.* T. 9 p. 226—246.
- MILOVIDOV, P. (1931): Cytologische Untersuchungen an *Plasmodiophora brassicae* WORON. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 73 H. 1 p. 1—46.
- MILOVIDOV, P. (1932): La réaction nucléale chez quelques végétaux inférieurs. *Compt. rend. d. séan. d. l. soc. d. biol.* T. 109 p. 170.
- (1932a): Einfluß von Wasser hoher Temperatur auf den Kern der Pflanzenzellen im Lichte der Nuclearreaktion. (Beitrag zur physikalischen Chemie des Zellkernes). *Protoplasma* Bd. 17 p. 32—88.
- v. MINDEN, M. (1915): Chytridineae (In *Kryptogamenflora der Mark Brandenburg*). Bd. 5. Leipzig.
- NĚMEC, B. (1911): Zur Kenntnis der niederen Pilze. I. Eine neue Chytridiacee. *Bull. Int. Acad. Sc. de Bohême* T. 16 p. 1—19.
- (1911): Zur Kenntnis der niederen Pilze. III. *Olpidium salicorniae* n. sp. *Ibid.* p. 1—9.
- (1912): Zur Kenntnis der niederen Pilze. IV. *Olpidium brassicae* WORON. und zwei Entophlyctisarten. *Ibid.* T. 17 p. 1—11.

- NĚMECK, B. (1922): O pohlavnosti u. *Olpidium brassicae*. Sborník klubu přírod. v. Praze 1920 p. 1—3.
- REICHENOW, E. (1928): Ergebnisse mit der Nuclealfärbung bei Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 61 p. 144—166.
- ROSEN, F.: Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenzellen. II. Studien über die Kerne und die Membranbildung bei Myxomyceten und Pilzen. Beitr. z. Biol. d. Pflanzen Bd. 6 p. 245.
- v. SCHUCKMANN, W. (1926): Über eine aus dem Darm eines Meerschweinchens gezüchtete Amöbe. Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 57 p. 801.
- SCHWARTZ, E., and COOK, W. (1928): The life-history and cytology of a new species of *Olpidium*: *Olpidium radicale* sp. nov. Trans. of the british mycol. soc. Vol. 13 p. 205—221.
- SKUPIENSKI, F. (1928): Étude bio-cytologique du *Didymium difforme*. Acta soc. bot. Polon T. 5 No. 3 p. 255—336.
- STRASBURGER, E. und KOERNICKE, M. (1921): Das Botanische Praktikum Jena 6. Aufl.
- TERBY, J. (1923): L'origine du blépharoplaste chez le *Plasmodiophora brassicae* WORON. Bull. Soc. Roy. Bot. de Belgique T. 56 p. 1—3.
- (1924): Les divisions sporogoniques du *Plasmodiophora brassicae* WORON. Bull. Acad. Roy. de Belgique p. 519—537.
- (1924): La division somatique du *Plasmodiophora brassicae* WORON. Mém. Acad. Roy. de Belgique T. 7 p. 1—28.
- (1932): La „promitose“ des organismes inférieurs peut-elle être considérée comme un cas particulier de la mitose des plantes supérieures? Étude du *Plasmodiophora brassicae*. Ibid. T. 11 p. 1—20.
- VOLKONSKY, M. (1931): *Hartmanella Castellani* Douglas et classification des Hartmanelles. Arch. d. Zool. expér. et génér. T. 72 p. 317—339.
- WAGER, H. (1904): The Nucleolus and Nuclear Division in the Root-Apex of *Phaseolus*. Ann. of Bot. Vol. 18 No. 2.
- WORONIN, M. (1878): *Plasmodiophora brassicae*, Urheber der Kohlpflanzen-Hernie. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 11 p. 548—574.

Tafelerklärung.

Tafel 5 u. 6.

Tafel 5.

Vergrößerung $\times 1900$, G—P: $\times 1450$.

Die Paare AA¹, BB¹, PP¹ sind mit Hilfe des ABBÉ'schen Zeichenapparates von einer und derselben, genau mit Nonien des Kreuztisches aufgestellten, Stelle des Präparates gezeichnet (s. im Text).

A und B: Ruhende Kerne aus Plasmodium von *Fuligo septica* (L.) nach Färbung mit Eisenhämatoxylin. Kerninhalt in hellem Raum mit scharfen Konturen. Nucleolus tief gefärbt.

Fig. A¹ und B¹. Dieselben Plasmodiumkerne nach Entfärbung des Präparates und Nuclealfärbung-Durchführung. Nucleolen farblos, Thymonucleinsäure an der Kernperipherie gesammelt.

Fig. C. Sporenbildung einer näher nicht definierten Myxomycetenart. HEIDENHAIN.

Fig. D. Typische große ruhende Kerne aus Plasmodium von *Fuligo septica*. HEIDENHAIN.

Fig. E. Wie C, nach Nuclealreaktion.

Fig. E¹. Wie E; die Kerne sind deformiert. Nuclealreaktion.

Fig. E². Wie C. Reife Sporen nach Nuclealreaktion. Bräunliche Färbung ihrer skulpturierten Membranen ist nicht angewiesen.

Fig. F². Von Bakterien umringte Microcysten von *Didymium difforme* nach Nuclealreaktion.

Fig. F. Junge Myxamöben, die von kurzem aus Microcysten herausgekrochen sind. Nuclealreaktion.

Fig. F¹. Junge Myxamöben mit den deformierten Kernen. Nuclealreaktion.

Fig. G. *Plasmodiophora brassicae*. Ruhende Kerne vor der vegetativen Teilung aus einer Amöbe nach Umfärbung im Eisenhämatoxylin.

Fig. G¹. *Plasmodiophora brassicae*. Anaphasenfiguren aus einer gleichen Amöbe.

Fig. P¹. Kerne aus einer Amöbe von *Plasmodiophora brassicae* nach Nuclealfärbung. Nur die schwach gefärbten Kernperipherien sind sichtbar.

Fig. P. Dieselben Kerne nach Umfärbung in Eisenhämatoxylin.

Tafel 6.

Alle Figuren sind mit Hilfe des ABBÉ'schen Zeichenapparates von ZEISS auf der Höhe des Präparates gezeichnet. Tubuslänge 160 mm. Obj. Apochr. 1,5 mm ZEISS, Oc.: ZEISS Comp. 2 u. 8. Vergr.: Fig. 1—7, 14, 16 und Nebenfiguren 10 u. 12 \times 1450, andere \times 700. Fixierung SE oder 96 proz. Alkohol (Fig. 1). Nuclealfärbung. Tageslicht. Die Konturen sind mit Bleistift der Klarheit wegen sehr verstärkt.

Plasmodiophora brassicae WORON.

Fig. 1. Metaphasen der vegetativen Kernteilung in einer jungen Amöbe. Nur die Chromatinringe sind deutlich sichtbar, nebenbei ist der Kern der Wirtzelle.

Fig. 2. Anaphasen einer gleichen Teilung: Auseinanderweichen der Tochterringe.

Fig. 3. Spätere Anaphasen einer gleichen Teilung. Die entsprechenden Tochterringe von jedem Paar sind nicht überall bezeichnet.

Fig. 4. Sporenkerne.

Fig. 5. Prophasenknäueln der sporogenen Teilungen.

Fig. 6. Prophasen der vegetativen Kernteilung. Ringenbildung.

Fig. 7. Metaphasen der sporogenen Teilungen. Äquatorialplatten von oben und von der Seite.

Oplidium brassicae (WORON.) DANGEARD.

Fig. 8. Vegetatives Stadium des Parasiten mit den ruhenden Kernen.

Fig. 9. Teilungen während vegetativem Wachstumsstadium. Äquatorialplatte.

Fig. 10. Anfang der Zoosporangiumbildung. Prophasen(?). Unten sind dieselben Kerne bei stärkerer Vergrößerung dargestellt.

Fig. 11. Junges Sporangium mit zwei Kerntypen.

Fig. 12. Reifes, sich in die Wurzelrindenzelle von *Brassica oleracea* mit einem Schlauch öffnendes Zoosporangium. Kerndimorphismus. Oben sind Kerne von beiden Typen bei stärkerer Vergrößerung dargestellt.

Fig. 13. Zoosporenbildung (Isogameten?) im Zoosporangium. Unten sind Kerne bei stärkerer Vergrößerung (ca. 1500).

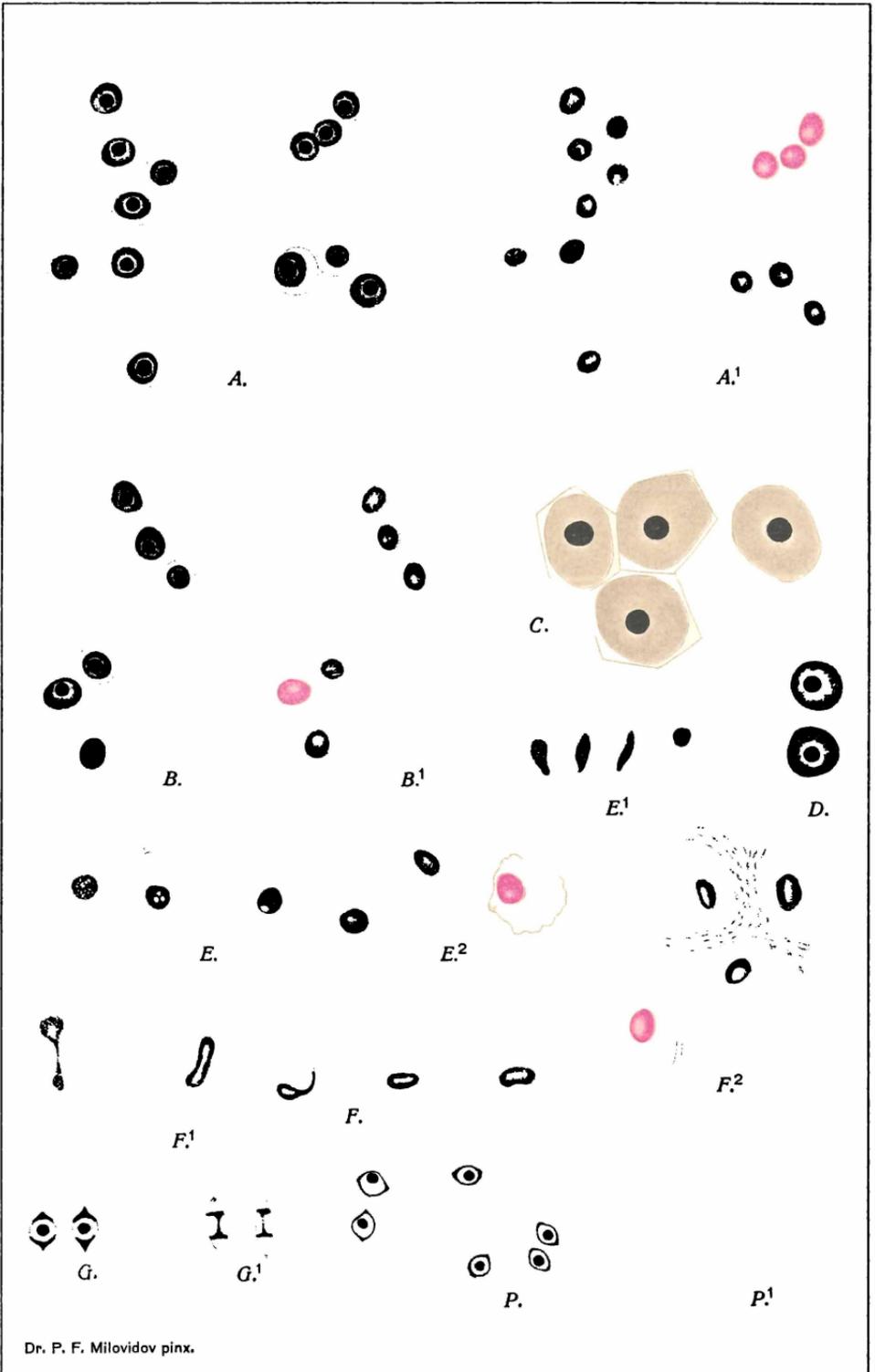
Fig. 14. Zoosporenkerne aus Wurzelrindenzelle, einige liegen sehr nahe aneinander. Copulation(?).

Fig. 15. Zweikernige Cyste.

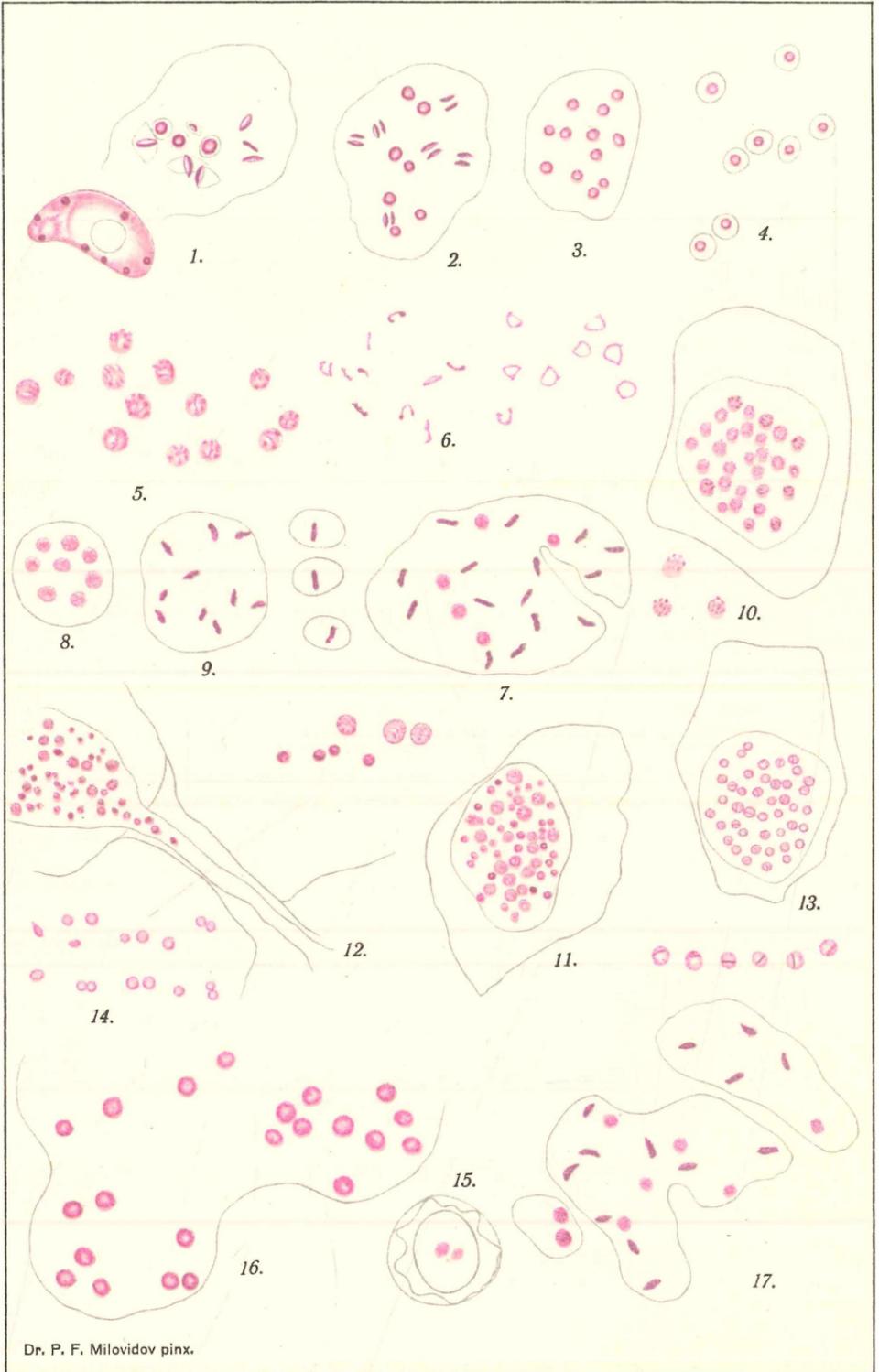
Myxomyceten.

Fig. 16. Junge ruhende Kerne des Plasmodiums von *Fuligo septica*. Thymonucleinsäure ist an der Kernperipherie verteilt, Caryosom farblos.

Fig. 17. Metaphasen der sporogenen Teilung im Plasmodium von *Didymium nigripes*.



Dr. P. F. Milovidov pinx.



Dr. P. F. Milovidov pinx.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1934

Band/Volume: [81_1934](#)

Autor(en)/Author(s): Milovidov P.F.

Artikel/Article: [Ergebnisse mit Nuclealfärbung bei einigen niederen Pflanzen. 138-165](#)