

Über das Verhalten der Diatomeen in hyper- und hypotonischen Medien¹⁾.

Von

Luise Bauer (Gießen).

Mit 6 Abbildungen im Text.

Vor ungefähr 10 Jahren hat CHOLNOKY eine Mitteilung über die Wirkung hyper- und hypotonischer Lösungen auf das lebende Protoplasma der Diatomeenzellen veröffentlicht (1928). Er bezeichnet sein Arbeitsgebiet als ein neues, bisher fast unbeachtet gebliebenes Kapitel der Zellenforschung und findet in der Diatomeenflora salzreicher Binnenseen ein für seine Untersuchungen ausgezeichnet geeignetes Material. 2 Jahre später hat CHOLNOKY eine Reihe neuer Ergebnisse über dasselbe Thema veröffentlicht (1930).

Trotz den großen Fortschritten, die inzwischen die Erforschung der osmotischen Qualitäten und der Plasmolysephysiologie der Organismen gemacht hat, ist auch heute das Verhalten der Diatomeen in hyper- und hypotonischen Lösungen noch ungenügend erforscht geblieben; andererseits haben gerade Forscher der letzten Jahre von neuem auf die grundsätzlich bedeutungsvollen Fragen hingewiesen, die mit dem osmotischen Verhalten des Diatomeenzellenmaterials im Zusammenhang stehen.

Es geschah auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. E. KÜSTER in Gießen, wenn ich mich mit meinen Untersuchungen einigen Fragen der hier angedeuteten Forschungsrichtung zuwandte. Ein Aufenthalt an der Biologischen Forschungsanstalt in Hiddensee im Sommer 1937

¹⁾ Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Ludwigs-Universität zu Gießen.

gab Anlaß dazu, einige marine Diatomeen der deutschen Flora auf ihr osmotisches Verhalten zu prüfen. Das Material, mit dem ich an der Ostsee meine Beobachtungen beginnen konnte, wurde später durch Diatomeenproben anderer Herkunft ergänzt.

Material.

Weitaus die Mehrzahl meiner Versuche wurden mit Proben folgender Diatomeenarten ausgeführt:

1. *Pleurosigma elongatum*. Das Material entstammt einer Kultur des Herrn Professor KÜSTER und wurde mir von diesem freundlichst überlassen; die in ihr enthaltenen Pleurosigmen entstammen dem Wattenschlick des Nordseebades Büsum und werden bereits seit 3 Jahren im Gießener Institut im Originalwasser, das bei dem hohen Alter der Kultur an Konzentration erheblich gewonnen hat, kultiviert.

2. *Nitzschia putrida*. Diese farblose Art gewann ich von *Fucus serratus*, der den Sendungen der Biologischen Anstalt zu Helgoland entstammte, und kultivierte ich auf *Fucus*-Extrakt und auf 2 proz. Meerwasseragar. Wie bekannt (O. RICHTER, 1906, 1909; KÜSTER, 1907) gedeihen genannte farblose Diatomeen selbst auf nährstoffarmen Böden ausgezeichnet.

3. *Synedra Gaillonii*,

4. *Synedra affinis*,

5. *Rhabdonema minutum*,

6. *Grammatophora marina* und

7. *Amphipleura rutilans*,

standen mir reichlich zur Verfügung. Ich verdanke auch diese den Sendungen der Biologischen Anstalt zu Helgoland.

8. *Achnanthes longipes* konnte ich in Hiddensee bei einem Aufenthalt an der dortigen Biologischen Forschungsanstalt sammeln, oder sie wurden mir später durch die Güte des Herrn Dr. HOLDHEIDE mit mehreren Sendungen der Hiddenseer Station zugänglich gemacht.

Methode.

Als Plasmolytika verwandte ich den Formen der Ostsee gegenüber (0,7 Proz. Salzgehalt) frisches Nordseemeerwasser („MW“, ca. 4 Proz.), ferner Nordseewasser, das auf die Hälfte seines Volumens eingengt worden war („2 MW“), sowie 12 proz. Lösung des Bad Nauheimer Badesalzes; ferner kamen zur Verwendung verschieden konzentrierte Lösungen von Rohrzucker in Süßwasser oder Meerwasser.

Hypotonische Lösungen wurden durch Verdünnen von Meerwasser gewonnen.

Als Kulturmedium diente Meerwasseragar, gelegentlich *Fucus*-Extrakt, das ich durch Kochen getrockneter *Fucus*-Thalli in Wasser gewonnen hatte.

Ergebnisse.

I. Plasmolyseform.

Plasmolyse erreicht man am schönsten wohl dann, wenn man das Wasser, in dem die Diatomeen zur Untersuchung unter das Mikroskop gebracht worden sind, während der Beobachtung langsam verdunsten läßt; minder schonend scheint die Anwendung hyper-tonischer Mittel zu sein, durch deren Zusatz man unter dem Deckglas das ursprüngliche schwächer konzentrierte Medium verdrängt.

In hypertonischen Medien hebt sich das Protoplasma stellenweise von der Wand der Diatomeen ab. Man macht bei der Durchsicht der Präparate sehr bald mit dem Umstand Bekanntschaft, daß die Diatomeenzellen ein- und derselben Kultur und Spezies hinsichtlich der Plasmolyseform sich sehr verschieden verhalten können. CHOLNOKY hat (1928, 454 ff.) an *Stauroneis spicula* die bei dem Eintrocknen der Medien entstehenden Plasmolyseformen mit zahlreichen Abbildungen erläutert. Von meinen Objekten entspricht *Pleurosigma elongatum* in mancher Beziehung am besten der von CHOLNOKY bevorzugten *Stauroneis*. Ich will daher meine Schilderungen mit *Pleurosigma* beginnen, umsomehr, als die Größe seiner Zellen (220—280 μ) die Beobachtungen mancher Einzelheiten erleichtert. Als Übelstand kommt freilich meinem *Pleurosigmamaterial* gegenüber der Umstand in Betracht, daß in der vieljährigen Kultur, der ich es entnahm, die Salzlösung an Konzentration sehr gewonnen hatte, die Zellen in dem hochkonzentrierten Medium zwar noch normale Struktur behalten, aber ihren osmotischen Druck so stark erhöht hatten, daß KNO_3 -Lösung von n-Konzentration noch nicht ausreichte, um Plasmolyse hervorzurufen.

Bedient man sich Zuckerlösungen (z. B. MW + 25 proz. Rohrzucker oder MW + n-Rohrzucker), so kann man starke plasmolytische Kontraktionen beobachten, da mit jenen ein Medium vorliegt, das das lebende Protoplasma nicht so gut zu durchwandern vermag. Von der Permeabilität unserer Objekte wird später zu sprechen sein.

Die an *Pleurosigma* beobachteten Plasmolyseformen sind sehr mannigfaltig und wiederholen im wesentlichen das, was CHOLNOKY über die von *Stauroneis* mitgeteilt hat: Viele Zellen lassen das Proto-

plasma von der Spitze der Zelle zurücktreten; in vielen anderen weicht es nur an den Längsflanken der Zelle in weitem Bogen zurück.

CHOLNOKY stellt Betrachtungen darüber an, daß das Protoplasma der Diatomeenzellen sich sehr viel leichter von den pleuralen Schalenanteilen als von den valvalen ablöst. Den genannten Autor finden wir namentlich 1930 in seiner zweiten Abhandlung geneigt, alle Einzelheiten der Plasmolyseformen auf unterschiedliche Viskosität des Protoplasmas zurückzuführen.

Man vergleiche die untenstehenden Schemata (Abb. 1).

Eckenplasmolyse (a, b) scheint nicht einzutreten, — so äußert sich auch CHOLNOKY; bei c ist eine Plasmolyse dargestellt, bei der nur die pleurale Seite der Wände vom Protoplasma verlassen worden ist; das entspräche wohl CHOLNOKYS Auffassung von den beobachteten Plasmolyseformen. Kontraktionen, wie die bei c dargestellten, sind nun freilich bei Pflanzenzellen nicht selten (vgl. z. B. KÜSTER, 1929, 19); jedoch scheint es mir fraglich, ob

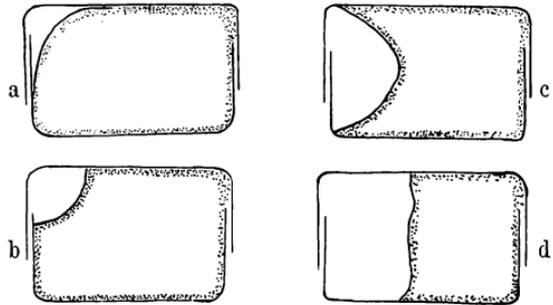


Abb. 1 a—d.

bei den von mir studierten Pleurosigmen von einer solchen Plasmolyseform gesprochen werden darf. Überall da, wo bei meinen Objekten das Protoplasma die pleuralen Wände streckenweise verlassen hatte, waren auch die valvalen Anteile leer, so daß ich annehmen muß, daß die Kontraktion so erfolgt ist, wie es bei d dargestellt ist. CHOLNOKY bildet Plasmolyseformen ab, bei welchen das Protoplasma in spitzen Winkeln auf die Membran stößt; solche Formen sind auch mir bei *Pleurosigma* täglich begegnet; wir müssen aus ihnen schließen, daß das Protoplasma fest an der Membran haftet. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß die Zahl der Stellen, an welchen sich das Protoplasma von den Wänden abhebt, bei *Stauroneis* (CHOLNOKY) wie bei *Pleurosigma* meist gering bleibt; mit anderen Worten: der Vergrößerung der zwischen Plasma und Wand liegenden leeren Räume stehen geringere Hemmungen im Wege als der Neubildung ebensolcher leerer Räume. Man findet nicht selten Zellen, welche von einer Stelle aus gleichsam ausgehöhlt erscheinen. Da die Plastiden von den sich ausdehnenden plasmafreien Räumen zurückgedrängt werden, müssen wir annehmen, daß an den valvalen

Wänden kein Plasma mehr liegen bleibt, in welchem ihrerseits die Plastiden ihren Platz behalten könnten. CHOLNOKY meint, daß die bekannten Struktureigentümlichkeiten der Schalen, ihre Unebenheit usw. das Plasma besonders fest an ihnen haften ließen. Wir wissen indessen seit HECHT (1912), daß die Plasmolyse im allgemeinen keine glatte Ablösung des Protoplasmas bedeutet, sondern ein Abreißen unter Hinterlassung zahlreicher, an der Wand verbleibender Plasmatröpfchen. Wie es in diesem Punkt mit den Diatomeenzellen stehen mag, bedarf der näheren Untersuchung. HECHTSche Fäden sind mir niemals aufgefallen; nur gelegentlich sieht man das Protoplasma mit starken Strängen mit der Wand verbunden bleiben. Auch CHOLNOKY hat dergleichen beobachtet.

Großen Einfluß auf die Plasmolyseform hat bei *Pleurosigma* die Rhaphe. CHOLNOKYS Beobachtungen kann ich bestätigen: Die Rhaphe wird zur Grenze des sich kontrahierenden Protoplasmas, bzw. des zwischen ihm und der Membran liegenden freien Raumes; wenn beim Fortschreiten der Protoplasmakontraktion dieser sich mehr und mehr ausdehnt, so wird schließlich seine weitere Vergrößerung in der Zellenbreite durch die Rhaphe verhindert, so daß er sich nur noch in der Richtung parallel zur Rhaphe ausdehnt.

Die Umrißlinien der Pleurosigmenzelle sind leicht konkav und konvex geschwungen. Zuweilen werden, wenn das Protoplasma an den Polen von der Membran zurücktritt, Plasmolyseformen sichtbar, welche direkt oder indirekt von den geschweiften Umrißformen der Zelle beeinflußt werden: an der konvexen Seite bleibt das Protoplasma auf weitere Strecken an der Membran haften als an der schwach konkaven. Wie weit hierbei die Plastiden mitsprechen, kann ich nicht sagen; wir wissen indessen, daß bei gekrümmten Zellen im Gegensatz zu unserem Objekt das sich kontrahierende Plasma vorzugsweise an der konkaven Seite sammelt (vgl. z. B. WEBER, 1925; KÜSTER, 1929, 17). Sehr oft beschränkt sich die Ablösung des Protoplasmas auf die Spitzen der Zellen, wobei die Rhaphe den vom Protoplasma entblößten Raum formen hilft (Abb. 2 unten). —

Ich schildere in folgendem die Plasmolyseformen, die ich an anderen marinen Diatomeenarten beobachtet habe.

Sehr geeignet für Plasmolyseversuche sind die langen, stäbchenförmigen Zellen der *Synedra*-Arten. Durch Zuführung von 10—20 proz. Rohrzuckerlösung oder 2 MW., bei Ostseematerial auch durch MW. läßt sich bei *Synedra* leicht Plasmolyse erzielen. Von den beiden Pleuralseiten her zieht sich der Protoplast an mehreren Stellen bogenförmig zurück. Meist erfolgt eine vollständige Abtrennung des Plasma-

schlauches von den Längsseiten der Pleuralwände. An den Polen konnte ich selten plasmafreie Räume im Zellumen feststellen.

Hinsichtlich des Auftretens positiver Plasmolyseorte an der pleuralen Seite gleicht also das Verhalten der *Synedrazelle* im wesentlichen dem der *Pleurosigenen*. Was die Form der vom Protoplasma freigemachten Räume betrifft, so gilt auch *Synedra* gegenüber dasselbe, was wir zu *Pleurosigma* gesagt haben; ein wichtiger Unterschied scheint nur darin zu bestehen, daß bei *Synedra* so viele positive Plasmolyseorte entstehen, und diese so dicht nebeneinander, daß das Profil des Protoplasmaleibes gekerbt erscheint; das Verhalten von

Höhe zu Breite ist bei den von Protoplasma freigemachten Räumen derartig, daß flach geschwungene Bögen auf dem optischen Längsschnitt (Gürtelbandansicht) sichtbar werden. Es darf also wohl über die Adhäsion des Protoplasmas an der Wand für *Synedra* derselbe Schluß gezogen werden, den wir für *Pleurosigma* zu ziehen für statthaft hielten.

Die Plasmolyseformen der *Nitzschia putrida* gleichen oftmals den an *Synedra* beobachteten; sie unterscheiden sich indessen von ihnen durch ihre wechselvolle Mannigfaltigkeit; die flachen Bögen, mit welchen sich das Protoplasma von den Wänden abhebt, sind sehr unregelmäßig verteilt, ihre Ausdehnung wechselt; ungewöhnliche Formen liegen dann vor, wenn alle positiven Plasmolyseorte auf einer

Längsflanke der Zelle liegen. Das Gesagte bezieht sich auf Zellen, die ich den mit *Fucus*-Dekokt angesetzten Kulturen entnommen hatte (Abb. 3).

CHOLNOKY hat bereits wiederholt darauf hingewiesen, daß gegenüberliegende Theken hinsichtlich der Plasmolyseformen sich verschieden verhalten können, und daß gesetzmäßige Beziehungen zwischen dem Alter der Theken und dem plasmolytischen Verhalten des ihnen anliegenden Protoplasmas bestehen. Bei *Nitzschia*-Zellen, die auf Agar-Agar herangewachsen waren, habe ich zuweilen mit großer Regelmäßigkeit Beobachtungen sammeln können, welche an die von CHOLNOKY mitgeteilten erinnern. Die auf der Agarfläche dahingleitenden Nitzschien liegen (WAGNER, 1934, 89) dem Substrat ausnahmslos mit der Gürtelbandseite an. Setzt man hypertonsche Lösungen zu (12 proz. Nauheimer Salz u. dgl.), so tritt Plasmolyse



Abb. 2.



Abb. 3.

ein: an einer der Längsflanken, löst sich das Protoplasma von der Wand ab, so daß zwischen ihm und dieser ein schmaler Spalt sichtbar wird, der sich zusehends verlängert und oftmals fast die Länge der ganzen Zelle erreichen kann; bei dieser schnell vollzogenen Längenzunahme bleibt aber die Breite des freien Raumes unverändert — derart, daß sie nur ausnahmsweise die halbe Breite der Zelle (Transapicalachse) überschreitet. Ich habe nicht ermitteln können, ob die ungleiche Beteiligung der beiden Theken bei der Plasmolyse dem von CHOLNOKY aufgestellten Satze entspricht. Ähnliches habe ich gelegentlich auch bei Zellen wahrgenommen, die aus Flüssigkeitskulturen stammten. Diese und andererseits die auf Agar erzogenen Zellen verhalten sich hinsichtlich ihrer plasmatischen Eigenschaften in mancher Beziehung verschieden: das Verhältnis der Zellsafträume zu der mittleren Plasmagruppe wechselt; bei den Agarzellen beträgt — zuweilen mit auffallender Konstanz — die mittlere Plasmazone $\frac{1}{8}$ der Zellenlänge, während bei den in *Fucus*-Extrakt erwachsenen die Länge des zentralen Plasmameniscus kürzer zu sein pflegt. Niemals gelang es mir bei *Nitzschia putrida*, auch nicht bei Anwendung von 12 proz. Badesalz, den Protoplasten in Richtung seiner Länge von der Membran zurückweichen zu sehen, wie es bei *Synedra* leicht gelingt.

Rhabdonema minutum zeigt insofern abweichende Plasmolyseformen, als die Septen auf das in Kontraktion begriffene Protoplasma formend wirken. In jeder Kammer, die zwischen je zwei Septen liegt, sieht man bei Betrachtung der Gürtelbandansicht das Protoplasma mit seinen braunen Plastiden sich anscheinend glatt von der Membran ablösen und sich in Konkavplasmolyse kontrahieren. Wenn die Breite des kontrahierten Protoplasten nicht mehr größer ist als die des von Septen freibleibenden mittleren Anteils des Lumens, nimmt der Zelleninhalt regelmäßige, überall gleich breite Walzenform an; in besonders langen, d. h. vor der Teilung stehenden Zellen bleibt oftmals in der Mitte ihrer Längsausdehnung das Protoplasma an der Wand haften, so daß (optischer Längsschnitt der Gürtelbandansicht) der Protoplast kreuzförmig erscheint; der längere Arm des Kreuzes liegt in der Richtung der Transvalvarachse.

II. Plasmoptyse.

Weitere Versuche sollten das Verhalten lebender Diatomeen in hypotonischer Lösung zeigen.

Es läßt sich annehmen, daß das Verhalten der Diatomeenzellen in hypotonischen Lösungen sich von dem der Pflanzenzellen, deren

Membran nicht nach dem Plakophytentypus, sondern aus einem zusammenhängenden Stück gebaut ist, in manchen Punkten unterscheidet. Vor allen Dingen legen wir uns die Frage vor, wie sich die beiden Theken einer Diatomeenzelle verhalten, wenn man in hypotonischen Medien ihren Turgordruck ansteigen läßt: Weichen die beiden Theken auseinander, so daß sie ein größeres Lumen umhüllen als bisher? Klappen sie auseinander, so daß der Inhalt der Zelle herausgeschüttet wird? Oder führt die Steigerung des hydrostatischen Druckes zu einem Bruch der Membran? Wie und wo erfolgt dieser Bruch? Läßt der Verlauf der Sprunglinien der verkieselten Theken charakteristische Eigentümlichkeiten erkennen? Wir werden weiterhin fragen: Wie verhält sich der Restinhalt der Diatomeenzelle? Bleibt er am Leben? Geht er zugrunde? Läßt sich sein Leben noch retten und bewahren? Wie verhält sich das Ejakulat? Aus was für Teilen des Zellenleibes besteht es? Werden auch Plastiden und Zellenkern ausgespien? Ist der ausgespritzte Teil noch lebensfähig?

Einige dieser Fragen haben sich bereits KARSTEN (1899), BROCKMANN (1908) und später namentlich CHOLNOKY (1928) vorgelegt. Für *Gyrosigma acuminatum* hat CHOLNOKY (1928, 487; Abb. 73) eine unverkennbare Plasmoptyse abgebildet. „Wenn der hydrostatische Druck im Innern einer Diatomeenzelle nach Übertragung in hypotonische Medien sehr stark ansteigt, reagiert die Zelle mit einem Aufreißen des Schlauches, wodurch aber ein plötzliches Absterben des ganzen Lebewesens verursacht wurde“; so beschreibt CHOLNOKY die Wirkung hypotonischer Medien (1928, 488) und fährt fort: „Hier ist der Plasmaschlauch vielleicht aus einer zäheren dehnbareren Materie geschaffen, die durch den gewiß engen, aber relativ doch breiteren Rhaphespalt hindurchgepreßt werden kann. Auf diese Weise entsteht eine sich immer mehr vergrößernde Ausstülpung des Plasmaschlauches, aus welcher nacheinander auch Öltropfen und Chromatophorenstückchen schlüpfen können, wodurch ihre Ausdehnung noch mehr zunehmen kann, so daß sie endlich als ein beträchtlich großes Anhängsel an einem Ende der Gyrosigmazelle erscheint. Hierdurch ist also unbestreitbar bewiesen, daß die Rhapspe ein wirklicher Spalt ist, durch den das Cytoplasma von einem erhöhten inneren Druck hindurchgepreßt werden kann.“

Ich kann mich den von CHOLNOKY gegebenen Deutungen seiner Befunde nicht in allen Stücken anschließen. Das Verhalten der von mir untersuchten Arten war indessen den von ihm beschriebenen in vielen Beziehungen ähnlich.

Ich übertrug marine Diatomeen in Süßwasser oder solche, die in hochkonzentrierter Salzlösung kultiviert worden waren (*Pleurosigma elongatum*), in natürliches Meerwasser. An folgenden Gattungen und Arten sah ich Plasmoptyse eintreten: *Pleurosigma elongatum*, *Nitzschia putrida*, *Synedra Gaillonii*, *Synedra affinis*, *Rhabdonema minutum*, *Grammatophora marina* und *Achnanthes longipes*.

Bei den farbigen Diatomeen sieht man unter dem Einfluß der hypotonischen Medien zunächst eine Degeneration des Zellinhaltes eintreten, die allerdings keineswegs mit einem Absterben des Protoplasmas verbunden ist. Namentlich bei den mit langen Plastiden ausgestatteten Formen wie *Pleurosigma*, sieht man die Farbstoffkörper sich mit erstaunlicher Geschwindigkeit zusammenziehen und abrunden; sehr oft können sich dabei die Plastiden, wie man bei *Pleurosigma* deutlich verfolgen kann, zu drei oder vier ungleich großen dunkelbraunen Kugeln zusammenziehen. Gelegentlich kommt es dabei zum Zerreißen der braunen Bänder — so, wie es CHOLNOKY beschrieben hat (1928).

Die zweite Wirkung der Behandlung mit hypotonischen Lösungen ist die Plasmoptyse: irgendwo öffnet sich die Zellmembran, und ein Teil des Inhalts wird außerhalb der Zelle sichtbar, wo die Plastiden zumeist sehr schnell verquellen und sich gewöhnlich zu einer scharf umgrenzten, hellbraunen, bei *Pleurosigma* oft zu wolkenartigen Massen verwandeln; selten bleiben Plasmareste zunächst noch lebendig und zu Kugeln geformt. Im Lumen der Zelle bleiben nach wie vor beträchtliche Anteile des Protoplasten liegen; zuweilen kommt es vor, daß eine der erwähnten Plastidenkugeln das Lumen der Pleurosigmazelle geradezu sperrt, so daß der zwischen ihr und der nahen Apex der Zelle liegende Plasmaanteil an seinem Platze festgehalten wird und zunächst noch erhalten bleibt.

In der Mehrzahl der Fälle nimmt das ausgeschleuderte Protoplasma seinen Weg durch einen Riß der Membran. Ganz und gar nicht kann ich mich CHOLNOKYS Meinung anschließen, nach welcher das Protoplasma durch einen natürlichen Spalt, nämlich durch die Rhaps, das Lumen der in hypotonischer Lösung liegenden Zelle verläßt. Gegen diese Deutung spricht nicht nur der explosionsartige Charakter der Plasmaabgabe, sondern auch die Deutlichkeit, mit der der Ort, an dem die Plasmoptyse vor sich geht, zu beobachten ist — vor allem aber der in manchen Fällen leicht nachweisbare Trümmerzustand, in dem sich die Membran nach der Plasmoptyse befindet (Abb. 4 u. 5, *Synedra Gaillonii*).

Großzellige und starkwandige Diatomeenzellen geben für die Prüfung dieser Fragen ein geeigneteres Material ab als kleine und dünnwandige. Gut bewährt hat sich wieder *Pleurosigma*. Man findet bei diesem in vielen Fällen nach der Plasmoptyse deutlich sichtbare Bruchstellen und sieht die Trümmer der Membran zuweilen ansehnlich weit voneinander klaffen. Überraschend ist die Feststellung, daß bei demselben *Pleurosigma*individuum mehrere Membranbrüche neben- und nacheinander sich vollziehen können; ich sah an manchen Zellen zwei, sogar drei Protoplasten aus ebenso vielen Bruchstellen austreten; dieser Befund ist insofern überraschend, als es zunächst wahrscheinlich sein muß, daß nach Entstehen einer Bruchstelle das Protoplasma durch diese entweicht, bis das Druckgefälle ausgeglichen ist. Ich nehme an, daß im Verlaufe der Beobachtungen und der Plasmaeruption die erste Bruchstelle sich verstopfen kann, so daß eine neue oder sogar mehrere Bruchstellen sich bilden müssen.

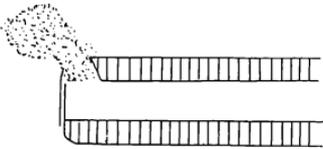


Abb. 4

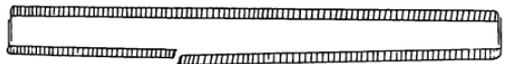


Abb. 5.

Daß bei den der Plasmoptyse anheimfallenden Zellen ein soeben entstandenes Loch der Membran verschlossen und die Protoplasmaausschleuderung unterbrochen werden kann, ist bekannt (vgl. KÜSTER, 1935, 102).

Ein weiteres, für die Untersuchung des Membranbruches gut geeignetes Objekt ist *Achnanthes longipes*, die ich an Ostseematerial auf Plasmoptyse prüfen konnte. Nach Zusatz von destilliertem Wasser tritt sofort im Zelleninnern eine sprudelnde Körnchenbewegung ein, die uns verrät, daß irgendwo die Membran zersprengt worden ist, und der Inhalt der Zelle nach außen sich zu ergießen beginnt. Offenbar entweicht zuerst ein Teil des Zellsaftes; es folgen Granula, Protoplasma und Plastiden; letztere bleiben vor der Zelle sichtbar, das Protoplasma schwindet sehr bald. Es kamen Zellen zur Beobachtung, an welchen die Bruchstelle ausgezeichnet sichtbar war. In einem Falle hatte aus der mit einer Pseudorhaphie ausgestatteten Valva der hydrostatische Druck ein Stück herausgebrochen, dessen Grenzen im großen und ganzen der pennaten Struktur der Schalen folgten. An mehreren Stellen waren die Spangen der Membran bei dem Bruch der Membran durchrissen worden; an dem

Teil, an dem die Valva gesprengt worden war, fehlte ein Membranstück von ungefähr fünf Spangen Breite.

Ähnliche Zertrümmerungen der Membran beobachtete ich bei *Grammatophora marina*, *Rhabdonema minutum* und *Synedra Gaillonii*.

An den Ecken und Kanten der Diatomeenzellen ist bei manchen Arten die Neigung zum Zersplittern größer als an den flächigen Teilen. Einzelheiten über die Form und Größe der Bruchstelle zu ermitteln ist bei den genannten kleinzelligen Formen schwer.

Meine Beobachtungen bringen keine Bestätigung für CHOLNOKYS Deutung und die Schlüsse, die er aus den Plasmoptysephänomenen auf den Bau der Rhapsie ziehen zu dürfen glaubt. Vielmehr haben wir gesehen, daß an den von uns gewählten Objekten die Plasmoptyse in derselben Weise sich vollzieht wie an anderen umhüteten Pflanzenzellen. —

Schon eingangs legten wir uns die Frage vor, ab der Schachtelbau der Diatomeen vielleicht bei Behandlung der Zellen mit hypotonischer Lösung zu Erscheinungen besonderer Art führen könnte. Es wäre vorstellbar, daß beim Ansteigen des hydrostatischen Druckes die beiden Theken voneinander abrücken könnten. „Ich habe“ sagt CHOLNOKY (1928, 479), „mehrere von hypotonischen Lösungen stark deformierte Individuen gemessen, und trotz des im Innern gewiß herrschenden höheren Druckes konnte ich niemals eine meßbare Verbreiterung der pleuralen Seite feststellen. Die ineinandergreifenden Schalen sind also fest aneinander gebunden, wie stark auch der innere Druck sein mag“. CHOLNOKY zieht aus seinen negativen Befunden weitgehende Schlüsse auf die Entwicklungsmechanik der normalen Zellteilung der Diatomeen vorausgehenden Vorgänge und lehnt die von LAUTERBORN empfohlene Auffassung ab (1896, 61), der das Auseinanderweichen der Zellhälften vor der Teilung durch osmotische Vorgänge erklären möchte. „In diesen hypotonischen Medien war bestimmt eine starke Erhöhung des osmotischen Druckes vorhanden, und doch konnte ich niemals“ — CHOLNOKY spricht von *Anomoeoneis* — „eine kleinste Dehnung in der Richtung der perivalvalen Achse feststellen. Diejenige Verbreiterung also, die wir vor und während der Zellteilung der Diatomeen bei allen Arten leicht beobachten können, können nur durch eine Lebenstätigkeit hervorgerufen werden“; so schreibt CHOLNOKY.

Bei meinen Untersuchungen konnte ich feststellen, daß bei Diatomeen die Plasmoptyse auf zwei verschiedene Weisen vor sich gehen kann. Eine haben wir bereits beschrieben: sie wird durch Bruch der Membran gekennzeichnet. Bei der andern bleiben die

Membranen intakt; die beiden Theken klappen sich voneinander ab; das Protoplasma quillt aus dem Spalt an einem der beiden Zellenenden hervor. Solches habe ich beobachtet bei *Synedra*, *Grammatophora*, *Rhabdonema*, *Pleurosigma* und *Achnanthes*.

Aus dieser kleinen Liste geht bereits hervor, daß an den Zellen einer und derselben Art bald dieser, bald jener Modus der Zellenöffnung eintreten kann. Bei *Pleurosigma*, *Rhabdonema* und *Grammatophora* war die Zerstörung der Membran häufiger als das Aufklappen der beiden Theken; letzteres habe ich bei *Synedra* und *Achnanthes* wiederholt beobachten können; doch muß es fraglich scheinen, ob mit diesen Feststellungen spezifische Eigentümlichkeiten der untersuchten Arten zum Ausdruck gebracht werden, oder ob es von Ernährungs- und Turgorzustand der Zellen abhängt, ob diese oder jene

Form der Plasmoptyse zur Beobachtung kommt, ob das Alter der Zelle entscheidet, oder irgendwelche Unterschiede in der Zuführung des hypotonischen Mediums maßgebend sind.

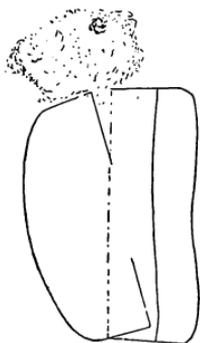


Abb. 6.

Die Art und Weise, wie die beiden Theken voneinander sich entfernen, ist verschieden. Es gibt Fälle, in welchen jene mit einem Ruck voneinander weichen und sich so schief gegeneinander verlagern, wie es Abb. 6 darstellt (*Achnanthes*); ein Austritt von Zelleninhalt findet zuweilen bei solchen Individuen zunächst nicht statt; — es hat sich offenbar in diesem Falle das Lumen einer Zelle —

allerdings einer im Sterben begriffenen, — mit einem Schlage erheblich vergrößert, ohne daß zwischen den Gürtelbändern schon ein Spalt klafft; später kommt es zu dem Austritt des Zelleninhalts, oder wir dürfen einen solchen wenigstens aus der intrazellulären Ansammlung von Körnchen erschließen, die an der Stelle sichtbar wird, an der die Gürtelbänder am weitesten voneinander abgerückt sind; hier tritt anscheinend zunächst nur Flüssigkeit aus, indem die Granula noch zurückgehalten werden, da die Spaltweite noch zu gering ist. —

Wie bei anderen Zellenarten geht auch bei den Diatomeen das durch Plasmoptyse ausgeworfene Protoplasma, wie wir gehört haben, im umgebenden Medium zugrunde. Sein Untergang kombiniert sich mit einem schnell vorwärtsschreitenden Zerfließen, so daß oftmals bald nur noch degenerierte Plastiden, Fetttropfen und schwer bestimmbare Granula des Protoplasmas übrigbleiben.

Wir haben zwar schon davon gesprochen, daß die ausgetretenen Anteile des Zellenleibes unter Verquellung schnell zugrunde gehen;

es bleibt zu untersuchen, ob dieser Gang der Dinge unvermeidlich ist, oder ob er durch geeignete Maßnahmen aufgehalten werden kann.

KARSTEN hat (1899, 153) bereits darauf hingewiesen, wie wünschenswert es wäre, die ausgetretenen Massen dann, wenn ihnen ein Zellkern zuteil geworden ist, durch geeignete Kulturmethode am Leben zu erhalten. Meine eigenen Versuche lassen die Aussichten für ein Gelingen dieser Versuche nicht günstig erscheinen. Bei *Pleurosigma* konnte ich zuweilen an der Membranbruchstelle wohlgeformtes, farbloses oder plastidenhaltiges Protoplasma eine Zeitlang beobachten. Ähnliches gelang auch bei *Synedra Gaillonii* und *Nitzschia putrida*. Selbst nach 20 Minuten waren vor den Zellen von *Synedra* noch wohlgeformte Massen nachzuweisen, die ich für lebendig halten durfte. Ihre Lebensdauer durch Zusatz hypertotonischer Mittel, durch die ich eine fortschreitende Wasseraufnahme verhindern wollte, wesentlich zu verlängern, ist mir aber nicht gelungen.

Besser steht es mit dem Rest des Protoplasmas, der nach der Plasmoptyse — oft in beträchtlicher Masse — im Lumen der Zelle liegen bleibt. Es gelingt ohne Schwierigkeiten, sich von der Vitalität dieser Plasmareste zu überzeugen, indem man sie durch erneuten Zusatz hypertotonischer Mittel zur Kontraktion bringt (Versuche an *Pleurosigma*, *Rhabdonema*, *Grammatophora*, *Synedra*). Die Plasmolyseformen, die dabei sichtbar werden (*Synedra*), gleichen im wesentlichen den intakten Zellen, so daß sich folgern läßt, daß alle Eingriffe, die der Plasmoptyse vorausgehen, und die gewaltige Druckverminderung, die ihr folgt, das Verhalten des Protoplasmas zur Membran bei diesen Objekten zunächst nicht wesentlich verändern. Selbst nach 2—3 Tagen zeigten die Diatomeen noch Leben. Bei anderen Arten (*Nitzschia*) ließ sich das Restplasma geplatzter Zellen auch durch künstliche Wasserentziehung nicht mehr retten. Das Schicksal der ausgeworfenen und der im Zelllumen verbliebenen Plasmaanteile entspricht hiernach bei Diatomeen wesentlich dem, was von anderen Zellen bekannt ist (KÜSTER, 1935).

Die Vergänglichkeit der ausgeschleuderten Plasmamassen veranlaßte mich, einige Versuche mit Fixiermitteln anzustellen. Kann man auch mit hypotonischen Fixiermitteln die Zellen der von marinen Standorten stammenden Diatomeen zum Platzen und zum Ausschleudern von Protoplasma bringen und das ausgeschleuderte Plasma sogleich fixieren?

Der Versuch gelingt in der Tat. Ich bediente mich einer 2 proz. Osmiumsäurelösung, die ich unter dem Deckglas in kleinen Portionen zu dem Diatomeenmaterial fließen ließ. An verschiedenen Arten

ließ sich zeigen, daß die Zellen, die von der Osmiumsäure erreicht werden, Plasmoptyse erfahren können. Wir dürfen daraus schließen, daß in den ersten Augenblicken der Fixiermittelwirkung eine erhebliche Erhöhung des Turgordruckes erfolgt, die ihrerseits noch eine Semipermeabilität des Protoplasmas voraussetzt. Das ausgeschiedene Protoplasma wird augenblicklich fixiert und dadurch deutlich sichtbar; erst jetzt können wir uns über den Umfang der ausgestoßenen Massen eine befriedigende Vorstellung machen.

Die zahlreichen Diatomeenzellen, die in einem Präparat beieinanderliegen, verhalten sich der Osmiumsäure gegenüber sehr ungleich: viele zeigen Plasmoptyse; sehr zahlreiche andere bleiben unverändert, d. h. sie fallen der Fixierung anheim, ohne vorher zu platzen. *Grammatophora*, *Rhabdonema* und *Synedra* stoßen nach Zugabe von Osmiumsäure sofort eine große Portion Protoplasma, Plastiden und Ölkugeln aus. Das fein granuliertes, manchmal zu einer blattdünnen Schicht geformte Protoplasma hebt sich außerhalb der Zelle deutlich von den degenerierten Chromatophoren und Ölkugeln ab.

Weitere Plasmoptyseversuche führte ich in der Weise aus, daß ich Alkohol oder andere Fixiermittel von geringerem osmotischen Druck den Zellen zuführte.

Daß Alkohol süßwasserbewohnende Einzeller zur Plasmoptyse bringen kann, ist seit HOLDHEIDE (1931, 287 — Versuche an *Closterium*) bekannt. ZEHETNER (1934, 513) vermochte allerdings weder *Closterium* noch andere Desmidiaceen auf dieselbe Weise zum Platzen zu bringen.

Zur Orientierung führte ich einige Versuche mit Süßwasser bewohnenden Diatomeen des *Navicula*-Typus aus, die ich mit Alkohol verschiedener Konzentration behandelte. Es gelang mir wiederholt, in 50 proz. Alkohol Plasmoptyse wahrzunehmen, so daß ich folgern darf, daß die Diatomeen hinsichtlich ihres Verhaltens dem Alkohol gegenüber zum Expansionstypus gehören (ZEHETNER).

Die mit marinen Diatomeen ausgeführten Versuche waren nicht ergebnisreich. Durch Zuführung von 10, 15 und 20 proz. Alkohol konnte ich bei ihnen keine Plasmoptyse erzielen. Die Zellen vertrugen den Alkohol recht gut, und selbst in 20 proz. Alkohol starben sie erst nach 25 Minuten ab.

Mit Essig- und Phosphorsäure führte ich Versuche aus, um festzustellen, ob sich die Diatomeen in diesen Medien ähnlich verhalten wie die von STRUGGER (1935, 111) untersuchten Zellen von *Phanero-gamen*. Es gelang mir nicht, die Diatomeen zum Platzen zu bringen. In sehr stark verdünnten Lösungen (in 50 ccm Wasser 1—5 Tropfen

einer $\frac{1}{10}$ normalen Säure) lebten die Zellen weiter; bei weniger verdünnten Medien stellten sie ihre Bewegungen sofort ein, und nach kurzer Zeit nahmen die Chromatophoren die schmutzig grüne Farbe an, die ihr Absterben verriet.

III. Permeabilität.

In jüngster Zeit ist von mehreren Seiten auf das hohe Maß von Durchlässigkeit hingewiesen worden, das das Protoplasma pennater und zentrisch gebauter Diatomeen auszeichnet. MARKLUND (1936) hat für *Melosira* dargetan, daß ihr Protoplasma in überraschend hohem Maße für Rohrzucker durchlässig ist, und ELO (1937) hat ähnliches für *Licmophora* festgestellt.

Diese Erfahrungen stehen in Einklang mit den Angaben derjenigen Autoren, welche über die Fähigkeit der Diatomeen, an hochkonzentrierte Salzlösungen sich anzupassen, berichten (vgl. z. B. KARSTEN, 1899, 154; CHOLNOKY, 1928).

Die Beobachtungen der genannten Autoren legten es nahe, an meinen Objekten Plasmoptyse mit Medien hervorzurufen, deren osmotischer Druck dem des natürlichen Standortmediums entspricht, — nachdem die Diatomeen vorher mit hypertotonischen Medien behandelt worden waren und auf diese Weise Gelegenheit bekommen hatten, durch Aufnahme der dargebotenen Stoffe ihren osmotischen Druck zu erhöhen.

Ich verfuhr in der Weise, daß ich marine Diatomeen verschiedener Art mit 2 MW., mit einer 12 proz. Lösung des Bad Nauheimer Salzes, sowie mit Meerwasser behandelte, in welchem wechselnde Mengen Rohrzucker gelöst worden waren. Die Zellen verblieben in diesen Lösungen eine wechselnde Zahl von Stunden und wurden hiernach wieder in Meerwasser übertragen. Geprüft werden sollte dabei ihr Verhalten in diesem; — besonders in Rücksicht auf die Frage, ob es nach dieser Vorbehandlung bei ihnen zur Plasmoptyse kommen kann.

Die von mir untersuchten Arten verhielten sich folgendermaßen: *Nitzschia putrida* zeigte in 2 MW. Konkavplasmolyse. Bei längerem Verweilen in dieser Lösung ($\frac{5}{4}$ —2 Stunden) ging die Reaktion wieder zurück. Durch Zugabe von 12 proz. Nauheimer Badesalz erzielte ich eine größere Zusammenziehung des Plasmaschlauches, konnte aber niemals einen Rückgang des Protoplasten in seine ursprüngliche Lage feststellen.

In 10—25 proz. Rohrzuckerlösung verhielten sich die Nitzschien verschieden; doch paßten sich die meisten der höheren Konzentra-

tion an und zeigten nach wechselnder Zeit (20 Minuten bis 3 Stunden) wieder ihren normalen Plasmasitus.

Behandlung mit n-Rohrzucker führte meist zum Tode der Zellen.

Das Verhalten von *Synedra* war ähnlich dem von *Nitzschia*; nur führte hier schon 20 proz. Rohrzuckerlösung zu starker Plasmolyse, die sich als irreversibel erwies und nach 2—3 Tagen zum Tode der Zellen führte. Bei *Pleurosigma elongatum* konnte ich niemals einen völligen Rückgang der Reaktion erzielen.

Plasmoptyse konnte ich durch Zuführung des ursprünglichen Mediums nur bei einigen wenigen Nitzschien hervorrufen, nachdem sie vorher in 10—20 proz. Rohrzucker gelegen hatten. Die meisten gingen nach diesem Eingriff schnell zugrunde.

Die Versuche stehen im Einklang mit dem, was CHOLNOKY (1928, 462, 470 usw.) festgestellt hat, soweit sie einen schnellen Rückgang der Plasmolyse dartun. In Kalisalpeter sah er besonders schnell völligen Ausgleich eintreten. Verschiedene Arten verhalten sich nach seinen Angaben verschieden.

Gelegentlich der Besprechung von *Gyrosigma* und *Stauroneis* führt CHOLNOKY (1928, 461) den bei verschiedenen Gattungen verschieden hohen osmotischen Grenzwert mit Unrecht auf Unterschiede der Permeabilität zurück. —

Umgekehrt war zu prüfen, ob diejenigen Diatomeen, die eine zeitlang in hypotonischen Lösungen verweilt hatten, von ihrer osmotisch wirksamen Substanz so viel abgegeben hatten, daß sie nach Übertragung in ihr ursprüngliches Medium Plasmolyse erfahren. Der Versuch gab eine positive Antwort. *Synedra Gaillonii*, *S. affinis*, *Rhabdonema minutum*, *Grammatophora marina*, *Achnanthes longipes* und *Amphipleura rutilans* brachte ich aus Meer- in Süßwasser, saugte nach kurzer Zeit die hypotonische Lösung ab und gab wieder das ursprüngliche Medium zu. Die Zellen, die nicht einen Teil des Inhaltes ausgespieen hatten, zeigten Plasmolyse.

IV. Bewegungen.

Unter den von mir untersuchten Diatomeenarten befinden sich einige, die dem Mikroskopiker durch ihre flotte Bewegung auffallen: *Pleurosigma elongatum* und *Nitzschia putrida*.

Wie verhalten sich die Zellen hinsichtlich ihrer Bewegungsfähigkeit nach Behandlung mit hyper- und hypotonischen Medien?

Das große Interesse, das diese Frage zu beanspruchen hat, ist von CHOLNOKY bereits erkannt worden. Er fand bei Untersuchungen,

die an *Anomoeoneis* angestellt wurden (1928, 481), daß schon bei schwacher Plasmolyse und besonders, wenn die Kontraktion des Protoplasmas von den Polen her erfolgt, die Bewegung eingestellt wird: er schließt aus seinen Befunden, „daß das Bewegungsorgan die Rhapsie ist, in welcher eine entsprechende Plasmaströmung die Ortsveränderungen hervorruft, ob zwar diese ältere Feststellung von MAX SCHULTZE und LAUTERBORN neuerdings vielfach bestritten wurde, da bei der Plasmolyse der Plasmaschlauch sich von den Wandungen und so auch von der Rhapsie zurückzieht und dadurch die Ausführung der Bewegungen durch eine Unterbrechung eines einheitlichen Plasmastromes in der Rhapsie verhindert.“

Es mag schwierig sein, in allen Einzelheiten diese Deutungen mit manchen Angaben des genannten Autors in Einklang zu bringen, da dieser wiederholt auf die Tatsache aufmerksam macht, daß gerade an der Rhapsie das Protoplasma leicht mit der Wand in Verbindung bleibt, auch wenn die osmotischen Kontraktionen an vielen Stellen es bereits von ihr gelöst haben.

Meine eigenen Beobachtungen stimmen überdies nicht in allen Stücken mit dem von CHOLNOKY mitgeteilten überein: Auch plasmolytierte Diatomeenzellen können ihre Kriechbewegungen fortsetzen.

Hierüber wäre folgendes zu berichten: *Nitzschia putrida* setzt nach bescheidener Plasmolyse in 10—25proz. Rohrzuckerlösung und in 2 MW. ihre Bewegungen eifrig fort. Diese wurden manchmal auf kurze Zeit unterbrochen, begannen aber immer wieder von neuem. Auch während und nach Rückgang der Plasmolyse wurden die Pendelbewegungen weitergeführt.

Auf alten und frisch besäten Kulturen verhält sich *Nitzschia putrida* hinsichtlich ihrer Bewegung allerdings verschieden. Hierauf hat O. RICHTER (1909) schon aufmerksam gemacht, der den Verlust der Bewegungsfähigkeit auf eine vitale Lösung der Membran, insbesondere der Rhapsie seitens des Protoplasmas zurückführen zu können glaubt. Bei den Individuen der Gießener Kulturen war die Beweglichkeit der Nitzschien in dem Sinne verschieden, daß die Zellen mancher Proben geringe plasmolytische Abhebung des Plasmas und noch Bewegung zeigten, andere bei starker Abhebung sie einstellten.

In hypotonischer Lösung, sagt CHOLNOKY (1928, 481, 482), wird die Bewegungsfähigkeit den Zellen nicht genommen. Meine eigenen Beobachtungen an *Nitzschia putrida* stimmen insofern mit diesen Befunden überein, als ich sehr oft Fortsetzung der Bewegung nach

Übertragung in hypotonische Medien beobachten konnte; zuweilen trat allerdings auch Stillstand ein. Sehr schön gelang es, die Nitzschiazellen von Agarkulturen, auf welchen die Bewegung eingestellt worden war, durch Zusatz von reinem Wasser zu dem Meerwasser-Agar wieder zu flotter Bewegung zu bringen, die fast augenblicklich nach Zusatz des hypotonischen Mediums bemerkbar wurde.

Pleurosigma elongatum andererseits reagiert auf Zusatz hypotonischer Medien nicht mit einer Beschleunigung seiner Bewegung, sondern mit einer Einstellung derselben; auch an Zellen, welche in hypotonischen Medien keine Plasmoptyse erfahren haben, macht sich dieser Stillstand geltend, und zwar anscheinend ungefähr gleichzeitig mit der Degeneration der Plastiden, die sich zusammenziehen, und deren Substanz sich zu Kugeln formt. Es kann kein Zweifel sein, daß auch solche mit degenerierten Plastiden ausgestattete Zellen noch am Leben sind; wir erschließen ihr Leben aus der Plasmolyse, die nach Zusatz hypertotonischer Mittel alsbald eintritt.

Bei Plasmoptyse geht den Diatomeen die Bewegungsfähigkeit unter allen Umständen verloren, obschon ja, wie wir gehört haben, auch der Verlust ansehnlicher Mengen von Protoplasma den Zellen zunächst noch das Leben und ihren Inhalt plasmolysierbar läßt.

Es ist schwer zu sagen, welche Veränderungen im Plasmaleib der Diatomeen die Fortsetzung der Bewegung unmöglich machen. Wenig wahrscheinlich ist es nach unserer Meinung, daß eine Zerstörung des Rhapheplasmas — durch Zerstörung der Membran nach O. RICHTER oder nach plasmolytischer Kontraktion und Ablösung von der Wand nach CHOLNOKY — das Entscheidende ist. Vielleicht läßt sich gerade von der Untersuchung des Verhaltens der Diatomeen in hypotonischen Medien Aufschluß über diese Fragen der Bewegungsphysiologie erhoffen; das mir zu Gebote stehende Material schien aber wegen der Kleinheit der Zellen und anderer die Untersuchung erschwerenden Umständen zur weiteren Behandlung und Klärung dieser Fragen wenig geeignet zu sein.

Eine weitere Behandlung der Frage, wie die Bewegung der Diatomeen in hyper- oder hypotonischen Medien vor sich geht oder beeinflußt wird, wird indessen vielleicht auch mit der Möglichkeit zu rechnen haben, daß bei der Bewegung der Diatomeen neben dem Rhapsmechanismus eine irgendwie geartete Bewegungsgallert mitwirkt (vgl. KÜSTER über *Amphipleura* 1938), die sich in hyper- und hypotonischen Lösungen anders verhalten kann als in den Medien der natürlichen Standorte oder auf zusagenden Kultursubstraten.

V. Nicht osmotische Plasmolyse.

Es ist bekannt, daß die Ablösung des lebenden Protoplasmas von der Wand auch unter anderen Bedingungen als unter dem Einfluß wasserentziehender Mittel eintreten kann. Daß insbesondere an Diatomeen nach mechanischem Drucke, bei allzu intensiver Belichtung oder nach chemischer Reizung das Protoplasma sich zusammenziehen kann, ist namentlich seit BENECKE (1900; vgl. auch SCHÜTT, 1895, 110; KARSTEN, 1899, 154) bekannt.

Ich hatte den Wunsch, diese als Reizplasmolyse bezeichnete Erscheinung auch an den Objekten hervorzurufen, deren osmotisch bedingte Plasmolyse ich in so vielen Versuchen beobachtet hatte.

Meine Objekte waren wieder *Pleurosigma elongatum* und *Nitzschia putrida*. Einen Bericht über die mit ihnen angestellten Versuche darf ich kurz fassen, da die Ergebnisse ungleich und unsicher waren, so daß ich mich nicht in der Lage sehe, meine Befunde zu Folgerungen über die protoplasmatischen Eigenschaften der Diatomeen hinsichtlich der nichtosmotisch bedingten Plasmolysen auszuwerten.

Plasmolyse nach mechanischem Reiz ist bereits für Algen verschiedener Arten beschrieben worden. NÄGELI (1855, 13) beschrieb sie für *Spirogyra*, HOFMEISTER (1867, 303) für *Nitella*; über Siphoneen (*Bryopsis*, *Codium*) macht KÜSTER (1929, 27; 1935, 25) einige Mitteilungen.

Ich verfuhr in der Weise, daß ich unter dem Deckglas Pleurosigmazellen wiederholten Klopfreizen aussetzte (bis 850 mal). Außerdem behandelte ich dieselben Pleurosigmen in der Weise, daß ich sie in ihrem Kulturmedium im Reagenzglase schüttelte (5—25 Minuten) und hiernach untersuchte. Die Zellen verhielten sich ungleich. Die meisten blieben unverändert; einige zeigten Plasmolyse — und zwar in der Weise, daß das Protoplasma bald mehr, bald weniger weit sich von den Polen zurückzog, oder daß es an den Längsseiten der Zelle in flachem Bogen von der Wand sich abhob. Auch Bildung mehrerer Ablösungsstellen an einer und derselben Flanke der Zelle wurden beobachtet.

Über *Nitzschia putrida* vermag ich keine zuverlässigen Resultate mitzuteilen.

Plasmolyse nach allzu intensiver Belichtung wurde durch starke Besonnung über dem Kondensator des Mikroskops, durch Anwendung einer Bogenlampe und ultravioletter Bestrahlung (BACHS Höhensonne, 5—15 Minuten in 10—64 cm Abstand) hervorgerufen.

Bei *Pleurosigma* wurde einige Male Plasmolyse beobachtet. Über *Nitzschia putrida* kann ich nichts zuverlässiges mitteilen. BENECKE beschrieb eingehend ihr reizplasmolytisches Verhalten; O. RICHTER (1909, 743) konnte an demselben Objekt keine Reizplasmolyse hervorrufen.

VI. Protoplasma und Plastiden.

Was wir bisher über das Protoplasma der plasmolytisch behandelten Diatomeen gesagt haben, bezog sich auf die äußeren Umrisse der Protoplasten. Wir haben noch einzugehen auf das, was sich über die innere Konfiguration des Protoplasten sagen läßt.

Weit verbreitet ist bei den pennaten Diatomeen diejenige Konfiguration, welche durch das Vorhandensein einer den Zellkern enthaltenden, zwei großen Vakuolen voneinander trennenden Plasma-brücke gekennzeichnet ist (vgl. hierüber z. B. PFITZER, 1871, 96; BENECKE, 1900, 545 ff; HEINZERLING, 1908; HUSTEDT, 1930).

Überraschende Mitteilungen über den Protoplasten der von ihm untersuchten Diatomeen hat CHOLNOKY gegeben (z. B. 1928, 479, 487, 454 usw.). CHOLNOKY schildert im wesentlichen das Verhalten der beiden Vakuolen nach Zuführung hypertonscher Medien; die Asymmetrie der Plasmolyseform, die er beobachtete, erklärt sich nach ihm dadurch, daß bei der osmotischen Wasserentziehung nur eine der beiden Vakuolen an Volumen verliert, während die andere nahezu erhalten bleibt; CHOLNOKY nimmt in seiner Erklärung an, „daß hier die beiden Vakuolen zumeist nicht den gleichen osmotischen Druck aufweisen, und deshalb auch ihr Wasserverlust verschieden stark ist. Diese Meinung wird besonders durch die extremen Fälle bestätigt, wo die genannte verschiedene Größe der Vakuolen am leichtesten festzustellen ist“ (1928, p. 454); CHOLNOKY sagt freilich nicht, wie es möglich ist, daß der für die intakte Zelle von ihm vermutete Unterschied im osmotischen Werte der beiden nebeneinanderliegenden Vakuolen erhalten bleibt; da sich keine Möglichkeit zeigt, solche Unterschiede und das Erhaltenbleiben des osmotischen Gefälles zu erklären, müßte man zu der Hilfsannahme seine Zuflucht nehmen, daß erst bei dem osmotischen Angriff auf die Diatomeenzelle in der einen der beiden Vakuolen der osmotische Druck plötzlich stark absinkt oder ansteigt; vielleicht ließe sich annehmen, daß durch lokale Erhöhung der Permeabilität eine schnell fortschreitende Abgabe osmotisch wirksamer Substanz sich für eine der beiden Vakuolen ergibt; diese wäre es alsdann, die unter dem Einfluß hypertonscher Mittel sich besonders stark verkleinert. Meine Beobachtungen haben mir keine

Anhaltspunkte gegeben, um zu CHOLNOKYS Mitteilung Stellung zu nehmen, der seinerseits die Annahme ungleich großer Permeabilität abzulehnen scheint (1928, 455).

Pathologische Bildung von Vakuolen ist bei Diatomeen oftmals zu beobachten.

Ein zum Studium der Vakuolen hervorragend geeignetes Objekt ist *Nitzschia putrida*. Über ihre Plasmakonfiguration hat BENECKE (1900, 546) sich eingehend ausgesprochen. Er findet entweder beiderseits der kernhaltigen Plasmabrücke je eine lange Vakuole, die bis an das Ende der Zelle reicht, — „oder der Zellsaft ist durch Plasmalamellen in mehrere Vakuolen zerteilt, die Lamellen laufen entweder konzentrisch und quer oder auch, nicht gerade selten, parallel zueinander und senkrecht zur Längserstreckung der Zelle, so daß diese in der Gürtellage einen eigenartigen leiterförmigen Eindruck gewährt“.

Alle diese Plasmakonfigurationen sind mir bei Durchsicht meiner Kulturen wiederholt begegnet. Auf der Agarplatte freilich fand ich ganz vorzugsweise die durch zwei symmetrische Vakuolen gekennzeichnete Plasmakonfiguration, während auf Fucusthallis, die in langsam fortschreitender Zersetzung begriffen waren, die zwischen vielen anderen heterotrophen Organismen sich entwickelnden Nitzschien die von BENECKE beschriebene grobschaumige Struktur, namentlich auch das von ihm beschriebene leiterähnliche Bild aufwiesen. Bei dieser Veränderung der Plasmakonfiguration bleibt die zentrale Plasmabrücke entweder noch erhalten, oder auch sie schwindet, so daß das ganze Lumen nur Plasmalamellen derselben geringen Mächtigkeit aufweist. Die dünnen Lamellen fallen der zentralen Plasmabrücke gegenüber durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen auf; doch fand ich keinen Anlaß, ihrem Plasma Eigenschaften besonderer Art beizumessen; diese Bemerkung bezieht sich auf CHOLNOKYS Äußerung, der nach Färbung mit Methylenblau Plasmalamellen von stofflich besonderer Art wahrnehmen zu können glaubte (1928, 486).

Eine große Erleichterung beim Studium der normalen und der pathologischen Plasmakonfiguration von *Nitzschia putrida* bringt uns die Behandlung der Zellen mit Neutralrot. Die Vorzüge einer an *Nitzschia* durchgeführten Vitalfärbung hat bereits O. RICHTER (1909, 88 bzw. 744) dargetan; JOHANNA WAGNER (1934) benützt denselben Farbstoff, um die Bewegungen der Nitzschien künstlich zu beschleunigen; genannte Autorin hat auch bereits die Niederschläge beschrieben, die sich durch Neutralrot im Zellsaft der Nitzschien hervorrufen lassen. Neutralrot wird von Nitzschien gut ertragen;

ich erwähne diesen Umstand mit Bezugnahme auf CHOLNOKY (1935), der vielen Diatomeenarten gegenüber selbst schwache Methylenblaulösungen noch sehr giftig fand.

An vitalgefärbten Nitzschien läßt sich die pathologische Vakuolisierung leicht beobachten, die durch Zusatz von reinem Wasser zu erzielen ist: Die Vakuolen zerklüften sich, und die beiden großen Zellsafträume werden im Augenblick durch viele kleine Zellsaftkugeln ersetzt. Die Plasmakonfiguration, die dabei zustandekommt, entspricht einigermäßen derjenigen, die BENECKE (1900, Taf. 13 Fig. 16) für die in Osmiumsäure fixierten Zellen beschrieben hat; sehr oft aber lagen in unseren Präparaten die roten Teilvakuolen in mehreren Reihen nebeneinander. Die vorhin herangezogene Äußerung von CHOLNOKY (1928, Abb. 70) bezieht sich auf *Gyrosigma*, das mit Methylenblaulösung behandelt worden war; wenn auch der genannte Autor meint, daß nicht ein Auftreten der Vakuolen im Spiele wäre — „vielmehr entstehen in den Vakuolen kleinere, fast regelmäßig geordnete rundliche Räume, die durch die blaue Flüssigkeit gefärbt sind, und zwischen diesen bilden ungefärbte plasmatische oder aus der Materie des Vakuolums gebildete Lamellen die Wandungen“ —, so läßt doch seine Abbildung keinen Zweifel darüber, daß ihm dieselben Vorgänge vorgelegen haben, wie wir sie an *Nitzschia* gesehen haben. —

Über das Schicksal der Plastiden haben wir uns schon bei der Beschreibung der Plasmolyse und Plasmoptyse geäußert. Als erwähnenswert möchte ich hier noch das Verhalten der Synedraplastiden erwähnen. Bei der osmotischen Wasserentziehung erfahren die Plastiden eine offenbar starke Entquellung. Auf eine solche führe ich das oftmals recht auffällige längstreifige Aussehen der Synedraprotoplasten zurück, die unter dem Einfluß hypertotonischer Mittel sich zu einem schmalen, der Längsachse der Zelle folgenden Strang kontrahiert haben.

Nach Zusatz hypotonischer Mittel verlieren die Plastiden ihre normale Form und verkürzen sich zusehends. Das Fehlen der Pyrenoide und anderer Einschlüsse gestattet es, in vieler Beziehung besser als bei Konjugaten (vgl. KÜSTER, 1937), diese Kontraktionsvorgänge zu verfolgen. CHOLNOKYS Auffassung, der in dem Zerreißen und der Abrundung der Plastidensubstanz den Ausdruck selbständiger Bewegungsfähigkeit der Plastidenmasse sehen zu können glaubt (1928, 460), kann ich mich nicht anschließen. Andererseits bedeutet die Abkuglung der Plastiden an sich noch keinen Absterbevorgang. Zellen von *Pleurosigma*, die in hypertotonischer Flüssigkeit ihre Plastiden verkürzt und abgerundet hatten, erwiesen sich noch als plasmoly-

sierbar. — Herr Professor KÜSTER teilt mir mit, daß er in früheren Jahren in Büsumer Pleurosigmakulturen sehr viele Individuen beobachtet habe, deren Plastiden in abnormer Weise verkürzt und gerundet waren, und deren Bewegungstätigkeit gleichwohl keine Änderung hatte erkennen lassen.

Von großem Interesse wäre es gewesen, die Plastiden nach Plasmolyse und Deplasmolyse oder gar nach erneuter Plasmolyse auf die Veränderung ihrer Form und Lage im Zellinnern zu untersuchen, und die Restitution ihres Situs genau kennen zu lernen. CHOLNOKY hat hierüber (1928, 465, 468) bemerkenswerte Hinweise gegeben. Das mir vorliegende Material war nicht widerstandsfähig genug, um sich zur Behandlung dieser Frage zu eignen.

Zusammenfassung.

1. Die an den Diatomeen beobachteten Plasmolyseformen sind mannigfaltig; das Protoplasma kann wie von den Spitzen so auch von den Längsflanken der Zelle zurücktreten (*Pleurosigma*, *Nitzschia*).

2. Bei fortschreitender Protoplasmakontraktion stehen oftmals der Vergrößerung der zwischen Wand und Protoplasma sich öffnenden Räume geringere Hemmungen im Wege als der Neubildung ebensolcher weiterer Räume (*Pleurosigma*).

3. Die Rhaphe übt einen Einfluß auf die Plasmolyseform aus, indem sie verhindert, daß der bei der Plasmakontraktion entstehende freie Raum über sie hinaus sich verbreitert (*Pleurosigma*); dieser vergrößert sich infolgedessen in der Richtung parallel zur Rhaphe.

4. Die beiden Theken von *Nitzschia putrida* zeigen bei der Plasmolyse eine ungleiche Beteiligung; die flachen Bögen, mit welchen sich das Protoplasma von den Wänden abhebt, sind unregelmäßig verteilt, ihre Ausdehnung wechselt sehr. Manchmal liegen alle positiven Plasmolyseorte auf einer Längsflanke der Zelle.

5. In hypotonischen Medien tritt bei den Diatomeen eine Degeneration des Zelleninhaltes ein; sehr viele zeigen Plasmoptyse, bei der ein Teil des Zelleninhaltes ausgespien wird.

6. Die Plasmoptyse kann sowohl durch Bruch der Membran als auch durch ein Auseinanderweichen der Theken eingeleitet werden.

7. Das ausgeworfene Protoplasma geht im umgebenden Medium zugrunde; der Restinhalt wird bei der Plasmoptyse nicht wesentlich verändert.

8. Auch mit Osmiumsäure (2proz.) und Alkohol kann man Diatomeen zum Platzen und zum Ausschleudern des Protoplasmas bringen

9. Das Protoplasma von *Nitzschia* und *Synedra* ist für niedere Zucker- und Salzlösungen (10—25 proz. Rohrzucker und 2 MW.) permeabel.

10. Schwach plasmolytierte Diatomeenzellen können ihre Kriechbewegungen fortsetzen (*Nitzschia*); bei starker Kontraktion des Protoplasmas werden die Bewegungen eingestellt. Bei Plasmoptyse geht den Diatomeen die Bewegungsfähigkeit verloren.

11. *Pleurosigma elongatum* zeigt nach Einwirkung starker Erschütterungen und nach intensiver Belichtung Plasmolyse (Reizplasmolyse).

12. Bei osmotischer Wasserentziehung erfahren die Plastiden eine starke Entquellung; in hypotonischen Medien geben sie ihre normale Form auf und verkürzen sich (*Pleurosigma*, *Synedra*).

Gießen, Februar 1938.

Literaturverzeichnis.

- BENECKE, W. (1900): Über farblose Diatomeen der Kieler Fördrde. Jb. Bot. **35**, 535.
- BROCKMANN, CHR. (1908): Über das Verhalten der Planktondiatomeen bei Herabsetzung der Konzentration des Meereswassers und über das Vorkommen von Nordseediatomeen im Brackwasser der Wesermündung. Wissensch. Meeresunters., Abt. Helgoland N. F. **8**, 1.
- CHOLNOKY, B. v. (1928): Über die Wirkung von Hyper- und Hypotonischen Lösungen auf einige Diatomeen. Internat. Rev. d. ges. Hydrobiol. **19**, 452.
- (1930): Untersuchungen über den Plasmolyseort der Algenzellen 1—2. Protoplasma (Berl.) **11**, 278.
- (1930): Farbstoffaufnahme und Speicherung lebender Zellen pennater Diatomeen. Österr. bot. Z. **84**, 91.
- ELO, J. E. (1937): Vergleichende Permeabilitätsstudien besonders an niederen Pflanzen. Ann. Bot. soc. zool. fenn. Vanamo T. **8**, Nr. 6, 1—108.
- HECHT, R. (1912): Studien über den Vorgang der Plasmolyse. Beitr. Biol. Pflanz. **11**, 137.
- HEINZERLING, O. (1908): Der Bau der Diatomeenzelle mit besonderer Berücksichtigung der ergastischen Gebilde und der Beziehung des Baues zur Systematik. Bibl. Bot. **69**. Stuttgart.
- HOFMEISTER, W. (1867): Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig.
- HOLDHEIDE, W. (1931): Über Plasmoptyse an *Hydrodictyon utriculatum*. Planta **15**, 244.
- HUSTEDT, FR. (1930): Bacillariophyta (Diatomeen). PASCHERS Süßwasserflora **10**, 2. Aufl. Jena.
- KARSTEN, S. (1899): Die Diatomeen der Kieler Bucht. Wiss. Meeres-Untersuch. **4**, 17.
- KÜSTER, E. (1907): Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig.
- (1929): Pathologie des Protoplasmas. Teil 1. Protoplasma-Monographie **3**. Berlin.
- (1935): Die Pflanzenzelle. Vorlesungen über normale und pathologische Zytomorphologie und Zytogenese. Jena.

- KÜSTER, E. (1936/37): Die Gallertbildungen der *Amphipleura rutilans*. Arch. Protistenkunde 88, 211.
- KÜSTER, E. (1937): Pathologie der Pflanzenzelle. Teil. 2, Pathologie der Plastiden. Protoplasma-Monographie 8. Berlin.
- LAUTERBORN, R. (1896): Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig.
- MARKLUND, G. (1936): Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta bot. fenn. 18, 1—100.
- NÄGELI, C. v. (1855): Pflanzenphysiologische Untersuchungen I. Zürich.
- PFITZER, E. (1871): Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen (Diatomeen). HANSTEINS Bot. Abh. 2.
- RICHTER, O. (1906): Zur Physiologie der Diatomeen. 1. Mitt. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. 115, Abt. I, 27.
- (1909): Zur Physiologie der Diatomeen. 2. Mitt. Die Biologie der *Nitzschia putrida* BENECKE. Denkschr. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. 84, 675.
- SCHÜTT, F. (1835): Die Peridineen der Planktonexpedition. Kiel und Leipzig.
- SCHULTZE, M. (1865): Die Bewegungen der Diatomeen. Schultzes Arch. mikrosk. Anat. 1, 374.
- STRUGGER, S. (1935): Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin.
- WAGNER, J. (1934): Beiträge zur Kenntnis der *Nitzschia putrida* BENECKE, insbesondere ihrer Bewegung. Arch. Protistenkunde 82, 86.
- WEBER, F. (1925): Plasmolyseform und Kernform funktionierender Schließzellen. Jb. Bot. 64, 687.
- ZEHETNER, H. K. (1934): Untersuchungen über die Alkoholpermeabilität des Protoplasmas. Jb. Bot. 80, 505.
-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1938

Band/Volume: [91_1938](#)

Autor(en)/Author(s): Bauer L.

Artikel/Article: [Über das Verhalten der Diatomeen in hyper- und hypotonisch en Medien. 267-291](#)