

Protoplastastudien an *Saprolegnia*.

Von W. LENZ (Giessen).

Wenn man Zoosporangien von *Saprolegnia*-Arten mit hypertonen Lösungen behandelt, tritt, zumal an den Spitzen der Zoosporangien, mehr oder minder weitgehende Plasmolyse ein. In vielen Fällen hält sich diese im Rahmen dessen, was von vielen anderen Objekten her hinreichend bekannt ist; in anderen Fällen machen sich jedoch Erscheinungen bemerkbar, die zu eingehenden Studien herausfordern u. den Gegenstand der nachfolgenden Mitteilungen bilden sollen.

Es zeigt sich nämlich, dass in der Mitte der Zelle eine stark körnige Plasmamasse entsteht, und der Raum zwischen ihr und der Membran von einer im Hellfeld klaren, im Dunkelfeld trüb erscheinenden Masse erfüllt ist. Über die Eigenschaften dieser Substanz, ihre Herkunft und ihr Schicksal bei weiteren Eingriffen in das Zellenleben soll hier berichtet werden.

Material. - Als Versuchsobjekt diente eine *Saprolegnia* aus der *ferox*-Gruppe. Dieser Phycomycet stellte sich sehr schnell auf Ameisenpuppen ein, die sich in Wasser aus dem Teiche des botanischen Gartens Giessen befanden. Die Spezies liess sich in befriedigender Reinheit auf dem gleichen Substrat weiter kultivieren. Falls die Bildung von Zoosporangien einmal aussetzte, verfuhr ich nach der Methode von KLEBS (1), d.h. ich kultivierte den Pilz einige Tage in Erbsendekokt und übertrug ihn dann in reines Wasser, in dem nach kurzer Zeit Zoosporangien in grosser Anzahl entstanden.

Denselben Wasserproben entstammte eine *Achlya* aus der Formenkreis *racemosa*, welche gelegentlich zu gleichen Untersuchungen herangezogen wurde. Auch bei ihren Zoosporangien trat die hier in Rede stehende Erscheinung auf, sodass der Schluss erlaubt ist, dass dieses Phänomen nicht auf eine Spezies beschränkt ist, sondern vielmehr bei beiden Gattungen vorkommt.

Methode. - Um das erwähnte Phänomen hervorzurufen, wurden Zoosporangien in verschiedene Lösungen übertragen und unter dem Mikroskop bei Dunkelfeldbeleuchtung beobachtet. Zur Verwendung gelangten: Traubenzucker, Calciumnitrat, Magnesiumchlorid, Kaliumnitrat, Ammonsulfat, Calciumchlorid und Rohrzucker, in Concentrationen von n : 5 bis n. - Um mechanische Einflüsse und Verletzungen des Plasmas durch Druck zu vermeiden, legte ich zwischen Deckglas und Objektträger dünne Deckglassplitter. Diese Versuchsanordnung erleichterte das Durchleiten von anderen Flüssigkeiten und verhinderte zugleich ein Wegschwimmen der Pilzfäden.

Ergebnisse. - Nach etwa 5 Minuten während der Behandlung der Zoosporangien mit dem betreffenden wasserentziehenden Medium zeigte sich im Dunkelfeld an der Spitze des Organs eine schmale, durch schwächere Dispersion sich scharf vom übrigen, hell aufleuchtenden Zellinhalt abhebende, relativ dunkle Zone. Im Verlauf einer Viertelstunde verbreiterte sich diese Zone immer mehr, um zuletzt fast die ganze kalottenförmige Spitze des Zoosporangiums auszufüllen. Eine analoge Erscheinung sieht man unter gleichen Bedingungen auch am basalen Ende des Zoosporangiums auftreten, sodass schliesslich eine Zone, deren Höhe der Fadenbreite gleich kommt, vom grobkörnigen Plasma befreit erscheint und im Dunkelfeld als schwach trübe Masse auffällt. Eine ähnliche Kontraktion des stark körnigen Protoplasmas kann an den Längswänden des Zoosporangiums erfolgen, sodass dieses strangförmig im Lumen der Zelle liegt und auf allen Seiten von dem trüben Medium umgeben erscheint. In einigen Fällen sah ich das stark gekörnte Plasma in der Mitte des Zoosporangiums zerreissen und den Raum zwischen beiden Teilstücken mit einem bikonkaven Meniskus der erwähnten trüben Masse erfüllt. Die in einem Präparate vereinigten Zoosporangien pflegten - was Form und Grösse der kontrahierten Körnerplasmaschicht anbelangt - die verschiedensten Bilder zu ergeben; über die Faktoren, welche hierbei bestimmend mitsprechen, vermag ich keine näheren Angaben zu machen.

Die hier als "trübe Masse" bezeichnete Substanz, welche zwischen dem plasmolytisch geballten Körnerplasma und der Membran liegt, lässt bei Durchsicht vieler Zoosporangien mancherlei Unterschiede erkennen, die allerdings erst bei der Untersuchung mit dem Dunkelfeld-Kondensor wahrnehmbar werden. Das matte Licht, in dem sie aufleuchtet, lässt auf eine sehr fein verteilte Materie schliessen. In der Mehrzahl der Fälle scheint diese Verteilung eine gleichmässige zu sein. In einigen Zoosporangien konnte ich aber in der trüben Materie heller aufleuchtende, runde Flecken erkennen, die ich für kugelförmige Aggregate submikroskopischer Teilchen halten möchte. Nicht eben selten fand ich Zoosporangien, deren Spitze nach Anwendung der wasserentziehenden Mittel mit einer in lebhafter Molekularbewegung befindlichen, grob dispersen Masse erfüllt waren. Ich möchte die Vermutung aussprechen, dass in diesen Fällen Zellen vorlagen, die durch die Präparation stärker geschädigt worden waren als die zuerst beschriebenen.

Die Grenze der die Zoosporangien erfüllenden Masse gegenüber dem Körnerplasma ist unscharf. Zuweilen hatte ich den Eindruck, dass relativ grösse Granula des letzteren in die fein disperse Masse übergehen könnten; doch möchte ich bei der Schwierigkeit der Beobachtung mich nur mit Vorbehalt darüber äussern.

Über die Bedingungen, unter welchen die Entwicklung einer schwach trüben Füllmasse erkennbar wird, ist folgendes zu bemerken: Zoosporangien verschiedenen Alters verhalten sich verschieden. Während bei älteren Zoosporangien echte Plasmolyse eintritt, d.h. zwischen Membran und Zellinhalt ein im Dunkelfeld optisch leer erscheinender Raum erkennbar wird, kommt bei jungen Stadien im allgemeinen die erwähnte "trübe Masse" zum Vorschein. Ich nenne hierbei diejenigen Stadien die älteren, bei denen schon die Zoosporen in ihrer Gestalt erkennbar waren.

Da der Gedanke nahe lag, dass die Plasma-Fülle, welche die Zoosporangien auszeichnet, eine entscheidende Bedeutung haben könnte, wurden plasmareiche junge Oogonien in derselben Weise untersucht wie Zoosporangien. Nach Zusatz des Plasmolytikums trat bei ihnen nur echte Plasmolyse im oben angeführten Sinne ein; eine schwach trübe Randzone war bei ihnen niemals erkennbar.

Auch das umgebende Medium ist für den Ablauf unseres Phänomens von Bedeutung. Die Untersuchung verschiedener Lösungen ergab, dass besonders Traubenzucker, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und MgCl_2 an erster Stelle die Erscheinung hervorriefen. Unter diesen Medien kam wiederum dem Traubenzucker eine bevorzugte Stellung zu. Nur geringes Vermögen, den Vorgang einzuleiten, muss KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, AlCl_3 und NaCl zugesprochen werden, die insgesamt anscheinend giftige Wirkungen auf das Protoplasma ausüben, da bei ihrer Anwendung in hohem Masse Absterbeerscheinungen auftraten.

Der Einfluss der Konzentration wurde ebenfalls untersucht. Dabei ergab sich, dass dieser Faktor, wenigstens bei Traubenzucker und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, von keiner allzu grossen Wichtigkeit war. Gleichviel, ob die Konzentration dieser beiden Lösungen $n : 5$ oder n betrug, immer trat das Phänomen ein. Nur wenn die Konzentration eine solche Grösse erreichte, die an sich schon Schädigungen der Zelle hervorrief, dann natürlich war auch die Entstehung der trüben Masse infrage gestellt. Sank die Konzentration der plasmolysierenden Lösung unter den Grad, der in sterilen Fäden keine Plasmolyse mehr hervorrief, so waren auch in den Zoosporangien keine besonderen Erscheinungen festzustellen. Diese untere Grenze lag z.B. bei Traubenzucker und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ bei $n : 5$.

Diskussion. - Woher stammt die hier als "trübe Masse" bezeichnete Füllung d. Zell-Lumens?

Offenbar kommen zwei Möglichkeiten in Betracht: Entweder sie leitet sich vom Zytoplasma ab - oder sie ist ein Teil des Zellsaftes.

Vorausgesetzt, dass die trübe Masse ein Abkömmling des Zytoplasmas wäre, müsste man annehmen, dass eine Differenzierung stattgefunden hätte, derart, dass unter dem Einfluss des plasmolysierenden Mittels die Granula des Plasmas nach innen abgewandert wären und eine breite Zone von hyalinem oder schwach trübem Protoplasma hätten freiwerden lassen. Vorgänge solcher Art sind nicht unbekannt. Seit PFEFFER wissen wir, dass bei Plasmodien von Schleimpilzen die durch Verwundung blossgelegten Schichten des Endoplasmas ihre Granula nach Innen wandern lassen, sodass eine körnerfreie Zone von Ektoplasma gleichsam regeneriert wird (2). Bei

Plasmolyse von *Allium*-Epidermiszellen sah KÜSTER an der Oberfläche mancher Protoplasten eine auffallend mächtige Schicht von völlig klarem Zytoplasma sich entwickeln (3).

Lässt sich annehmen, dass auch bei unsern Zoosporangien eine Differenzierung des Protoplasten stattfindet?

Die mikrochemische Untersuchung der "trüben Masse" lässt diese Möglichkeit als diskutabel erscheinen, da sich das fein disperse Medium mit Jodlösungen so gelb färbt, wie es sich von einem schwach granulierten Plasma erwarten lässt. In manchen Fällen verwandelte sich die trübe Masse unter dem Einfluss des Jods in eine Form, die ich als gallertartige Schollen bezeichnen möchte. Zugleich war nach Jod-Zusatz eine erhebliche Kontraktion des körnigen Plasmateiles festzustellen, derart, dass zwischen dem grob gekörnten Innenplasma und der klaren Randmasse deutlich Spalten erkennbar wurden. Für eine Differenzierung des Zellinhaltes spricht auch die Färbbarkeit der "trüben Masse" mit Hämatoxylin. Bei Behandlung mit diesem Farbstoffe nahm die betreffende Masse einen hellblauen, ziemlich homogenen Farbton an, nur einzelne Granula hoben sich dunkelblau von dem Untergrunde ab.

Neben den Färberesultaten, die sich mit Jod und Hämatoxylin erzielen lassen, legen Beobachtungen an Zoosporangien, welche bereits längere Zeit im Plasmolytikum verweilten, den Gedanken nahe, dass die die Zoosporangien-Spitze erfüllende Masse als Protoplasma anzusprechen ist. Man beobachtet in diesem Vorgänge, welche für eine von der Wirkung fällender Agentien unabhängige, d.h. spontan eintretende Erstarrung der "trüben Masse" sprechen. Das stark granuliertes Zytoplasma kann sich von ihr trennen und mehr und mehr kontrahieren, während an der Spitze des Zoosporangiums eine im optischen Längsschnitt mondsichelförmige Restmasse von geringer Mächtigkeit, in andern Fällen sehr umfangreiche Ballen liegen bleiben. So entsteht in dem Zoosporangium eine Kappe, die von dem sich kontaktierenden Innenplasma durch eine im Dunkelfeld fast schwarz erscheinende Zwischenzone getrennt ist. Diese dunkle Zwischenzone ist vielleicht völlig leer, d.h. von dem Plasmolytikum erfüllt. Die Annahme liegt nahe, dass die an der Spitze liegenden Anteile des Zellinhaltes eine während oder bald nach der Plasmolyse abgestorbene Partie des Protoplasten darstellen, der sich bei fortgesetzter Kontraktion der stark granulierten Hauptmasse von ihr trennt.

Diese Schicht kann - wie wenigstens für einige Fälle mit Sicherheit festgestellt wurde - sich während des hier angenommenen Absterbe-Prozesses kontrahieren, sodass aus der ansehnlichen umfangreichen "trüben Masse" schliesslich eine schmale, deutlich gekörnte Hohlkalotte entstehen kann. Ob die körnerreiche Innenmasse während dieser soeben beschriebenen Kontraktion ihrerseits noch lebendig ist, bleibt ungewiss und muss sogar als fraglich bezeichnet werden. Wir werden später noch hören, dass es nicht gelang, für die mit schwacher Zuckerlösung behandelten, in der beschriebenen Weise veränderten Zoosporangien den Nachweis des Lebens zu erbringen.

Sollte es gelungen sein, durch die Anwendung wasserentziehender Mittel zwei im Zoosporangium vorhandene Plasma-Arten voneinander zu trennen, oder das die Sporangien erfüllende Plasma zu einer Differenzierung zu nötigen, so hätten wir für die Zoosporangien Vorgänge festgestellt, die sich einigermaßen mit manchen Plasmadifferenzierungs-Vorgängen im Zell-Inhalt der Thallophyten vergleichen lassen.

Die eingehenden Untersuchungen, welche DAVIS (4) der Entwicklung der Zoosporen von *Saprolegnia* gewidmet hat, geben allerdings für eine solche Annahme keine Stützpunkte; wenigstens ist aus seinen Berichten ersichtlich, dass von einer Differenzierung von Sporen und Epiplasma, wie sie von den Ascomyceten her bekannt ist, oder von ähnlichen Differenzierungs-Prozessen im normalen Entwicklungsgang der Zoosporangien von *Saprolegnia* nicht die Rede ist. Vielleicht liesse sich aber die Annahme stützen, dass bei den geschilderten Eingriffen in das Leben der Zelle eine pathologische Entmischung des Protoplasmas erfolgt. Die unverwundlich derben Zellen der *Caulerpa* lassen nach Verwundungsreizen, die JANSE (5) eingehend beschrieben hat, eine Differenzierung von relativ klarem und stark gekörntem Plasma erkennen. JANSE nennt das erstere Meristem-Plasma. Die physiologischen Eigen-

schaften der von ihm beobachteten Plasmaformen machen zwar von vorn herein klar, dass der von ihm beobachtete Entmischungsvorgang physiologisch und biologisch nicht mit dem hier geschilderten Prozess auf eine Stufe gestellt werden darf. Immerhin zeigen seine Beobachtungen, dass gereizte Protoplasten in kurzer Zeit grosse Mengen einer relativ klaren Plasma-Komponente durch Entmischung abgeben können.

Zu verwerfen ist die Annahme, dass die fein trübe Hüllmasse der Zoosporangien nichts anderes als ausgetretener, zwischen Plasmaschlauch und Membran gesammelter Zellsaft sein könnte. Die oben beschriebene "trübe Masse" hat jedenfalls Eigenschaften, die man bei typischem Zellsaft niemals antrifft: Der mit Jod nachweisbare Eiweiss-Gehalt und die Fähigkeit, zu klarer oder gekörnter Substanz zu erstarren. Die von ARTHUR MEYER (6) beschriebenen "optisch inhomogenen Zellsaft-Anten und Zellsaft-Massen" kommen für unser Objekt schwerlich in Betracht. Das Verhalten der peripheren "trüben Masse" gegenüber Jod und Farbstoffen ist vielmehr das des Zytoplasmas.

In der Erwartung, die Protoplastennatur der fraglichen Masse auch physiologisch zu erweisen, wurde grosse Mühe darauf verwendet, Zoosporangien, deren Inhalt sich bereits differenziert hatte, zu plasmolysieren. Ich benützte organische und anorganische Plasmolyte, konnte aber niemals echte Plasmolyse mit Sicherheit feststellen. Ich versuchte ferner, durch Behandlung mit Fixiermitteln, die ich bei hoher und niedriger Temperatur auf die Zellen einwirken liess, die periphere Masse zur Kontraktion und zur Loslösung von der Membran zu veranlassen, hatte aber hierbei keinen Erfolg.

Der negative Ausfall der Plasmolysier-Versuche lässt mich zwar nicht an der Protoplasta-Natur der Aussenschicht zweifeln; er zeigt aber, dass der hier beschriebene Differenzierungs-Vorgang ein Absterbe-Phänomen eigener Art darstellt.

Zusammenfassung. - Werden Zoosporangien von *Saprolegnia*, besonders jüngere Stadien, mit wasserentziehenden Mitteln behandelt, so treten bei den Zellen Absterbe-Erscheinungen auf, die von eigenartigen Differenzierungs-Vorgängen begleitet werden. Letztere äussern sich darin, dass sich das grobe, granuläre Plasma im Zellinnern zusammenballt und der Raum zwischen ihm und der Membran mit einer relativ klaren, nur wenig getrübbten Zytoplasmamasse erfüllt wird.

Literatur-Verweise.

- (1) KLEBS, Beiträge zur Physiologie der Fortpflanzung der Pilze, in Pringsh. Jahrbücher 1899. - (2) PFEFFER, Pflanzenphysiologie 2. ed. 1904, p. 717. - (3) KÜSTER, Über Vakuolenteilung und grobschaumige Protoplasten, in Ber. D. bot. Gesellschaft 1918. - (4) DAVIS, Oogenesis in *Saprolegnia*, in Bot. Gaz. XXXV (1903) p. 248. - (5) JANSE, Polarität und Organbildung bei *Caulerpa prolifera*, in Pringsh. Jahrb. 1906, p. 43 u. f. - (6) A. MEYER, Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle, I (1920) p. 394 u. f.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Lenz Wilhelm

Artikel/Article: [Protoplasmastudien an Saprolegnia 435-438](#)