

Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse.

Von

Ernst Küster.

Mit 1 Textfigur.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Die äußerste Plasmaschicht, die sich bei vielen Protoplasten, bei Amöben, Myxomyceten, auch bei vielen Dermatoplasten pflanzlicher Natur sehr deutlich gegen die innere Plasmamasse absetzt, bezeichnet man bekanntlich als Ektoplasma oder als Hyaloplasma. Theoretische Erwägungen verschiedener Art machen es wahrscheinlich, daß auch diese Ekto- oder Hyaloplasmaschicht nicht immer eine homogene Schicht wird sein können, sondern an ihrer Oberfläche, an welcher der Protoplast in Kontakt mit dem umgebenden Medium sich befindet, wenn nicht ständig und unter allen Umständen, so doch mindestens unter der Einwirkung bestimmter Außenbedingungen eine Lamelle von besonderen chemischen und physikalischen Eigenschaften ausbilden wird¹. Den optischen Hilfsmitteln, welche uns bei der Untersuchung des Protoplasmas zur Verfügung stehen, braucht freilich eine solche Membran nicht immer ohne weiteres zugänglich zu sein.

Es soll auf den nachfolgenden Seiten festgestellt werden, ob sich auf der Oberfläche des Plasmas pflanzlicher behäuteter Zellen während oder nach der Plasmolyse Lamellen irgend welcher Art bilden, und welche Erscheinungen uns etwa gestatten, über Vorhandensein oder Fehlen der Oberflächenhäutchen oder über ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften Schlüsse zu ziehen.

¹) Vgl. Zangger, H., Über Membranen und Membranfunktionen. (Ergebnisse der Physiol. 1908. 7, 99.)

Von einer großen Zahl verschiedener Stoffe ist bekannt, daß ihre wässerigen Lösungen auf den Oberflächen früher oder später mehr oder minder zähe Häutchen bilden; eingehende Untersuchungen über die Entstehung und die Eigenschaften dieser Häutchen sind z. B. mit Kobaltchlorid-, Eisenacetat- und Fuchsinlösungen gemacht worden¹; ferner sind namentlich die von vielen hydrophilen Kolloiden gebildeten Häutchen, deren Verhalten den Physiologen naturgemäß besonders interessieren muß, wiederholt untersucht worden: Albumine, Albumosen, Saponin u. a. bilden an ihren freien, d. h. an Gas grenzenden Oberflächen Häutchen aus, die ihre Entstehung irgend welchen Entmischungs- und Fällungsvorgängen verdanken dürften. Ähnliche Häutchen entstehen auch bei Berührung der Kolloidlösungen mit Chloroform, Äther, Schwefelkohlenstoff oder Amylalkohol. Ramsden bezeichnet diese Häutchen als Haptogenmembranen².

Da das Protoplasma lebende Zellen in seinen chemisch-physikalischen Eigenschaften unzweifelhaft mit den zur Bildung von Haptogenmembranen befähigten hydrophilen Kolloiden vielfach übereinstimmt, liegt der Gedanke nahe, daß auch das Protoplasma — wenigstens unter bestimmten Verhältnissen — eine den Haptogenmembranen der Albumine usw. ähnliche, deutlich nachweisbare Oberflächenhaut ausbilden könne, und daß vielleicht auch an den Grenzflächen von Plasma und Kern, Plasma und Chromatophoren oder Plasma und Zellsaft solche Häutchen entstehen können.

M. Schultze, der wohl zuerst der festen Oberflächenbeschaffenheit der Protoplasten seine Aufmerksamkeit geschenkt

¹) Zuletzt hat G. Nagel Mitteilungen über diese Häutchen veröffentlicht (Über die Bildung fester Oberflächen auf Flüssigkeiten. *Ann. d. Physik.* 1909. 4. F. 29, 1029; auch *Diss. Heidelberg.* 1909.); daselbst weitere Literaturangaben.

²) Vgl. Ramsden, W., Die Koagulierung von Eiweißkörpern auf mechanischem Wege (*Arch. f. d. ges. Physiol.* 1894. S. 517). Ramsden, W., Abscheidung fester Körper in den Oberflächenschichten von Lösungen und Suspensionen. Beobachtungen über Oberflächenhäutchen, Blasen, Emulsionen und mechanische Koagulation (*Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1904. 47, 336). Metcalf, W. V., Über feste Peptonhäutchen auf einer Wasserfläche und die Ursache ihrer Entstehung (*Ebenda.* 1905. 52, 1). — Von den Arbeiten des Botanikers H. Devaux wäre besonders zu nennen: Membrane de coagulation par simple contact de l'albumine avec l'eau; application au protoplasma (*Proc.-Verb. soc. Linnéenne de Bordeaux.* 1904).

und die Bedeutung dieser Lamelle für das Zellenleben erkannt hat, spricht von einer »Kontaktmembran«, wenn die mit dem äußeren Medium sich berührende äußerste Schicht des Plasmas besondere Dichtigkeit erkennen läßt¹. Ich will im folgenden dem von Ramsden vorgeschlagenen Terminus den Vorzug geben und von Haptogenmembranen sprechen.

Eine ganze Reihe von Mitteilungen, die sich auf die an tierischen und pflanzlichen Zellen gesammelten Erfahrungen beziehen, spricht bereits dafür, daß Haptogenmembranen an der Oberfläche von Protoplasten bereits wiederholt beobachtet worden sind. Am entschiedensten hat wohl Prowazek auf sie hingewiesen: er beobachtete, daß ausgetretene Plasmatropfen von *Vaucheria* im umgebenden Medium Oberflächenhäutchen von beträchtlicher Festigkeit ausbilden, daß man durch mechanischen Druck diese Häutchen, die er als Haptogenmembranen anspricht, sprengen und das Protoplasma aus ihnen heraustreten lassen kann; die aus ihren Haptogenmembranen herausgedrängten Protoplasten umgeben sich sofort mit einem neuen, ähnlichen Oberflächenhäutchen².

Ich habe zwar trotz eifriger Bemühungen weder an *Vaucheria* noch an Zellen anderer Art das von Prowazek geschilderte Phänomen beobachten können, bin aber bei Untersuchungen an plasmolysierten Zellen mit Erscheinungen bekannt geworden, welche für die Fähigkeit des pflanzlichen Protoplasmas, Haptogenmembranen bilden zu können, sprechen. Von ihnen soll im folgenden die Rede sein.

1. Sprengung der Plasmahaut an plasmolysierten Zellen.

Alle Untersuchungen, über deren Ergebnisse ich hier berichten will, sind dadurch sehr erschwert worden, daß die subtilen Veränderungen des Protoplasmas, um die es sich handelt, auch an Zellen gleicher Provenienz, die nach dem mikroskopischen Befund zu schließen als durchaus gleichartig und vergleichbar gelten dürfen, keineswegs immer in gleicher Weise und mit

¹) Schultze, M., Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. Leipzig. 1863.

²) Prowazek, S. v., Zur Regeneration der Algen. (Biol. Centralbl. 1907. 27, 737.)

gleicher Geschwindigkeit eintreten; es bedarf infolgedessen einer sehr großen Anzahl von Beobachtungen, ehe man aus ihnen eine Gesetzmäßigkeit ableiten kann. Diese Schwierigkeiten führten mich dazu, von den sehr zahlreichen Objekten, mit welchen ich vor zwei Jahren meine Untersuchungen angefangen hatte, schließlich nur eines mit der erforderlichen Genauigkeit vorzunehmen. Meine Mitteilungen werden sich daher ganz vorzugsweise auf *Allium Cepa* beziehen. Ich verwendete Epidermispräparate von der Außenseite der Zwiebelschuppen; teils lagen Varietäten mit farblosem (bezw. hellgelbem), teils solche mit rotem Zellsaft vor¹.

Behandelt man *Allium*präparate mit n-Rohrzuckerlösung, so findet man nach etwa 24 Stunden die Zellen stark plasmolysiert; an der Oberfläche des Plasmaleibes sind keine besonderen Veränderungen unter dem Mikroskop erkennbar. Wird die Rohrzuckerlösung unter dem Deckglas allmählich durch Leitungswasser ersetzt, so sieht man die verschiedenen Epidermiszellen verschieden reagieren: in vielen von ihnen dehnt sich der Protoplast mit fortschreitender Wasseraufnahme mehr und mehr aus und erreicht allmählich wieder sein ursprüngliches Volumen; in vielen anderen Zellen aber ist der Rückgang der Plasmolyse unregelmäßiger, indem an irgend einer Stelle der Oberfläche des Protoplasten das Plasma bruchsackartig vorquillt. Man hat den Eindruck, daß die äußerste Schicht des Plasmas erstarrt ist, daß sie von der schwellenden Innenmasse gesprengt wird, und daß diese zu der entstandenen Öffnung bei fortschreitender

¹) Auch bei der Bearbeitung dieses einen Objektes machen sich Schwierigkeiten geltend: rote Varietäten zeigen im allgemeinen die hier geschilderten Phänomene leichter als anthocyanfreie oder anthocyanarme Sorten. Die äußeren (noch mäßig saftreichen) Schuppenblätter einer Zwiebel erweisen sich im allgemeinen günstiger als die inneren. Selbst bei Präparaten, die von ein und demselben Blatte stammen, und bei Zellen ein und desselben Präparates darf man aber nicht auf gleiches Verhalten nach der Plasmolyse rechnen. Nicht selten treten — aus mir nicht näher bekannten Gründen — oft schon sehr bald nach Beginn der Plasmolyse Veränderungen an den Protoplasten ein, indem sich das Körnerplasma an einer bestimmten Stelle anhäuft (vgl. Küster, E., Über Inhaltsverlagerungen in plasmolysierten Zellen. *Flora*. 1910. **100**, 267) und — nachdem in den Kapillarspannungsverhältnissen des Protoplasmas bestimmte Änderungen eingetreten sind — linsenartig vorspringt, während die Vakuole der Kugelform zustrebt. Präparate dieser Art sind für die uns hier beschäftigenden Untersuchungen nicht brauchbar.

Wasseraufnahme immer mehr hervortritt. Der kontrahierte Plasmaleib kann dabei seine in der Rohrzuckerlösung angenommene Gestalt ganz und gar behalten; der Raum, der zwischen seiner Oberfläche und der Zellenwand liegt, wird von der aus dem Inneren hervorschwellenden Plasmamasse angefüllt.

Ich habe die Erscheinung nirgends so leicht und so schön beobachten können, wie an den Zwiebelschuppen von *Allium Cepa*, zumal an Präparaten von anthocyanreichen Varietäten. Schnelle Zuführung von Wasser befördert oft das Sprengen der äußersten Plasmaschicht; allmähliche Zuführung von Wasser scheint in vielen Fällen den normalen Rückgang der Plasmolyse zu begünstigen.

Das Bild, das beim Austreten der Innenmassen zustande kommt, gestaltet sich verschieden je nach der Form des Zellsafrumes: ist dieser ungeteilt, dann tritt eine große plasmatische Blase vor, die das ganze Zellenlumen anfüllen kann; liegen zahlreiche kleinere Vakuolen vor, dann sieht man nacheinander mehrere oder viele von ihnen zu der entstandenen Öffnung hervorperlen, einzelne plasmaumhüllte Vakuolen sowie ganze Vakuolengruppen. In diesen wie in jenen Fällen wird man an die Erscheinungen der Plasmoptyse erinnert, von der sich der hier geschilderte Vorgang vor allem darin unterscheidet, daß bei der Plasmoptyse die Zellulosewand das feste Widerlager abgibt, das schließlich gesprengt wird, während bei den beschriebenen plasmolysierten *Allium*-zellen die widerstandleistende Schicht vom Plasma selbst geliefert wird.

Wenn sich nun auch die geschilderten Veränderungen, das Austreten der beschriebenen Blasen usw. nicht ohne Annahme einer festen oder einer besonders zähen Oberflächenschicht erklären lassen, bedarf es doch noch näherer Erörterung, ob wirklich jene oberflächlichen Schichten als Haptogenmembranen angesprochen werden dürfen. Auf einige naheliegende Einwände will ich hier eingehen.

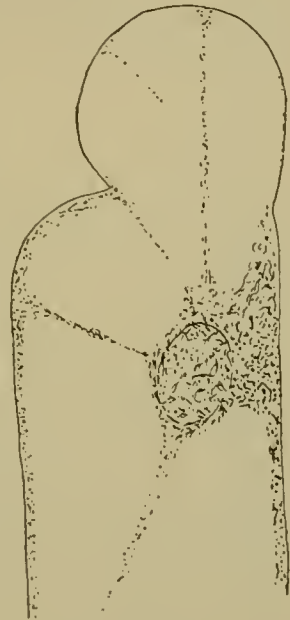
Zunächst bedarf es der Widerlegung, daß nicht etwa eine dünne Zelluloselamelle vorliegt und das feste Widerlager bei den erwähnten Sprengungen abgibt. Bekanntlich bilden

die Protoplasten sehr zahlreicher Pflanzen nach Plasmolyse eine neue Zellwand an der Plasmaoberfläche aus; auch *Allium*-zellen umhüften sich nach Plasmolyse. Bei Präparaten, die 3mal 24 Stunden in n-Rohrzucker gelegen hatten, konnte ich eine sehr feine Membran nachweisen, die bei aufmerksamer Prüfung an vielen Zellen sichtbar wurde, wenn in ihnen durch Anwendung noch stärkerer Rohrzuckerlösung erneute Kontraktion des Plasmas hervorgerufen wurde. Bei Material, das nur 24 Stunden in n-Rohrzucker gelegen hatte, habe ich niemals neu gebildete Häute nachweisen können; überdies spricht gegen ihr Vorhandensein schon die Beobachtung, daß bei sehr langsamer Beseitigung der plasmolysierenden Flüssigkeit die Protoplasten vielfach ganz regelmäßig an Volumen zunehmen und keinerlei Sprengungen eintreten. Die Annahme, daß die in Rede stehenden Veränderungen durch eine Zellulosehaut bedingt wären, kann demnach nicht als zulässig bezeichnet werden; dagegen wäre es ja immerhin möglich, daß die von uns als Haptogenmembran bezeichnete Oberflächenschicht später zu einer Zellulosehaut werden kann oder zu deren Entstehung in irgendwelchen wichtigen Beziehungen stehe.

Ferner wäre zu diskutieren, ob in den von mir beobachteten Fällen das ganze Plasma selbst als tote und vielleicht auch erhärtete Masse die feste oder zähe Oberflächenschicht abgibt und die nach Sprengung dieser Schicht hervorquellenden Blasen nichts anderes sind als die von de Vries studierten »Tonoplasten«¹. Unzweifelhaft haben viele der von diesem Autor beschriebenen und abgebildeten Erscheinungen große Ähnlichkeit mit den hier geschilderten: de Vries läßt eine kräftig plasmolysierende Kaliumnitratlösung auf seine Objekte wirken und sieht dann die Vakuolen aus dem getöteten, mehr und mehr sich kontrahierenden Plasma heraustreten. In unseren Fällen handelt es sich um eine aus Plasma plus Vakuolen bestehende Masse, welche nach Sprengung der äußersten Oberflächenschicht frei wird und hervortritt. Ob nun die Wand der sich vorstreckenden Blase nur der Vakuolenwand gleichkommt oder auch noch Protoplasma enthält, das nicht als Vakuolenwand-

¹) de Vries H., Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1885. 16, 463.)

substanz angesprochen werden darf, ist zwar bei der geringen Dicke der plasmatischen Lamelle im einzelnen Falle oft nur sehr schwer oder gar nicht zu entscheiden; es genügt aber für uns, auf diejenigen Fälle hinzuweisen, in welchen besonders viel Protoplasma ausgestoßen wird und daher deutlich wahrgenommen werden kann: namentlich bei den rotgefärbten Varietäten von *Allium Cepa* ist der Fall gar nicht selten, daß nach Plasmolyse mit Rohrzucker und nachfolgendem Wasserzusatz nicht einzelne Vakuolen, sondern Vakuolengruppen, die durch gemeinsame Plasmaumhüllung in Kugelform zusammengehalten werden, ausgestoßen werden. Werden einzelne Vakuolen hinausbefördert, so macht sich ihre — relativ dicke — Plasmaumhüllung nicht selten dadurch leicht bemerkbar, daß das Plasma stark aufquillt. Die nebenstehende Figur stellt einen Fall dar, in welchem die hervorquellende plasmatische Blase noch deutlich von einem Plasmafaden in ihrem Zellsaft-raum durchzogen wird. Diese und ähnliche Beobachtungen zeigen, daß die oben geschilderten Vorgänge der Sprengung und des Vorquellens nicht als Austreten der de Vriesschen Vakuolenhäute abgetan werden dürfen, — ganz abgesehen davon, daß es sich überhaupt um lebende Zellenleiber bei meinen Beobachtungen handelte, nicht um totes, sich kontrahierendes Plasma. Ob in allen von de Vries geschilderten Fällen die von ihm gesuchten »Tonoplasten« wirklich vorlagen, oder hie und da auch Sprengungen von Haptogenmembranen in dem von mir erörterten Sinn, möchte ich dahingestellt sein lassen.



Lepeschkin¹ beschreibt neuerdings Beobachtungen, nach welchen das Plasma pflanzlicher Zellen durch mechanische Eingriffe zum Koagulieren gebracht werden soll. »Drückt man z. B. einen Spirogyrafaden, der sich unter dem Deckgläschen in Wasser befindet, vorsichtig auf, so daß die Zellen deformiert

¹) Lepeschkin, W. W., Zur Kenntnis der Plasmamembran I. (Ber. d. d. bot. Ges. 1910. 28, 91.)

werden, und wiederholt man das Aufdrücken einige Male, so beobachtet man, daß die äußerste Plasmaschicht koaguliert und das innere Plasma (inklusive Chlorophyllbänder) in mehrere Ballen zerfällt. Einige Zellen können dabei zerplatzen, die Ballen können aus den Zellen herauskommen und im umgebenden Wasser herumschwimmen«. Ganz abgesehen davon, daß bei Lepeschkins Beobachtungen wohl nicht nur eine Veränderung der äußersten Oberflächenschicht eintritt, sondern destruktive Veränderungen im ganzen Zellenleibe kann in unseren Fällen wohl kaum an eine derartige Erstarrung der Plasmaoberfläche durch mechanischen Druck gedacht werden, es müßte höchstens schon der Druck des Deckglases genügen, um die Koagulation hervorzurufen.

Das Häutchen, das nach Plasmolyse auf der Oberfläche der Protoplasten sich zu bilden scheint, kann unter dem Mikroskop nicht unmittelbar wahrgenommen, sondern muß aus dem Verhalten der Protoplasten erschlossen werden.

Anwendung anderer plasmolysierender Lösungen gab keine weiteren Aufklärungen. Am besten eignet sich, so weit meine Erfahrungen reichen, von anorganischen Mitteln n-Calciumnitrat; Normallösungen von KNO_3 , NaCl u. a. riefen meist Absterbeerscheinungen hervor, die an die von de Vries geschilderten Prozesse erinnerten. Gelegentlich treten aber auch in den mit Elektrolytlösungen behandelten Zellen die vorhin für Rohrzuckerpräparate geschilderten Hautbildungen und Hautsprengungen auf; ich will auf die Einzelheiten meiner Befunde nicht weiter eingehen.

Ich versuchte ferner durch Anwendung von Lösungen verschiedener Reaktionen über die Haptogenmembran des Plasmas näheres zu ermitteln.

Saure und alkalische Medien wirken bei der Plasmolyse von Allium-Epidermiszellen sehr verschieden auf das Protoplasma.

Ich benutzte zum Vergleich Lösungen, welche n-Rohrzucker und n/40-Zitronensäure bzw. ebensoviel Natronlauge enthielten. Beim Einlegen in die alkalische Lösung färben sich die Präparate gelb; es bleibt aber noch eine ausreichende Anzahl der Epidermiszellen am Leben.

Bei Untersuchung nach 16 bis 20 Stunden zeigt sich, daß im sauren Medium die Zellen stark plasmolysiert sind und ihr Inhalt durchweg lebendig geblieben ist. Der Rückgang der Plasmolyse geht nach Wasserzusatz nur sehr unvollkommen vor sich; die Protoplasten werden zwar deutlich praller, aber gewinnen selbst nach längerer Zeit — etwa nach einer Stunde — nur wenig an Volumen. Früher oder später platzen die Protoplasten, ohne daß dabei ihre Umrisse sonderlich sich veränderten. Namentlich bei kleineren kugeligen Plasmastücken sieht man deutlich ein resistentes Häutchen übrig bleiben.

Ungefähr zwei Stunden nach Zusatz von Wasser zu den in saurem Medium plasmolysierten Präparaten treten vielfach degenerative Veränderungen im Protoplasma ein.

Das Verhalten der Alliumzellen in schwach alkalischem Medium ist wesentlich anders. Unmittelbar nach Zusatz von Wasser kommt Bewegung in die Massen; die Plasmolyse geht mehr oder minder vollkommen zurück, wenn nicht schon vorher das Plasma stark quillt und schwindet. Mehr oder minder starke Quellung tritt in allen Zellen ein.

Nach Behandlung desselben Zellenmaterials mit n-Rohrzuckerlösung ohne Säure- oder Alkalizusatz tritt bei allmählicher Auswaschung normaler Rückgang der Plasmolyse ein; bei schnellerem Wasserzufluß erfolgen hie und da Sprengungen der Haptogenmembranen.

Die Veränderungen, welche die Protoplasmaoberfläche im sauren Medium erfährt, lassen sich rückgängig machen: überträgt man Präparate aus der sauren Lösung auf ca. eine Stunde in die entsprechende alkalische, so verhalten sich dann die Protoplasten nach Zusatz von reinem Wasser wie die geschilderten Zellen, die von Anfang an mit NaOH-haltiger Zuckerlösung plasmolysiert worden sind: sie gewinnen bei Wasserzusatz schnell an Volumen; das Plasma schwillt oft sehr stark an, wird dabei wasserhell und löst sich dann meist restlos auf. Zahlreiche Vakuolenblasen verschiedenster Größe bleiben dabei erhalten und füllen die Zelle.

Entsprechende Ergebnisse wurden erzielt, wenn Präparate zuerst in NaOH-haltiger Zuckerlösung und von dort in schwach saure gebracht wurden. Nach Zusatz von reinem Wasser ver-

hielten sich die Zellen ganz ähnlich wie die, welche von Anfang an mit saurer Zuckerlösung behandelt worden waren: sehr geringe Volumenzunahme, dann meist sehr bald Absterben des Plasmas. Schließlich ist von dem kontrahierten Plasmaschlauch außer den toten Resten einer kernhaltigen Plasmaanhäufung nur noch ein sehr dünnes Häutchen übrig.

In den sauren Lösungen hat offenbar nicht nur das Plasma, sondern insbesondere auch die Vakuolenwand ihre Ausdehnungsfähigkeit vorübergehend verloren.

Ähnliche Resultate wie die erwähnte Behandlung mit $n/40$ -NaOH lieferte Plasmolyse der Alliumzellen mit n -Rohrzucker + $n/120$ -NaOH, in deren Mischung die Zellen bis 35 Stunden blieben. Das Plasma schwillt auch bei solchen Präparaten nach Wasserzusatz stark an, wird sehr hell und seine Umrisse werden wegen seines schwachen Lichtbrechungsvermögens oft schwer wahrnehmbar.

In den mit saurer Lösung plasmolysierten Zellen wird nach Zufluß von reinem Wasser und nach dem Absterben der Protoplasten ein sehr feines Oberflächenhäutchen sichtbar, welches schließlich außer der um den Kern sich häufenden Plasmaansammlung als einziger Rest des Zellenleibes übrig bleibt. Es liegt die Vermutung nahe, daß eben dieses Häutchen es ist, welches den normalen Rückgang der Plasmolyse aufhält oder wenigstens hierzu beiträgt. An den nachträglich mit Alkali behandelten Protoplasten ist von diesem Häutchen beim Absterben und Zerfließen der Zellenleiber nichts mehr zu erkennen; es scheint demnach ein kurzer (etwa 1 stündiger) Aufenthalt in $n/40$ -NaOH zu genügen, das Häutchen zur Lösung zu bringen, gleichviel, ob das alkalische Medium, das den Zellenleib umspült, das lösende Agens ist oder das Plasma durch das alkalische Bad befähigt wird, die von ihm gebildete Oberflächenhaut selbst wieder zu lösen. Bringt man die aus saurem Medium stammenden Präparate, deren Zellen durch raschen Wasserzutritt zum Absterben gebracht worden und deren Plasmaoberflächenhäutchen deutlich sichtbar sind, in n -Rohrzucker + $n/40$ -NaOH, so erweisen sich auch nach 24 Stunden die Häutchen noch als intakt. Nach mehrstündiger Behandlung mit n -NaOH sah ich sie dann endlich schwinden.

Ob die in Rede stehenden Oberflächenhäutchen, die sich in saurem Medium bilden, als Haptogenmembranen im angeführten Sinn aufzufassen sind oder Niederschlagsmembranen aus Acidalbuminaten darstellen, ist schwer zu entscheiden. Immerhin mag darauf hingewiesen werden, daß auch bei toten Eiweißpräparaten saure Reaktion die Bildung von Haptogenmembranen befördert¹. —

Saponin, das ich, veranlaßt durch Prowazeks Versuche², auf seine Wirkung hin prüfte, ruft keine nennenswerten Veränderungen an den plasmolysierten Zellen von *Allium* hervor. Wenn *Allium*präparate nach 24stündigem Aufenthalt in n-Rohrzucker mit 0,25 proz. Saponinlösung behandelt wurden (die im Innern des Präparates liegenden Zellen kamen wohl nur mit einer erheblich schwächeren Saponinlösung in Berührung), so traten im wesentlichen dieselben Sprengungen auf, wie beim Auswaschen des Plasmolytikum mit Wasser; nur die am Rande des Präparates liegenden Zellen schwollen beim Zusatz der Saponinlösung zuweilen mächtig an und platzten sehr bald.

Es wäre von größtem Interesse, über die physikalischen Eigenschaften der uns interessierenden plasmatischen Oberflächenhaut näheres zu erfahren, über ihren Aggregatzustand, über ihre Festigkeit, über ihre Löslichkeitsverhältnisse. Ob zur Lösung einer dieser Fragen das von mir gewählte Objekt geeignet ist, scheint mir allerdings fraglich; geeignetere konnte ich aber bisher nicht finden. Ich möchte hier zunächst auf einige zoologischerseits gewonnene Befunde eingehen, welche den hier soeben geschilderten sehr ähnlich sein dürften.

Die Haptogenmembranen, die sich an der Oberfläche von Flüssigkeiten bilden, stellen nicht nur Verdichtungen des betreffenden Mediums dar, sondern können chemisch sich von diesem mehr oder weniger unterscheiden. Die abweichenden chemischen Qualitäten des Oberflächenhäutchens kommen z. B. darin zum Ausdruck, daß sie in dem Medium, aus dem sie entstanden sind, nicht löslich sind. Über die Löslichkeitsverhältnisse der an lebendem Plasma sich bildenden Häutchen hat R h u m b l e r

¹) Über die Einwirkung schwach saurer Medien auf pflanzliches Plasma äußert sich auch Lepeschkin a. a. O. S. 98.

²) Vgl. z. B. Prowazek, S. v., Einführung in die Physiologie der Einzelligen (Protozoen). 1910. S. 13.

Mitteilungen gemacht, der bei Untersuchung von Amöben Umwandlungen der Plasmaoberfläche beobachtet hat, die mit den hier geschilderten übereinstimmen dürften. Es ist nach Rhumbler¹ bei den Amöben ganz ohne Frage nicht bloß der Oberflächendruck, der die in das Ektoplasma eintretenden entoplasmatischen Substanzen verdichtet, und dadurch die Fernhaltung der Einlagerungen aus dem Ektoplasma bedingt. Die Verzähigung des Ektoplasmas ist vielmehr in einzelnen Fällen eine so hochgradige, daß neben der Oberflächenspannung noch eine sonstige, die Verdichtung des Ektoplasmas verursachende Einwirkung vorhanden sein muß.

»Bei dieser Verdichtung scheint sogar bei einzelnen Amöben wenigstens, vielleicht aber allgemein eine chemische Umwandlung der in das Ektoplasma eintretenden Entoplasmabestandteile vor sich zu gehen«.

Die oben behandelten Allium-Epidermiszellen, welche nach Plasmolyse, nach Wasserzusatz und nach Sprengung ihrer äußersten Plasmaschichten ihren Inhalt hervorquellen lassen, erinnern ganz und gar an die Bilder, welche Rhumbler von Amöben mit »eruptiven« Pseudopodien entwirft; ich verweise auf seine Mitteilungen über *Amoeba limicola*, *A. blattae*² oder *Pelomyxa Penardi*³; mit seinen Figuren wäre namentlich die von mir oben gegebene zu vergleichen. Bei den von Rhumbler studierten Fällen bricht allerdings Entoplasma durch die Ektoplasmaschicht hervor, breitet sich auf dieser irgendwie aus und bildet auf seiner Oberfläche eine neue Ektoplasmaschicht aus, während die alte überlagerte Ektoplasmalage allmählich schwindet, — während es in dem von mir beschriebenen Falle dahin gestellt bleiben mag, ob nicht die »eruptiv« vorquellenden Plasmaanteile von vornherein bereits eine Oberflächenschicht von Hyalo- oder Ektoplasma besitzen.

Das Bersten, das an den Haptogenmembranen unserer Objekte sich so deutlich verfolgen läßt, studierte Penard schon

¹) Rhumbler, L., Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle I. (Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. 1898. 7, 142.)

²) Rhumbler, L. (Ebenda. 103, besonders S. 145, Fig. 17 ff.)

³) Rhumbler, L., Zur Theorie der Oberflächenkräfte der Amöben. (Zeitschr. f. wiss. Zool. 1905. 83, 1, 15. Fig. 10.)

vor Rhumbler an verschiedenen Amöben¹; Rhumbler selbst gibt a. a. O. 1898 p. 151 und 152 anschauliche Abbildungen von zerreißen Ektoplasmaschichten, aus deren Löchern Entoplasmamasse hervordringt.

Nach Rhumbler's Angaben über das Schwinden von Ektoplasmaschichten, die von neu hervorquellendem Entoplasma überlagert worden sind, wird man annehmen dürfen, daß die bei den von Rhumbler studierten Amöben gebildete Oberflächenhaut ein »reversibles« Häutchen darstellt. Rhumbler nimmt an, »daß die Einschmelzung, eigentlich die Verflüssigung, nicht allein durch das Aufhören der auf die äußere Oberfläche der Amöbe beschränkten vom äußeren Medium ausgehenden verdichtenden Einwirkung bewerkstelligt wird, sondern, daß sich das Entoplasma aktiv an dem Verflüssigungsakt beteiligt. Je mehr Entoplasma an dem versenkten Ektoplasma und je rascher es an ihm vorbeigeführt wird, desto schneller löst sich die versenkte Ektoplasmamasse auf. Jede andere Substanz würde sich gegen jedes ihrer Lösungsmittel unter ähnlichen Umständen ebenso verhalten. Die ektoplasma-lösende Kraft des Entoplasmas kann sich aber nur da Geltung verschaffen, wo die verdichtende Wirkung des äußeren Wassers nicht hinreicht; denn auch da, wo das Entoplasma mit seinen Körnchen bis in die nächste Nähe der Oberfläche heranreicht, findet eine Verdichtung der Oberflächenschicht zu Ektoplasma statt, die Nähe des Entoplasmas vermag die Oberflächenschicht nicht flüssig zu erhalten, weil ihr die Nähe des Wassers entgegenarbeitet«².

Von der Oberflächenhaut der pflanzlichen Protoplaste kann zunächst ohne weiteres angenommen werden, daß sie sehr viel zarter ist als die analogen Gebilde des Amöbenplasmas, und ferner auch zarter als die nach Behandlung mit schwach saurem Medium nachweisbaren und isolierbaren Häutchen. Was die Löslichkeitsverhältnisse der Haptogenmembran betrifft, so scheint der Umstand, daß langsamer Wasserzufluß zu den plasmolysierten Zellen die geschilderten Sprengungen oft nicht zustande

¹) Pénard, E., Etudes sur les Rhizopodes d'eau douce. (Mém. de la soc. de phys. et d'hist. nat. de Genève. 1890. 31, 1—230. Zitiert nach Rhumbler a. a. O. 1898.)

²) Rhumbler, L., a. a. O. 1898. S. 153.

kommen läßt, sondern normalen Rückgang der Plasmolyse herbeiführt, dafür zu sprechen, daß das Oberflächenhäutchen sich wieder lösen kann; als lösendes Medium kommt dabei wohl weniger das Außenmedium (in unserem Falle Wasser) in Betracht als das Plasma selbst. Andererseits wäre es sehr wohl vorstellbar, daß in den fraglichen Fällen die Haptogenmembran ungelöst bleibt, aber wesentliche Veränderungen in ihren physikalischen Eigenschaften erfährt, hinsichtlich ihrer Dehnbarkeit, vielleicht auch ihrer Elastizität u. a. m. Beobachtungen, von welchen im nächsten Kapitel die Rede sein wird, machen es allerdings wahrscheinlich, daß auch bei langsamem Wasserzufluß und allmählichem Rückgang der Plasmolyse an der Oberfläche des Plasmas ein besonderes, vermutlich festes Häutchen erhalten bleiben kann. — Ebenso schwierig ist es, über die Löslichkeitsverhältnisse des im sauren Bade auf dem Plasma entstandenen Oberflächenhäutchens sichere Auskunft zu geben. Für die Löslichkeit spricht, daß die im sauren Medium gebildeten Häutchen bei nachfolgender Behandlung mit alkalischer Flüssigkeit verschwinden, solange das Plasma noch vorhanden ist, aber in derselben alkalischen Lösung erhalten bleiben, wenn das Plasma vorher zerstört worden ist. Zwingende Schlüsse können von dem Verhalten der im sauren Bad entstandenen Häutchen auf das der Membranen, die ohne Mitwirkung von Säure zustande kommen, natürlich nicht gezogen werden. Überdies bleibt auch bei den mit sauren und alkalischen Flüssigkeiten vorbehandelten Protoplasten immer die Möglichkeit zu erwägen, daß auch bei ihnen ein vorhandenes Oberflächenhäutchen in einem Teil seiner physikalischen Eigenschaften sich ändere, nicht aber verschwinde. Wir kommen auf diese Fragen später noch zurück.

Schließlich mag noch erwähnt werden, daß der Zellkern keinen Einfluß auf die Erstarrung der Plasmaoberflächenschicht hat. Es liegt nahe, auf Grund der über die Bildung von Zellulosehäuten angestellten Beobachtungen anzunehmen, daß sich kernhaltige und kernfreie Plasmastücke, wie sie bei der Plasmolyse langgestreckter Zellen bekanntlich oft entstehen, auch hinsichtlich der Bildung von Haptogenmembranen verschieden verhalten könnten. Meine Beobachtungen an *Allium*

Cepa ergaben das entgegengesetzte Resultat; auch kernlose Plasmaballen zeigen dieselben Veränderungen ihrer Oberfläche wie die kernhaltigen.

2. Die Fusion nackter Protoplasten.

Nachdem K. Schütt¹ den Beweis dafür erbracht hat, daß die an der Oberfläche verschiedener Flüssigkeiten — auch auf Albumin- und Saponinlösungen — entstehenden Häutchen fest sind, darf angenommen werden, daß auch die vom Protoplasma etwa ausgebildeten Oberflächenmembranen fest sein können.

Es ist mir nicht gelungen, eine Methode zu ermitteln, welche die Festigkeit der plasmatischen Oberflächenhäutchen mit Sicherheit zu erweisen oder gar zu messen gestattet; die von den Physikern angewandten Methoden lassen mikroskopisch kleinen Objekten und Flüssigkeitsmengen gegenüber leider im Stich.

Wichtige Beiträge zur Beurteilung der Frage nach dem Aggregatzustand der Oberflächenschicht lassen sich, wie mir scheint, aus den Beobachtungen über das Verhalten getrennter Protoplasamassen bei gegenseitiger Berührung ableiten, besonders aus ihrer Fusionsfähigkeit und dem Mangel an solcher.

Daß die Oberflächenbeschaffenheit plasmolysierter Protoplasten sich im Laufe mehrerer Stunden ändert, geht, abgesehen von den vorhin geschilderten Sprengungserscheinungen, daraus hervor, daß die Protoplasten ihre Fusionsfähigkeit verlieren.

Plasmolysiert man Epidermispräparate von *Allium Cepa* mit n-Calciumnitrat, so zerreißt in zahlreichen Zellen die Plasmamasse in zwei, gelegentlich auch in drei oder mehr Stücke. Die einzelnen Portionen sind entweder durch Plasmafäden miteinander verbunden oder lassen keine Verbindungsfäden erkennen. Macht man nach einigen Stunden durch Aussüßen des Präparates mit Wasser die Plasmolyse wieder rückgängig, so vereinigen sich die Plasmastücke wieder miteinander: unmittelbar nach der ersten Berührung, in welche die durch Wasseraufnahme schwellenden Plasmastücke kommen, fusionieren sie miteinander². Nicht

¹) Schütt, K., Über Zähigkeit und Festigkeit in der Oberfläche von Flüssigkeiten und über flüssige Lamellen. Diss. Kiel. 1903.

²) Küster, E., Über die Verschmelzung nackter Protoplasten. (Ber. d. d. bot. Ges. 1909. 27, 589.)

nur Teilstücke von Zellen, sondern auch unzerteilte Zellenleiber, die man nach Plasmolyse und nach gewaltsamer Öffnung ihrer Zellulosehüllen durch Wasserzutritt zum Schwellen bringt, können miteinander fusionieren und abnorm große, mehrkernige Zellen liefern¹.

Bei länger anhaltender Plasmolyse treten an der Oberfläche der Protoplasten und Protoplastenstücke irgend welche Veränderungen ein, derart, daß nach Rückgang der Plasmolyse die Protoplastmassen nicht mehr miteinander sich vereinigen können. Wiederholt man die Versuche mit Epidermispräparaten von *Allium Cepa* in der Weise, daß man erst nach etwa 24stündiger Plasmolyse die wasserentziehende Lösung beseitigt und auswäscht, so tritt keine Verschmelzung der durch Plasmolyse getrennten Plasmaballen ein. Sie schwellen zwar bei Wasserzuführung an, kommen zur Berührung, platten sich gegenseitig ab und verharren in dieser Lage stundenlang; aber Fusion tritt nicht ein. Vielmehr stirbt früher oder später der eine der beiden Plasmaanteile ab. Sehr häufig ist zu beobachten, daß die schwellenden Massen gegen einander vordringen und eine die andere eindellt. Ob der bei der Eindellung deformierte Teil schon vor der Eindellung tot war oder erst nach ihr abstirbt, ist schwer zu entscheiden; zum mindesten ist im letzteren Falle die Eindellung fast immer das erste deutliche Symptom, das dem Tode eines der beiden Plasmastücke, und zwar dem des deformierten vorausgeht. Unmittelbar nach der Eindellung fallen in dem deformierten Teil zahlreiche Kristalle aus; die Umrisse des Protoplastenstückes bleiben noch eine Zeitlang scharf, so daß man es für lebend halten möchte; dann sinkt es zusammen.

Das Nichtfusionieren artgleicher Protoplasten könnte man sich nach den bisher mitgeteilten Beobachtungen auf verschiedene Weise erklären. Zunächst könnte man annehmen, daß die beiden Protoplasten beim Rückgang der Plasmolyse gar nicht zur Berührung kommen, sondern voneinander durch eine Schicht Flüssigkeit getrennt bleiben. Es ist nicht schwer, diesen Einwand zu widerlegen und zu beweisen, daß die beiden in einer Zelle beobachteten Plasmastücke sich tatsächlich berühren. Läßt

¹) Küster, E., Eine Methode zur Gewinnung abnorm großer Protoplasten. Festschrift für W. Roux. 1. Hälfte, 1910.

man die beiden Protoplaststücke sich eine Zeitlang berühren — etwa eine bis fünf Minuten lang — und ersetzt man dann das Wasser durch neu zugeführte plasmolysierende Flüssigkeit, so ziehen sich zwar die beiden Plasmaportionen von neuem zusammen und entfernen sich wieder voneinander, indem sich ihre Oberflächen an der Kontaktfläche voneinander ablösen; aber diese Ablösung ist oft unvollkommen und an einer oder mehreren, mehr oder minder eng begrenzten Stellen bleiben die Protoplasten aneinander haften, als ob sie miteinander verklebt wären. Bei fortgesetzter Kontraktion der Plasmastücke können sie sich auch an der verklebten Stelle schließlich voneinander lösen und sich nach völliger Trennung voneinander abrunden. Diese Verklebung ist aber nicht eine Folge des erneuten Zusatzes eines Plasmolytikum, sondern ist auch schon vorher in der Zelle perfekt gewesen. Das beweisen uns diejenigen Zellen, in welchen nach längerer Berührung einer der beiden Protoplasten in der vorhin geschilderten Weise zerspringt. Die Plasmahaut des zerstörten Anteils zieht sich elastisch zusammen und gibt dabei den Kontakt mit dem Nachbarprotoplasten bis auf kleine Stellen, an welchen beide miteinander verklebt waren, auf.

Townsend¹⁾, der in Haarzellen bei Plasmolyse den Protoplasten in mehrere Stücke zerfallen sah, die durch Plasmafäden miteinander verbunden waren, nimmt an, daß die Substanz dieser Fäden nach Zerstörung der Verbindungen und gewaltsamer Trennung der Plasmaportionen voneinander eine trennende Schicht zwischen diesen abgibt und eine Fusion verhindere. Für meine Objekte und Versuche kommt diese Erklärungsmöglichkeit nicht in Betracht. Eine gewaltsame Zerstörung der Fäden wurde nicht vorgenommen; wenn sie von selbst reißen, geht ihre Masse in dem der Plasmastücke auf und bildet keine trennende Zwischenschicht. Überdies könnte das Nichtfusionieren von ungeteilten Protoplasten aus verschiedenen Zellen nicht in der von Townsend vorgeschlagenen Weise erklärt werden.

Alle vorliegenden Beobachtungen führen vielmehr zu der Annahme, daß nach der Plasmolyse in der Plasmaoberfläche selbst Veränderungen eintreten, die aus fusionsfähigen Plasma-

¹⁾ Townsend, Ch. O., Der Einfluß des Zellkernes auf die Bildung der Zellhaut. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1897. 30, 484.)

stücken fusionsunfähige werden lassen, und es wäre näher zu prüfen, ob die früheren und die neuen Beobachtungen über Plasmafusion und deren Ausbleiben sich mit den Annahmen vertragen, daß auf der Oberfläche kontrahierter Protoplasten sich ähnliche feste Membranen bilden wie auf toten Eiweißlösungen u. a., und daß diese Haptogenmembranen unter Umständen sich im Plasma wieder lösen können.

Zunächst soll noch von dem Einfluß äußerer Bedingungen auf die Fusionsfähigkeit plasmolysierter Plasmaportionen die Rede sein.

Calciumnitratlösungen sind sehr zu empfehlen, wenn es sich um das Studium des Einflusses der Plasmolyse auf die Fusionsfähigkeit der Protoplasten handelt. Andere Plasmolytika wirken anders.

Rohrzuckerlösung ist insofern minder geeignet, als der Plasmahalt der Alliumzellen durch sie nicht so leicht zerklüftet wird wie durch $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, sondern meist ungeteilt sich kontrahiert. Bei einiger Geduld findet man aber eine ausreichende Zahl von Zellen, deren Inhalt sich fragmentiert hat. Schon nach 15—18stündiger Plasmolyse ist die Oberfläche der Protoplasten hinreichend verändert, um die Fusion der nach Wasserzusatz allmählich sich vergrößernden Protoplaststücke unmöglich zu machen. Die Erscheinungen im Verhalten der zwei Stücke zueinander sind dieselben wie in Calciumnitratpräparaten.

Kaliumnitrat, Chlornatrium und andere Elektrolyte erwiesen sich wenigstens bei Untersuchung der Epidermen von Zwiebelschuppen als ungeeignet, da sie bei Anwendung von Normallösungen das Plasma der Zellen allzu stark schädigen.

Weiterhin war der Einfluß der sauren und alkalischen Reaktion auf die Fusionsfähigkeit der Plasmastücke zu prüfen. Bei Verwendung alkalischer und saurer Rohrzuckerlösungen (n/40-Natronlauge und n/40-Zitronensäure) habe ich niemals Fusionen beobachten können. Bei Plasmolyse mit sauren Lösungen mag der negative Befund zum Teil darin begründet sein, daß infolge der geringen Schwellung der Protoplasten nach Wasserzusatz (s. o.) man nur ausnahmsweise die Plasmafragmente einer Zelle zu gegenseitiger Berührung kommen sieht. Bei den mit NaOH behandelten Zellen kommt es dagegen sehr oft zu Berührung und gegenseitiger Abplattung. Fusion sah ich aber

niemals eintreten — vielleicht nur deshalb nicht, weil die mit Alkali vorbehandelten Protoplasten nicht sonderlich lebensfähig sind und unter dem Mikroskop beim Rückgang der Plasmolyse zugrunde zu gehen pflegen, ehe die Bedingungen zur Fusion günstig werden.

Diejenigen Lösungen, welche die im ersten Kapitel geschilderten Sprengungen hervorrufen, sind zwar dieselben, die auch die Fusionsfähigkeit der Plasmaballen am stärksten beeinträchtigen. Immerhin sind doch die Oberflächenhäutchen, die wir für die eine und für die andere Gruppe von Erscheinungen verantwortlich machen, nicht ohne weiteres einander gleich zu setzen. Denn z. B. an Protoplasten, die sich in n-Rohrzuckerlösung kontrahiert haben, und durch langsamen Wasserzufluß wieder zum Schwellen gebracht werden, treten keine Sprengungen ein, wohl aber liegt es in den Veränderungen, welche die Plasmaoberfläche erfahren hat, begründet, daß keine Fusion mehr eintreten kann. Es wäre daher nicht überflüssig, von neuem die Frage nach den Löslichkeitsverhältnissen der auf der Plasmaoberfläche gebildeten Membranen aufzuwerfen. Ich möchte hier noch auf folgende Beobachtungen hinweisen.

Der Fall ist nicht selten, daß Protoplaststücke, die schon viertelstundenlang, ja schon während zwei und drei Viertelstunden aneinander liegen, schließlich doch noch zu einer Einheit zusammenfließen, namentlich wenn man durch leichten mechanischen Druck auf das Deckglas nachhilft. Hat hier eine Lösung der die Fusion verhindernden Plasmahaut stattgefunden? So lange die Haptogenmembranen der unmittelbaren mikroskopischen Beobachtung nicht zugänglich sind, ist die Frage wohl kaum mit Sicherheit zu beantworten. Zunächst scheint mir die andere Möglichkeit, daß die hindernde Haut durch mechanischen Druck beseitigt worden ist und fusionsfähige Anteile des Plasmas miteinander in Berührung kommen, die Erscheinung der nachträglichen Plasmafusion noch am besten zu erklären.

Meine Erwartungen, die Unfähigkeit getrennter Protoplasten zur Fusion durch Behandlung mit alkalischen Mitteln beseitigen zu können, erwiesen sich nicht als zutreffend. Setzt man zu Allium-Präparaten, die 24 Stunden mit n-Rohrzucker plasmoly-

siert worden sind, anstatt reinen Wassers $n/40$ -Na OH, so geht die Plasmolyse in normaler Weise zurück; liegen in einer Zelle mehrere getrennte Protoplaststücke, so kommen sie bald zur Berührung, platten sich gegenseitig kräftig ab und verharren lange Zeit in dieser Lage, ohne zu fusionieren. Die Volumenzunahme kann so weit gehen, daß schließlich die Zelle ganz mit Plasma gefüllt erscheint, trotzdem bleiben die Protoplastenstücke unverbunden nebeneinander. Die Konzentration der das Plasma umspülenden Natronlauge wird, wenn man von außen $n/40$ zufließen läßt, gewiß geringer sein als $n/40$; daß kräftigere Na OH-Lösungen die Fusionsfähigkeit günstiger beeinflussen als die angewandte schwache, erscheint nicht wahrscheinlich; schon bei Anwendung von $n/40$ treten bald degenerative Veränderungen im Plasma auf, das sehr hell und oft auch stark vakuolig wird.

Von Interesse ist, daß die Zellen verschiedenartiger Gewebe ein und desselben Pflanzenorgans sich hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften ihrer Plasmaoberflächen und ihrer Fusionsfähigkeit durchaus verschieden verhalten können. Ich will mit den bisher behandelten Epidermiszellen der Zwiebelchuppen die Grundgewebselemente derselben Organe vergleichen.

Das Protoplasma dieser Grundgewebszellen läßt sich bei Plasmolyse mit Rohrzucker oder einem Elektrolyt (z. B. Calciumnitrat) gelegentlich in zwei, sehr selten in mehr als zwei Teilstücke zerlegen. Selbst bei Anwendung einer Lösung von Calciumnitrat, welche der Fusionsfähigkeit getrennter Plasmastücke im allgemeinen günstiger ist als Rohrzuckerlösung, sind schon drei oder vier Stunden nach Beginn des Versuchs die Plasmaballen nicht mehr fusionsfähig, die Protoplasten der Grundgewebszellen verlieren ihre Fusionsfähigkeit demnach sehr viel schneller als das Protoplasma der Epidermiszellen desselben Objektes. Sehr schön habe ich gerade bei den Grundgewebszellen von Alliumzwiebelchuppen beobachten können, daß meist schon bei der ersten Berührung von zwei Plasmakugeln die eine von ihnen platzt. Welche von beiden das Schicksal trifft, ist von Plasmareichtum und Kernhaltigkeit der Plasmaballen unabhängig; wohl aber habe ich darin eine Gesetzmäßigkeit finden zu sollen geglaubt, daß sehr oft die größere Blase, wenn sie

der andern eine schwächer gewölbte Kugelfläche (mit größerem Krümmungsradius) zuwendet als sie diese andere hat, entzwei springt, während die kleinere erhalten bleibt. *Caeteris paribus* d. h. unter der Voraussetzung, daß beide Plasmateile (der kernhaltige und der kernfreie Teil) aus chemisch und in ihren Kapillarspannungen gleichartiger Masse bestehen und namentlich die Plasmaschläuche beider Blasen gleich stark sind, wird der kleineren durch Kapillarspannung größere Festigkeit zukommen als der größern. Vielleicht hängt es hiermit zusammen, daß so oft die größere der beiden Blasen geopfert wird. —

Wie auf die Spannungserscheinungen, von welchen im ersten Abschnitt die Rede war, hat auch auf die Fusion getrennter Plasmastücke die Qualität des angewandten Plasmolytikums großen Einfluß. Ich habe hierüber bereits a. a. O. (1910) das nötige mitgeteilt.

In der zoologischen wie botanischen Literatur liegen bereits eine stattliche Anzahl von Mitteilungen über Verschmelzen und Nicht-Verschmelzen nackter, sich berührender Protoplasten und Plasmastücke vor. Auf einige von ihnen will ich hier näher eingehen und die von andern Autoren gewonnenen Resultate mit meinen eigenen vergleichen.

Wenn vor der Befruchtung Spermazellen mit Eizellen in Berührung kommen oder Gameten von Algen einander berühren, so tritt sehr oft sofort Verschmelzung der beiden Zellen ein. Auf das Vorhandensein einer besonderen Hüllenschicht an der Oberfläche des Protoplasmas läßt sich daraus nichts erschließen: die Fälle, in welchen sofort die Fusion auf die Berührung folgt, schließen zwar die Existenz eines besonderen Häutchens (im Sinne der oben behandelten Haptogenmembranen) nicht aus, lassen sie aber nicht als besonders wahrscheinlich uns erscheinen.

In andern Fällen ist die Fusion der sich berührenden Protoplasten erschwert oder bleibt sogar aus.

Rhumbler¹ beobachtete, daß sich Amöben fest aneinander

¹) Rhumbler, *Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle I.* (Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. 1898. 7, 242—243.)

anlegen, sich gegenseitig deformieren und dellenartig eindrücken können, wie es oben für die Teilstücke vegetabilischen Plasmas zu schildern war, — ohne daß sie miteinander fusionieren. Bei *Amoeba verrucosa*, die sich durch sehr festes Ektoplasma auszeichnet, bleibt die Fusion aus, während nach demselben Autor bei *Actinophrys* unter ähnlichen Umständen Verschmelzung (»Plastogamie«) eintritt.

Bei der Kopulation von *Spirogyra* liegen nach der von Kny gegebenen Schilderung¹ die Protoplasten der Gameten erst einige Minuten abgeplattet nebeneinander; dann verschmelzen sie. Bekanntlich geht dem Kopulationsakt eine mehr oder minder beträchtliche Kontraktion des Gametenplasmas voraus.

Noch größeren Widerstand setzen offenbar die Gameten von *Chlamydomonas media* unter Umständen der Fusion entgegen. Denn wenn Klebs beschreibt, daß zuweilen die eine Gamete der aktivere Teil ist, der sich förmlich in die andere hineinbohrt², so kann damit wohl nichts anderes gesagt sein, als daß die Gameten dieser Alge sich gegenseitig berühren und durch Druck stark deformieren können, bevor sie zu einer Einheit zusammenfließen.

Bruck³ gibt an, daß bei den Amöben der Myxomyceten verschmelzungsfähige und zur Verschmelzung unfähige als besondere Gruppen nebeneinander in derselben Kultur vorkommen. Daß Amöben sich aneinander legen und unverrichteter Dinge wieder auseinander gehen können, hat Cienkowski gesehen⁴.

Die Schilderungen, die für botanische Objekte vorliegen, enthalten, soweit mir bekannt, keine Angaben über die bei der Fusion getrennter Protoplasten etwa eintretenden physikalischen Nebenerscheinungen, die über die Beschaffenheit der Oberfläche der Plasmatropfen Aufschluß geben könnten. In der frühen

¹) Kny, Erklärung zu Wandtafel IV. Berlin. 1874. S. 11.

²) Klebs, G., Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena. 1896. S. 430.

³) Bruck, W. F., Beiträge zur Physiologie der Mycetozoen I: Verschmelzungsvorgänge, Entwicklungsänderungen. (Zeitschr. f. allg. Physiol. 1908. 7, 505.)

⁴) Cienkowski, Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. (Jahrb. f. wiss. Bot. 1863. 3, 326.)

Arbeit von Schultze¹ finden wir aber Mitteilungen über das Verschmelzen von Pseudopodien eines Rhizopoden, nach welchen die zur Berührung kommenden Plasmaorgane beim Kontakt wie platzende, mit Flüssigkeit gefüllte Blasen sich verhalten, deren Inhalt konfluiert. In andern Fällen sah unter scheinbar gleichen Voraussetzungen Schultze die Fusion der Pseudopodien ausbleiben oder erst spät eintreten. »Wie bei zwei aneinander stoßenden Fetttropfen beobachtet werden kann, daß das erwartete Zusammenfließen erst eintritt, wenn mittels einer Nadel die Oberfläche eines derselben oder beider durchbrochen wird, eine Erscheinung, welche die größere Dichtigkeit der Oberfläche zu beweisen scheint, so dürfte unter Umständen auch die oben erwähnte Tatsache, daß zwei derselben Polythalamie angehörende Pseudopodien, wo sie sich auf ihrem Wege begegnen, nicht immer sofort gleich zusammenfließen, in einer solchen »Kontaktmembran«, wie ich die dichtere Schicht der Oberfläche nennen will, wenigstens teilweise ihre Erklärung finden«.

Unsere Versuche mit Alliumzellen haben ergeben, daß Protoplasamassen, die anfangs noch fusionsfähig sind, unter dem Einfluß bestimmter Agentien fusionsunfähig werden können.

Analoges scheint auch im Tierreich vorzukommen. Plasmastücke, die von ein und demselben Foraminiferenindividuum entstammen (Orbitolites), können, wie Jensen² gezeigt hat, miteinander fusionieren; die von verschiedenen Individuen stammenden Stücke verschmelzen aber nicht miteinander. Wenn sich diese Beobachtungen bestätigen lassen sollten, würde man aus ihnen den Schluß ziehen können, daß gewiß schon sehr geringe Differenzen in den Entwicklungsbedingungen und Ernährungsverhältnissen der Organismen die Plasmatrümmer fusionsunfähig machen können.

¹) Schultze, M., Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. Leipzig. 1863. Vgl. auch Kühne, W., Untersuchungen über das Protoplasma und die Kontraktilität. Leipzig. 1864.

²) Jensen, P., Über individuelle physiologische Unterschiede zwischen Zellen. (Arch. f. d. ges. Physiol. 1896. 62.) Interessante Beobachtungen über Fusionsfähigkeit und Fusionsunfähigkeit auch bei Schaudinn, F. Über Plastogamie bei Foraminiferen. (Sitzgsber. Ges. Naturf. Freunde. Berlin. 1895. S. 179). Pro-wazek, Beiträge zur Plasmaphysiologie. (Biol. Centralbl. 1901. 21, 87 u. a. m.)

Daß Protoplasten, die normaler Weise keinesfalls miteinander fusionieren, durch bestimmte experimentelle Eingriffe fusionsfähig gemacht werden können, hat J. Loeb mit seinen erfolgreichen Versuchen über »heterogene Befruchtung« gezeigt. Eier von Echinodermen können mit Samen von Seesternen (z. B. *Asterias capitata*) oder von Mollusken (*Chlorostoma funebreale*) befruchtet werden¹, wenn dem Meereswasser, das die Geschlechtszellen enthält, geringe Mengen Alkali (Na OH) zugesetzt werden. Offenbar hängt die atypische Fusionsfähigkeit artfremder Protoplasten mit den Veränderungen zusammen, welche der Zusatz von Alkali an der Oberfläche der Spermazellen hervorruft.

Über die Gründe, welche über Fusion oder Nichtfusion der sich berührenden nackten Protoplasten oder Plasmafragmente entscheiden, ist schon wiederholt diskutiert worden.

Ausführlich hat Jensen²) sich über die einschlägigen Fragen geäußert. Er nimmt an, daß chemische Differenzen individueller Natur die Fusion verschiedener Individuen verhindern können. In unsern Fällen sahen wir aber Stücke ein und desselben Zellenindividuums fusionsunfähig werden. Die von Bruck herangezogenen Unterschiede in der Ernährung³), welche fusionsfähige Plasmastücke unter Umständen fusionsunfähig machen können sollen, kommen für unsere Fälle ebenfalls nicht in Betracht. Überhaupt alle Erwägungen, die auf die »Nichtmischbarkeit« der Flüssigkeiten, aus welchen zwei sich berührende, aber miteinander nicht zusammenfließende Plasmastropfen bestehen, Bezug nehmen, scheinen mir nicht viel zur Erklärung der Erscheinungen der Fusionsunfähigkeit beizutragen, nachdem O. Loeb so heterogene Plasmaarten, wie sie doch wohl in den Eizellen der Echiniden und den Spermatozoen der Mollusken vermutet werden können, hat konfluieren lassen (s. o.).

¹) Vgl. besonders Loeb, J., Über die Befruchtung von Seeigeleiern durch Seesternsamensamen. (Arch. f. d. ges. Physiol. 1903. 99, 323.) Über die Natur der Bastardlarve zwischen dem Echinodermenei (*Strongylocentrotus franciscanus*) und Molluskensamen (*Chlorostoma funebreale*). (Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. 1908. 27, 476.)

²) Jensen, a. a. O. 1896.

³) Bruck, a. a. O. 1908.

Daß auf die Berührung eine kontraktorische Erregung folge und dadurch die Vereinigung der sich berührenden Plasmamassen unmöglich gemacht werde, nimmt Jensen zur Erklärung der Erscheinungen an, welche er bei den Versuchen, artungleiches Protozoenplasma zur Vereinigung zu bringen, beobachtete. Auch bei pflanzlichem Plasma scheinen solche der Fusion entgegenwirkende Erregungen auftreten zu können. Noll, der sich bemühte, Plasma von verschiedenartigen Siphoneen zur Verschmelzung zu bringen, sah, daß die artfremden Plasmakörper bei gegenseitiger Berührung, zumal bei der ersten Annäherung, sich heftig voneinander abstießen und sich erst bei wiederholten Annäherungen so weit aneinander »gewöhnten«, daß sie dicht aneinander geschmiegt blieben. Fusion trat niemals ein¹. Aus dem oben geschilderten Verhalten der Allium-Zellen geht bereits zur Genüge hervor, daß bei diesen das Ausbleiben der Plasmafusion nichts mit kontraktorischer Erregung zu tun hat.

Schon oben ist auf den Einwand hingewiesen worden, daß zerstörtes Plasma oder vielleicht auch eine dünne, dem Plasma adhärierende Schicht Wasser die unmittelbare Berührung der Plasmastücke und daher auch ihre Fusion verhindere. Townsend (s. o.) und Jensen (a. a. O.) erörtern diese Möglichkeiten, die aber für unseren Fall — man vergleiche das oben mitgeteilte — nicht in Betracht kommen.

Auch auf die Annahme, daß eine besonders hohe Oberflächenspannung des Plasmas die Fusion erschwere oder unmöglich mache, werden wir nicht rekurrieren dürfen. Bei einem so komplizierten Gemisch, wie es das Plasma ist, wird sicherlich (nach dem von Gibbs und Thomson entwickelten Prinzip²) eine starke Entspannung der Oberfläche (durch Abströmen der durch geringere Oberflächenspannung gekennzeichneten Anteile in zentrifugaler Richtung) eintreten. Vielleicht verdankt die Hyaloplasmaschicht, die sich an allen freien Ober-

¹) Vgl. Noll, F., Pfropf- und Verwachsungsversuche mit Siphoneen. (Sitzgsber. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Bonn. 1897.)

²) Vgl. z. B. Freundlich, H., Die Adsorption in Lösungen. (Zeitschr. f. physik. Chemie. 1907. 57, 385.)

flächen des Plasmas zu bilden pflegt, in erster Linie ihre Entstehung dieser Oberflächenadsorption¹.

Es bleibt, wie mir scheint, nur die Erklärungsmöglichkeit übrig, daß die sich berührenden Plasmastücke an ihrer Oberfläche oder zum mindesten an der Kontaktfläche eine eigenartig beschaffene Schicht haben, die der Fusion der Plasmastücke im Wege steht. Bereits Höber hat die Bildung von Haptogenmembranen im Sinne Ramsdens mit den Erscheinungen der Plasmafusion in Verbindung gebracht: »es ist auch möglich, daß die von selbst erfolgende Bildung einer semipermeablen Membran um einen Protoplasmatropfen als Bildung einer Haptogenmembran aufzufassen ist; es würde dann vollkommen verständlich sein, daß die abgetrennten Protoplasma Klümpchen eines Plasmodiums oder eines Protozoons mit dem Protoplasma der eigenen Spezies direkt verschmelzen, während sie sich bei Einverleibung in das Protoplasma einer anderen Spezies gegen diese wie gegen eine andersartige Flüssigkeit durch eine Oberflächenhaut abgrenzen«². Bei den Erscheinungen, auf welche Höber Bezug nimmt, handelt es sich um eine fusionshindernde Haut, die plötzlich entsteht, wenn das Plasma der einen Spezies mit dem der andern in Berührung kommt, etwa so wie an den von Prowazek studierten *Vaucheria*-Plasmapollen, die beim Austreten in Wasser sich sofort mit einer Haptogenmembran umkleiden. Bei unsern *Allium*-präparaten handelt es sich um allmählich entstehende Häute, die offenbar nicht erst bei Berührung mit einem andern (aber artgleichen) Plasmapollen entstehen, sondern schon, bevor er zur Berührung kommt, vorhanden sind.

Ich glaube, daß die am normalen und abnormalen Plasma beobachteten Erscheinungen der Fusion und der Nicht-Fusion sich erklären ließen nach der Annahme, daß die Oberfläche der (vorübergehend oder dauernd) fusionsunfähigen Protoplasten von einer festen, aber löslichen oder einer aus reversiblen

¹) Mit unseren fusionshindernden Oberflächenhäuten sind die Hyaloplasma-bildungen an sich natürlich noch keineswegs identisch, wie aus dem oben mitgeteilten hervorgeht.

²) Höber, R., *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. 2. Aufl. Leipzig. 1906. S. 210.

Hydrogel gebildeten Schicht bekleidet wäre. Von den Gelen der Plasmaoberfläche hat in letzter Zeit Gaidukov¹ oft gesprochen; er nimmt auf Grund ultramikroskopischer Forschungen an, daß das Plasma einen Komplex von Hydrosolen darstelle, die Hautschicht aber ein Hydrogel sei. Nach Verwundung und Zerstückelung bilden sich nach Gaidukov neue Hautschichten, d. h. neue Cytoplasmagele aus den Cytoplasmasolen unter der Einwirkung der im umgebenden Medium enthaltenen Elektrolyte². Ich möchte die Entstehung des Hautschichtplasmas lieber auf dem Weg der Adsorption, von der soeben die Rede war, zustandekommen denken. Daß die an den Alliumzellen sich bildende fusionhindernde Haptogenmembran bei Behandlung mit Rohrzucker, einem Anelektrolyten, sich sehr viel besser bildet als bei Plasmolyse mit Elektrolyten, ist zwar früher schon mitgeteilt worden, mag aber hier der Gaidukovschen Lehre gegenüber noch einmal erwähnt werden.

Wir erschließen das Vorhandensein einer festen oder einer hydrogelartigen Oberflächenhaut plasmolysierter Protoplasten neben anderem aus dem Verlust ihrer Fusionsfähigkeit. Die Beobachtungen über die Fusion normaler, nicht plasmolysierter Plasmagebilde legt aber die Vermutung nahe, daß auch bei ihnen schon eine ähnliche fusionhindernde Lamelle vorhanden sei. Wie die normalen Fusionsvorgänge von *Chlamydomonas*, *Spirogyra* und andern erweisen, schwindet bei Berührung artgleicher Protoplasten das Hindernis, das die Fusion verzögerte, indem sich die Oberflächenhaut löst oder zerstört wird — zu vergleichen wäre das im 1. Abschnitt über das Ektoplasma der Amöben gesagte. Loeb's erfolgreiche Arbeiten über heterogene Hybridisation ermutigen zu weiteren Versuchen, die unter abnormen Bedingungen entstandene fusionhindernde Haut der Allium-Protoplasten durch geeignete Lösungsmittel zu beseitigen und den Protoplasten ihre Fusionsfähigkeit wiederzugeben; daß das von Loeb verwendete NaOH in unserem Falle nicht

¹) Vgl. namentlich Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und in der Medizin. Jena. 1910.

²) Gaidukov, N., Ultramikroskopische Untersuchungen der Stärkekörner, Zellmembranen und Protoplasten. (Ber. d. d. bot. Ges. 1906. 24, 581.)

brauchbar ist (auch bei relativ starker Dosierung), geht aus dem früher Gesagten hervor.

Wir haben bisher nur von der Bedeutung fester Oberflächenhäutchen für die Fusionsfähigkeit der Protoplasten gesprochen. Eine weitere wichtige Bedeutung können dieselben festen Häutchen dadurch bekommen, daß sie die von der Tropfenform abweichenden Formen des Protoplasten stützen und sichern. Darauf, daß abnormale Form- und abnormale Fusionsverhältnisse unter Umständen in Beziehung zueinander stehen können, macht mich eine interessante Mitteilung von Atkinson¹ aufmerksam: er sah bei Untersuchung von *Lagenidium Rabenhorstii* zwei Zoosporen miteinander in Berührung kommen und sofort verschmelzen. Die Schwärmer, welche durch dieses abnorme Verhalten auffielen, ließen auch sonst Anzeichen abnormer Beschaffenheit erkennen; vor allem war ihre Gestalt nicht so ausgesprochen nierenförmig wie bei normalen Schwärmern, sondern ungefähr eiförmig. Fusionsfähigkeit und Gestaltabweichung möchte ich gleichzeitig auf den Mangel an einer festen Oberflächenschicht zurückführen.

Anzeichen der mechanische Form bewahrenden Wirkung der Haptogenmembranen glaubte ich bei Untersuchung der *Allium*-Präparate darin zu finden, daß Protoplasten, die nach 24stündiger Plasmolyse in n-Rohrzucker bei Behandlung mit noch höher konzentrierter Lösung zur weiteren Kontraktion veranlaßt werden, ihre Oberfläche oft brüchig-knitterig zusammensinken lassen.

Den Beschluß mag der Hinweis darauf machen, daß Haptogenmembranen nicht nur an der Außenfläche normaler oder plasmolysierter Protoplasten ihre Rolle spielen dürften, sondern auch an andern Stellen der Zellenleiber. In erster Linie kommt hier wohl die Grenzfläche Plasma-Zellsaft in Betracht. Die von de Vries beobachteten isolierten Vakuolenhäute (Tonoplasten) sind ohne Zweifel Zellsaftblasen, die von Haptogenmembranen umkleidet sind. Was ihre Fusionsfähigkeit anbetrifft, so geht ihnen diese entweder ab, wie z. B. den aus *Allium*zellen durch

¹) Atkinson, G. F., Some fungus parasites of algae. (Bot. gaz. 1909. 48, 321.)

verschiedene Eingriffe leicht isolierbaren Vakuolenblasen — oder sie sind fusionsfähig wie z. B. die aus Spirogyrazellen gewonnen, sehr zähwandigen Blasen, von deren Fusionen ich früher Mitteilung gemacht habe¹.

Ferner wäre an die Grenzfläche Cytoplasma-Zellenkern zu denken und zu untersuchen, inwieweit die sogenannte Kernmembran den Haptogenmembranen ähnelt.

Chromatophoren sind im allgemeinen — im Gegensatz zu den leicht sich vereinigenden Zellenkernen — nicht fusionsfähig. Da aber auch in lebenden Zellen Fusionen der Chromatophoren unter Umständen reichlich erfolgen können², liegt wiederum die Vermutung nahe, daß auch an der Grenzfläche Protoplasma-Chromatophorensubstanz eine Haptogenmembran reversibler oder zerstörbarer Natur vorliegen und durch sie die Fusionsfähigkeit der Chromatophoren dauernd oder vorübergehend behindert werden kann.

Es wäre weiterhin zu prüfen, ob diese Oberflächenhäutchen bei Zellenkern und Chromatophoren eine Rolle als formbewahrendes, formsicherndes Element spielen.

Kiel, Botanisches Institut der Universität.

Während des Drucks der vorliegenden Arbeit wird mir noch Rhumblers neue Abhandlung (Die verschiedenartigen Nahrungsaufnahmen bei Amöben als Folge verschiedener Kolloidaltzustände ihrer Oberflächen. Festschr. f. Roux. 1910. 1, 194.) zugänglich; ich kann auf den Inhalt der Arbeit hier nicht mehr näher eingehen, möchte aber wenigstens auf sie verweisen, da manches von ihm zu dem oben Mitgeteilten in enger Beziehung steht.

¹) Küster, E., Über die Verschmelzung nackter Protoplasten. (Ber. d. d. bot. Ges. 1909. 27, 589.)

²) Küster, E., Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Pflanzenzelle. (Zeitschr. f. allg. Physiol. 1904. 4, 221.)

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Küster Ernst

Artikel/Article: [Über Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse.
689-717](#)