

# VERSUCHE UEBER DIE KONSISTENZ DES PROTOPLASMAS

von

W. J. PRUD'HOMME VAN REINE Jr.

(Aus dem Botanischen Institut der Reichsuniversität Leiden)

## INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung .....	S. 468
Umschreibung der Aufgabe .....	S. 468
Teil I. Ueber Plasmolyse und Deplasmolyse.	
Abschnitt 1. Historisches .....	S. 469
2. Methodisches .....	S. 472
3. Beobachtungen .....	S. 477
4. Orientierende Beobachtungen .....	S. 480
5. Plasmolyseform und Konzentration .....	S. 481
6. Einfluss der Konzentration auf die Plasmolysezeit .....	S. 485
7. Einfluss der Temperatur auf die Plasmolysezeit und Plasmolyseform .....	S. 488
8. Ueber Deplasmolyse .....	S. 490
9. Zusammenfassung .....	S. 495
Teil II. Versuche mit der Zentrifugen-Methode.	
10. Historisches .....	S. 496
11. Einleitende Versuche .....	S. 500
12. Methodisches .....	S. 502
13. Einfluss der Temperatur auf die Konsistenz des Protoplasmas .....	S. 504
14. Allgemeine Zusammenfassung und Diskussion .....	S. 508
Literatur .....	S. 512

## EINLEITUNG.

Schon Pringsheim (1854) und Naegeli (1855) beschrieben ein Verfahren dem De Vries (1877) später den Namen Plasmolyse gegeben hat.

Es besteht in der „Ablösung des lebenden Protoplasmas von der Zellwand durch wasserentziehende Mittel“ und ist seit De Vries für das Studium verschiedener Erscheinungen verwendet.

Anfangs achtete man ausschliesslich auf den osmotischen Wert der Pflanzenzellen und die daraus berechenbaren isotonischen Koeffizienten.

Später verwendete man die plasmolytische Methode auch bei der Bearbeitung verschiedener Permeabilitätsprobleme. Schliesslich unterzog man das Plasmolyseverfahren selbst einem näheren Studium.

Besonders haben Strasburger (1901), Küster (1909) und Hecht (1912) den Plasmolysevorgang genau untersucht; aber erst Weber (1921, '24 und '25) und Cholodny (1924) lenkten die Aufmerksamkeit auf die Beeinflussung der Plasmolyseform und Plasmolysezeit durch Aussenumstände.

Man hat auch versucht aus der Art der Beeinflussung von Plasmolyseform und Plasmolysezeit Rückschlüsse auf den Zustand und die Zustandsänderungen des Zytoplasmas zu ziehen. Weber (1924) insbesondere hat gezeigt, dass man mittels der Plasmolyseformmethode Viskositätsänderungen im Plasma nachweisen kann. Um zu untersuchen, welche Aenderungen im Plasma unter Einfluss verschiedener Begleitumstände auftreten, arbeitete Weber (1929) eine Plasmolyseform-Zeit-Methode aus.

El Derry (1929) wendete diese für seine Untersuchungen über Einfluss verschiedener Temperaturen, Narkotika und Wasserstoffionenkonzentration aus.

Letztgenannte Arbeit hat mich vornehmlich zu den Plasmolysestudien angeregt, die ich im Folgenden beschreibe.

## UMSCHREIBUNG DER AUFGABE.

El Derry kommt zu dem Schlusse: „Je stärker die Konzentration des Plasmolytikums ist, um so länger ist die Plasmolysezeit“.

Dieses Ergebnis befremdete mich anfangs sehr, da man theoretisch doch erwarten würde, dass eine höhere Hypertonie des Plasmolytikums schneller Wasser der Vakuole entziehen würde als eine niedere Hypertonie.

Ich habe deshalb einige Versuche mit *Spirogyra spec.* durchgeführt, um dieses Resultat kontrollieren zu können, und kam, vorwiegend bei niederen Hypertonien des Plasmolytikums, gerade

zu dem entgegengesetzten Ergebnis, nämlich dass bei Erhöhung der Hypertonie die Plasmolysezeit kürzer wurde.

Diese Versuche wurden jedoch anfangs nicht, später wohl bei konstanten Temperaturen durchgeführt und dann derart, dass serienweise bei bestimmten verschiedenen Wärmeegraden gearbeitet wurde.

Da die gewonnenen Ergebnisse auf eine Konsistenzänderung des Zytoplasmas zu deuten schienen, ergab sich die Notwendigkeit, die Konsistenzänderung nach einer der bekannten Methoden nachzuweisen. Nach vielen Versuchen gelang es mit der Heilbrunn'schen Zentrifugen-Methode einige Versuchsserien durchzuführen, deren Ergebnisse mit denen der Plasmolyseversuche übereinstimmten.

Die vorliegende Arbeit ist deshalb in zwei Teile verteilt. Im ersten Teile werden die Plasmolyse-Versuche beschrieben, im zweiten Teile die Versuche mit der Zentrifugen-Methode.

## TEIL I.

### UEBER PLASMOLYSE UND DEPLASMOLYSE.

#### 1. *Historisches.*

Die Zahl der Arbeiten über Plasmolyse ist allzu gross, um eine vollständige Uebersicht an dieser Stelle geben zu können, ohne den Charakter einer Einleitung aufzugeben.

Wie bereits erwähnt, hat man das Plasmolyseverfahren für das Studium verschiedener Lebenserscheinungen verwendet. Ich nenne nur beiläufig einige Autoren und die von ihnen bearbeiteten Probleme.

De Vries (1884) und Fitting (1917): isotonische Koeffizienten; Höfler (1918): osmotischer Wert von Pflanzenzellen; Weber (1925): Viskosität; Bärlund (1929): Permeabilität; El Derry (1929): Einfluss von Narkotika usw.; De Haan (1933): Einfluss von Salzen.

Von mehr speziellem Wert für die von mir bearbeitete Fragestellung sind die im Folgenden genannten Arbeiten.

Wie bereits in der Einleitung gesagt, hat Pringsheim in 1854 schon festgestellt, dass das lebende Protoplasma sich unter Einfluss von wasserentziehenden Mitteln von der Zellwand ablöst. In 1855 beschreibt Naegeli dieselbe Erscheinung, aber erst in 1877 hat De Vries, wie schon gesagt, den Namen „Plasmolyse“ vorgeschlagen.

Die Figuren, die De Vries gab, um den Plasmolysevorgang in ein und derselben Zelle schematisch zu illustrieren, zeigen die konvexe Plasmolyseform, während Pringsheim und Naegeli

Abbildungen von der eckigen oder konkaven geben. Wahrscheinlich haben diese entgegengesetzten Figuren den Anstoss zu dem genauen Studium der Ablösung des Protoplasmas gegeben.

So hat Bower (1883), gegenüber der von De Vries vertretenen Ansicht, dass die Oberfläche des Plasmas nach der Kontraktion gleichmässig glatt sei, gezeigt, dass der Plasmakörper bei der Plasmolyse fast allgemein durch Fäden mit der Zellwand im Zusammenhang bleibt. Er stellte fest, dass die Fäden, die bei Kontraktion zwischen Plasma und Membran erhalten bleiben, nicht durch das Vorhandensein von Tüpfeln in der Zellmembran bedingt seien, ja, er will sogar nichts von einem Zusammenhang von Fäden benachbarter Zellen wissen. Er konstatierte nämlich, dass die Fäden in benachbarten Zellen nicht korrespondieren und auch an freien Zellwänden Fäden anhaften bleiben. Die letzte Erscheinung war auch schon von Pringsheim und Naegeli beschrieben worden. Naegeli hat aber beobachtet, dass Fäden in benachbarten Zellen miteinander korrespondieren ohne zu wissen ob man es hier mit einer zufälligen oder einer konstanten Erscheinung zu tun hat.

Bower will die Fadenbildung deshalb durch Annahme einer festen, überall gleichartigen, innigen Verwachsung des Plasmakörpers mit der Zellwand erklären.

Gardiner (1884), dessen Arbeit fast gleichzeitig mit den Arbeiten Bower's erschien, will die Erscheinung der Fadenbildung durch die Adhäsion des Plasmakörpers an der Zellwand erklären und aus dieser Erscheinung gar keine Schlüsse auf das Vorhandensein oder Fehlen von Plasmaverbindungen benachbarter Zellen ziehen.

Strasburger (1901) erwähnt, dass die peripheren Plasmateilchen vorwiegend an den Tüpfeln haften bleiben. Da er aber auch sah, dass Plasmafäden an Aussenwänden ausgesponnen sind, erklärte er, dass diese Plasmafäden doch nicht durchweg mit Plasmodesmen zusammenhängen, und er wies nachdrücklich darauf hin, dass man hieraus nicht schliessen dürfe, alle Plasmafäden bei Plasmolyse seien unabhängig von den Plasmodesmen. Wörtlich heisst es:

„Ich überzeugte mich auf das bestimmteste, dass ein Theil der Plasmafäden der Plasmolyse thatsächlich an die Plasmodesmen, beziehungsweise an Schliesshäute, welche solche führen, ansetzt; während die Mehrzahl beliebigen Stellen der Zellwand anhaftet“.

Weiter weist er darauf hin, dass Fadenbildung häufig erst bei Anwendung stärker plasmolysierender Lösungen zutage tritt, während sich durch schwächere Lösungen oft eine glatte Ablösung

des Protoplasten von der Zellwand erzielen lässt. Wasserentziehung könne also die Konsistenz (Viskosität) der Hautschicht bedingen bzw. das stärkere Anhaften dieser Hautschicht an der Zellwand veranlassen.

Hecht (1912) nimmt eine innige Wechselbeziehung (Verwachsung) zwischen Plasma und Zellwand an. Dadurch entsteht bei Kontraktion eine Zerreißung des Plasmas, wodurch ein der Zellwand eng anliegendes protoplasmatisches Netzwerk hinterbleibt. Dieses Netzwerk bildet, hauptsächlich in seinen Verzweigungspunkten, die Ansatzstellen für die zahlreichen durch die Plasmolyse hervorgerufenen Plasmafäden.

Anderseits sucht er eine Erklärung für das Haftenbleiben in der Konsistenz des Plasmas und dessen Adhäsion.

Aus obigen Beobachtungen über die Fadenbildung bei Plasmolyse schließt Weber (1921):

„Die Art und Weise der Fadenbildung — und auch des Zerreißens der ausgesponnenen Fäden — muss Rückschlüsse auf den Viskositätsgrad des Protoplasmas und die unter bestimmten Bedingungen erfolgenden Veränderungen des Viskositätsgrades gestatten“.

Cholodny (1924) studierte die Plasmolyseform bei verschiedenen Pflanzen. Er teilt die Pflanzen der Plasmolyseform nach in zwei Gruppen ein, n. l. Landpflanzen mit vielfach eckiger Plasmolyseform und Wasserpflanzen mit konvexer Plasmolyseform. Die Erklärung dieses Unterschiedes will er vorwiegend der Plasmakonsistenz zuschreiben. Zellen mit konvexer Plasmolyseform würden eine geringe Plasmakonsistenz haben, Zellen mit eckiger Plasmolyseform eine höhere.

Weis (1925) konnte die Angaben Cholodny's nicht bestätigen.

Weber (1928) sagt: „Convexe Plasmolyseform zeigt eine relativ niedrigere Viskosität des Protoplasmas (besonders der Grenzschichten) an, eckige Plasmolyseform, eine höhere Viskosität und Krampf-Plasmolyse einen weiteren Verfestigungsgrad“. Er richtet die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, dass man bisher bei Plasmolyse-Studien den Zeitfaktor so gut wie gar nicht beachtet hat.

El Derry (1929) hat die Plasmolyse-Zeit-Methode Webers auf seine Brauchbarkeit für die Lösung zellphysiologischer Fragen geprüft und kommt zu dem Schlusse, dass diese Methode empfindlich genug ist, um Zustandsänderungen des Protoplasten vergleichend zahlenmässig charakterisieren zu können. Jedoch hat er meiner Ansicht nach zu wenige verschiedene Konzentrationen des Plasmolytikums verwendet, sodass er aus seinen Ergebnisse keine allgemeine Schlüsse ziehen durfte.

## 2. *Methodisches.*

Das von mir benutzte Instrumentarium ist von dreierlei Art:

1. Ein Apparat zur Konstanthaltung der Versuchstemperatur.
2. Die Einrichtung für die Thermonadel.
3. Das Refraktometer.

Ein Teil der Apparate wurde vom Instrumentenmacher des Botanischen Instituts zu Leiden, Herrn A. J. Stuivenberg, angefertigt. Für seine grosse Mühewaltung sage ich ihm an dieser Stelle meinen herzlichen Dank.

Um die Temperatur auf gleichbleibender Höhe zu halten, wurde ein Vollglasaquarium benutzt, dessen Wasser durch ein elektrisches Tauelement erwärmt wurde. Das Element empfing Strom aus der Starkstromleitung. Mithilfe eines Schwachstrom-Relaisunterbrechers, der durch eine Thermostateinrichtung ein- und ausgeschaltet wurde, wurde die Stromzufuhr geregelt.

Die Thermostateinrichtung besteht aus einer ungefähr 8 mm diam. i. W. messenden Glasröhre, die von einer Quecksilbersäule eingenommen wird. Diese Röhre ist in einen länglichen Glaskolben eingeschmolzen, der mit Toluol gefüllt ist. Von oben her ist verschiebbar ein etwa 4 mm diam. i. W. messender Röhrchen eingeführt, das einen Kupferdraht umhüllt, der die eine Stromzuführung darstellt. Dieser Draht endet in einer Platinaspitze, die am unteren Ende aus dem Röhrchen austritt. Andererseits ist die Quecksilbersäule durch einen Draht dem Stromkreis angeschlossen. Steigt sie so weit hoch, dass sie die Platinaspitze erreicht, so schliesst sich der Schwachstromkreis. Da, wie schon gesagt, die Einsatzröhre mit der Platinaspitze in der Senkrechten verschiebbar ist, lässt sich der Apparat auf verschiedene Temperaturen einstellen. So wurde automatisch die Temperatur des Wassers im Aquarium während der ganzen Versuchsdauer auf ungefähr derselben Höhe erhalten.

Mittels einer kleinen Rotationspumpe wurde das Wasser aus dem Aquarium in einen kleinen Erwärmungstisch gepumpt, darauf kam es wieder in das Aquarium zurück. Auf diese Weise war auch im Aquarium ein tüchtiger Strom, wodurch das Wasser überall dieselbe Temperatur hatte.

Der Erwärmungstisch (Fig. 1) wurde aus Kupferleitung mit einem quadratischen Durchschnitt und einer Wandhöhe von 1 cm angefertigt. Diese Kupferleitung umschliesst einen Raum von  $3:4\frac{1}{2}$  cm. An der Unterseite ist dieser Raum durch zwei Glasplättchen, die zwei mm auseinander liegen, und an der Oberseite durch ein auswechselbares Glasplättchen abgeschlossen, an dem ein Glasring von 2 mm Dicke befestigt ist und darunter ein mit Fett

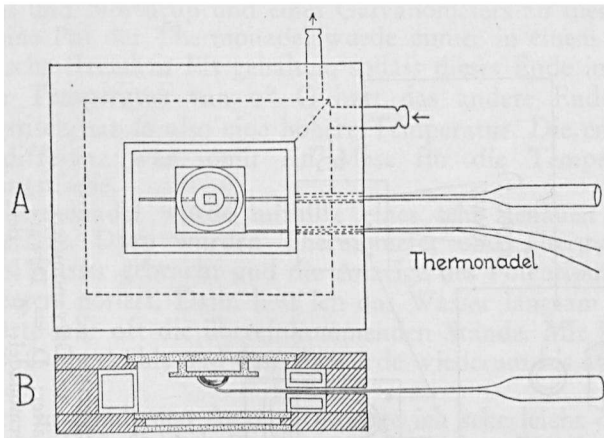


Fig. 1. Der Erwärmungstisch  
 A. Oberansicht. Unsichtbares ist punktiert.  
 B. Durchschnitt. Fiber ist schraffiert und Glas punktiert.

festgeklebtes Deckgläschen.

An dieses Deckgläschen heftet man den Tropfen mit dem zu untersuchenden Objekt. Das Kupfer ist der guten Isolation wegen überall, wo es mit der freien Luft in Berührung kommt, mit Vulkanfaser bekleidet. Die Schläuche, die das Wasser dem Aquarium zu- bzw. abführen, sind aus demselben Grunde mit Asbestschnur umwunden.

Ungeachtet der Schwankungen der Temperatur im Thermotat, erwies es sich als sehr gut möglich, die Temperatur im Erwärmungstisch bis auf  $0,1^{\circ}$  C konstant zu erhalten.

Für Temperaturen unter Zimmertemperatur wurde das grosse Glasaquarium durch ein kleineres ersetzt, das von einer dicken Isolationsschicht umgeben war. Das Wasser im Aquarium wurde dann mit Eis abgekühlt. Durch Regulierung der Rotationsgeschwindigkeit der kleinen Pumpe mithilfe eines Widerstandes, war so die Temperatur sehr gut bis auf  $0,1^{\circ}$  C konstant zu erhalten.

Die Temperatur im Erwärmungstisch wurde mittels einer aus Kupfer- und Konstantandraht angefertigten Thermonadel gemessen.

Wenn man an einem Stück Konstantandraht an beiden Enden ein Stück Kupferdraht festnagelt und man erwärmt einen der Kontaktpunkte, so entsteht, wie bekannt, zwischen den beiden Kupferdrähte eine Potentialdifferenz. Diese Potentialdifferenz ist mittels der vorgeschriebenen Montierung mit Hilfe eines Potentiometers

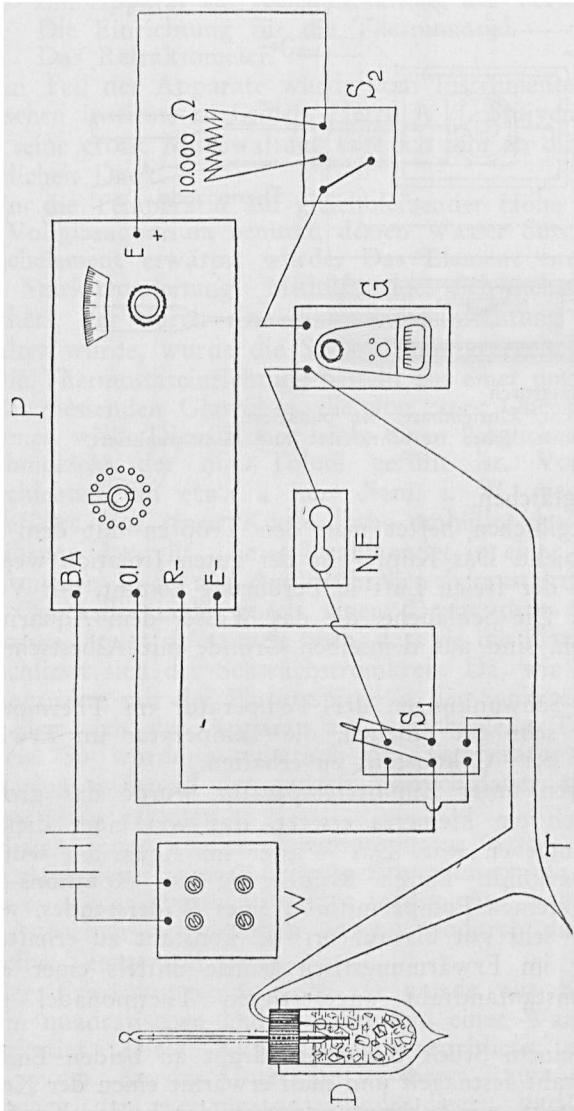


Fig. 2. Die Montierung für die Thermometer (schematisiert).  
 P = Potentiometer; W = Widerstandsbank; G = Galvanometer;  
 N.E. = Normal-Element; S<sub>1</sub> und S<sub>2</sub> = Schalter; D = Dewar-  
 Gefäß mit Thermometer und ein Pol der Thermometer; T = der  
 andere Pol der Thermometer, der in den Erwärmungstisch eingeführt  
 werden kann.



von Leeds und Northrup und eines Galvanometers zu messen. (Fig. 2). Der eine Pol der Thermonadel wurde immer in einem Vacuumglas mit schmelzendem Eis gehalten, sodass dieses Ende immer eine konstante Temperatur von  $0^{\circ}\text{C}$  hat; das andere Ende im Erwärmungstisch hat so also eine höhere Temperatur. Die entstehende Potentialdifferenz war somit ein Mass für die Temperatur im Erwärmungstische.

Die Thermonadel wurde mithilfe eines sehr genauen Thermometers geeicht. Dazu wurden Thermometer und Thermonadel in kochendes Wasser gebracht und die Anzeige des Potentiometers und Thermometers notiert. Dann liess ich das Wasser langsam abkühlen und notierte sehr oft die übereinkommenden Stände. Mit Eis wurde bis auf  $0^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und danach wurde wiederum bis auf  $100^{\circ}\text{C}$  erwärmt.

Aus den so erhaltenen Angaben konnte ich sehr leicht den Stand des Potentiometers für jede Temperatur berechnen. Ein Grad Celsius kommt mit 0,004 Volt überein. Da man das Potentiometer bis auf 0,0001 Volt ablesen kann, lässt sich die Temperatur bis auf  $0,05^{\circ}\text{C}$  genau messen.

Ein Refraktometer nach Abbe diente zur Bestimmung des Brechungsindex der gebrauchten Saccharoselösung. Dieses Refraktometer ist eingerichtet zur Bestimmung des Brechungsindex sehr kleiner Flüssigkeitsmengen. Aus dem Brechungsindex kann man die Konzentration der Saccharoselösung mindestens auf zwei Dezimale genau berechnen, da ein gradliniger Zusammenhang zwischen Konzentration und Brechungsindex besteht, mindestens zwischen 0,2 und 1,5 Gramm Molar.

Das Refraktometer wurde durch einen dauernd um die Prismen geleiteten Wasserstrom auf immer konstanten Temperatur von  $25^{\circ}\text{C}$  gehalten. Die gleichmässige Erwärmung des Wassers erfolgte in der oben beschriebenen Weise. Die Zirkulation um die Refraktometerprismen wurde mit einer Rotationspumpe unterhalten.

Zur Bestimmung des Zusammenhanges zwischen Konzentration der Saccharoselösung und Brechungsindex habe ich Lösungen von genau 2 GM und 1 GM Saccharose puriss hergestellt. Durch wiederholtes Mischen und Verdünnen konnte ich hieraus viele Lösungen erzielen, deren Molaritäten nur wenig auseinander lagen. Von allen so gewonnenen Lösungen wurde der Brechungsindex bestimmt und aus diesen Bestimmungen folgte der gradlinige Zusammenhang,

$$M_{\text{Sacch}} = 20 N_D^{25^{\circ}} - 26,616$$

worin  $M_{\text{Sacch}}$  die Molarität der unbekannte Saccharoselösung,

$N_D^{25^\circ}$  die Brechungsexponent der Lösung bei  $25^\circ$  C vorstellt.

Als Material für meine Versuche benützte ich die Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa*, und zwar einer Rasse, welche bei den Züchtern unter dem Namen „Runde Zittauer Gelbe“ bekannt ist.

Jeden Morgen und Mittag wurde von einer Zwiebel ein Stück der äussersten, nicht ausgetrockneten Schuppe herauspraepariert und in Stückchen von  $2\frac{1}{2}$  bis 3 mm zerteilt. Diese Stückchen wurden dann während einer Stunde in Leitungswasser gelegt, wonach die Epidermis sehr oft sich vom unterliegenden Gewebe löste oder doch ganz leicht lospraepariert werden konnte.

Die Epidermisstückchen wurden dann auf ihren osmotischen Wert geprüft, da die Beobachtungen natürlich nicht miteinander verglichen werden dürfen, wenn diese Werte verschieden sind.

Nach diesen Vorbereitungen konnte mit den Versuchen angefangen werden. Ein Stückchen Epidermis wurde in den hängenden Tropfen Leitungswasser gegen das Deckgläschen des Erwärmungstisches gebracht. Dort blieb es zuerst 10 bis 12 Min. damit die Versuchstemperatur erreicht wurde. Hierauf wurde das Plasmolytikum hinzugeführt und zwar ohne das Epidermisstückchen aus dem Erwärmungstisch herauszuholen.

Um dies zu ermöglichen, ist in der Seitenwand des Erwärmungstisches neben der Oeffnung für die Thermonadel noch eine kleine Oeffnung, durch die eine lange dünn ausgezogene und am Ende leicht umgebogene Glasröhre gesteckt werden kann (Fig. 1), angebracht. Der ausgezogene Teil ist etwa 18 cm lang und  $1\frac{1}{2}$  mm dick.

Eine kleine Menge Saccharoselösung von hoher Konzentration wird in die Glasröhre hineingesogen und dann wird diese durch die obengenannte Oeffnung gesteckt, wobei darauf geachtet wird, dass die Röhre den hängenden Tropfen nicht berührt. In den 10 bis 12 Min. während welchen das Stückchen Epidermis sich im hängenden Tropfen befindet, damit die erwünschte Temperatur erreicht wird, steckt das Röhrchen mit dem Plasmolytikum also im Erwärmungstisch und kann gleichfalls diese Temperatur annehmen. Dann wird die Saccharoselösung mit einiger Kraft in den hängenden Tropfen gespritzt, die Mischung schnell aufgesogen und wieder ausgespritzt, sodass die Saccharoselösung und das Wasser sich gut mischen können. Bei der Kontrolle auf refraktometrischem Wege zeigte es sich auch, dass die Vermischung im ganzen Tropfen gleichmässig erfolgt war. Sowohl vor wie während der Probe wurde die Temperatur mit der Thermonadel gemessen, um zu kontrollie-

ren, ob diese wirklich konstant blieb.

Die Plasmolysezeit wurde mit einer Stopuhr aufgenommen. Als Mass für die Plasmolysezeit nahm ich die Zeit, welche zwischen dem Hineinspritzen der Saccharoselösung und dem Erreichen einer deutlich sichtbaren Plasmolyse verläuft. Nach der Plasmolyse wurde ein wenig Plasmolytikum in eine Mikropipette hineingesogen und unter das Refraktometer gebracht. Die Bestimmung des Brechungsindex ergab dann die Konzentration, mit welcher plasmolysiert worden war. Hierauf wurde alle Saccharoselösung hinausgesogen und durch Leitungswasser ersetzt, das schnell noch einmal erneuert wurde. Zum Schlusse wurden die Deplasmolysezeit und Deplasmolyseform bestimmt.

### 3. *Beobachtungen.*

In oben umschriebener Weise wurden Beobachtungen bei  $35^{\circ}$ ,  $25^{\circ}$ ,  $15^{\circ}$  bzw.  $5^{\circ}$  C vorgenommen.

Wie gesagt wurde immer besonders darauf geachtet, dass die Temperatur während der Versuche konstant war. Dies ist eine Bedingung, die man bei jedem Versuch beachten sollte, da die Temperatur bekanntlich auf jede Lebenserscheinung einen grossen Einfluss hat.

Es gibt immer noch manche Autoren, die in ihren Arbeiten gar nichts über die Temperatur mitteilen, bei der sie gearbeitet haben, oder sie haben die Temperatur von einem neben dem Mikroskop frei aufgehängten Thermometer abgelesen und angenommen, dass das verwendete Versuchsmaterial auch diese Temperatur hat. Es können aber beträchtliche Unterschiede zwischen Zimmertemperatur und Temperatur des Versuchsobjekts auf dem Mikroskoptisch bestehen.

Die Bestimmung der Temperatur mittels einer Thermonadel hat viele Vorteile. Erstens kann man das Versuchsobjekt sehr leicht bis auf eine kleine Entfernung erreichen, da der Pol der Thermonadel verglichen mit dem Thermometer klein ist, zweitens ist die Thermonadel für kleine Temperaturschwankungen empfindlicher als ein Thermometer.

Ich habe die Thermonadel zwar nur frei in den Erwärmungstisch gesteckt und nicht in den hängenden Tropfen, um oligodynamische Wirkung des Kupfers auszuschliessen, mich aber überzeugt, dass die Temperatur des hängenden Tropfens nach wenigen Minuten schon die gleiche war wie die Temperatur des Erwärmungstisches.

Die refraktometrische Bestimmung der Konzentration des Plasmolytikums hat gleichfalls viele Vorteile. Es erfordert viel Arbeit, um einige Saccharoselösungen verschiedener Konzentration herzu-

stellen, und immer bleibt es eine Frage, ob die Lösungen ihre Konzentration nicht durch Verdampfung oder Wasseranziehung ändern. Daneben ist es wichtig, auf das Auftreten von Mikroorganismen acht zu geben, weil diese nicht nur die Konzentration ändern, aber auch die Saccharose zerlegen können. All diese Schwierigkeiten umgeht man, wenn man die Konzentration des Plasmolytikums mittels des Refraktometers bestimmt.

Ich benötigte nur eine Saccharoselösung hoher Konzentration. Diese konnte ich jeden Tag neu herstellen. Hierfür fügte ich einige Kristalle Saccharose puriss in ein Gefäß mit wenig Wasser. Nach dem Auflösen kontrollierte ich mit dem Refraktometer, ob die Konzentration zwischen 1 und  $1\frac{1}{2}$  GM war. War dies nicht der Fall, so tat ich noch einige Kristalle bezw. etwas Wasser hinzu.

Oben habe ich schon erwähnt, dass ich die Saccharoselösung in den hängenden Tropfen spritzte und es sich bei der Kontrolle auf refraktometrischem Wege zeigte, wie die Vermischung durch den ganzen Tropfen gleichmässig war.

Für diese Kontrolle spritzte ich in üblicher Weise etwas Saccharoselösung in den hängenden Tropfen Leitungswasser, drehte das oberste Glasplättchen um und stach ein Bündel Mikropipetten in den Tropfen. Durch capillaire Wirkung stieg die Lösung in allen Mikropipetten sofort auf. All diese Proben wurden refraktometrisch untersucht. Es stellte sich dann heraus, dass die Konzentration der Lösung in allen Mikropipetten die gleiche war, bezw. nur um einige Millimol schwankte. Die Schwankungen sind vielleicht darauf zurückzuführen, dass man nicht alle Proben zugleich untersuchen kann. Ebenso habe ich untersucht, ob die Konzentration der Lösung im hängenden Tropfen im Erwärmungstische während des Versuches sich ändert. Dazu habe ich vielfach einem Tropfen Proben mittels einer Mikropipette, die durch die kleine Oeffnung in der Seitenwand des Erwärmungstisches gestochen wird, entnommen aber keine Konzentrationsänderung nachweisen können.

Die Beobachtungen wurden möglichst mit Epidermisstückchen einer und derselben Zwiebel gemacht. Ich brauchte für eine ganze Versuchsserie einer Temperatur oft nur eine Zwiebel, was der gegenseitigen Vergleichung unzweifelhaft zugute kam.

Bei jeder Temperatur wurden zwischen 50 und 70 Beobachtungen verrichtet. An einem Tage konnte ich 12 bis 15 Beobachtungen ausführen, wodurch alle Versuche für eine Temperatur innerhalb einer Woche vorgenommen werden konnten.

Die ganze Serie wurde zwei- bis dreimal wiederholt. Die Resultate waren übereinstimmend. Darum beschränke ich mich auf die Wiedergabe der letzten Serie. Die gefundenen Plasmolysezeiten

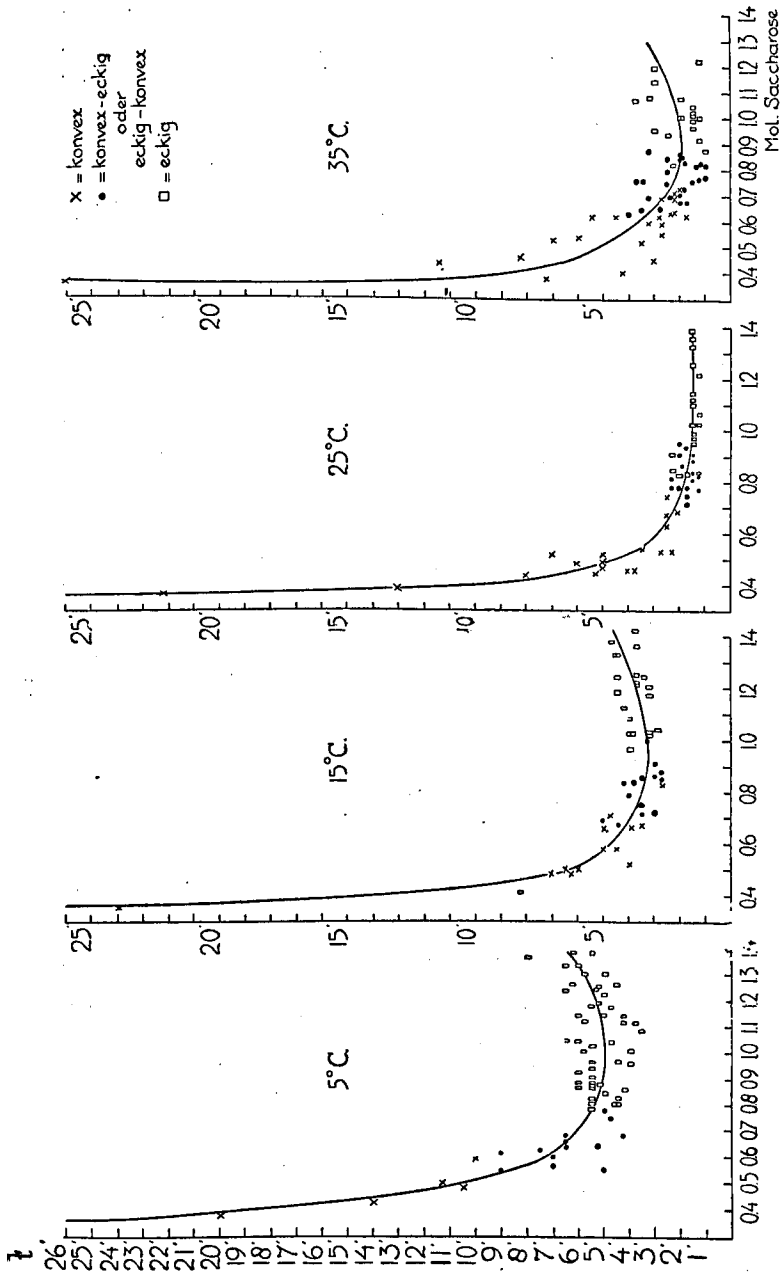


Fig. 3. Die Abhängigkeit der Plasmolyseform und Plasmolysezeit von der Konzentration des Plasmolytikums bei verschiedenen Temperaturen.  
Ordinate: Zeit in Minuten; Abszisse: Konzentration der verwendeten Saccharoselösung.

wurden in Kurven dargestellt, wozu auf der Ordinate die Zeit und auf der Abszisse die Konzentration des Plasmolytikums in Gramm-Molaritäten angegeben wurden. Mittels verschiedener Zeichen wurde gleichfalls die Plasmolyseform angegeben. Siehe Fig. 3.

Die Plasmolyseform wurde nach allen Zellen des Epidermisstückchens beurteilt. Der Ausdruck „konvex-eckig oder eckig-konvex“ will besagen, dass der grösste Teil der Zellen konvexe Plasmolyseform und der kleinste Teil eckige Plasmolyseform zeigte bzw. der grösste Teil eckige und der kleinste Teil konvexe Plasmolyseform.

Auf diese Plasmolyseformen komme ich noch näher zurück. Im Folgenden sei erst noch etwas über die Versuche, die der letzten Serie vorangingen, mitgeteilt.

#### 4. *Orientierende Beobachtungen.*

Wie bereits erwähnt, habe ich zuerst Beobachtungen mit *Spirogyra spec.* gemacht, ohne auf eine konstante Temperatur besonders acht zu geben.

Die Versuche habe ich später mit fast dem gleichen Instrumentarium, wie oben beschrieben, wiederholt, nur der Erwärmungstisch war damals noch nicht konstruiert worden. Ich verwendete für die Aufrechterhaltung der Temperatur einen elektrischen Erwärmungstisch, System Walton-Leitz. Temperaturregulation war hierbei bis auf  $1^{\circ}\text{C}$  möglich.

Die *Spirogyra*-species wurden einem kleinen Teiche im botanischen Garten der Universität zu Leiden entnommen und in grossen Glasgefässen aufbewahrt. Die *Spirogyra*fäden wurden in kleine Stückchen zerlegt und weiter wurde die oben umschriebene Methode verwendet.

Bei  $25^{\circ}\text{C}$  zeigte es sich, dass bei Erhöhung der Konzentration des Plasmolytikums die Plasmolysezeit kürzer wurde, bis ein Minimum erreicht war, und dass Konzentrationserhöhung dann keine Aenderung der Plasmolysezeit mehr zustande bringen konnte. Die Plasmolyseform war hier immer konvex. Wenn ich nun Beobachtungen bei höheren Temperaturen machen wollte, zeigten sich unerwartete Erscheinungen. Wenn die *Spirogyra*fäden einige Minuten im Wasser von  $30^{\circ}\text{C}$  verweilt hatten, ballte sich das Chlorophyll zusammen, sodass ich an diesen Zellen keine Beobachtungen mehr machen konnte. Bei  $40^{\circ}\text{C}$  stellte diese Erscheinung sich noch schneller ein, weshalb ich nach anderem Material aussah.

Ich glaubte, ein günstigeres Objekt in *Tradescantia discolor* gefunden zu haben und zwar in der Blattepidermis der Unterseite der Mittelrippe, ein vielfach von Plasmolyseforschern verwen-

detes Material. Die Epidermiszellen der Mittelrippe sind von einem fast homogenen Bau und bleiben auch bei 40° C. noch lange Zeit leben. Die Epidermis der Mittelrippe wurde ebenfalls in Stückchen von 1½ bei 2 mm geteilt und sofort in Leitungswasser gebracht, in dem sie eine Stunde blieben. Bei diesem Material herrschte die eckige Plasmolyseform vor und nur bei einer sehr kleinen Hypertonie der Saccharoselösung wurde eine konvexe Plasmolyseform beobachtet.

Obwohl ich mit *Tradescantia* viele Beobachtungen machen konnte, habe ich doch nach einem anderen Objekt gesucht, da die Plasmolysezeiten bei fast gleichen Konzentrationen des Plasmolytikums oft sehr stark variierten. Vielleicht ist das dem Praeparieren zuzuschreiben, da man erstens doch immer viele Zellen zerstört und zweitens nicht immer nur die Epidermis, sondern oft einige Zellen des darunterliegenden Gewebes mitpraepariert. Dies hat zur Folge, dass das Plasmolytikum die Epidermiszellen nicht überall gleichzeitig angreifen kann.

Ein anderes viel gebrauchtes Objekt für das Plasmolyseverfahren ist die Epidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*. Ich habe die Epidermis der Zwiebelschuppen vieler Varietäten der *Allium cepa* untersucht und dabei auf lange Lebensdauer auch bei höheren Temperaturen, auf gut sichtbare Plasmolyse, Plasmaströmung u.s.w. geachtet.

Zum Schlusse habe ich, wie schon berichtet, ein sehr gutes Material in der Innenepidermis der Zwiebelschuppe von *Allium cepa*, var. „Runde Zittauer Gelbe“ gefunden.

Die Vorteile dieses Objektes sind:

1. Die Zwiebeln sind fast das ganze Jahr hindurch zu bekommen.
2. Die Epidermis ist leicht abzupraeparieren.
3. Man hat immer ein Praeparat von nur einer Zelle Dicke.
4. In der Zelle findet man keine Einschlüsse, die das Plasmolyseverfahren beeinflussen können.
5. Die Zellen machen eine Ruheperiode durch. Wachstum u.s.w. können den physiologischen Zustand des Plasmas also nicht beeinflussen.

##### 5. *Plasmolyseform und Konzentration.*

Heilbrunn (1928) hat die Hauptformen der Plasmolyse bei *Spirogyra* schematisch wiedergegeben, Weber (1928) übernimmt diese Zeichnungen. Hierin wird kein Unterschied zwischen konkaver und Krampfplasmolyse gemacht. Da bei *Allium cepa* alle Plasmolyseformen, Krampfplasmolyse ausgenommen, durch

Deplasmolyse wieder den alten Zustand geben, will ich Krampfplasmolyse doch von eckiger und konkaver Plasmolyseform unterscheiden.

Fig. 4 gibt die Plasmolyseformen, die ich bei *Allium cepa* beobachtet habe, schematisiert wieder. Da konkave Plasmolyse hier nur sehr wenig vorkommt und immer von eckiger Plasmolyseform begleitet war, findet man „konkave Plasmolyseform“ nicht weiter erwähnt.

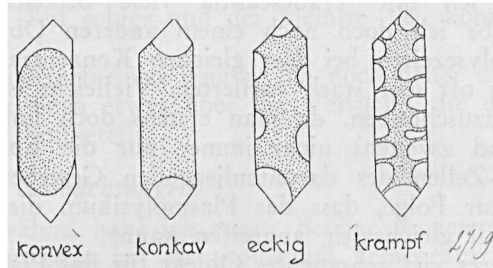


Fig. 4. Plasmolyseformen der Innenepidermiszellen von *Allium cepa* r.Z.g. (schematisiert).

In der Literatur liegen nur wenig Anweisungen über die Veränderung der Plasmolyseform vor.

Cholodny (1924) hat die Pflanzen in drei Gruppen eingeteilt:

A. Solche, deren Protoplasten nach eingetretenem Gleichgewichtszustande eine ganz unregelmässige Gestalt haben und dickere Fäden tragen.

B. Solche, deren Protoplasten sich zu kugelig oder ellipsoider Form mit ganz feinen Fäden kontrahieren. Drittens eine Zwischengruppe.

AB., die bald nach diesem, bald nach jenem Typus plasmolysiert wird.

In diese letztgenannten Gruppen würden auch die Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* gehören. Sie sollen im grossen Ganzen in Elektrolytlösungen nach Typus A, in denen von Nichtelektrolyten nach B plasmolysiert werden.

Wie aus Fig. 3 zu ersehen ist, kann man mit Saccharoselösungen, also mit Nichtelektrolyten, konvexe Plasmolyse, aber auch eckige Plasmolyse bekommen.

Die Plasmolyseform wird nicht von dem Plasmolytikum an sich, d.h. nicht von Elektrolyten oder Nicht-elektrolyten bestimmt, sondern nur von der Konzentration der Lösung und der Temperatur.



Eine geringe Konzentration der Aussenlösung entzieht der Vakuole nur langsam Wasser. Das Plasma kann sich leicht von der Wand ablösen. Deshalb bekommt man eine schöne konvexe Plasmolyse.

Wenn man eine höhere Konzentration des Plasmolytikums verwendet, wird die Wasserentziehung viel grösser und starker. Das Wasser kann dann nicht schnell genug von der Vakuole durch das Plasma diffundieren, und das Plasmolytikum wird auch dem Zytoplasma Wasser entziehen.

Die Konsistenz des Plasmas wird dadurch gesteigert, das Plasma kann sich nicht gut von der Wand loslösen, eckige Plasmolyseform ist die Folge davon. Erhöht man die Konzentration des Plasmolytikums noch mehr, so wird die Wasserentziehung am Plasma immer grösser, folglich auch die Konsistenz des Plasmas und dann sieht man Krampfplasmolyse auftreten. Erfolgt diese, so ist die Konsistenz des Plasmas so stark gestiegen, dass das Verfahren der Wasserentziehung nicht mehr reversibel ist. Bei Deplasmolyse kehrt das Plasma dementsprechend auch nie wieder in seine alte Form zurück, sondern geht immer zu Grunde.

Wie bereits erwähnt, habe ich die Plasmolyseform immer nach allen Zellen eines Epidermisstückchens beurteilt. Bis zu einer bestimmten Konzentration plasmolysieren alle Zellen mit schöner konvexer Form; über diese Konzentration hinaus, da wo die Wasserentziehung des Plasmas auftritt, plasmolysieren immer mehr Zellen mit konkaver oder eckiger Plasmolyseform, bis endlich alle Zellen eckige Plasmolyseform zeigen.

Tafel 1 gibt an, bis zu welcher Konzentration der Saccharose-lösung bei verschiedenen Temperaturen die Plasmolyseform ausschliesslich konvex und über welche Konzentration hinaus sie ausschliesslich eckig ist. Dazwischen beobachtet man an neben einander gelegenen Zellen zu gleicher Zeit also konvexe und eckige Plasmolyseformen.

Temperatur °C.	Nur konvex bis	Nur eckig über
5	0,480 GM.	0,780 GM.
15	0,680	0,930
25	0,710	0,950
35	0,630	0,880

Tafel 1. Konzentrationsgrenzen der Saccharoselösungen oberhalb oder unterhalb welcher bestimmte Plasmolyseformen auftreten

El Derry verwendete die Plasmolysezeit-Methode nach Weber, welche als Kriterium das Erreichen der konvexen Plasmolyseform verlangt. Er erwähnt den Uebergang von der eckigen Plasmolyseform in die konvexe. Diese Erscheinung habe ich bei den Epidermiszellen von *Allium cepa* niemals beobachtet. Zellen, welche anfangs mit einer eckigen Form plasmolysierten, erreichten nie wieder die konvexe Plasmolyseform. Zwar habe ich beobachtet, dass Zellen, welche mit einer Saccharoselösung von 0,8 GM bei 25° C plasmolysiert wurden, anfangs konvex plasmolysierten, aber bald die eckige Plasmolyseform annahmen.

El Derry fand bei *Spirogyra* also vorwiegend konvexe Plasmolyseform, nur bei 40% oder 1,1 GM Rohrzucker eckige (konkave) Plasmolyseform und ich erhielt bei *Allium cepa* vorwiegend

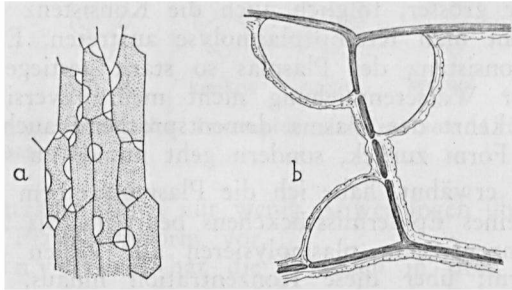


Fig. 5. a) Plasmolysebild der Epidermiszellen von *Allium cepa*.  
b) Vergrößerung eines Stückes einer plasmolysierten Zelle.

eckige Plasmolyseform, nur bei kleinen Konzentrationen des Plasmolytikums konvexe Plasmolyseform.

Die Erklärung dafür habe ich in Wasserentziehung am Protoplasma gesucht. Diese Wasserentziehung wird hauptsächlich in den äussersten Plasmaschichten stattfinden. Wird dem ganzen Plasma Wasser entzogen, dann bekommt man Krampfplasmolyse, wodurch das Plasma desorganisiert wird.

Wird den äussersten Plasmaschichten Wasser entzogen, dann wird dessen Konsistenz auch beträchtlich steigen. Dadurch können die Plasmodesmen immer schwerer zurückgezogen werden. Dies erklärt das Bild der Plasmolyse in Fig. 5a.

Ich konnte mich bei starker Vergrößerung auf das Bestimmteste davon überzeugen, dass auch wirklich Plasmodesmen eine entscheidende Rolle bei dem Zustandekommen der Plasmolyse spielen. Siehe Fig. 5b. Dies erklärt auch, dass El Derry fast immer konvexe Plasmolyse beobachtet hat. Bei *Spirogyra* gibt es keine Tüpfel in den Seitenwänden. Das Plasma kann viel leichter von

diesen Wänden abgezogen werden. Nur wenn die Konsistenz des Plasmas beträchtlich gesteigert ist, kann das Plasma sich nicht bequem von der Zellwand lösen. El Derry sieht demgemäss auch eckige Plasmolyseformen bei höheren Konzentrationen des Plasmolytikums auftreten.

Eine Verwachsung im Sinne Hecht (siehe s. 521) besteht unzweifelhaft. Die Wände werden doch vom Plasma gebildet, sodass man einen Zusammenhang zwischen Plasma und Zellwand annehmen muss. Aber diese Verwachsung ist nicht so innig, dass das Plasma, wenn die Plasmolyse nur langsam vor sich geht, sich nicht bequem von der Wand lösen könnte. Nur wenn die Konsistenz des Plasmas erhöht wird und wenn auch noch Plasmodesmen das Plasma benachbarter Zellen verbinden, wird es dem Protoplasma schwer, sich von der Wand zurück zu ziehen, da dann auch die Plasmodesmen zerrissen werden müssen.

Bei Krampfplasmolyse wird das Plasma durch die grosse Wasserentziehung zusammen mit der Konsistenzsteigerung geschädigt, sodass das Wasser der Vakuole viel schneller herausdiffundieren kann. Es erfolgt dementsprechend ein Zusammenschrumpfen des Plasmas, begleitet von einer starken Fadenbildung.

Strasburger (1901) hat schon darauf hingewiesen, dass — speziell für *Mnium affine* — die Eigenschaft der Fadenbildung häufig erst bei Anwendung stärker plasmolisierender Lösungen zutage tritt, während sich bei schwächeren Lösungen oft eine glatte Ablösung des Protoplasten von der Zellwand erzielen lässt. Er hat auch Abbildungen gegeben, in denen das kontrahierte Plasma mit den Tüpfeln durch starke Stränge verbunden ist und damit ebenfalls gezeigt, dass das Haftenbleiben des Zytoplasmas bei Plasmolyse häufig von Plasmodesmen bedingt wird.

Dass Heilbrunn und Weber bei *Spirogyra* keinen Unterschied zwischen konkaver (hier eckiger) und Krampfplasmolyse machen ist nun selbstverständlich. Eine eckige Plasmolyseform wie bei den Epidermiszellen von *Allium cepa* beobachtet werden kann, (siehe Fig. 4) kommt bei *Spirogyra* fast gar nicht vor.

#### 6. Einfluss der Konzentration auf die Plasmolysezeit.

Weber (1929) hat darauf hingewiesen, dass man die Plasmolysezeit bei den Beobachtungen über Plasmolyse so gut wie gar nicht beachtet hat, diese jedoch eine wichtige Rolle beim Studium der Einflüsse äusserer Faktoren spiele.

Er gibt folgende Definition:

„Als Plasmolysezeit soll diejenige Zeitdauer verstanden werden, die verstreicht vom Moment des Einlegens der Zelle in das

Plasmolytikum bis zu der Erreichung der konvexen Plasmolyseform."

El Derry (1929) verwendet diese Definition der Plasmolysezeit bei seinen Beobachtungen mit *Spirogyra* und meldet als Resultat, dass die Plasmolysezeit länger wurde, je höher die Konzentration des Plasmolytikums stieg.

Wie in Abschnitt 4 schon erwähnt ist, habe ich diese Angaben El Derry's nicht bestätigen können. Bei meinen Beobachtungen mit *Spirogyra* bei 25° C lief die Plasmolysezeit bei Erhöhung der Konzentration bis zu einem Minimum zurück. Dieser Unterschied der Ergebnisse ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass El Derry nur mit wenigen verschiedenen Konzentrationen gearbeitet hat. Er verwendet nur 25%, 30% und 40% Saccharose oder 20%, 25% und 30% Saccharose. In Gramm-Moralitäten pro Liter ist das ungefähr 0,75 GM, 0,9 GM und 1,1 GM Saccharose oder 0,6 GM, 0,75 GM und 0,9 GM Saccharose.

Ich habe bei meinen Beobachtungen mit den Epidermiszellen der Zwiebeln von *Allium cepa* diese Definition Weber's nicht benützt, da es sich schon bald herausstellte, dass die Zellen der Epidermis von *Allium cepa* oft unter eckiger Plasmolyseform plasmolysierten und es nicht mehr zum Abrunden kam.

Ich bestimmte die Zeit, welche zwischen dem Hineinspritzen des Plasmolytikums und dem Erreichen einer deutlichen Plasmolyse verlief. Zwar ist „eine deutliche Plasmolyse „freilich ein sehr relativer Begriff, aber nach einiger Übung weiss man genau, wann dieser Zustand erreicht ist. Auch „die Erreichung der konvexen Plasmolyseform“ ist nicht ganz und gar bestimmt, denn, obwohl man konvexe Plasmolyse sehr leicht von eckiger oder konkaver Plasmolyse unterscheiden kann, ist es, wie auch Weber meldet, schwer, die zahlreichen Uebergänge zwischen der konvexen, eckigen und konkaven Form genau und eindeutig zu präzisieren. Da ich im voraus nicht wusste, mit welcher Konzentration ich plasmolysierte, weil diese erst nach Ablauf der Probe refraktometrisch bestimmt wurde, war alle Subjektivität bei der Zeitbestimmung ausgeschlossen. Es stellte sich nach meinen Beobachtungen heraus, dass auch wenn ich nur den Teil der Kurve betrachte, worin die Plasmolyseform ausschliesslich konvex ist, die Plasmolysezeit kleiner wird, je nachdem die Konzentration des Plasmolytikums steigt. Ueber eine bestimmte Konzentration hinaus, abhängig von der Temperatur, plasmolysieren nicht alle Zellen mehr ausschliesslich konvex, sondern tritt auch schon die eckige Plasmolyseform auf. Wird die Konzentration gesteigert, so überwiegt ausschliesslich die eckige Plasmolyseform.

Aus den Kurven ist ebenfalls zu ersehen, dass das Minimum der Plasmolysezeit ungefähr in dem Uebergangsgebiet von der konvexen und eckigen Plasmolyseform liegt. Die Erklärung hierfür scheint mir im Folgenden zu liegen:

Wenn die Konzentration des Plasmolytikums steigt, so wird auch die Entziehung von Wasser aus der Vakuole verhältnismässig stärker. Die Plasmolysezeit muss also abnehmen. Wird die Wasserentziehung jedoch so gross, dass die Diffusion des Wassers aus der Vakuole durch das Plasma nicht schnell genug geht, so wird auch dem Protoplasma, wenigstens der äussersten Schicht desselben, Wasser entzogen. Wird diese Wasserentziehung immer stärker, so muss auch die Konsistenz der äussersten Protoplasmaschicht beträchtlich steigen, sodass auch das Wasser der Vakuole immer schwerer herausdiffundieren kann. Die Plasmolysezeit wird dadurch also steigen müssen. Diese Zunahme der Plasmolysezeit nimmt man bei  $5^{\circ}$ ,  $15^{\circ}$  und  $35^{\circ}$  C deutlich wahr, während es auch bei  $25^{\circ}$  C noch eine geringe Steigung gibt. Wir würden hieraus also die Schlussfolgerung ziehen können, dass die Konsistenz der äussersten Protoplasmaschicht bei  $25^{\circ}$  C so niedrig ist, dass die Konsistenzsteigerung durch die Wasserentziehung noch keine derartige Grösse erreicht hat, dass die Diffusion durch das Protoplasma bemerkbar beeinflusst wird.

• Es sei hier lieber nicht von Viskosität des Protoplasmas gesprochen, da dies nicht etwas homogenes ist, sondern etwas differenziertes. Man soll die Aenderung der Plasmolysezeit durch Konzentrationserhöhung also so betrachten, dass man es hier mit zwei entgegengesetzten Prozessen zu tun hat, namentlich erstens eine zunehmenden Wasserentziehung aus der Vakuole, zweitens eine Wasserentziehung aus dem Zytoplasma, die gleichfalls immer stärker wird, aber *später* auftritt als der erste Prozess. Der zweite Prozess bewirkt eine Konsistenzsteigerung der äussersten Schichten des Zytoplasmas, wodurch die Wasserentziehung an der Vakuole erschwert wird.

Man kann auch denken, dass höhere Konzentrationen des Plasmolytikums einen Anstieg des osmotischen Wertes der Zelle hervorrufen und in dieser Weise die Plasmolysezeit verlängern, doch, die Plasmolysezeiten sind sehr kurz, sie dauern nur wenige Minuten, während die Saccharosediffusion immer sehr langsam vor sich geht.

Es liegen in der Literatur nur sehr wenige Beobachtungen über einen Rückgang der Plasmolyse in Zuckerlösungen vor, wo dies aber festgestellt wurde, geschah es bei langer Versuchsdauer und in nur sehr geringem Masse.

Ruhland (1911) machte bei Beta in Rohrzucker-, Glukose- und Fruktoselösungen, die um 0,05 GM abgestuft waren, vergleichende Grenzbestimmungen nach einstündiger und 24-stündiger Plasmolyse. Er konnte nur einen sehr geringen Rückgang nachweisen.

Fitting (1917) beobachtete bei Rhoeo (*Tradescantia*) discolor ein schwaches Ansteigen der Grenzwerte um etwa 0,02 GM Rohrzucker binnen 12 bzw. 22 Stunden.

Höfler (1926) fand bei Plasmolyse mit Saccharose in den ersten 24 Stunden überhaupt noch keinen Rückgang, sie nahm aber von der 3. bis 23. Stunde noch leicht zu. Höfler sieht denn auch im Rohrzucker das empfehlenswerteste Plasmolytikum.

#### 7. *Einfluss der Temperatur auf die Plasmolysezeit und die Plasmolyseform.*

Meine Beobachtungen habe ich bei vier verschiedenen Temperaturen gemacht. Durch Vergleich der Kurven, die diese Beobachtungen wiedergeben, kann man somit Schlüsse über den Einfluss der Temperatur auf die Plasmolysezeit ziehen. Ich habe deshalb die Kurven von Fig. 3 zu einem Blockdiagramm zusammengestellt, wie in Fig. 6 wiedergegeben. Darin habe ich die übereinstimmenden Punkte einiger Konzentrationen des Plasmolytikums miteinander verbunden. Diese Linien illustrieren den Einfluss der Temperatur auf die Plasmolysezeiten bei gleicher Hypertonie der Aussenlösung. Alle diese Linien sind Minimumkurven, deren Minimum bei ungefähr 25° C liegt. Wenn man von 25° C ausgeht, haben sowohl Temperaturerniedrigung wie Temperaturerhöhung einen Anstieg der Plasmolysezeit zur Folge.

Eine gleiche Kurve findet El Derry als Ergebnis seiner Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur bei *Spirogyra*. Hier liegt das Minimum ebenfalls bei ungefähr 25° C. Der Autor nennt das Ansteigen in Richtung der niederen Temperaturen den physiologischen Ast, das in Richtung der höheren Temperaturen den pathologischen Ast der Kurve, pathologisch, weil er bei höheren Temperaturen als 25° C sehr stark variierende Plasmolysezeiten und häufig Krampfplasmolyse auftreten. Ich konnte meine Beobachtungen bis zu einer Konzentration des Plasmolytikums von 1,4 GM Saccharose durchführen, ohne dass Krampfplasmolyse auftrat.

Natürlich habe ich wohl einige Male Krampfplasmolyse beobachtet, aber dies kam doch sehr selten vor. Nur bei 35° C und bei einer Konzentration des Plasmolytikums höher als 1,4 GM Saccharose habe ich fast immer Krampfplasmolyse beobachtet.

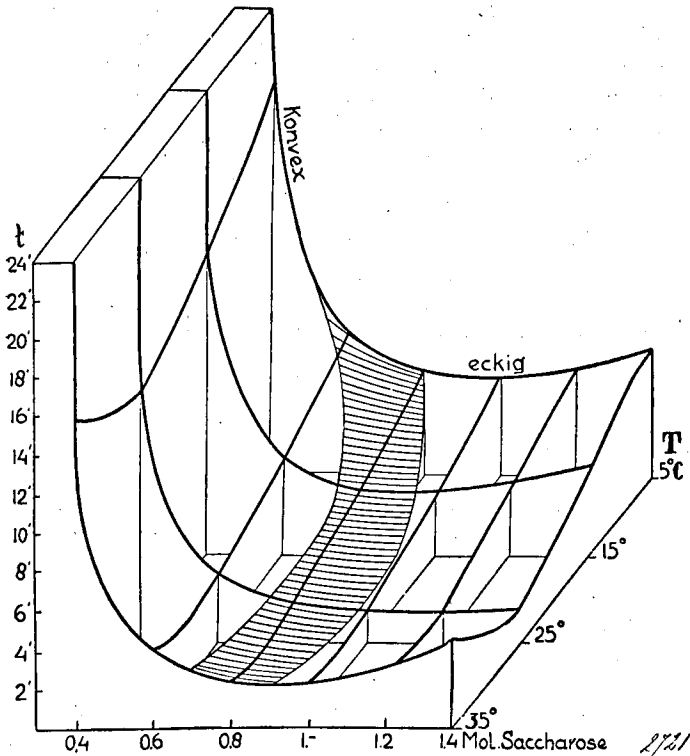


Fig. 6. Der Einfluss der Konzentration des Plasmolytikums und der Temperatur auf die Plasmolysezeit, wiedergegeben in einem Blockdiagramm mit Angabe der Plasmolyseform.

Hier wirken aber zwei Faktoren schädigend auf das Protoplasma, n. l. die hohe Temperatur und die intensive Wasserentziehung des Protoplasmas von der hohen Konzentration des Plasmolytikums. Ich kann deshalb die Verlängerung der Plasmolysezeit bei Anwendung höherer Temperaturen (bis zu  $35^{\circ}\text{C}$ ) nicht einer Schädigung zuschreiben. Es scheint, dass man hier mit einer ganz normalen Konsistenzsteigerung des Zytoplasmas zu tun hat.

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Resultaten vieler Untersucher, die im zweiten Teile meiner Arbeit näher genannt werden sollen. Mein Ergebnis wird aber auch durch die Beobachtungen über die Aenderung der Plasmolyseform bestätigt.

Wie bekannt, kann man aus der Aenderung der Plasmolyseform

Rückschlüsse auf die Konsistenz des Plasmas ziehen. Da Konzentrationserhöhung des Plasmolytikums eine Aenderung der Plasmolyseform durch Konsistenzsteigerung hervorruft, wenn man über eine bestimmte Konzentration kommt, wird diese Aenderung der Plasmolyseform desto eher zustande kommen, je mehr die Konsistenz des Zytoplasmas von vornherein schon hoch war.

Wie Tafel 1 und Fig. 6 erkennen lassen, kommt die Formänderung bei  $25^{\circ}$  C auch wirklich bei höherer Konzentration des Plasmolytikums zustande, nämlich einerseits bei  $15^{\circ}$  C und  $5^{\circ}$  C, anderseits bei  $35^{\circ}$  C.

Nach mündlicher Mitteilung hat Dr. J. Pekarek mit noch nicht veröffentlichten Versuchen eine ungefähr übereinkommende Kurve für die Aenderung der Protoplasmakonsistenz unter Einfluss verschiedener Temperaturen bekommen.

#### 8. Ueber Deplasmolyse.

Jedes Mal wenn ich ein Praeparat der Epidermiszellen von *Allium cepa* plasmolysierte, ersetzte ich, wie schon erwähnt, nach einer bestimmten Zeit die Saccharoselösung durch Leitungswasser.

Besser hätte ich vielleicht sofort nach dem Erreichen des gewünschten Plasmolysegrades deplasmolysiert, da dann die Kontraktion in allen Zellen fast ganz gleich gewesen wäre; da ich aber erst eine kleine Menge Plasmolytikum mittels einer Mikropipette aus dem Erwärmungstisch entnehmen und in den Refraktometer bringen musste, bevor ich deplasmolisieren konnte, verlief immer eine gewisse Zeit. Ich entschloss mich deshalb vor dem Deplasmolisieren immer eine gleiche Anzahl von Minuten nach der Plasmolyse zu warten. Unter Deplasmolysezeit sei diejenige Zeitdauer verstanden, die vom Moment des Ersetzens des Plasmolytikums durch Wasser bis zu dem Anlegen des Plasmas aller Zellen an die Zellwände verstreicht.

Meine Beobachtungen über Deplasmolyse habe ich in Fig. 7 kurvenmässig dargestellt. Man ersieht sofort, dass die Deplasmolysezeiten viel stärker als die Plasmolysezeiten variieren und es schwer ist eine richtige Kurve konstruieren zu können.

Diese Tatsache ist dem Einfluss der Plasmolyse zuzuschreiben. Plasmolyse entzieht nicht nur der Vakuole, sondern auch dem Zytoplasma Wasser. Es ist bis jetzt nicht erwiesen, dass Wasserentziehung am Plasma in gleicher Weise reversibel ist.

Dass das Zytoplasma ungezweifelt bei Deplasmolyse wieder Wasser aufnimmt, zeigen die Deplasmolyseformen. Mit welchem Plasmolytikum plasmolysiert und welche Plasmolyseform auch dadurch erreicht wurde, immer nahm der Protoplast sofort, nach-



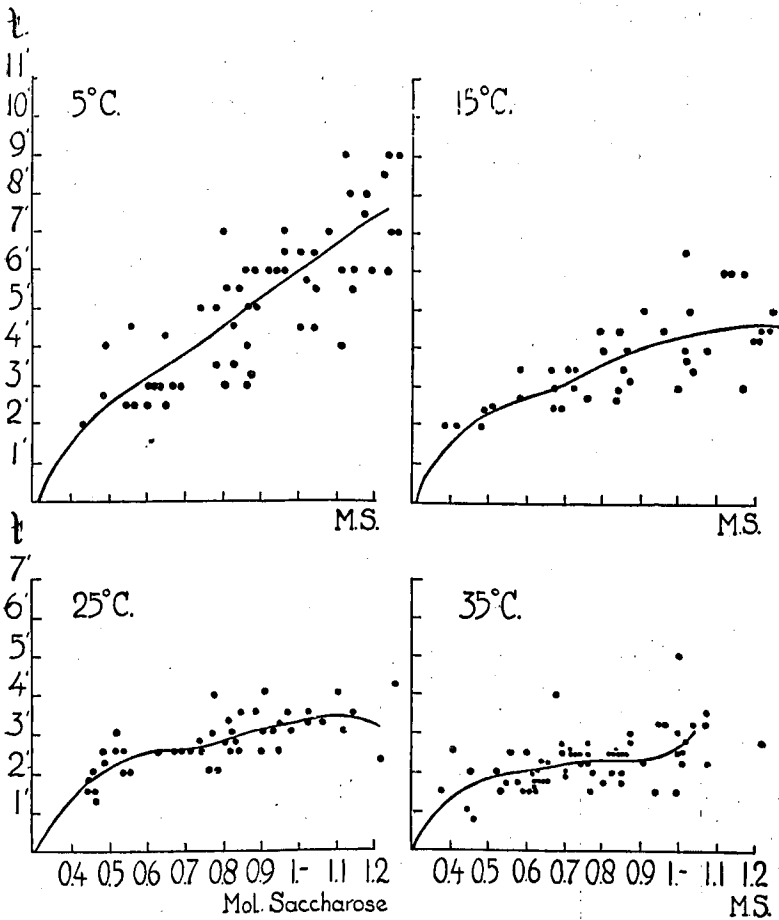


Fig. 7. Kurvenmässige Darstellung der Deplasmolysezeiten mit Angabe der Saccharoselösung-Konzentration (in Gramm-Molaritäten), mit der bei verschiedenen Temperaturen vorher plasmolysiert worden war.

dem das Praeparat von Leitungswasser umgeben war, die konvexe Form an.

Eine konvexe Plasmolyseform verrät geringe Konsistenz des Zytoplasmas. Da Deplasmolyse immer nach eckiger Plasmolyseform eine konvexe Form hervorrief, musste das Zytoplasma Wasser aufgenommen haben, aber die Wasserentziehung braucht nicht immer in gleicher Zeit reversibel zu sein.

Höfler (1918) teilt auch mit, dass die Plasmolyse nicht proportional zurückgeht und erklärt dies im Anklang an die Beobachtung von De Vries (1884) damit, dass die Protoplaste weniger Widerstandsfähigkeit gegen nachträgliche Ausdehnung besitzen als gegen nachträgliche weitere Kontraktion.

Würde die Plasmolyse bei Deplasmolyse proportional zurückgehen, so würde man übereinstimmende Data für Plasmolyse und Deplasmolyse erzielen müssen. Da die Kontraktion der Zellen vor dem Deplasmolisieren nicht bei allen Konzentrationen des Plasmolytikums gleich gross ist, habe ich versucht, die stärkere Kontraktion verschiedener Konzentrationen mittels einfacher Umrechnung der Deplasmolysezeiten auszugleichen. In diesem Zweck wurden erst die Deplasmolysezeiten mit der Hypertonie, d.h. mit der Konzentration des Plasmolytikums abzüglich des osmotischen Wertes der Zelle dividiert. Der osmotische Wert der Zelle beträgt, wie die Kurven von Fig. 3 angeben, 0,310 GM Saccharose. In Tafel 2 sind die gefundenen Werte für die verschiedenen Temperaturen erwähnt.

Temperatur:	5 ° C.		15 ° C.		25 ° C.	
Konzentration des Plasmolytikums.	Plasm. zeit. in Min.	Errechnete Deplasm. zeit. in Min.	Plasm. zeit. in Min.	Errechnete Deplasm. zeit. in Min.	Plasm. zeit. in Min.	Errechnete Deplasm. zeit in Min.
0.4 Mol.	16.3	20.1	13.1	16.2	8.1	13.3
0.5	10.1	13.7	6.5	12.6	4.3	10.5
0.6	7.2	10.7	4.7	9.6	2.8	8.3
0.7	5.9	9.5	3.9	8.2	2.2	6.9
0.8	5.2	8.8	3.5	7.1	1.8	5.9
0.9	4.9	8.5	3.4	6.6	1.6	5.3
1.1	4.9	8.2	3.4	6.1	1.5	4.8
1.1	5.1	8.1	3.6	5.7	1.5	4.3
1.2	5.3	8.1	3.8	5.3	1.5	3.9
1.3	5.8	8.3	4.0	4.9	1.5	3.6

Tafel 2. Ein Vergleich der Plasmolysezeiten und Deplasmolysezeiten bei verschiedenen Temperaturen. Die Deplasmolysezeiten sind durch Division mit der Hypertonie des Plasmolytikums errechnet.

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass man bei 5° C. eine gleichartige Kurve für Plasmolyse und Deplasmolyse bekommt. Bei 15°, 25° und 35° C. werden die Abweichungen jedoch zu gross.

Ferner habe ich die Volumenkontraktion für die verschiedenen Konzentrationen mittels der Formel

$$V_z : V_c = C_z : C \text{ berechnet.}$$

Hierin bedeutet  $V_z$  das Volumen der Zelle in reinem Wasser.

$V_c$  das Volumen der Zelle nach Plasmolyse.

$C_z$  die Konzentration der isotonischen Lösung und

$C$  die Konzentration des Plasmolytikums.

[Siehe auch Höfler (1918)]

Unter der Annahme, dass das Volumen der Zelle = 1, die Konzentration der isotonischen Lösung 0,31 GM ist, ist das Volumen der Zelle nach Plasmolyse in 0,5 GM Saccharose:

$$V_c = \frac{V_z C}{C_z} = \frac{31}{50}, \text{ bei } 0,6 \text{ GM: } V_{0,6} = \frac{31}{60}.$$

Die Kontraktion beträgt also  $\frac{19}{50}$  resp.  $\frac{29}{60}$  x das Zellenvolumen.

Temperatur:	15° C.		25° C.	
Konzentration des Plasmolytikums.	Plasm. zeit. in Min.	Errechnete Deplasm. zeit. in Min.	Plasm. zeit. in Min.	Errechnete Deplasm. zeit. in Min.
0.4 Mol.	13.—	1.5	8.—	1.2
0.5	6.5	1.4	4.3	1.2
0.6	4.7	1.3	2.8	1.1
0.7	3.9	1.3	2.2	1.1
0.8	3.5	1.3	1.8	1.1
0.9	3.4	1.3	1.6	1.1
1.—	3.4	1.4	1.5	1.1
1.1	3.6	1.4	1.5	1.1
1.2	3.8	1.4	1.5	1.1
1.3	4.0	1.4	1.5	1.1

Tafel 3. Ein Vergleich der Plasmolysezeiten und Deplasmolysezeiten nach Errechnung, wie auf Seite 543 beschrieben.

Wenn ich nun mit der Kontraktion dividiere, so erhalte ich auch kleine gleichartige Zahlen; wie aus Tafel 3 zu ersehen ist.

Hieraus kann man schliessen, dass mittels einer einfachen Umrechnung der Deplasmolysezeiten keine Zahlen zu erhalten

sind, welche mit den Plasmolysezeiten übereinstimmen. Deplasmolyse kann also nicht als Gegensatz zur Plasmolyse aufgefasst werden, aber man kann sagen, dass Pasmolyse irgendwie eine Desorganisation in der Zelle, welche wir mit dem Auge nicht beobachten können, verursacht.

Nach P e k a r e k (1935) beweist eine normale Plasmolyse noch nicht völliges Unverletztsein der Zelle, sondern sie ist ein Kennzeichen für Leben oder Tod. Protonemazellen von *Leptobryum piriforme*, welche normal plasmolysierten und später auf Nährboden gebracht wurden, teilten sich nicht mehr oder starben doch bald.

D e H a a n (1933) schreibt den schädigenden Einfluss, der nach Plasmolyse und Deplasmolyse bemerkbar wird, einer zu schnellen Quellung des Plasmas zu.

Es muss also als unrichtig betrachtet werden, mittels Deplasmolyse-Versuche etwas über das Verhalten des Protoplasmas unter Einfluss verschiedener Umstände ermitteln zu wollen, da man immer mit nicht völlig unverletzten Zellen arbeitet.

In einer soeben erschienenen Arbeit hat R e s ü h r (1935) eine allgemeine Formel gegeben, mit welcher man den Deplasmolysezeit berechnen kann.

Diese Formel lautet:

$$t_D = \frac{(V_o - x) p_g}{(V_g - x) p_o} t_p$$

Hierin bedeuten:

$t_D$  die Dauer der Deplasmolyse (Quellung),  $t_p$  die Dauer der Plasmolyse (Entquellung),  $x$  den nichtlösenden Raum des Protoplasten,  $V_o$  das vorplasmolytische Volumen des Protoplasten unter dem osmotischen Druck  $p_o$ ,  $V_g$  das Volumen des Protoplasten nach Ablauf der Plasmolyse unter dem osmotischen Druck  $p_g$ ,  $p_o$  den osmotischen Druck des Deplasmolytikums und  $p_g$  den osmotischen Druck des Plasmolytikums.

Hieraus geht hervor:

„Die Deplasmolyse (Quellung) dauert im Vergleich zur zugehörigen Plasmolyse (Entquellung) um so länger, je grösser die Hypertonie des Plasmolytikums (je geringer die Hypertonie des Deplasmolytikums) ist.“

Diese Formel gilt unter der Voraussetzung, dass die „Protoplasma-Permeabilität“ gegenüber Wasser sowohl für den Ablauf der Deplasmolyse (Quellung) als auch für den Ablauf der Plasmolyse (Entquellung) konstant bleibt.

De Haan (1933) hat aber beobachtet, dass die Wasserpermeabilität des Protoplasmas während der Deplasmolyse zunimmt.

#### 9. Zusammenfassung.

Wenn man die Ergebnisse dieser Abschnitt kurz zusammenfassen will, kann man die folgende Schlüsse ziehen:

1. Die Plasmolysezeit ist abhängig von der Konzentration des Plasmolytikums und der Temperatur.
2. Wenn man bei konstanter Temperatur die Konzentration des Plasmolytikums erhöht, wird die Plasmolysezeit bis zu einer bestimmten Konzentration kürzer. Wird die Konzentration noch mehr erhöht, so steigt die Plasmolysezeit wieder.
3. Bei geringer Konzentration des Plasmolytikums findet man immer eine konvexe Plasmolyseform. Erhöhung der Konzentration hat eine Aenderung der Plasmolyseform zur Folge und zwar von konvex zu eckig.
4. Die Temperatur hat ebenfalls Einfluss auf die Plasmolyseform und die Plasmolysezeit. Eine kurvenmässige Darstellung der Plasmolysezeiten bei verschiedenen Temperaturen zeigt eine Minimumkurve.  
Bei derjenigen Temperatur, bei welcher die Minimumkurve die untere Grenze erreicht, tritt eine Aenderung der Plasmolyseform bei einer *höheren* Konzentration des Plasmolytikums zu Tage als bei den anderen Temperaturen.
5. Eine hohe Konzentration des Plasmolytikums entzieht nicht nur der Vakuole sondern auch dem Zytoplasma Wasser. Durch diese Wasserentziehung des Zytoplasmas bzw. der äussersten Schichten des Plasmas steigt die Konsistenz des Zytoplasmas bzw. der äussersten Schichten beträchtlich.
6. Eine kurvenmässige Darstellung der Konsistenz des Plasmas der Innenepidermiszellen der Zwiebschuppen von *Allium cepa* bei verschiedenen Temperaturen zeigt ebenfalls eine Minimumkurve.
7. Deplasmolyse eignet sich nicht für Versuche über das Verhalten des Protoplasmas unter Einfluss verschiedener Umstände, da man immer mit nicht völlig unverletzten Zellen arbeitet.

## TEIL II.

## VERSUCHE MIT DER ZENTRIFUGEN-METHODE.

10. *Historisches.*

Erst seit wenigen Jahren hat man der Konsistenz des Plasmas besonderes Interesse gewidmet. Man kann die Untersuchungen der letzten 35 Jahre mit Weber (1924) in zwei Gruppen teilen:

1. Mehr oder weniger genaue Messungen der Protoplasmakonsistenz (quantitativ).
2. Schätzungen der Protoplasmakonsistenz (qualitativ).

Viele Untersucher haben auch den Einfluss der Temperatur auf die Protoplasmakonsistenz untersucht, aber die Ergebnisse stimmten oft nicht überein. Einerseits ist diese Tatsache wahrscheinlich der Verschiedenheit der Methoden zuzuschreiben, anderseits hat fast jeder Untersucher mit anderem Material gearbeitet. Auch ist die Konsistenz des Protoplasmas nicht das ganze Jahr hindurch ganz gleich. Man findet in den verschiedenen Jahreszeiten stark abweichende Werte. Die Lebensäusserungen, wie Wachstum, Stärkebildung, Verdampfung usw. mögen auch wohl ihre Einflüsse auf die Konsistenz des Protoplasmas geltend machen.

Aus Gründen, die im ersten Teil dieser Arbeit dargelegt sind, spreche ich stets von der Konsistenz des Protoplasmas, nur wo ich zitiere, lasse ich den Ausdruck Viskosität stehen.

Nemec (1901) hat als Erster versucht, den Einfluss der Temperatur auf die Konsistenz des Protoplasmas zu bestimmen. Er verwendete Keimwurzeln von *Vicia faba*, die er während 4 Stunden einer Temperatur von  $6,2^{\circ}$  aussetzte. Dann wendete er sie  $180^{\circ}$  um und sah, dass die Stärkekörner bei dieser Temperatur viel langsamer herunterfallen als bei  $18^{\circ}$  C. Er erklärt diese Beobachtungen wie folgt:

„Es ist leicht ersichtlich, dass die niedere Temperatur auf das Protoplasma in einer gewissen Weise einwirkt, die die physikalischen Bewegungen der Stärkekörner verlangsamt. Dies könnte entweder durch Steigerung des spezifischen Gewichtes des Protoplasmas geschehen (da eine Verminderung des spezifischen Gewichtes der Stärkekörner hier wohl nicht zu denken ist) oder durch eine Veränderung der Cohäsion des Protoplasmas. Es wäre durch Einwirkung der niedrigen Temperatur dickflüssiger geworden.

Da man keine erhöhte Wasserabgabe durch Einwirkung der niedrigen Temperatur an den Wurzeln feststellen kann, die noch am ehesten eine Erhöhung des spezifischen Gewichtes des

Protoplasmas verursachen könnte, so ist eher an die zweite Erklärung zu denken, dass nämlich das Protoplasma dickflüssiger geworden ist. Wie dies etwa zu stande gebracht werden konnte, will ich hier nicht discutieren.

Es ist wahrscheinlich, dass durch niedrige Temperatur die Konsistenz des Protoplasmas verändert wurde."

Russo (1910) hat mit Leukocyten verschiedener Tierspecies gearbeitet und fand bei Temperaturerhöhung eine Zunahme der Brownschen Molekularbewegung bis zu einem Optimum, danach trat wieder eine Abnahme ein.

Fauré—Fremiet (1913) hat mittels der Zentrifugen-Methode gefunden, dass die Protoplasmakonsistenz der Eier von *Ascaris megaloccephala* bei Zunahme der Temperatur von ungefähr  $5^{\circ}\text{C}$  bis  $35^{\circ}\text{C}$  abnimmt. Seine Beobachtungen hat er in einer Kurve dargestellt. Man findet diese Kurve in Fig. 8.

Heilbronn (1914) brachte Avena-Keimlinge in einen Thermostaten von bestimmter Temperatur. Nach viertelstündigem Aufenthalt im Thermostaten, der hinreichend war, um die oberirdischen Organe bis zu der gewünschten Versuchstemperatur zu erwärmen, wurden die Töpfe aus dem Thermostaten entfernt und in Reizlage bei Zimmertemperatur auf einem Tisch in der Nähe des Fensters aufgestellt. Der Autor fand nach einstündigem Aufenthalt bei  $35^{\circ}\text{C}$  eine Verzögerung der Umlagerung, aber die Verzögerung trat bei  $45^{\circ}\text{C}$  schon nach halbstündiger Exposition auf.

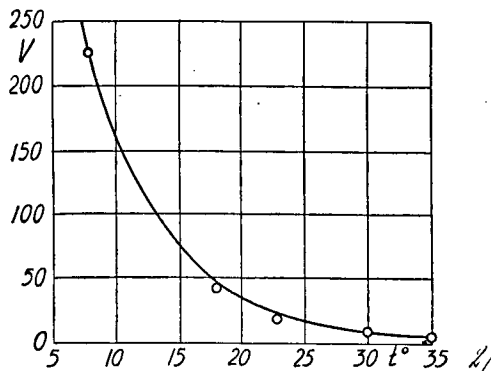


Fig. 8. Einfluss der Temperatur (t) auf die Konsistenz des Protoplasmas (v) der Eier von *Ascaris megaloccephala*. Kurve von Fauré-Fremiet (1913) Nach Bělehrádek.

Temperaturerhöhung von  $35^{\circ}\text{C}$  bis  $45^{\circ}\text{C}$  hat also eine schnelle Konsistenzsteigerung zur Folge. Er schreibt:

„Die Einwirkung von Kälte habe ich noch nicht untersucht, doch ist a priori wahrscheinlich, dass auch da ähnliche Viskositätssteigerungen sich werden konstatieren lassen.“

F. und G. Weber (1917) erwähnen, dass die Fallzeit der Stärke und mithin die Konsistenz des Zytoplasmas mit steigender Temperatur (zwischen  $0^{\circ}$  und  $60^{\circ}$  C) abnimmt. Sie machten ihre Beobachtungen an Schnitten aus Keimlingen von *Phaseolus multiflorus*, an denen sie auch beobachtet haben, dass die Dauer des Vorerwärmens keinen Einfluss auf den Konsistenzwert hat, da selbst bei zweistündiger Einwirkung einer konstanten Temperatur von  $40^{\circ}$  C, die Fallzeiten sich völlig und dauernd — bis auf die übliche kleinen Schwankungen — auf gleicher Höhe hielten. Weiterhin machen sie mit diesem Material noch die überraschende Beobachtung, dass in intakten Keimlingen eine Wärmerstarre des Zytoplasmas viel früher eintritt als bei Schnitten.

Heilbrunn (1922) beschrieb „eine neue Methode zur Bestimmung der Viskosität lebender Protoplasten“. Mittels eines starken Elektromagnets wurden kleine Stückchen Eisen, die vorher in das Zytoplasma gebracht worden waren, durch das Plasma gezogen. Als Ergebnis seiner Beobachtungen an *Reticularia* teilt er mit, dass die Konsistenz des Zytoplasmas kleiner wird, sowohl bei Erhöhung wie bei Erniedrigung der Temperatur bei Ausgehen von  $17^{\circ}$  C.

Nach Belehrádek (1935) hat Heilbrunn nicht darauf geachtet, dass bei seinem Material zwei Temperatureffekte auftreten, nämlich erstens ein primärer Einfluss der Temperatur auf die Konsistenz des Plasmas und zweitens ein sekundärer Einfluss des Wassergehalts der *Myxomyceten*, der mit der Temperatur variiert.

Heilbrunn (1924) hat seine Beobachtungen über die Konsistenz des Plasmas bei verschiedenen Temperaturen in einer Kurve dargestellt, die bekannte W-form. Seine Beobachtungen sind aber nicht einwandfrei. Für das Zentrifugieren wurden die *Cumingia*-Eier einer bestimmten Temperatur ausgesetzt, aber das Zentrifugieren geschah bei Zimmertemperatur und nach den Beobachtungen von Payne (1930) kann in *Cumingia*-Eier eine analoge Zonenbildung, wie sie Heilbrunn nach dem Zentrifugieren beobachtet hat, auch von einer Temperaturerniedrigung ohne weiteres verursacht werden.

Spek (1931) und Bank (1932) beobachten eine spontane Zonenbildung während der Reife der Eier.

Baas Becking, v. d. Sande Bakhuyzen und Hoteling (1928) haben versucht, mittels der Brownschen Mole-



kularbewegung Konsistenzmessungen an *Spirogyra* durchzuführen. Sie bekamen aber eine sehr stark variierende Schnelligkeit der Teilchen und zogen den Schluss: Protoplasma hat keine bestimmte Konsistenz, aber viele variierende Konsistenzen.

Heilbrunn (1929) hat die Zytoplasmakonsistenz von *Amoeba dubia* bei verschiedenen Temperaturen bestimmt. Er konstatiert von  $10^{\circ}\text{C}$  bis  $18^{\circ}\text{C}$  eine Abnahme der Konsistenz, dann bis  $25^{\circ}\text{C}$  ein Ansteigen und über  $25^{\circ}\text{C}$  wieder eine Abnahme.

El Derry (1929) verwendete die Plasmolyseform-Zeitmethode und fand ein Konsistenzminimum für *Spirogyra* bei  $25^{\circ}\text{C}$ .

Pekarek (1930-'33) hat viele Konsistenzmessungen ausgeführt mit der von Fürth vorgeschlagenen Methode der mittleren doppelseitigen Erstpassagezeiten. Jedoch hat er sich vorwiegend beschränkt auf den Zellsaft; nur in einem Falle hat er die Konsistenz des Protoplasmas gemessen und zwar an Rhizoiden von *Chara fragilis* Desv., aber nur bei  $22^{\circ}\text{C}$ .

Wie aus Obenstehendem zu entnehmen ist, sind die Ergebnisse vieler Untersucher sehr verschieden, doch kann man die Ergebnisse der genannten Untersucher nach den Kurven, die die Ergebnisse illustrieren können, in vier Gruppe einteilen.

1. Kurven ohne Minima oder Maxima.

Die Konsistenz des Protoplasmas nimmt mit steigender Temperatur zwischen bestimmten Grenzen ab. Solche Kurven können die Ergebnisse von Fauré-Fremiet ( $5 - 35^{\circ}\text{C}$ ) und von F. und G. Weber ( $0 - 60^{\circ}\text{C}$ ) darstellen.

2. Kurven mit Minima und Maxima.

Die Konsistenz des Plasmas nimmt mit steigender Temperatur erst ab, steigt bei einer bestimmten Temperatur wieder an, um dann wieder abzunehmen usw.. In solchen Kurven hat Heilbrunn seine Ergebnisse dargestellt, namentlich erstens die bekannte W-förmige Kurve von *Cumingia*-Eier und zweitens eine Kurve der Konsistenz des Protoplasmas von *Amoeba dubia*. Hier gibt es nur ein Minimum bei  $18^{\circ}\text{C}$  und ein Maximum bei  $23 - 25^{\circ}\text{C}$ .

3. Kurven mit einem Maximum.

Heilbrunn beobachtet eine Konsistenzabnahme des Protoplasmas von *Reticularia* über und unter  $17^{\circ}\text{C}$ .

4. Kurven mit einem Minimum.

Solche Kurven können die Ergebnisse von Nemeč, Russo, El Derry und Prud'homme van Reine (1935) illustrieren.

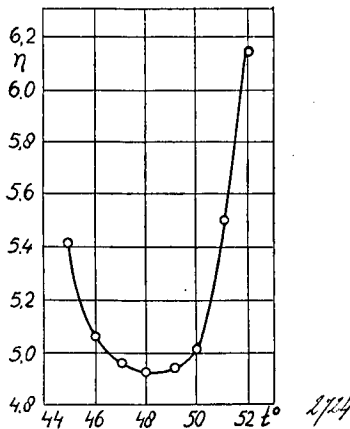


Fig. 9. Einfluss der Temperatur (t) auf die Viskosität ( $\eta$ ) der Flüssigkeit, die Pigorini (1924) den Eiern des Seidenspinners (*Bombyx mori*) auspresste. Nach Bělehrádek.

Nemec findet bei 18° C ein Minimum der Protoplasma-konsistenz von der Stärkescheidezellen von *Vicia faba*; El Derry bei 25° C von Spirogyrazellen und Prud'homme van Reine ebenso bei 25° C von den Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa*.

Pigorini (1924) hat die Viskosität von der Flüssigkeit gemessen, die er den Eiern des Seidenspinners (*Bombyx mori*) ausgepresst hat, und findet eine gleichartige Kurve. Das Minimum liegt hier aber bei 48° C. Siehe auch Fig. 9.

Eine kritische Darstellung der Ergebnisse verschiedener Autoren findet man bei Bělehrádek (1935).

Weiter möchte ich die Aufmerksamkeit auf den so eben erschienenen „First Report on Viscosity and Plasticity“ lenken, in dem sechs Autoren das Problem sowohl vom physikalischen, chemischen und technischen wie auch vom biologischen Standpunkt aus besprechen.

## 11. Einleitende Versuche.

Als ich die im ersten Teil dieser Arbeit erwähnten Ergebnisse mittels der Plasmolysezeit-Methode ermittelte, erschien es mir wünschenswert, diese Ergebnisse noch einmal mit einer der bekannten Methoden der Konsistenzbestimmung des Protoplasmas nachzuprüfen. Die erste Aufgabe war, diejenige Methode zu finden, mit der Beobachtungen an meinem Material gemacht

werden konnten. Einige Methoden konnten von vornherein nicht in Betracht kommen, z.B. die Fall-Methode und die Methode Heilbronn's. Stromgeschwindigkeitsmessungen konnten kaum durchgeführt werden. Erstens gibt es sehr viele Granula im Zytoplasma, die einander stark beeinflussen, zweitens konnte ich nicht mit starker Vergrößerung arbeiten, da das Praeparat im Erwärmungstisch zu weit vom obersten Glasplättchen entfernt war, und drittens war die Stromgeschwindigkeit sehr unregelmässig.

Die von P e k a r e k angewandte Fürth-Methode der doppel-seitigen Erstpassezeiten konnte wegen der Strömung der Teilchen ebenfalls nicht verwendet werden, sodass ich zum Schlusse versucht habe, Beobachtungen mit der Zentrifugen-Methode durchzuführen.

Will man mit dieser Methode einwandfreie Beobachtungen durchführen, so ist mancherlei zu berücksichtigen. Die wichtigste Bedingung war in diesem Falle die Aufrechterhaltung der Temperatur. Es ist unmöglich, die Temperatur des Praeparates während des Zentrifugierens mittels eines Thermometers oder einer Thermonadel zu bestimmen. Man muss also annehmen, dass die Temperatur der umgebenden Luft dieselbe ist als die des Praeparates, auch während des Zentrifugierens. Für das Zentrifugieren verwendete ich eine Handzentrifuge, deren obersten Teil mit den beiden Tuben durch ein Haematokritkopf ersetzt wurde. Statt der Glasröhren, die zur Aufnahme des Blutes dienen, sind kleine Objektgläser aufmontiert. Auf eines dieser Objektgläser wurde ein Stückchen der Epidermis von *Allium cepa* mittels Paraffin festgeklebt, ebenfalls das Deckglas. Das andere Objektglas wurde ebenfalls mit Paraffin bedeckt, sodass das Ganze ausbalanziert war. Um diesen Haematokritkopf habe ich ein Mantel konstruieren lassen, sodass das Praeparat in einem bestimmten Raum, dessen Temperatur man mittels eines Thermometers oder einer Thermonadel bestimmen kann, zentrifugiert wurde.

Jetzt kam es darauf an, die Temperatur in diesem Raum möglichst konstant zu erhalten. Selbstverständlich habe ich zuerst versucht, die Temperatur in derselben Weise wie bei den Plasmolysestudien festzuhalten. Dazu wurde auf den Boden des Raumes eine Kupferrohrspirale montiert, durch welche Wasser einer bestimmten Temperatur gepumpt werden konnte. Dazu verwendete ich wiederum das Glasaquarium mit Untertauchelement, Quecksilberunterbrecher und kleiner Rotationspumpe. Es musste aber ein beträchtlicher grosser Raum erwärmt wer-

den, sodass das Wasser im Aquarium mindestens fünf Grad höher sein musste als die Temperatur, auf die man die Luft im Raume bringen wollte. Deshalb dauerte es eine ganze Zeit, bevor die Luft im Raume und das Praeparat eine bestimmte Temperatur erreicht hatten, aber wenn dies einmal erzielt war, schwankte die Temperatur nur sehr wenig. Sobald die Temperatur im Raume zehn Minuten konstant geblieben war, konnte mit Zentrifugieren angefangen werden.

Bald zeigten sich nun die ersten Symptome, dass diese Methode des Konstanthaltens der Luft im Raume nicht verwendbar war; denn gleich nach Beginn des Zentrifugierens stieg die Temperatur in Raume beträchtlich, vielfach um etwa fünf Grad. Die Ursache dieses Ansteigens muss in der höheren Temperatur des Wassers im Aquarium und der Kupferrohrspirale gesucht werden. Durch das Zentrifugieren entsteht im Raume eine kräftige Bewegung der Luft, die der Spirale viel mehr Wärme entzieht als wenn die Zentrifuge still steht.

In diesem Falle war die Höhe des Raumes nur 2 cm. Durch die Erhöhung der Wand, wodurch ein grösserer Raum entstand, liess sich erreichen, dass die Steigung der Temperatur im Raume während des Zentrifugierens, immer geringer wurde.

Bei einer Höhe der Wand von 6 cm war die Steigung bei  $25^{\circ}$  C nicht mehr nennenswert, aber bei einem so grossen Volumen des Raumes war es unmöglich, innerhalb nicht zu langer Zeit darin ein Temperatur von  $35^{\circ}$  C zu erreichen. So musste ich also die Versuche, den Raum auf konstanter Temperatur mittels strömenden Wassers zu halten, aufgeben und nach einer anderen Methode umsehen, um bei möglichst konstanter Temperatur zentrifugieren zu können.

Die zum Schlusse von mir verwendete Methode will ich im folgenden Abschnitt näher beschreiben.

## 12. *Methodisches.*

Für die Zentrifugen-Versuche verwendete ich eine Handzentrifuge, deren obersten Teil mit den beiden Tuben durch ein Haematokritkopf ersetzt war.

Statt der beiden Glasröhren des Haematokrits, die zum Aufnehmen des Blutes dienen, wurden kleine Objektgläser aufmontiert. Auf eines dieser Objektgläser wurde das Praeparat gelegt und mit einem Deckglas überdeckt. Das Deckglas und die Enden des Praeparates, das länger als die Deckglasgrösse war, wurden mit Paraffin bedeckt, sodass das Ganze gut ausbalanciert war. Als Material verwendete ich wiederum die Innenepidermiszellen

der Zwiebelschuppen von *Allium cepa*, var. „Runde Zittauer Gelbe“ und zwar immer die äusserste nicht vertrocknete Schuppe.

Ein Stück solcher Schuppe wurde herauspraepariert und durch Längsschnitte in einige lange Streifen zerlegt. Diese wurden während einer Stunde in Leitungswasser gelegt und dann die Epidermis abgezogen. Diese löste sich nach dem Wässern beinahe ganz und konnte sehr leicht vom unterliegenden Gewebe entfernt werden.

Ein solcher Epidermisstreifen war ungefähr 5 mm breit, und seine Länge variierte zwischen 25 und 30 mm.

Der Haematokritkopf war von einem Mantel umgeben und konnte frei in dem von dem Mantel umschlossenen Raum drehen. Dieser Mantel war aus Ebonit und Holz angefertigt. Runde Ebonitscheiben mit einem Durchmesser von 18 cm bilden Boden bzw. Deckel, während die 2 cm hohe Wand aus Holz angefertigt war.

Nachdem das Praeparat auf die Zentrifuge montiert worden war, wurde die Zentrifuge in einen elektrischen Thermostat aufgestellt, bei der der Deckel des Mantels neben die Zentrifuge gestellt wurde. So blieb das Ganze stehen bis die Temperatur im Thermostat 10 bis 12 Minuten lang konstant geworden war. Dan wurde der Thermostat geöffnet, sehr schnell der Deckel auf den Mantel gelegt, und das Zentrifugieren konnte beginnen.

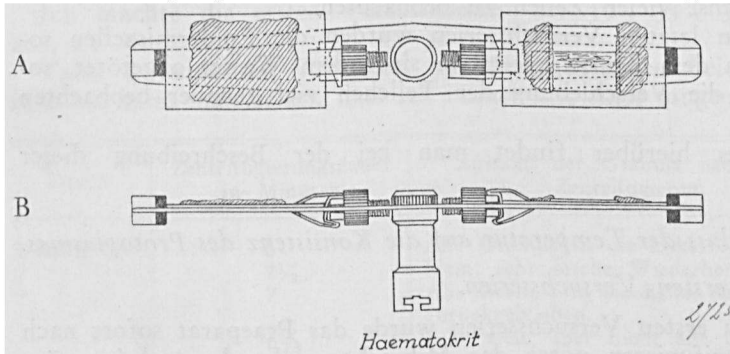


Fig. 10. Der Haematokritkopf mit den beiden Objektgläsern und dem Praeparat. A. von oben; B. von der Seite.

Ich drehte beim Zentrifugieren den Schwengel  $100 \times$  pro Minute, und da die Beschleunigung der verwendeten Zentrifuge  $22 \times$  ist, war die Tourenzahl des Praeparates 2200 pro Minute. Natürlich kam es bei dem Zentrifugieren genau darauf an dass immer ganz regelmässig gedreht wurde. Nach einiger Uebung gelingt dies sehr gut und geht dann von selbst. Mit einem Sekunden-

Chronometer wurde die Schnelligkeit immer wieder kontrolliert. Jede 3 Sekunden kommen mit 5 Umdrehungen der Schwengel überein, sodass man die Geschwindigkeit leicht konstant halten kann.

Auch bei dieser Methode habe ich die Temperatur des Praeparates nicht bestimmen können. Ich muss also annehmen, dass das Praeparat die gleiche Temperatur hat als die umgebende Luft. Deshalb wurde auch vor dem Zentrifugieren der Deckel auf den Mantel gelegt, da das Zentrifugieren bei etwas geöffneter Tür des Thermostaten geschehen muss.

Die Temperatur der Luft im Thermostat fiel während eines Versuches bei 35° C nur um 2° C. Die der das Praeparat umgebenden Luft wird somit noch weniger fallen.

Um niedrige Temperaturen zu erreichen, stellte ich die Zentrifuge in einem Eisschrank oder in einem Thermostat auf, der in der Nähe des Eisschranks stand und durch dessen Kühlwasser auf eine niedrige Temperatur von 13 bis 14° C gehalten werden konnte. Die Zentrifugierungszeit wurde mittels eines Sekunden-Chronometers bestimmt. Nach dem Zentrifugieren wurde das Objektglas mit dem Praeparat schnell von der Zentrifuge entfernt und bei den ersten Versuchsserien gleich unter das Mikroskop gebracht, um die Verschiebung der Teilchen im Protoplasma in möglichst vielen Zellen zu beobachten.

Bei den letzten Versuchsserien wurden die Epidermiszellen sofort nach dem Zentrifugieren in siedendem Wasser abgetötet, sodass ich die Verschiebung der Teilchen viel genauer beobachten konnte.

Näheres hierüber findet man bei der Beschreibung dieser Versuche.

### 13. *Einfluss der Temperatur auf die Konsistenz des Protoplasmas.*

#### A. *Die ersten Versuchsserien.*

Bei den ersten Versuchsserien wurde das Praeparat sofort nach dem Zentrifugieren unter das Mikroskop gebracht und in möglichst vielen Zellen die Verschiebung der Teilchen beobachtet.

Die Beobachtung muss sehr schnell geschehen, da gleich nach dem Zentrifugieren eine ausserordentlich schnelle Strömung der Teilchen stattfindet und bald wieder die frühere Verteilung der Granula im Protoplasma erreicht wird. Diese Erscheinung trat unerwartet auf, denn Heilbrunn (1925) schreibt in seiner Arbeit über die Zentrifugen-Methode:

„The cells are removed from the centrifuge and are gene-

rally examined within a few seconds after the completion of the centrifugal turning.

But whether a few seconds, or many seconds, or even many minutes intervene between the centrifugal test and the microscopical observation, the results are always the same. The granules moved by the centrifuge do not return quickly to their original position."

Später habe ich aber gefunden, dass Miss Howard (1932) auch eine Wiederherstellung der ursprünglichen Verteilung im Protoplasma nach dem Zentrifugieren beobachtet hat. Sie schreibt:

"If centrifuged eggs are observed during intervals after removing from the centrifuge, it is seen that the granules gradually become redistributed throughout the egg, probably partly by diffusion and partly by streaming movement in the Protoplasm, which I observed in a few cases."

Diese Wiederherstellung der ursprünglichen Verteilung der Teilchen erschwert sehr, die Verschiebung der Granula im Plasma genau zu bestimmen.

So erklärt sich auch, dass ich zunächst zu beobachten glaubte, die Kerne seien nach einer bestimmten Zeit alle in die Ecken geschleudert, bei der zweiten Versuchsserie stellte es sich aber heraus, dass dies nicht der Fall war.

Ich machte die ersten Versuchsserien bei  $39^\circ$ ,  $35^\circ$ ,  $31^\circ$ ,  $25^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $13^\circ$  und  $\pm 3^\circ$  C.

Tafel 4 zeigt das Protokoll der Beobachtungen bei  $20^\circ$  C. Hieraus kann man sehen, dass ich immer mit einer langen Zentri-

Datum	Zentrifugierungsdauer in Minuten	Zustand der Granula nach dem Zentrifugieren.
3 April '35	8	Alle Granula in die Ecke.
	$7\frac{1}{2}$	Idem; sehr rasche Wiederherstellung.
	7	Alle Granula in die Ecke, einige Kerne zurückgeblieben.
	$6\frac{1}{2}$	Sehr viele, aber nicht alle Granula in die Ecke.
4 April '35	6	Ungefähr $\frac{3}{4}$ der Granula in die Ecke.
	$5\frac{1}{2}$	Sehr viele Granula zurückgeblieben.
	$5\frac{1}{2}$	Idem.
	$6\frac{1}{2}$	Noch nicht alle Granula in die Ecke.
	7.	Alle Granula in die Ecke; einige Kerne zurückgeblieben.
	8.	Alle Granula in die Ecke; ebenso alle Kerne.

Tafel 4. Protokoll der Beobachtungen bei  $20^\circ$  C.

fugierungsdauer anfang, die bestimmt ausreichte eine vollständige Verschiebung der Teilchen zu bewirken.

Bei dem folgenden Versuch wurde die Zentrifugierungsdauer jeweils um eine halbe Minute vermindert bis sie so kurz war, dass nur eine sehr geringe Verschiebung der Granula auftrat. Danach wurde die Dauer wieder verlängert bis zur ursprünglichen.

Als Zentrifugierungszeit will ich diejenige Zeitdauer des Zentrifugierens betrachten, die zur Erreichung einer Verschiebung aller Granula bis in die Ecke erforderlich ist.

Aus Tafel 4 kann man ablesen, dass die Zentrifugierungszeit bei  $20^{\circ}\text{C}$  7 Minuten ist. Die erzielten Zentrifugierungszeiten bei allen oben genannten Temperaturen findet man kurvenmässig dargestellt in Fig. 11 A.

Man sieht hier wiederum eine Minimumkurve auftreten, aber da die verwendete Methode, wie schon erwähnt, nicht einwandfrei ist, darf man hieraus keine Schlüsse ziehen.

Deshalb habe ich versucht, eine Methode zu finden, mit der es möglich wäre, die Epidermiszellen gleich nach dem Zentrifugieren zu töten und so zu verhindern, dass die erreichte Verschiebung sich änderte. Es stellte sich heraus, dass die üblichen

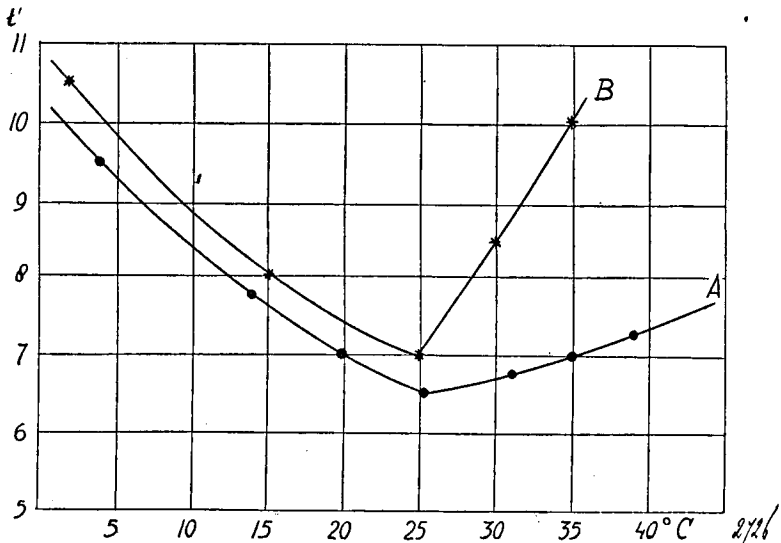


Fig. 11. Die Zentrifugierungszeiten bei verschiedenen Temperaturen. Abzisse: die Temperatur; Ordinate: die Zentrifugierungszeiten.  
A. die erzielten Zeiten der ersten Methode.  
B. die erzielten Zeiten der zweiten Methode.



Fixierungsmittel für diesen Zweck nicht verwendet werden könnten, da sie nicht schnell genug in alle Zellen hineindringen. In Zellen, die nach dem Zentrifugieren eine halbe Minute in Alkohol (70 % und 96 %) verweilt hatten, zeigte sich noch eine kräftige Strömung.

Siedendes Wasser aber tötet die Zellen in einer ganz kurzen Zeit. Wenn ich ein Praeparat der Epidermis nach dem Zentrifugieren sofort in siedendes Wasser brachte, war nach einer halben Minute gar kein Leben mehr in den Zellen zu beobachten.

### B. Die Letzten Versuchsserien.

Diese Versuchsserien weichen nur in einer Hinsicht von den vorigen ab, nämlich dadurch, dass hier das Praeparat gleich nach dem Zentrifugieren in siedendes Wasser gebracht wurde.

Ein Nachteil dieser Methode ist jedoch, dass die Paraffin, mit der das Praeparat an das Deckglas festgeklebt ist, sofort schmilzt. Man muss deshalb verhüten, dass das Praeparat im Wasser verschwindet.

Ein Vorteil ist es, dass man seine Beobachtungen nun ganz ruhig machen kann. Man spart auch viel Zeit, da man vor dem Beobachten erst das folgende Praeparat auf die Zentrifuge montieren kann, das dann während des Beobachtens des Zentrifugierten Praeparates schon auf die gewünschte Versuchstemperatur gebracht werden kann. Auch ist es nun möglich, die Zellen zu zeichnen und die Verschiebung der Teilchen anzudeuten, sodass man später die Bilder vergleichen und so für jede Temperatur ganz einfach die Zentrifugierungszeit bestimmen kann. Hierbei stellte es sich auch heraus, dass die Kerne nicht alle in gleicher Zeit wie die Granula in die Ecke geschleudert wurden. Dies ist wohl zu begreifen, da die Kerne doch ein viel grösseres Volumen als die Granula haben. Deshalb verschieben die Kerne bei dem Zentrifugieren nicht so schnell.

Fig. 12 zeigt Epidermiszellen von *Allium cepa* die gleich nach dem Wässern und Zellen, die nach  $7\frac{1}{2}$  Minute zentrifugieren bei  $30^{\circ}$  C in siedendem Wasser abgetötet sind.

In den nicht zentrifugierten Zellen sieht man eine regelmässige Verteilung der Teilchen durch das ganze Protoplasma und in den zentrifugierten Zellen eine Anhäufung der Teilchen in den Ecken. Mit dieser Methode habe ich Versuche bei  $2^{\circ}$ ,  $15^{\circ}$ ,  $25^{\circ}$ ,  $30^{\circ}$  und  $35^{\circ}$  C durchgeführt. Da ich die Zentrifugierungszeit schon bei den meisten dieser Temperaturen nach der vorigen Methode be-

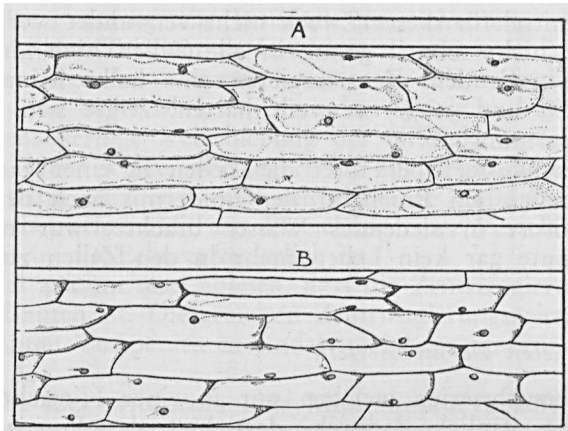


Fig. 12. Epidermiszellen von *Allium cepa*.

A. Nicht zentrifugierte Zellen, in siedendem Wasser abgetötet.

B. Zellen,  $7\frac{1}{2}$  Minute bei  $30^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert und dann sofort in siedendem Wasser abgetötet.

stimmt hatte, brauchte ich nur wenige Praeparate für jede Temperatur.

Ich zentrifugierte wieder immer mit einer halben Minute Zeitunterschied.

In Fig. 13 habe ich die Serie von Zeichnungen der bei  $25^{\circ}\text{C}$  zentrifugierten und dann abgetöteten Praeparate dargestellt. Man kann hieraus sehen, dass man in dieser Weise sehr leicht diejenige Zeitdauer des Zentrifugierens bestimmen kann, die notwendig ist, um eine vollständige Verschiebung der Teilchen zu bewirken. Bei  $25^{\circ}\text{C}$  beträgt die Zentrifugierungszeit hier 7 Minuten. Stellt man die so für die oben genannten Temperaturen gefundenen Zentrifugierungszeiten in einer Kurve dar, dann entsteht wieder eine Minimumkurve. Siehe Fig. 11 B.

Die Ergebnisse dieser beiden Methoden stimmen sehr gut miteinander überein. In beiden Fällen ist die Konsistenz des Protoplasmas bei  $25^{\circ}\text{C}$  am geringsten und bei Temperaturerhöhung bzw. Erniedrigung steigt sie beträchtlich.

#### 14. *Allgemeine Zusammenfassung und Diskussion.*

Im Vorstehenden habe ich versucht, zwei Methoden der Konsistenzänderungbestimmung bei verschiedenen Temperaturen miteinander zu vergleichen.

Die erste von mir verwendete Methode ist eine etwas abgeänderte Plasmolyseform-Zeit-Methode nach Weber, bei der die Tem-

peratur und die Konzentration des Plasmolytikums genau bestimmt wurden.

Es stellte sich hierbei heraus, dass die Abhängigkeit der Plasmolysezeiten von der Temperatur, bei Plasmolyse mit derselben Konzentration des Plasmolytikums, mittels einer Minimumkurve, mit dem Minimum bei  $25^{\circ}\text{C}$ , dargestellt werden kan. Als Ergebnisse der Versuchen mit der zweiten, der Zentrifugen-Methode,

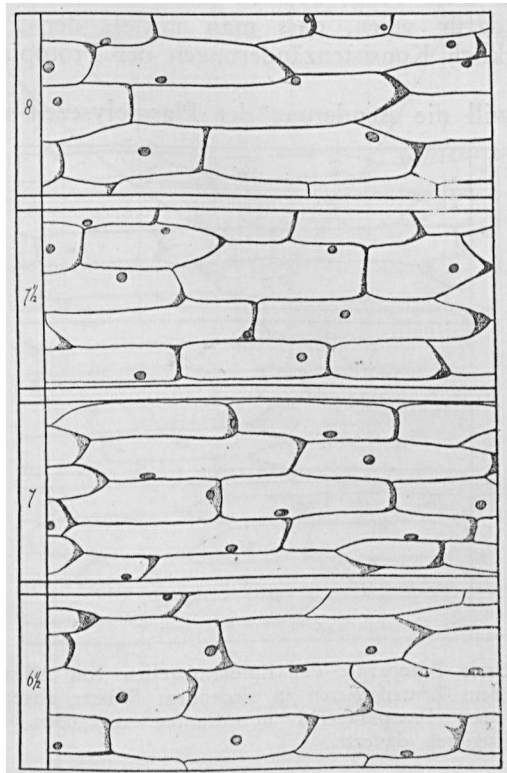


Fig. 13a. (Für Legenda siehe Fig. 13b S 560).

erhielt ich ebenso eine Minimumkurve mit dem Minimum bei  $25^{\circ}\text{C}$ . Da aber die Minimumplasmolysezeit bei  $25^{\circ}\text{C}$  für jede Konzentration des Plasmolytikums einen andern Wert hat, laufen die Kurven der Plasmolysezeiten bei den verschiedenen Konzentrationen aber fast parallel, sodass man eine Kurve konstruieren kann, die als „Mittelkurve“ die mittlere Verlängerung der Plasmolysezeit bei Temperaturerhöhung oder Erniedrigung angibt. Diese

Kurve findet man in Fig. 14 angedeutet mit dem Worte „Plasmolyse“. In derselben Figur habe ich nun die Kurve der Fig. 11 B eingetragen und mit dem Worte „Zentrifuge“ angedeutet. Die grosse Aehnlichkeit dieser beiden Kurven lässt sich leicht erkennen.

Es bleibt die Frage, ob man mit der Zentrifugen-Methode wirklich die Konsistenzänderungen des Protoplasmas bestimmt.

Wenn man diese Frage bejahen kann, so lässt sich hierin eine Bestätigung dafür sehen, dass man mittels der Plasmolysezeit-Methode wirklich Konsistenzänderungen des Protoplasmas bestimmen kann.

Weber will die Aenderung der Plasmolysezeit nicht nur der

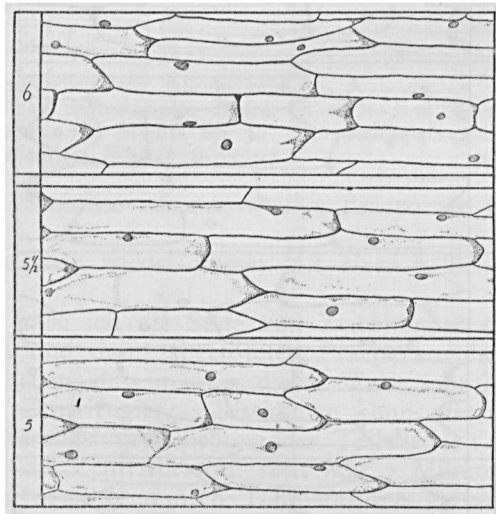


Fig. 13b. Eine Serie Praeparate der Epidermiszellen von *Allium cepa*, sofort nach dem Zentrifugieren in siedendem Wasser abgetötet.  
Bei jedem Praeparat ist in Minuten angegeben, wie lange das Zentrifugieren dauerte.

„Viskosität“ zuschreiben, sondern denkt dabei zu gleicher Zeit an Elastizität, Klebrigkeit, Haftvermögen, Adhäsion und Spinnfähigkeit des Protoplasmas. Einige dieser Eigenschaften des Protoplasmas können auch ihren Einfluss auf die Beobachtungen mittels der Zentrifugen-Methode ausüben, wie z.B. Haftvermögen, Adhäsion und Kohäsion. Denn, wenn bei dem Zentrifugieren nicht nur die Granula, aber auch das ganze Protoplasma in die Ecke geschleudert wird, so kann man aus einer Anhäufung der Teilchen in die Ecken gar keine Rückschlüsse ziehen.

Man setzt bei diesen Beobachtungen doch voraus, dass man die Zeit bestimmt, die die Granula unter Einfluss der ausgeübten Zentrifugalkraft zum Ablegen einer bestimmten Weglänge durch das Protoplasma brauchen.

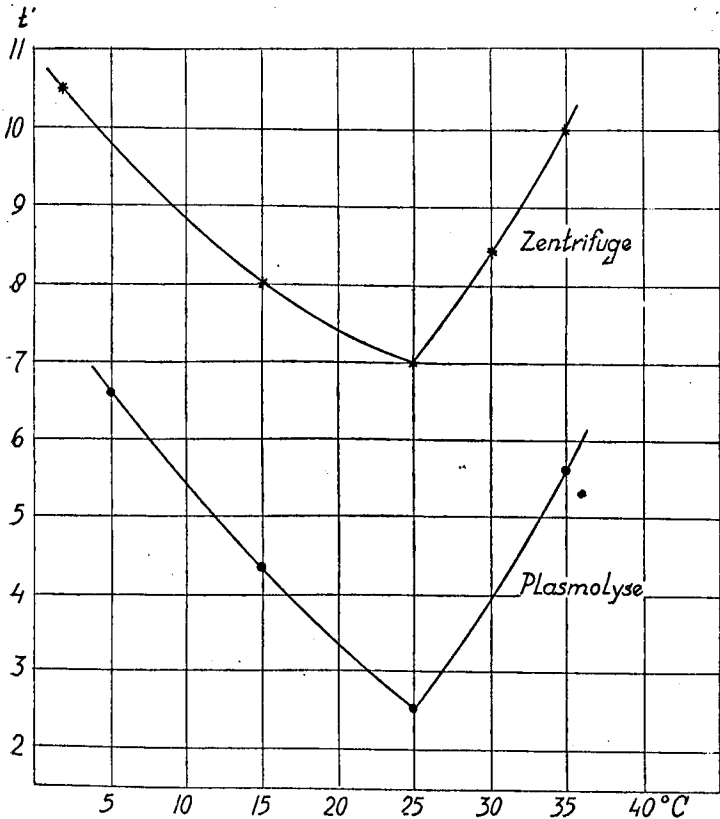


Fig. 14. Erklärung siehe Text.

Wenn nun das Protoplasma selbst auch zur Ecke hinfließt, dürfte die Bewegung der Teilchen stark verschleunigt werden. Ich habe mich nicht überzeugen können, dass das Protoplasma sich während des Zentrifugierens nicht bewegt, aber doch scheint mir, dass wenn sich das Protoplasma bewegt, es doch eine viel längere Zeit braucht, um die Ecke zu erreichen als die Teilchen.

Wenn das *Protoplasma* in die Ecke geschleudert wird, dann werden auch alle *Kerne* nach dem Zentrifugieren sich in die Ecken

befinden müssen. Das aber ist gewiss nicht der Fall.

Dennoch bleibt es wünschenswert, dass dieser Frage, die von so grosser Bedeutung für die Anwendung der Zentrifugen-Methode bei pflanzlichen Zellen ist, eine nähere Untersuchung gewidmet würde.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen mit derjenigen der in der historischen Uebersicht unter Gruppe 4 genannten Autoren überein, nämlich N e m e c, R u s s o und E l D e r r y. Diese finden doch ebenfalls, dass die Konsistenz des Protoplasmas bei einer bestimmten Temperatur ein Minimum und dass Temperaturerhöhung und Temperaturerniedrigung ein Ansteigen der Konsistenz zur Folge hat.

Die Hauptergebnisse dieser Arbeit sind also:

1. Die Konsistenz des Protoplasmas der Innenepidermiszellen der Zwiebelschuppen von *Allium cepa* hat bei  $25^{\circ}\text{C}$  ihren kleinsten Wert.

Temperaturerhöhung und Temperaturerniedrigung haben beide ein Ansteigen der Konsistenz zur Folge.

2. Die Ergebnisse der Versuche mittels der Plasmolysezeit-Methode und der Zentrifugen-Methode über Konsistenzänderung des Protoplasmas stimmen völlig miteinander überein.

3. Konvexe Plasmolyseform deutet eine niedere Konsistenz des Protoplasmas an, konkave und eckige Plasmolyseform eine höhere Konsistenz und Krampfplasmolyse einen weiteren Verfestigungsgrad.

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Reichs Universität Leiden ausgeführt. An dieser Stelle möchte ich meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. L. G. M. Baas Becking für seine Unterstützung und Anregung zu dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Ferner danke ich Fräulein F. Schade und Herrn Dr. A. L. Buschkiel für die sorgfältige Korrektur und Herrn J. E. Bevelander, dem Zeichner des Laboratoriums, für die sorgfältige Weise, in der er die Zeichnungen besorgt hat.

---

## LITERATUR.

1. Baas Becking, L. G. M., H. v. d. Sande Bakhuyzen and H. Hoteling. 1928. The physical state of protoplasm. Verh. der Kon. Akad. v. Wet. te Amsterdam. Afd. Natuurk. (2e Sectie) Deel 25, No. 5.
2. Bank, O. 1932. Der Einfluss des Koffeins auf Plasmolyseform und -zeit bei *Allium cepa*. Protoplasma 16. S. 452.
3. Bärlund, H. 1929. Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhodo discolor*. Acta Bot. Fennica Bd. 5, S. 1.
4. Bělčhrádek, J. 1935. Temperature and living matter. Protoplasma-Monographien 8.
5. Bower, F. 1883. On Plasmolysis and its bearing upon the relations between cell wall and protoplasm. Quarterly Journ. of Microsc. Science. New Ser. Vol. 23, S. 151.
6. Chodat, R. et A. M. Boubier. 1898. Sur la plasmolyse et la membrane plasmique. Journal de Bot. XII. S. 118.
7. Cholodny, N. 1924. Ueber Protoplasmaveränderungen bei Plasmolyse. Biochem. Zeitschr. Bd. 147, S. 22.
8. El Derry, B. H. 1929. Plasmolyseform- und Plasmolysezeitstudien. Protoplasma Bd. 8, S. 1.
9. Fauré-Fremiet, E. 1913. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megaloccephala*. Arch. d'An. micr. 15, S. 435.
10. Fitting, H. 1915. Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 56, S. 1.
11. ——— 1917. Untersuchungen über isotonischen Koeffizienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 57, S. 553.
12. Fürth, R. 1917. Einige Untersuchungen über Brownsche Bewegung an einem Einzelteilchen. Ann. d. Phys. Bd. 59, S. 177.
13. ——— 1930. Ueber die Messung der Viskosität sehr kleiner Flüssigkeitsmengen mit Hilfe der Brownschen Bewegung. Zeitschr. f. Phys. Bd. 60, S. 313.
14. Gardiner, W. 1884. On the continuity of the protoplasm through the walls of vegetable cells. Arb. Bot. Inst. Würzburg Bd. 3, S. 52.
15. Haan, Iz de 1933. Protoplasmaquellung und Wasserpermeabilität. Recueil des trav. bot. néerl. Bd. 30, S. 234.
16. Hecht, K. 1912. Studien über den Vorgang der Plasmolyse. Beiträge Biol. Pfl. Bd. 11, S. 137.
17. Heilbronn, A. 1914. Zustand des Plasmas und Reizbarkeit. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 54, S. 357.
18. ——— 1918. Neue Methode zur Messung der Plasmaviskosität. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 36, S. : (5).
19. ——— 1922. Eine neue Methode zur Bestimmung der Viskosität lebender Protoplasten. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 61, S. 284.
20. Heilbrunn, L. V. 1924. The colloid chemistry of protoplasm III. The viscosity of protoplasm at various temperatures. Amer. Journ. Physiol. Bd. 68, S. 645.
21. ——— 1925. The centrifuge method of determining protoplasmic viscosity. Journ. Exp. Zool. Bd. 43, S. 312.
22. ——— 1926. The absolute viscosity of protoplasm. Journ. Exp. Zool. Bd. 44, S. 255.

23. — 1928. The colloid chemistry of protoplasm. *Protoplasma-Monographien* Bd. 1.
24. — 1929a. Protoplasmic viscosity of amoeba at different temperatures. *Protoplasma* Bd. 8, S. 58.
25. — 1929b. The absolute viscosity of amoeba protoplasm. *Protoplasma* Bd. 8, S. 65.
26. Höfler, K. 1918. Eine plasmolytisch-Volumetrische Methode zur Bestimmung des osmotischen Wertes von Pflanzenzellen. *Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien.* Bd. 95, S. 99.
27. — 1926. Ueber die Zuckerpermeabilität plasmolysierter Protoplaste. *Planta* Bd. 2, S. 454.
28. Howard, Evelyn. 1932. The structure of protoplasm as indicated by a study of the apparent viscosity of sea-urchin eggs at various shearing forces. *Journ. cell. and comp. Phys.* Bd. 1.
29. Küster, E. 1909. Ueber Veränderungen der Plasmaoberfläche bei Plasmolyse. *Zeitschr. f. Bot.* Bd. 2, S. 689.
30. — 1924. Experimentelle Physiologie der Pflanzenzelle. *Abderhalden Handb. biolog. Arbeitsmeth. Abt. XI, Teil 1.*
31. — 1926. Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. *Protoplasma* Bd. 1, S. 73.
32. Naegeli, C. 1855. *Pflanzenphysiologische Untersuchungen.* Bd. 1, S. 18.
33. Nemec, B. 1901. Ueber die Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot.* Bd. 36, S. 80.
34. Payne, N. M. 1930. Some effects of low temperature on internal structure and function in animals. *Ecology* Bd. 11, S. 500.
35. Pekarek, J. 1930a. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung I. *Protoplasma* Bd. 10, S. 510.
36. — 1930b. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung II. Viskositätsbestimmung des Zellsaftes der Epidermiszellen von *Allium cepa* und des Amöben-Protoplasmas. *Protoplasma* Bd. 11, S. 19.
37. — 1931. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung III. *Protoplasma* Bd. 13, S. 637.
38. — 1932. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung IV. Plasmaviskositätsmessungen an Rhizoiden von *Chara fragilis* desv. *Protoplasma* Bd. 17, S. 1.
39. — 1933a. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung V. Plasmolyse und Zellsaftviskosität. *Protoplasma* Bd. 18, S. 1.
40. — 1933b. Absolute Viskositätsmessungen mit Hilfe der Brownschen Molekularbewegung VI. Der Einfluss der Temperatur auf die Zellsaftviskosität. *Protoplasma* Bd. 20, S. 251.
41. Pigorini, L. 1924. Sulla viscosità dei succhi di uovo di „*Bombyx mori*“. *Biochim. e Terap. Sperim.* 11, S. 479.
42. Pringsheim, N. 1854. *Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle.* Berlin.
43. Prud'homme van Reine, W. J. 1935. Ueber Plasmolyse und Deplasmolyse. *Proc. Kon. Akad. v. Wetensch Amsterdam.* Bd. 38, S. 199.
44. Report on viscosity and plasticity-First 1935. *Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. 1e Sectie, Deel XV No. 3, S. 1.*
45. Resühr, B. 1935. Zur Theorie der Plasmolyse- und Deplasmolysedauer (Entquellungs- und Quellungsdauer) lebender Protoplaste. *Protoplasma* Bd. 23, S. 336.



46. Romijn, G. 1931. Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Protoplasmaströmung bei *Nitella flexilis*. Proc. Kon. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. Bd. 34, S. 289.
47. Ruhland, W. 1911. Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel von *Beta vulgaris*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 50, S. 200.
48. Russo, Ph. 1910. Recherches ultramicroscopiques touchant l'action de divers agents extérieurs sur les conditions de vie du protoplasma. Arch. int. Physiol. Bd. 10, S. 90.
49. Spek, J. 1931. Allgemeine Physiologie der Entwicklung und Formbildung. In: Gellhorn's Lehrb. d. allg. Physiol. 459, S. 109.
50. Strasburger, E. 1901. Ueber Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 36, S. 493.
51. de Vries, H. 1877. Untersuchungen über die mechanische Ursachen der Zellstreckung. Opera e Periodicis Collata Bd. 1.
52. ——— 1884. Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 14, S. 427. Opera e Periodicis Collata Bd. 2.
53. Walter, H. 1923. Protoplasma- und Membranquellung bei Plasmolyse. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 62, S. 145.
54. Weber, Fr. 1917. Die Viskometrie des lebenden Protoplasmas. Kolloid-Zeitschrift Bd. 20, S. 169.
55. ——— 1917. Die Plasmaviskosität pflanzlicher Zellen. Zeitschr. allgem. Physiologie Bd. 18, S. 3.
56. ——— 1921a. Die Zellsaftviskosität lebender Pflanzenzellen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 39, S. 188.
57. ——— 1921b. Zentrifugierungsversuche mit ätherisierten Spirogyren. Biochem. Zeitschr. Bd. 126, S. 21.
58. ——— 1921c. Das Fadenziehen und die Viskosität des Protoplasmas. Oesterr. bot. Zeitschr. Bd. 71, S. 172.
59. ——— 1922. Die Viskosität des Protoplasmas. Naturwissensch. Wochenschr. Bd. 21, S. 113.
60. ——— 1924a. Methoden der Viskositätsbestimmung des lebenden Protoplasmas. Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. 11. Teil 2. S. 655.
61. ——— 1924b. Plasmolyseform und Protoplasmaviskosität. Oesterr. bot. Zeitschr. Bd. 73, S. 261.
62. ——— 1925a. Ueber die Beurteilung der Plasmaviskosität nach der Plasmolyseform. Untersuchungen an Spirogyra. Zeitschr. f. wiss. Mikros. Bd. 42, S. 146.
63. ——— 1925b. Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Oesterr. bot. Zeitschr. Bd. 74, S. 256.
64. ——— 1925c. Experimentelle Physiologie der Pflanzenzelle. Arch. exper. Zellforsch. Bd. 2, S. 67.
65. ——— 1928. Plasmolyse-Zeit-Methode. Protoplasma Bd. 5, S. 622.
66. ——— 1929. Zentrifugierung und Protoplasma-Viskosität. Protoplasma Bd. 7, S. 444.
67. ——— 1932. Plasmolyse-Permeabilität bei Kälte. Protoplasma Bd. 15, S. 517.
68. Weber, Fr. und G. 1916. Die Temperaturabhängigkeit der Plasmaviskosität. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 34, S. 836.
69. Weber, Fr. und H. Hohenegger. 1923. Reversible Viskositäts-erhöhung des Protoplasmas bei Kälte. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 41, S. 198.
70. Weiss, A. 1925. Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. Planta Bd. 1, S. 145.