Über „osmiophile Plättchen“ BOWENS in pflanzlichen Zellen *

Von KOGANE KIYOHARA

Kaiserl. Universität Tokyo

Im Jahre 1928 hat R. H. BOWEN eine Arbeit über die Struktur des pflanzlichen Protoplasmas in der „Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie“ veröffentlicht. Dort berichtete er über das Vorkommen eines neuen Zellelementes in pflanzlichen Zellen, welches er „das osmiophile Plättchen“ („the osmiophilic platelet“) nannte. Dabei sagt er, daß noch kein Botaniker diesen Gegenstand, auch nicht unter einem anderen Namen, beschrieben hat. Im folgenden werden die Ergebnisse meiner diesbezüglichen Untersuchungen kurz berichtet.

Zuerst habe ich die Wurzelspitzen verschiedener Pflanzen z.B. *Vicia Faba*, von welcher BOWEN die eingehendste Beschreibung gab, *Hydrilla verticillata*, *Elodea canadensis* u. a. nach KOLATCHEVscher Fixierungsmethode untersucht, wobei ich immer wieder beobachtete, daß, wie BOWEN sagt, zahlreiche scheibenförmige Gebilde hervortreten, deren Peripherie durch Osmiumsäureimprägnierung stark geschwärzt wird, so daß jene Gebilde wie sehr kleine Ringe aussehen, während sie nicht selten eine stäbchenförmige Profilansicht zeigen (Fig. 1, a u. b). Zwischen diesen typischen Scheiben treten die hantelförmigen hervor, worauf schon BOWEN besonders aufmerksam gemacht und vermutet hat, daß die osmiophilen Plättchen durch Teilung sich vermehren. Nach meiner Beobachtung sind diese Plättchen kleiner in einer Zelle, wo sie sich zahlreich finden, als in einer Zelle, wo verhältnismäßig wenige vorhanden sind. Aus solchem Größenverhältnis der Gebilde läßt sich leicht vermuten, daß sie, wie BOWEN meint, sich durch Teilung vermehren. In der Regel treten sie zerstreut im Zytoplasma hervor, und zwar

* Contributions to Cytology and Genetics from the Departments of Plant-Morphology and of Genetics, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University, No. 90.

niemals in Vakuolen noch im Spindelraum einer sich teilenden Zelle. Im Laufe des Mitosenvorgangs werden sie, ungefähr zu gleichen Teilen, allmählich in zwei Gruppen verteilt, indem sie die Tendenz aufweisen, sich an den Polen zu sammeln. Es ist hier bemerkenswert, daß sie kein Verhalten zeigen, welches an die eigentümliche Chondriokinese in tierischen Zellen erinnert. Jenes Verhalten der osmiophilen Plättchen stimmt mit demjenigen der Plastiden, welches ich früher (1927) in der Stammspitze von *Hydrilla verticillata* festgestellt habe, ganz überein (Fig. 1, d). Daß die osmiophilen Plättchen während der Anaphase der Karyokinese in den Äquator der Spindel hineindringen und nach der Vollendung der Kernteilung ihre eigentliche Stellung in ruhender Zelle wiederherstellen, haben wir immer wieder beobachtet und etliche Autoren z. B. KUWADA (1929) und SUGIURA (1928) haben schon dieselben Verhältnisse bei Plastiden beobachtet.

Dann untersuchte ich die Stammspitze von *Hydrilla verticillata* und *Elodea canadensis* nach derselben Methode. Hier waren die osmiophilen Plättchen am schönsten nachweisbar. Fig. 1, a ist eine Zelle aus der Stammspitze von *Hydrilla verticillata* und Fig. 1, b zeigt dieselben von *Elodea canadensis*. Vergleichen wir diese osmiophilen Plättchen mit den Plastiden von *Hydrilla verticillata*, welche durch CARNOYS Tripel-Gemisch naturgetreu konserviert wurden, so sehen wir sofort, daß diese beiden eigentlich ein und dasselbe Gebilde sind, obwohl es durch die KOLATCHEVSCHE Methode schöner als durch CARNOYS Tripel-Gemisch fixiert wird. Fig. 1, c zeigt eine Zelle aus der Stammspitze von *Hydrilla verticillata*, welche durch das CARNOYSsche Tripel-Gemisch fixiert wurde.

Daß ihr Zentrum nicht aus Stärke, sondern aus irgendeiner Substanz besteht, welche durch Osmierung nicht geschwärzt wird, ist dadurch leicht nachweisbar, daß es beim Zusatz der Jodjodkaliumlösung nicht gebläut wird. Hier beobachtete ich noch einmal die Wurzelspitze von *Vicia Faba*, welche nach KOLATCHEVSCHE Methode fixiert wurde. Dabei traf ich nicht selten Wurzeln, in welchen die osmiophilen Plättchen nicht mehr zu finden waren, dagegen waren die meisten Zellen mit zahlreichen Stärkekörnern ausgefüllt (Fig. 1, e). Je ferner die Zellen von der Peripherie der Wurzel nach innen liegen, desto kleiner werden die darin enthaltenen Stärkekörner. Infolgedessen treten die osmiophilen Plättchen am zahlreichsten in der Zone zwischen Rinde und Zentralzylinder auf, sowie in den Urmeristemzellen, wo die Stärkekörner noch nicht gebildet sind. Aus diesen Befunden kam ich zu dem Schlusse, daß die sogenannten osmiophilen Plättchen die Amyloplasten sind. Zum weiteren Beweis dieses Schlusses habe ich einen sehr

Fig. 1. a Eine Zelle aus der Stammspitze von *Hydrilla verticillata*, wo viele osmiophile Plättchen sichtbar sind. b Dieselbe von *Elodea canadensis*. c u. d. Die Zellen aus der Stammspitze von *Hydrilla verticillata*, mit CARNOYSchem Tripel-Gemisch fixiert; viele scheibenförmige Plastiden sind sichtbar, obwohl ihre ringförmige Struktur nicht so schön hervortritt wie in a u. b. e Eine mit zahlreichen Stärkekörnern ausgefüllte Zelle aus der Wurzelspitze von *Vicia Faba*. f Eine junge Zelle aus der Kartoffelknolle, nach KOLATCHEV'scher Methode fixiert; zahlreiche Amyloplasten, deren Peripherie durch Osmierung stark geschwärzt ist, sind sichtbar. g Eine weiter entwickelte Zelle desselben Materials. h Ein mit Silbernitratlösung behandelter Chloroplast von *Pilea viridissima*. i Die Chloroplasten derselben Pflanze, in welchen die Zentralgebilde mit Stärkekörnern zu sehen sind.

kleinen Kartoffelknollen nach derselben Methode untersucht. In den ganz jungen Zellen sind zahlreiche Amyloplasten mit kleinen rundlichen Stärkekörnern schon im Zytoplasma nachweisbar. Die Plastidensubstanz, welche die Stärkekörner umhüllt, wird auch hier durch Einwirkung der Osmiumsäure stark geschwärzt (Fig. 1, f u. g). Es ist hier bemerkenswert, daß außer diesen Amyloplasten kein Gebilde in den Zellen der Kartoffelknollen vorhanden ist, welches an die osmiophilen Plättchen erinnert. Aus diesen Untersuchungen geht klar hervor, daß BOWENS „osmiophile Plättchen“ nichts anderes als die ganz jungen Amyloplasten sind. Zur Feststellung, ob die Plastiden auch im erwachsenen Zustand die von der Osmiumsäure tingierbare ringförmige Struktur darbieten, untersuchte ich ferner die Chloroplasten von *Vicia Faba*, *Hydrilla verticillata* und *Pilea viridissima* nach MOLISCH's Methode. Die Verwendung von Silbernitrat für Plastidendarstellung wurde von MOLISCH (1921) und GEITLER (1922) vorgeschlagen.

Wenn wir ein Stück des Rindengewebes von *Pilea viridissima* in 1-5%iger Silbernitratlösung einige Sekunden lang kochen, so werden die Chloroplasten durch das auftretende metallische Silber stark geschwärzt. Aber ihr Zentrum bleibt ganz ungefärbt. Aus dieser Tatsache geht es klar hervor, daß das Zentrum der Plastiden im erwachsenen sowie im ganz jungen Stadium aus einer Substanz besteht, welche durch Osmiumsäure oder Silbernitratlösung nicht geschwärzt wird. Fig. 1, h ist ein mit Silbernitratlösung behandelter Chloroplast von *Pilea viridissima*.

Daß die Chloroplasten von Blütenpflanzen irgendeine körnige Substanz in ihrem Zentrum besitzen, wurde zuerst von CASPARY (1858) bei *Elodea canadensis*, von KIYOHARA (1926) bei *Hydrilla verticillata* und von ZIRKLE (1927) wieder bei *Elodea canadensis* beschrieben. Genauere Beobachtung zeigt ferner, daß die Stärkekörner stets in einem solchen Zentralgebilde, und zwar in der Peripherie desselben gebildet werden (Fig. 1, i).

Um einerseits Klarheit über die Natur der Substanz zu gewinnen, welche durch Silbernitratlösung oder Osmiumsäure stark geschwärzt wird, und andererseits Näheres über die chemische Beschaffenheit der Plastiden zu erfahren, untersuchte ich mikrochemisch die Chloroplasten von *Pilea viridissima*. Wird ein Stück Rindengewebe in 50-100%igen Alkohol vorbehandelt, so zeigen die Chloroplasten nicht mehr die oben geschilderte Schwärzung durch Behandlung mit Silbernitratlösung. So ist es klar, daß die betreffende Substanz der Plastiden im Alkohol löslich ist. Überdies ist es klar, daß wir es hier nicht

mit Lipoiden im engeren Sinne des Wortes zu tun haben, da sie weder auf Osmiumsäure noch auf Silbernitratlösung eine reduzierende Wirkung haben. Hier könnte man vermuten, ob diese Substanz Fett sei. Es ist ja eine wohlbekannte Tatsache, daß Öltropfen als ein Sekret in Chloroplasten verschiedener Pflanzen auftreten. Nach MEYER (1920) sind die sehr jungen sowie die erwachsenen Chloroplasten von *Tropaeolum*, die durch Verdunkelung an Assimilation hindert sind, frei von Sekrettropfen, aber in assimilierenden Blättern entsteht bald das Fett.

Das Fett tritt in Chloroplasten der meisten Pflanzen als Tropfen auf, aber es zeigt keine bestimmte Verbreitung innerhalb eines Chloroplasts. Überdies zeigen die Chloroplasten von *Vicia Faba*, *Hydrilla verticillata* und *Pilea viridissima* keine Farbenreaktion, welche für das Fett charakteristisch ist; nämlich mit Sudan III werden die Chloroplasten genannter Pflanzen nicht rotgefärbt. Daß die mit Osmiumsäure oder Silbernitratlösung geschwärzte Substanz der Plastiden nicht Fett ist, läßt sich dadurch vermuten daß die Plastiden nach Behandlung mit heißem Wasser ihre reduzierende Wirkung auf Osmiumsäure oder Silbernitratlösung verlieren, da Fett bekanntlich im Wasser unlöslich ist. Da auch die farblosen Plastiden in jungen Zellen durch Osmierung ihre ringförmige Struktur zeigen, so ist es klar, daß die die Osmiumsäure reduzierende Substanz in Plastiden kein Farbstoff ist, welcher in Plastiden vorkommt. Leider muß ich die genaue Natur dieser Substanz noch dahin gestellt sein lassen. Einstweilen sei nur darauf hingewiesen werden, daß LOEW seiner Zeit die Silbernitrat reduzierende Eigenschaft auf die Aldehydgruppen seines „lebenden Eiweiß“ zurückgeführt hat. Jedenfalls ist es höchst interessant, daß die Chloroplasten ihre reduzierende Wirkung so leicht verlieren, wie die Tatsache zeigt, daß sie nach Behandlung mit heißem Wasser wie von LOEW und BOKORNY (1881) in ihren Materialien festgestellt wurde, nicht mehr durch Silbernitrat geschwärzt werden. LOEW (1881) fand, daß diese Silbernitrat reduzierende Wirkung, nur wenn das Material noch lebt, stattfindet. Dasselbe Verhältnis wurde auch von MOLISCH bei Plastiden nachgewiesen. Ähnliche Tatsache wurde von YAMAHA (1925) bei der Osmiumsäure reduzierenden Wirkung beschrieben. Ferner hat FUJII (1927), nachdem er in einem Vortrag (1926) darauf aufmerksam gemacht hatte, daß die Erforschung der Sterbevorgänge der lebenden Substanz oder des Protoplasmas uns wichtige Auskunft über die Entstehungsvorgänge der lebenden Substanz liefern könnten, da falls wir instand gesetzt werden könnten den ganzen Verlauf der Sterbevorgänge der lebenden Substanz umzukehren, wir sicher aus leblosen

Substanzen die lebende bekommen würden, hervorgehoben, daß die reduzierende Wirkung des Gewebsstückes auf Silbernitratlösung oder Osmiumsäure unter anderen ein Kennzeichen des lebenden Gewebes ist, welches beim Sterben des Gewebes gleich verloren geht.

Weiterhin unternahm ich die Lipoidfärbung nach SCHUMACHER (1925) mit den Chloroplasten von *Pilea viridissima*, um festzustellen, ob die Lipide in den Plastiden entweder im freien oder gebundenen Zustand vorhanden seien. Nach SCHUMACHER können wir durch die Vorbehandlung mit verdünnter Salpetersäure alle sauren Zellinhaltsstoffe aus der Zelle entfernen, mit Ausnahme der Lipide und Lipoproteide. Nachdem ich ein Stück Rindengewebe von *Pilea viridissima* in Kälte mit verdünnter Salpetersäure behandelt hatte, tauchte ich es in Viktoriablau, Gentianaviolett oder Nilblau, und dennoch wurden die Chloroplasten durch die genannten Farbstoffen blau oder violett. Daher konnten wir hier feststellen, daß in Chloroplasten der genannten Pflanze Lipide vorhanden sind. Dann behandelte ich das Material mit absolutem Alkohol, und die Plastiden zeigten noch Färbbarkeit durch oben erwähnte Farbstoffe. Ferner kochte ich das Gewebsstück im Äther einige Sekunden lang, aber auch hier wurden die Plastiden durch die Farbstoffe gefärbt. Aus dieser Tatsache geht klar hervor, daß die Lipide in den Plastiden genannter Pflanze im Alkohol oder im Äther schwer löslich sind. Als ich zuletzt das Material in einem Gemisch von absolutem Alkohol und Äther einige Sekunden lang gekocht hatte, wurden erst die Lipide aus der Zelle entfernt, und die Plastiden verloren die Färbbarkeit durch die oben genannten Farbstoffe. Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß die Lipide in Plastiden nicht als Lipoprotein, die wir als Verbindung der Lipidsäure mit basischem Eiweiß betrachten, sondern als freie Lipide vorhanden sind und zwar in der Grundsubstanz der Plastiden homogen verteilt.

Durch diese Untersuchungen ist somit festgestellt, daß die Plastiden im erwachsenen sowie im jungen Stadium eine ringförmige Struktur darbieten und daß BOWENS sogenannte „osmiophile Plättchen“ nichts anderes als ganz junge Plastiden sind.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. emer. Dr. K. FUJII, unter dessen Leitung vorliegende Arbeit ausgeführt worden ist, meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur

- BOWEN, R. H. (1928), Studies on the structure of plant protoplasm. 1. The osmophilic platelets. Zs. Zellf. u. mikr. Anat., Bd. 6.
- CASPARY, R. (1858), Die Hydrilleen, Jahrb. wiss. Bot., Bd. 1.
- FUJII, K. (1927), Recent progress in cytology and its methods of investigation. Report Jap. Assoc. Advanc. Sci. 2 (Kyoto Meeting, 1926): 384–385. (japanisch)
- GEITLER, L. (1922), Über die Verwendung von Silbernitrat zur Chromatophorendarstellung. Öst. bot. Zs., Bd. 71.
- KIYOHARA, K. (1926), Beobachtungen über die Chloroplastenteilung von *Hydrilla verticillata*. Bot. Mag., Tokyo, Vol. 40.
- (1927), Vermehren sich die Plastiden auch in der Meristemzelle von *Hydrilla verticillata* nur durch Teilung oder nicht? Bot. Mag., Tokyo, Vol. 41.
- KUWADA, Y. (1929), The chromosome arrangement. Mem. Coll. Sci., Kyoto Imp. Univ. Ser. B. Vol. 4.
- LOEW, O. u. BOKORNY, TH. (1881), Die chemische Ursache des Lebens theoretisch und experimentell nachgewiesen. München.
- (1881), Über das Absterben pflanzliches Plasmas unter verschiedenen Bedingungen. PFLÜGERS Arch. ges. Physiol., Bd. 26.
- MEYER, A. (1920), Morphologische und physiologische Analyse der Zelle. Jena.
- MOLISCH, H. (1921), Silbernitratreduktion der Chromatophoren. Ber. deut. Bot. Ges., Bd. 39.
- SCHUMACHER, J. (1925), Über das Verhalten einiger basischen Farbstoffe zu Lipoiden. Bioch. Zs., Bd. 166.
- SUGIURA, T. (1928), Cytological studies on *Tropaeolum* II. Bot. Mag., Tokyo, Bd. 42.
- YAMAHA, G. (1925), Über die Fixierungsflüssigkeiten (japanisch). Bot. Mag., Tokyo, Bd. 39.
- ZIRKLE, C. (1926), The structure of the chloroplast in certain higher plants. Amer. Jour. Bot., Vol. 13.
- (1927), The growth and development of plastids in *Lunularia vulgaris*, *Elodea canadensis*, and *Zea Mays*. Amer. Jour. Bot., Vol. 14.
-