**Anstichversuche an den Zellen der Staubfadenhaare
von *Tradescantia virginica****

Von **B. WADA**

Kaiserliche Universität Tokyo

(Mit Tafel 23)

Eingegangen am 20. August 1930

Die Wirkung des Anstiches auf das Protoplasma lebender Zellen wurden von PÉTERFI (1927) und OLIVO (1927) bei den in vitro gezüchteten Myoblasten des Hühnchens und Vogelmonozyten experimentell näher untersucht. Auf botanischem Gebiet jedoch scheint mir eine ähnliche Untersuchung noch nicht gemacht zu sein. Um die Wirkung des Einstiches an den strukturellen Veränderungen der pflanzlichen Zellen zu verfolgen, habe ich die in Zuckerlösung gezüchteten Staubfadenhaarzellen von *Tradescantia virginica* mit einer Mikronadel angestochen. Bei der intrazellularen Manipulation der pflanzlichen Zellen muß man darauf achten, daß man wenigstens im normalen Turgeszenzzustande der Zelle den Ausfluß des Zellinhaltes nach Möglichkeit vermeidet. Durch vorsichtige technische Behandlung gelang es mir bei diesen Zellen die Kerne so anzustechen, daß die Kernsubstanzen in dem lebenden Zustande untersucht werden konnten.

Methode

Das Mikrodisektionsinstrument, mit welchem die vorliegende Untersuchung ausgeführt wurde, ist der ZEISS Mikromanipulator nach PÉTERFI. Die Einzelheiten der Einrichtungen, wie die Herstellung der Mikronadeln, die Handhabung der Feuchtkammer sowie auch die Deckgläser mit Glasstäbchen brauchen hier nicht geschildert zu wer-

* Contributions to Morphology and Genetics from the Departments of Plant-Morphology and of Genetics, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University. No. 98.

den, da diese Untersuchung durch dieselbe Methode wie in meiner letzten Arbeit (1930) angeführt worden ist. Als Untersuchungsmedium, und zugleich um die Feuchtigkeit der Kammer zu halten, wandte ich hier 1% Rohrzuckerlösung an. Beim Anstechen ist es gebräuchlich, die Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia* im mikroskopischen Sehfelde, unter Benutzung von LEITZ Obj. 1/12 n. A. 1.32 und ZEISS Okular K 10 $\times$, ausschließlich in der Horizontalrichtung anzustechen. Unter dem einfachen mikroskopischen Sehfelde wählte ich mit der Metallnadel von den geschnittenen jungen Blütenknospen ein unverletztes Staubfadenhaar aus und legte es auf das Deckglas parallel neben das Glasstäbchen.

Das geeignete Staubfadenhaar besteht aus einer Reihe von 20 bis 25 zylinderförmigen farblosen Zellen. Betrachtet man vor dem Anstechen das isolierte Haar in der Zuckerlösung, so nimmt man lebhaft Plasmaströmungen am Wandbelage und um den Kern wahr, wobei die beiden mit einigen Plasmasträngen miteinander verbunden werden. Der Kern zeigt eine massive granuläre Struktur, worunter die Nukleolen schwer erkennbar sind.¹⁾

Versuch 1. Anstich des Zytoplasmas mit feiner Nadel

Führt man den Anstich sehr sorgfältig aus, wobei der Ausfluß des Zellinhaltes möglichst vermieden werden soll, so tritt die Nadel ins Innere der Zellenwandung ein, ohne daß dabei die Plasmaströmungen aufhören. Werden jedoch die Strömungen an dem Wandbelage durch die eingestochene Nadel gestört, so gehen die gestörten Strömungen neben der Nadel vorbei und setzen ihre Bewegungen fort. Nach einigen Minuten sammelt sich das Protoplasma um die Nadel und schließt endlich die Nadel bis zur Spitze ein (Tafel 23, Fig. 1). Schon in dieser Zeit findet die Differenzierung des Protoplasmas in dem Fortsatze statt. Die sich lebhaft bewegenden Granula um die Nadelspitze gehen allmählich bis an die Oberfläche des Fortsatzes. Im Innern desselben beginnt die Koagulation des Protoplasmas zuerst beim eingestochenen Punkt der Zellwand und entwickelt sich um die Nadel in dem Plasmafortsatz. Die Oberfläche des Fortsatzes ist dicht

1) Die Wörter „granuläre Struktur des Kernes“ gebrauche ich hier in ihrem weitesten Sinn. Jedoch bin ich der Meinung, daß das Wesen der Granula eine anschauliche Gestalt einer Architektur irgendwelcher Art von verwickelten Fäden zu sein scheint (vergl. BĚLAŘ 1929). Einen Beweis für Obengesagtes teilte ich in dem letzten Abschnitt dieser Arbeit mit.

mit dem strömenden Protoplasma bedeckt, wie bei nicht verletztem Wandbelage.

Zieht man die Nadel vorsichtig zurück, so bemerkt man manchmal eine kleine Menge Protoplasma, die mit der Nadel herausgezogen wird, oder auch ein oder zwei Tröpfchen des Zellsaftes. Diese Tröpfchen sind mit dem Aussenmedium mischbar, dagegen koaguliert sich das Protoplasma an der Stichstelle und verhindert den Ausfluß des weiteren Zellsaftes. Während dieser Operation und Schädigung leiden die Zellen meistens kaum an ihrer Lebenskraft und sind imstande noch einige Tage zu leben. Bei der Plasmolyse bleibt dieses Koagulat als ein Fortsatz der Zellmembran und trennt sich vom Wandbelag des Protoplasmas ab, welches im Turgeszenzzustande die Oberfläche dieses Fortsatzes bedeckt (Tafel 23, Fig. 2).

Versuch 2. Anstich des Zytoplasmas mit dicker, aber stark gespitzter Nadel

Wenn man die Zellen mit einer verhältnismäßig dicken, aber stark gespitzten Nadel ansticht, so bemerkt man einen großen Unterschied der Einwirkungen des Anstiches an denselben im Vergleich mit dem Versuche 1. Nach dem Einstechen und beim Zurückziehen der Nadel werden aus den Zellen 2 oder 3 Tropfen des Zellsaftes durch den Stich hinausgepreßt, da die Koagulation um die Nadel an der Stichstelle im Vergleich zu der Nadelgröße nicht genügend ist, um den Ausfluß des Zellinhaltes zu verhindern. Erst nachdem der Innendruck der Zelle sich einigermaßen vermindert hat, ist das koagulierte Plasma imstande die Stichstelle zu verstopfen. Nun nimmt das Volumen der Zelle ab, wobei die Spannung der Plasmastränge nachläßt. Bei Eintreten der Entspannung brechen plötzlich alle Stränge gleichzeitig ab. Dann vereinigen sich die Strängenstücke im Protoplasma am Wandbelage. Bei seiner Zelloperation beobachtete SCARTH (1927) auch diese Erscheinungen und erhielt dabei den Eindruck, daß „Really of course they [the strands] are still much less fluid than the stationary cell sap through which they flow—which warns us against too closely correlating “streaming” and fluidity.“

Beim Zersetzen der Plasmastränge werden Veränderungen im Kolloidzustand des Protoplasmas hervorgerufen; hierbei hören die Plasmaströmungen im Wandbelage bald auf, jedoch setzen die Granula in demselben die Brownsche Bewegung noch einige Minuten fort.

Inzwischen koagulierte sich das Protoplasma allmählich, und so kommen schließlich alle Granula im Wandbelage zum Stillstand. Diese Veränderungen des Zytoplasmas wirken auch auf den Kolloidzustand des Kernes und rufen schließlich die Koagulation der Kernsubstanzen hervor (Tafel. 23, Fig. 3). Die Veränderungen des Kernkolloidzustandes beschreibe ich unten in einem besonderen Abschnitte.

Aus diesen Versuchen möchte ich schließen, daß die mechanische Wirkung des Anstiches bei diesen Zellen die Koagulation des Protoplasmas hervorruft, wie die Untersuchungen von LEPESCHKIN (1927 a) bei *Spirogyra*-Zellen mit dem Mikrokompressor zeigen. Er (1927 b) weist auch die Abhängigkeit der mechanischen Eingriffe und Gifte bei der Zersetzung der Grundstoffe des Protoplasmas nach. Bei meinen Untersuchungen ist auch diese Abhängigkeit erkennbar. Die Koagulation des Zytoplasmas, eben so wie die des Kernes, bei dem gröberen Anstechen des Zytoplasmas erscheint mir nicht nur durch einen mechanischen Eingriff sondern auch durch die hervorgerufenen chemischen Veränderungen ihrer Komponenten gegenseitig gefördert worden zu sein. Als Beleg will ich hier die Zahlenverhältnisse der Beobachtungsergebnisse anführen:

Versuch 1. Anstich mit feiner Nadel.

Gesamtzahl der angestochener Zellen	Frische Zellen		Mehr als 1 Tag gezüchtete Zellen	
	geheilte	koagulierte	geheilte	koagulierte
10	5	0	3	7

Versuch 2. Anstich mit dicker Nadel.

Gesamtzahl der angestochenen Zellen	Frische Zellen	
	geheilte	koagulierte
10	0	10

Aus den Tabellen ersieht man, daß eine sehr geringe Koagulation im Zytoplasma kaum eine nennenswerte Schädigung der Zellen hervorruft, dagegen verleiht die gröbere Operation dem Protoplasma die allseitige Koagulation. Hier erkennt man auch die allmählichen Veränderungen des Kolloidzustandes der in Zuckerlösung gezüchteten Zellen.

Versuch 3. Anstich des Zellkernes

Beim Anstechen der Kerne muß man besonders vorsichtig sein, daß man beim Einführen der Nadel in die Zelle keine Plasmazerstörungen hervorruft, wie bei dem Versuche 2. Bringt man die Nadelspitze mit der Kernoberfläche in Berührung, so fühlt man einen Widerstand. Mit leisem Druck aber vertieft sich die Oberfläche zuerst ein wenig, dann dringt die Nadel leicht in die Kernsubstanzen ein, wobei man außer dem Widerstand zufolge der Oberflächenspannkraft keine morphologisch erkennbare Kernwand nachweisen kann, die im Leben optisch isoliert werden könnte (Abb. 1; Tafel 23, Fig. 5 u. 10) (Vergl. SEIFRIZ 1921,

Abb. 1 1260×

Abb. 2 1260×

Abb. 1. Der Kernstich in dem medianen optischen Schnitt, etwas schematisiert aus der Tafel 23, Fig. 5. *k* Zellkern. *c* koagulierte Zytoplasma an der Stichstelle. *f* die vertiefte Oberfläche, den Widerstand zufolge der Oberflächenspannkraft zeigend.

Abb. 2. Der Stich des Tröpfchens von flüssiges Paraffin in dem medianen optischen Schnitt, etwas schematisiert aus der Tafel 23, Fig. 9. *p* flüssiges Paraffintröpfchen.

CHAMBERS 1924, SCARTH 1927). Beim Zurückziehen der Nadel verschwindet die Vertiefung an der Kernoberfläche, wobei die Entmischung der Kernsubstanzen stattfindet. Die granuläre Struktur sieht etwas gröber aus, und die klaren Höfe um die Nukleolen kommen zum Vorschein. Eine Minute später fängt dieser Kern zu quellen an. Beim Quellen verschwindet jede granuläre Struktur im Kern, wobei die Kerne ganz homogen aussehen und 2 oder 3 Nukleolen manchmal schwach lichtbrechend erkennbar sind (Tafel 23, Fig. 6). Die angequollenen Kerne nehmen an Volumen merklich zu. Der Durchmesser des Kernes im Normalzustande ist 14 bis 15 μ , und im angequollenen Zustand erreicht er meistens 18 bis 20 μ . Dagegen sind die stark koagulierten Kerne

12 bis 13μ in ihrem Durchmesser. Wenn der Kernstich ohne Verletzung des Zytoplasmas ausgeführt wird, so bemerkt man, daß das Plasma um den homogen angequollenen Kern sowie auch die Plasmastränge in dem Saft Raum ihre Strömungen langsam fortsetzen.

Beim Kernstich werden die Plasmaströmungen einigermaßen zerstört, und man bemerkt dann, daß diese mechanischen Eingriffe immer die Quellung der Kernsubstanzen, zugleich auch die Koagulation des Zytoplasmas beschleunigen, wobei die stark angequollenen Kerne manchmal den aufgelösten Zustände erreichen. Durch die Vergrößerung des Volumens sowie auch die der Fluidität können sie ihre Form nicht mehr kugelförmig erhalten. Diese gelösten Kernsubstanzen sind aber mit dem Zytoplasma sowie auch mit der Flüssigkeit in der Zelle nicht mischbar. Sie dringen ins Plasma ein und werden durch den Innendruck des Zellsaftes deformiert (Abb. 3; Tafel 23, Fig. 4).

Öfters kommt es vor, daß sich die angequollenen Kerne wiederherstellen, aber sehr selten beobachtet man, daß die in Auflösung begriffenen, deformierten Kerne sich wiederherzustellen imstande sind, falls die Granula im Zytoplasma wenigstens die Brownsche Bewegung lebhaft fortsetzen. Beim Wiederherstellen der Kerne geht die Heilung des Zytoplasmas immer früher vor sich, indem die Plasmaströmungen zuerst im Wandbelag anfangen, sich merklich um den Kern sammeln und sich dann zu Plasmasträngen entwickeln. Inzwischen geht bei den homogen angequollenen Kernen die Entquellung der Kernsubstanzen langsam vor sich, wobei die granuläre Struktur derselben allmählich wieder zum Vorschein kommt (Tafel 23, Fig. 7). Das Kernvolumen nimmt auch während dieser Heilungsperiode nach und nach ab, bis es seine Normalgröße erreicht hat.

Die Zeitdauer, in der die angestochenen Kerne wieder zum Normalzustande kommen, ist sehr verschieden bei den verschiedenen Zellenzuständen. Sie nimmt von einigen Minuten bis zu einigen Stunden in Anspruch, wobei die Geschwindigkeit der Kernwiederherstellung im

Abb. 3. Der aufgelöste Kern, 3 Minuten nach dem Kernstiche. Die gelösten Kernsubstanzen sind mit dem Zytoplasma sowie auch mit der Flüssigkeit in der Zelle nicht mischbar. *k* Zellkern. *n* Nukleolus. *z* Zellsaft. *s* Stichstelle. 1260×

Verhältnis zu der Intensität der mechanischen Eingriffe beim Anstechen steht und zugleich von dem Kolloidzustande des Protoplasmas abhängig ist. Einen Tag später sehen die geheilten Kerne sowie auch ihre Zytoplasma mit Ausnahme der Stichstelle an der Wand fast normal aus, wie die anderen, die keiner Operation unterworfen waren (Tafel 23, Fig. 8).

Diese Veränderungen der Kernsubstanzen sind auch eine Art von reversiblen Gel-Sol-Umwandlungen, welche PÉTERFI und OLIVO (1927) beim Anstechen des Protoplasmas von in vitro gezüchteten tierischen Zellen nachgewiesen haben. Sie stellten bei den Anstichversuchen am Zellkern fest, daß „die aus dem Kern freiwerdenden Substanzen (Nukleinsäure?) ebenfalls das Protoplasma verflüssigen und der durch sie geschaffene Zustand—der Zustand einer toten und in Auflösung befindlichen Zelle—irreversibel ist“. Ganz anders wie die tierischen Zellen verhalten sich die pflanzlichen Zellen. Beim Anstechen der Zellkerne der Staubfadenhaare von *Tradescantia* konnte ich nicht die aus dem Kern freiwerdenden Substanzen nachweisen, welche das Zytoplasma verflüssigen. Ausserdem zeigen die in der Zelle in aufgelöstem Zustande befindlichen Kernsubstanzen selbst keine Einwirkung auf das Zytoplasma, und zwar sind solche Kerne auch unter Umständen wiederherstellungsfähig. Dagegen ist der durch das Anstechen des Zytoplasmas hervorgerufene Gelzustand des Protoplasmas immer irreversibel.

Wenn die Intensität der mechanischen Eingriffe in die Kernsubstanzen zu groß ist, als daß sie sich wiederherstellen könnten, so fangen die angequollenen Kerne sich zu koagulieren an. Bei Beginn der Koagulation zeigen solche Kerne sehr feine granuläre Strukturen, wobei ihr Volumen schnell abnimmt; dagegen vergrößern sie manchmal ihr Lichtbrechungsvermögen und sind durch unregelmäßigen Umriß begrenzt. Während die angestochenen Kerne noch lebendig sind, begrenzen sie sich immer durch eine glatte Oberfläche und erhalten sich meistens kugelförmig, wobei sie beim Quellen kein Zerplatzen ihrer Oberfläche an der angestochenen Stelle zeigen. Ebenso bildet sich auch beim Entquellen keine Falte. Dies kann als ein weiterer Beweis dafür dienen, daß der lebendige Kern mit keiner morphologisch differenzierten Membran versehen ist.

Aus obenerwähnten Versuchen gelangte ich zur Annahme, daß der Zustand, in dem der Kern in dem Zytoplasma sich befindet, derselbe ist, wie das Öltröpfchen im Wasser. Um diese analoge Erscheinung experimentell ersichtlich zu machen, führte ich auch die Anstichversuche

mit der Nadel durch ein im Wasser schwimmendes Paraffintröpfchen aus. Durch die Mischung von flüssigem Paraffin und Wasser bekam ich winzige Tröpfchen, deren Umfang so groß war wie die der Zellkerne. Diese stach ich mit derselben Nadel an, die ich beim Kernstich benutzte. Bringt man die Nadelspitze mit dem Öltröpfchen in Berührung, so bemerkt man, daß die Oberfläche des Tröpfchens durch leisen Druck zuerst sich ein wenig vertieft und dann die Nadel leicht ins Tröpfchen eindringt (Abb. 2, Tafel 23, Fig 9). Beim Zurückziehen der Nadel verschwindet die Vertiefung an der Oberfläche des Paraffintröpfchens. Diese Vorgänge sind ähnlich wie die beim Kernstiche. Jedoch ist die Oberflächenspannkraft des flüssigen Paraffins kleiner als die der Kernsubstanzen, daher ist die hervorgerufene Vertiefung der Oberfläche des Paraffintröpfchens beim Anstechen nicht so stark wie beim Anstiche des Zellkernes.

Bei den Untersuchungen mit Hilfe des Mikromanipulators unterließ SCARTH (1927) bei den Beobachtungen der ruhenden Kerne den Anstich in diese, da dieses Verfahren auf die Kerne entweder koagulierend oder verflüssigend gewirkt hätte. Über die Koagulation der Kernsubstanzen beim Anstichversuche teilte ich solches bereits oben mit. Jetzt wende ich mich zur Frage der Verflüssigung der Kernsubstanzen. In jedem Falle, in dem die Verflüssigung der Kernsubstanzen beim Anstechen vor sich geht, ist es bemerkenswert, daß sie ausschließlich durch die dabei eintretende Berührung der Kernsubstanzen mit dem äußeren Medium hervorgerufen wird. Beim Zurückziehen der Nadel aus der Zelle kommen die Kerne oft mit der Nadel an der Stichstelle in Berührung, wobei das koagulierende Protoplasma gleich nach dem Stiche die Wundstelle nicht völlig verstopft. Daher werden die Kernsubstanzen durch den Stich ins äußere Medium gebracht und verflüssigten sich kontinuierlich, falls die Zellen im Turgorzustande stehen. In 2 oder 3 Sekunden verschwinden alle Kernsubstanzen aus der Zelle und sammeln sich um die Stichstelle im Medium. Die verflüssigten Kernsubstanzen bilden ein visköses Hydrosol, welches an der Nadelspitze klebt und beim Ziehen der Nadel gedehnt wird. Durch die Verminderung des Turgors hört die Verflüssigung der Kernsubstanzen auf dem Wege zur Stichstelle auf, wobei die in der Zelle noch bleibenden Kernsubstanzen sich zu koagulieren anfangen. In den operierten Zellen bewegen sich die homogen angequollenen Kerne mit den Plasmaströmungen und kommen ab und zu mit der frischen Wundstelle in Berührung; endlich verflüssigen sie sich und verschwinden aus der Zelle ins Medium.

In Anbetracht der hier mitgeteilten Versuche scheint es mir sehr wahrscheinlich, daß außer von den rein mechanischen Eingriffen die Quellung sowie auch die Entquellung der ruhenden Kernsubstanzen, wie solche bei den Chromosomen, die KUWADA (1926) und SAKAMURA (1926) untersuchten, auch von den Veränderungen der Wasserstoffionenkonzentration in der Zelle abhängig sind, und daß die bei der Zelloperation hervorgerufene Permeabilitätsveränderung auf den pH-Wert in der Zelle eingewirkt hat. Über die Veränderungen der Permeabilität teilte bereits SCARTH (1927) mit, daß das Abnehmen des Turgors beim Anstechen der Zellen den osmotischen Druck in der Zelle vermindert, wobei ihre Permeabilität zunimmt.

BECHHOLD (1929) erklärte, daß je jünger die Zelle ist, um so weniger viskös sei der Kern. Ähnliche Veränderungen der Protoplasmazustände beobachtete M. A. VAN HERWERDEN (1925, 1926) in der alten und in der jungen gesunden Kultur. Diese allmählichen Veränderungen des Kolloidzustandes des Protoplasmas konnte ich auch durch die Anstichversuche der gezüchteten Staubfadenhaarzellen nachweisen. Je älter die Zelle ist, um so deutlicher koaguliert sich beim Anstechen das Protoplasma. Die Kulturzellen der Staubfäden bei 1 Tag alten erweisen fast keine anschaulichen Veränderungen ihres Kolloidzustandes im Vergleich zu den frischen Zellen, jedoch wiesen die Anstichversuche auf solche eine deutliche Zunahme der Empfindlichkeit für mechanische Eingriffe nach, wie man dieses aus den beiden Tabellen ersehen kann. Nach der Meinung LEPESCHKINS (1927 b) haben wahrscheinlich irgendwelche ungünstigen Bedingungen der Kultur in der Zuckerlösung auf das Dispersionsmittel des Protoplasmas eingewirkt.

Beim Zusammenfassen des Ergebnisse dieser Versuche füge ich hier die Zahl der Beobachtungsergebnisse hinzu, um die allgemeine Neigung der Protoplasmaveränderungen beim Anstechen übersichtlich zu machen.

Versuch 3. Anstich des Kerns

Gesamtzahl der angestochenen Zellen	Frische Zellen					Mehr als 1 Tag gezüchtete Zellen				
	geheilte		veränderte			geheilte		veränderte		
	11		19			1		13		
	binnen 1 Stunde	binnen 5 Stunden	verflüssigte		koagulierte	binnen 1 Stunde	binnen 5 Stunden	verflüssigte		koagulierte
			binnen 10 Minuten	binnen mehr als 10 Minuten				binnen 10 Minuten	binnen mehr als 10 Minuten	
44	7	4	7	6	6	0	1	4	1	8

Die Entstehung der Koagulation der Kernsubstanzen ist durch verschiedene Faktoren sehr verschieden, wobei man keinen Höhepunkt der Veränderungen erkennen kann.

Am Ende dieser Arbeit will ich noch einen interessanten Befund mitteilen. Über die Frage der Erhaltung der Chromosomenindividualität bestehen verschiedene Ansichten, hinsichtlich der Erhaltung der selbstständigen Chromosomenindividuen in der Interphase. Neuerdings nimmt BĚLAŘ (1929) an, daß „die im lebenden Ruhekern von *Tradescantia* so ungemein sinnfälligen Granula und Stäbchen die sichtbaren Überreste der Spiralfäden sind, wenn nicht überhaupt ihre optischen Querschnitte.“

Während meiner mikrurgischen Untersuchungen richtete ich meine besondere Aufmerksamkeit auf das Verhalten des Heraustretens der Kernsubstanzen in der Interphase sowie auch im ruhenden Zustande. Sticht man mit sehr feiner Nadel den Kern an der Wand, so bemerkt man, daß die Kernsubstanzen anstatt in der Form von einzelnen Granula sich als einige Fäden um den Stichpunkt etwas radial sammeln und aus der Wundstelle heraustreten (Tafel 23, Fig. 11). Wenn die Substanzen dauernd aus der Zelle treten und sich verflüssigen, so ordnen sie sich nacheinander radial um den Stich an und treten sodann kontinuierlich heraus. Dieses Verhalten der Kernsubstanzen stimmt mit einem solchen der prophasischen Kerne überein, in denen das Vorhandensein der Fäden im Kerne eine reale Tatsache ist. Entsprechend den Stellen des Stiches am Kerne zeigen die Kernsubstanzen beim Heraustreten eine gewisse wirbelähnliche Bewegung. Diese Erscheinung scheint mir auch von der Polfeldanordnung in der Interphase, die BĚLAŘ (1929) mitteilte, abhängig zu sein. Beim Herausziehen der Kernsubstanzen mit feiner Nadel treten sie zuerst in Form eines Fadens heraus, der Rest folgt wiederum als Faden den zuerst herausgetretenen Kernsubstanzen nach. Dieses Verhalten der Kernsubstanzen beim Heraustreten scheint mir zu zeigen, daß die Kernsubstanzen in den ruhenden Kernen nicht ein granuläres Klümpchen sondern eine Architektur irgendwelcher Art von verwickelten Fäden darstellt. Die herausgetretenen Kernsubstanzen quellen und verflüssigen sich zugleich, wobei man weder Fäden noch Granula wahrnehmen kann.

In Anbetracht des hier mitgeteilten Befundes bleiben noch die wichtige Probleme der morphogenetischen Kontinuität der Chromosomen künftigen genaueren Anstichversuchen der in der Teilung begriffenen Zelle vorbehalten.

Zusammenfassung

Die Ergebnisse meiner Anstichversuche an den Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* lassen sich wie folgt zusammenfassen :

1. Das Anstechen des Zytoplasmas mit sehr feiner Nadel ruft die Koagulation des Protoplasmas nur an der Stichstelle hervor, wobei die Zellen kaum an ihrer Lebenskraft leiden. Bei der Plasmolyse bleibt dieses Koagulat als ein Fortsatz der Zellmembran und trennt sich von Wandbelag des Protoplasmas ab. Die Einwirkung des Anstiches auf das Zytoplasma ist irreversible Gel-Bildung.

2. Beim Anstechen des Zytoplasmas mit dicker, aber stark gespitzter Nadel wirkt dieser mechanische Eingriff allseitig auf die Zelle ein, wobei das Zytoplasma sich ebenso auch mit dem Kerne koaguliert.

3. Die Einwirkung des Anstechens auf den Kern ist eine Art von reversibler Gel-Sol-Umwandlung. Beim Anstechen der Kerne vertieft sich die Kernoberfläche ein wenig, dann dringt die Nadel leicht in die Kernsubstanzen ein, wobei sich außer dem Widerstand zufolge der Oberflächenspannkraft keine morphologisch differenzierte Membran nachweisen läßt, die im Leben optisch isoliert werden kann. Durch die mechanischen Eingriffe entmischen sich die Kernsubstanzen zuerst, dann quellen sie an, wobei sie ganz homogen aussehen. Der angequollene Kern stellt sich unter Umständen wieder her, wobei die Heilung des Zytoplasmas immer früher vor sich geht.

4. Die durch den Kernstich hervorgerufenen gelösten Kernsubstanzen sind mit dem Zytoplasma sowie auch mit der Flüssigkeit in der Zelle nicht mischbar ; wenn sie dagegen durch den Stich aus der Zelle gebracht werden, verflüssigen sie sich im äußeren Medium von Rohrzuckerlösung und bilden ein visköses Hydrosol um die Stichstelle.

5. Das Verhalten des Heraustretens der Kernsubstanzen durch sehr feine Stiche erweist, daß die Kernsubstanzen in dem ruhenden Zustande nicht ein granuläres Klümpchen sondern eine Architektur irgendwelcher Art von verwickelten Fäden sind.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. emer. Dr. K. FUJII, der mir zu dieser Arbeit die wohlwollende Anregung gegeben hat, auch hier meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

August 1930.

Botanisches Institut, Naturwissenschaftl. Fakultät
d. Kaiserl. Universität zu Tokyo.

Literaturverzeichnis

- BECHHOLD, H. (1929), Die Kolloide in Biologie und Medizin. 5 Aufl., 312 ff.
- BĚLAŘ, K. (1929), Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. Untersuchungen an den Staubfadenhaarzellen und Blattmeristemzellen von *Tradescantia virginica*. Zs. Zellf. u. mik. Anat. 10: 73-134.
- CHAMBERS, R. (1924), The Physical Structure of Protoplasm as Determined by Microdissection and Injection. General Cytology: 235-310.
- HERWERDEN, M. A. van (1925), Reversible Gelbildung in Epithelzellen der Froschlarve und ihre Anwendung zur Prüfung auf Permeabilitätsunterschiede in der lebenden Zelle. Arch. exp. Zellf. 1: 1 5-159.
- (1926), Umkehrbare Gelbildung und histologische Fixierung. Protoplasma 1: 366-371.
- KUWADA, Y. and SAKAMURA, T. (1926), A Contribution of the Colloidchemical and Morphological Study of Chromosomes. Protoplasma 1: 239-254.
- LEPESCHKIN, W. W. (1927a), Mechanische Koagulation der lebenden Materie und Analogie zwischen Grundstoffen derselben und Explosivstoffen. Arch. exp. Zellf. 4: 212-254.
- (1927b), Über den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkungsart einiger Schutzstoffe. Protoplasma 2: 239-270.
- PÉTERFI, T. (1927), Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma lebender Zellen. II. Anstichversuche an *in vitro* gezüchteten Vogelmonozyten. Arch. exp. Zellf. 4: 155-164.
- und OLIVO, O. (1927), Die Wirkung des Anstechens auf das Protoplasma lebender Zellen. I. Anstichversuche an *in vitro* gezüchteten Myoblasten. Arch. exp. Zellf. 4: 149-154.
- SAKAMURA, T. (1926), Chromosomenforschung an frischem Material. Protoplasma 1: 537-565.
- SCARTH, G. W. (1927), The Structural Organization of Plant Protoplasm in the Light of Micrurgy. Protoplasma 2: 189-205.
- SEIFRIZ, W. (1921), Observation on some Physical Properties of Protoplasm by Aid of Microdissection. Ann. Botany. 35: 269-296.
- WADA, B. (1930), Mikrurgische Untersuchungen über die Entlassung der Spermatozoiden von *Isoëtes*. Cytologia 1: 285-307.

Tafelerklärung

Alle Mikrophotographien wurden mit Hilfe von LEITZ „Macca“ aufgenommen und nachher vergrößert. Vergr. ca. 840×. In einigen Figuren ist unten das Glasstäbchen sichtbar, welches ich zur Festhaltung der Zellen beim Anstich verwandte. *s* Stichstelle an der Zellmembran, *k* Zellkern.

Tafel 23

- Fig. 1. Im Moment des Zytoplasmaanstiches. Der Protoplasmafortsatz entwickelt sich um die Nadelspitze.
- Fig. 2. Die plasmolysierten Zellen nach dem Anstich. Das koagulierte Protoplasma an der Stichstelle bleibt als Fortsatz der Zellmembran.
- Fig. 3. Die koagulierte Zelle nach dem gröberen Anstiche des Zytoplasmas.

- Fig. 4. Der aufgelöste Kern, 3 Minuten nach dem Kernstiche. Ein Nukleolus im Kerne ist sichtbar; etwas schematisiert dargestellt in der Abb. 3 im Text.
- Fig. 5. Im Moment des Kernstiches. Etwas schematisiert dargestellt in der Abb. 1 im Text.
- Fig. 6. Derselbe, 3 Minuten nach dem Stiche. Der Kern quillt homogen an.
- Fig. 7. Derselbe, 5 Stunden nach dem Stiche. Der Kern sieht noch etwas angequollener aus, aber seine granuläre Struktur ist schon sichtbar.
- Fig. 8. Derselbe, 1 Tag nach dem Stiche. Die Zelle stellt sich allseitig wieder her.
- Fig. 9. Im Moment des Stiches auf das Tröpfchen von flüssiges Paraffin. Etwas schematisiert wiedergegeben in der Abb. 2 im Text.
- Fig. 10. Im Moment des Kernstiches.
- Fig. 11. Im Moment des Heraustretens der Kernsubstanzen durch die feine Stichstelle. Die Struktur der verwickelten Fäden beim ruhenden Kerne ist sichtbar.
-

Wada: Anstichversuche an den Zellen