

# PLASMOLYSEFORM- UND PLASMOLYSEZEIT-STUDIEN

Von **BAYOUMI HUSSEIN EL DERRY**

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz

Mit 3 Textfiguren

Eingegangen am 1. Juni 1929

Einleitung . . . . .	1
Methodisches . . . . .	5
Experimenteller Teil . . . . .	6
I. Die Beeinflussung der Plasmolyseform und -zeit durch die Konzentration des Plasmolytikums . . . . .	6
II. Die Abhängigkeit der Plasmolysezeit von der Temperatur . . . . .	11
III. Die Veränderung der Plasmolysezeit durch Narkotika . . . . .	15
IV. Plasmolysezeit und Wasserstoffionenkonzentration . . . . .	17
Diskussion der Ergebnisse . . . . .	20
Zusammenfassung . . . . .	31
Literatur . . . . .	32
Protokolle . . . . .	34

## Einleitung

Hugo de Vries hat 1877 „die Ablösung des lebenden Protoplasmas von der Zellwand durch wasserentziehende Mittel“ als Plasmolyse bezeichnet. Um diesen Vorgang zu illustrieren hat de Vries ein und dieselbe Zelle in fortschreitenden Stadien der Plasmolyse „schematisch dargestellt“. Diese Figuren sind in verschiedene Lehrbücher übergegangen; dabei wurde später vielfach nicht beachtet, daß es sich um schematische Bilder handelt; daraus ergab sich eine mit der Zeit immer mehr sich festsetzende irrige Vorstellung des zytologischen Bildes des „normalen“ Plasmolysevorganges. Wiederholt wurde von verschiedenen Autoren daran erinnert, daß die historisch an erster Stelle stehenden Beschreibungen und Abbildungen des später von de Vries als Plasmolyse bezeichneten Vorganges eine viel genauere und mehr naturgetreue Vorstellung des Vorganges vermitteln. Diese Beschreibungen stammen von

Pringsheim (1854) und von Naegeli (1855). Pringsheim schildert den Ablauf der Plasmolyse in überaus anschaulicher Weise:

„Nach und nach zieht sich die äußerste Plasmaschicht von der Zellwand zurück, aber die Scheidung erfolgt nicht wie die Trennung zweier Membranen mit glatter Begrenzung, sondern wie die Loslösung einer klebrigen Substanz von einer Haut, an der sie bisher adhärierte. Hier und da bleibt das Plasma an der Zellwand kleben, während es an anderen Stellen sich schon losgelöst hat; bald erscheint das von der Zellwand meist losgelöste, zusammenfallende Plasma nur noch durch einzelne Plasmafäden mit der Zellwand verbunden. Auch diese Fäden werden immer dünner, ziehen sich endlich entweder unter mannigfaltiger Gestaltsänderung ganz von der Zellwand ab und vereinigen sich zusammenfließend mit dem übrigen bereits losgelösten Plasma in eine gleichmäßige Schicht, oder reißen auch wohl ab, wodurch einzelne Plasmateilchen auch nach vollständiger Ablösung des sogenannten Primordialschlauches noch an der Zellwand klebend gefunden werden.“

In den Abbildungen, die Pringsheim und ebenso auch Naegeli von plasmolysierten Zellen gibt, entspricht die Plasmolyseform in der Mehrzahl der Fälle dem Typus, den man heute als „Konkave“ oder „Krampf“-Plasmolyse bezeichnet. In der Folgezeit wurden diese Plasmolyseform-Typen wenig beachtet, das Hauptaugenmerk richtete sich vielmehr — seit den klassischen Untersuchungen von de Vries — entweder auf das Stadium der Grenzplasmolyse oder auf denjenigen Typus der perfekten Plasmolyse, bei dem der Protoplast von kugeligen oder doch konvexen Flächen begrenzt wird. Die plasmolytische Methode wurde lange Zeit hindurch so gut wie ausschließlich zur Bestimmung des osmotischen Wertes bzw. der Permeabilität des Protoplasten verwendet und dazu eignet sich vor allem entweder das Stadium der Grenzplasmolyse oder (für die plasmometrische Methode Höflers) die konvexe Plasmolyseform.

Immerhin hat es auch in der klassischen Periode der physikalischen Chemie der Pflanzenzelle, die man mit J. Traube (1914) nach ihrem Hauptstudien-Objekt als „osmotische“ Periode bezeichnen könnte, nicht an Forschern gefehlt, die das Studium auch der anderen Stadien und Formen der Plasmolyse nicht ganz vernachlässigt haben. Einen recht vollständigen Überblick über diese isoliert und vereinzelt dastehenden Arbeiten hat Hecht (1912) gegeben. Hecht selbst hat in seinen „Studien über den Vorgang der Plasmolyse“ wichtige Grundlagen für das Verständnis der Plasmolyse geschaffen und zwar im Sinne der-

jenigen Arbeitsrichtung, welche durch die Analyse des Plasmolysevorganges Aufschlüsse über kolloidchemische Protoplastenprobleme zu gewinnen sucht. Neben Hecht war es vor allem Hansteen-Cranner (1919), der durch seine Beobachtung des Plasmolysevorganges im Dunkelfeld die Aufmerksamkeit auf die Verschiedenartigkeit des Plasmolysebildes lenkte. Aber erst seit den Studien von Cholodny (1924) und nach einer Reihe von Publikationen von Weber (1921, 1924, 1925) wurde auf die Mannigfaltigkeit der Plasmolyseformen und die Möglichkeit, aus diesen Formen Schlüsse auf den Zustand und die Zustandsänderungen des Zytoplasmas zu ziehen, allgemein geachtet.

Ein erstes Programm für Plasmolyseform-Studien hat Weber bereits 1921 dahin formuliert, daß es von Interesse wäre zu untersuchen, wie sich „der ganze Plasmolysevorgang gestaltet unter dem Einfluß verschiedener Temperaturen, von Narkoticis, verschiedener Salzlösungen“.

Ein Teil dieses Arbeitsprogrammes wurde von Weber selbst ausgeführt; bald darauf hat auch Weis (1925) in dieser Richtung gearbeitet.

In letzter Zeit fand die Plasmolyseform vor allem in den Arbeiten von Küster (1926) und seiner Schüler Mißbach (1927) und Timmel (1927) weitere Beachtung.

Der Vorteil der Plasmolyseform-Methode zur Orientierung über die Viskositätsverhältnisse des Protoplasten liegt vor allem in ihrer Einfachheit und darin, daß sie sich bei recht verschiedenem Zellmaterial anwenden läßt, auch dann, wenn die Anwendung anderer Methoden zur Bestimmung der Plasmaviskosität auf Schwierigkeiten stößt.

Ein Nachteil der Methode liegt dagegen darin, daß sie nur relativ grobe Unterschiede im Viskositätszustand des Protoplasmas aufzudecken vermag. Während die Haupttypen der Plasmolyseform (konvexe, konkave, eckige Plasmolyse) ohne weiteres leicht zu charakterisieren sind, fällt es schwer, die zahlreichen Übergänge zwischen diesen Formen genau und eindeutig zu präzisieren. Diese Übergänge sind aber sicherlich für bestimmte kolloide Zustände des Protoplasten ebenso kennzeichnend wie die Haupttypen.

Die Plasmolyseform-Methode — so wichtige Aufschlüsse sie auch zu geben vermag — läßt vor allem quantitativ messende Bestimmungen nicht zu. Dem Ziele, zahlenmäßige Bestimmungen vorzunehmen, kommt man näher, wenn beim Studium des Plasmolysevorganges nicht nur die „Form“ allein, sondern auch die „Zeit“ berücksichtigt wird. Merkwürdigerweise wurde bisher bei Plasmolyse-Studien der Zeitfaktor so gut wie gar nicht beachtet. Die Zeit, welche erforderlich ist, um eine

bestimmte Plasmolyseform zu erreichen, ist aber ebenso charakteristisch und aufschlußreich wie die Plasmolyseform selbst.

Als Plasmolysezeit soll hier mit Weber (1929) diejenige Zeitdauer verstanden werden, die verstreicht vom Moment des Einlegens der Zelle in das Plasmolytikum bis zur Erreichung der konvexen Plasmolyseform.

Es wäre vielleicht exakter, als Plasmolysezeit diejenige Zeitdauer zu bezeichnen, die vom Beginn der Grenzplasmolyse bis zur Erreichung der konvexen Plasmolyseform verstreicht. Die Zeitdauer vom Moment des Einlegens der Zelle oder des Gewebes in das Plasmolytikum bis zum Sichtbarwerden der Grenzplasmolyse — man kann sie etwa als Grenzplasmolysezeit bezeichnen — käme dann in der Plasmolysezeit nicht zum Ausdruck. Die Grenzplasmolysezeit selbst kann stark variieren und hängt vor allem von der Permeabilität der Zellmembran für das Plasmolytikum ab, für das ja Zellulosemembranen anders durchlässig sind als verholzte oder kutinisierte Zellwände. Auch der Grad der Membranverdickung spielt für die Durchlässigkeit jedenfalls eine Rolle. Bei geeignetem Zellmaterial mit für das Plasmolytikum leicht permeablen Zellwänden tritt aber jedenfalls die Grenzplasmolyse so rasch ein, daß die Grenzplasmolysezeit für die Bestimmung der Plasmolysezeit gar nicht ins Gewicht fällt und daher praktisch vernachlässigt werden kann. In diesen Fällen ist es dann aber zulässig, bei Bestimmung der Plasmolysezeit als erste Zeitmessung den Moment des Einlegens in das Plasmolytikum zu verwenden, wodurch sich die Methode vereinfacht.

Die Plasmolysezeit schwankt innerhalb sehr weiter Grenzen; sie kann praktisch fast gleich Null sein; dies ist dann der Fall, wenn die Zelle sofort beim Einlegen in das Plasmolytikum unter konvexer Form zu plasmolysieren beginnt (eintretende konvexe Plasmolyse nach Höfler, 1918), sie kann aber auch unendlich sein, wenn der Protoplast der plasmolysierten Zelle unter den gegebenen Bedingungen überhaupt niemals die konvexe Plasmolyseform erreicht (z. B. bei Krampfplasmolyse, wie sie unter dem Einfluß des Kupfer- oder Aluminium-Ions auftritt).

Alle Zeitwerte zwischen 0 und  $\infty$  finden sich realisiert. Indem die Plasmolysezeiten bestimmt werden, ergibt sich ein zahlenmäßig faßbarer Ausdruck des Plasmolyseverlaufes und für den diesen bedingenden Zustand des Protoplasmas.

Die vorzüglichste Aufgabe der vorliegenden Arbeit besteht nun darin, die Brauchbarkeit der Plasmolysezeit-Methode für die Lösung zellphysiologischer Fragen zu prüfen.

Die Beziehungen der Plasmolysezeit-Methode zur Plasmolyseform-Methode brachten es mit sich, daß im Laufe der Untersuchungen auch weitere Beobachtungen über Plasmolyseform gemacht werden konnten.

Die Anregung zu vorliegender Untersuchung verdanke ich Herrn Professor Dr. Friedl Weber.

Zu Dank bin ich ferner verpflichtet Herrn Dr. Siegfried Strugger für seine vielseitige Hilfe vor allem auch bei der Darstellung der Ergebnisse.

### Methodisches

Zunächst verwendete ich zum Studium der oben aufgeworfenen Fragen Blätter von *Helodea canadensis* als Versuchsmaterial. Dieses Versuchsobjekt hat jedoch den Nachteil, daß perfekte konvexe Plasmolyse oft erst sehr spät eintritt, und daß das plasmolytische Verhalten der *Helodea*-Blattzellen zu verschiedenen Jahreszeiten selbst bei möglichst gleich gestalteten Versuchsbedingungen recht verschieden sein kann. Da gerade dieser letztere Umstand für Serienversuche, wie sie bei der vorliegenden Untersuchung unbedingt durchgeführt werden müssen, keinesfalls günstig ist, so wurde mit *Helodea* nur eine Reihe orientierender Versuche durchgeführt. Dieselben ergaben, daß sich die *Helodea*-Blattzellen im wesentlichen in bezug auf die Plasmolysezeit und ihre Veränderungen ebenso verhalten wie die später als Hauptversuchsobjekt verwendeten Spirogyren.

Vorversuche mit *Spirogyra* zeigten dann, daß dieses zellphysiologisch so gut bekannte Objekt auch zu Plasmolysezeit-Studien sich sehr gut eignet. Diese Alge stellt im bezug auf Plasmolyseform-Studien ein schon wiederholt verwendetes Objekt dar. An *Spirogyra* sind vielfach Untersuchungen über die Beeinflussung der Plasmolyseform durch äußere und innere Faktoren durchgeführt worden (Weber, 1924). Außerdem ist es bei *Spirogyra* besonders leicht, gerade an der Plasmolyseform geschädigte Zellen zu erkennen; Algenfäden, an denen benachbarte Zellen verschiedene Plasmolyseformen zeigen, sind als geschädigt zu bezeichnen und kommen für die Versuche daher nicht in Betracht. In geeigneten Konzentrationen tritt bei gesundem Material in kurzer Zeit runde, perfekte Plasmolyse ein. Die zu den Versuchen verwendeten Spirogyren stammten immer vom selben Standorte und wurden in großen Glasgefäßen gehalten. Dabei zeigte es sich, daß bei ungefähr einwöchiger Kulturdauer, bisweilen auch schon früher, sich der physiologische Zustand der Spirogyren merklich veränderte. Während vom frisch gehaltenen Material die Protoplasten — wie erwähnt — in geeigneter Konzentration des Plasmolytikums in kurzer Zeit perfekte runde Plasmolyse zeigten, war die Abrundungsdauer (Plasmolysezeit) bei älterem, d. h. länger in Kultur stehendem *Spirogyra*-Material ganz bedeutend erhöht. Wie später noch auszuführen sein wird, spielt offenbar die Veränderung in der Wasserstoffionenkonzentration des Kulturwassers dabei eine wichtige Rolle. Aus diesem Grunde war es angezeigt, möglichst oft, zumindest jede Woche, frisches Material zu den Untersuchungen zu beschaffen. Um Versuchsergebnisse, die einen Vergleich zulassen, erhalten zu können, war es eine wesentliche methodische Forderung, möglichst viele Serienversuche an einem Tage anzustellen. Es wurde mit zwei verschiedenen Species experimentiert; da sie nicht zur Kopulation kamen, war eine sichere

Bestimmung nicht möglich, doch kann — da das Material gut bekannten Standorten entnommen wurde, an denen die betreffenden Arten alljährlich auftreten und gelegentlich auch zur Kopulation kommen — angenommen werden, daß es sich einerseits um *Spirogyra crassa*, andererseits um *Spirogyra varians* handelt.

Als Plasmolytikum wurde bei allen Versuchen Saccharose puriss. benutzt, und zwar in Leitungswasser gelöst. Destilliertes Wasser verwendete ich deshalb nicht zum

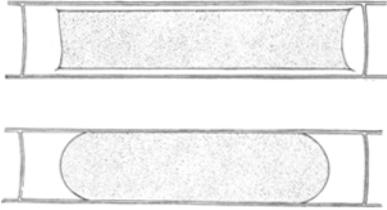


Fig. 1



Fig. 2

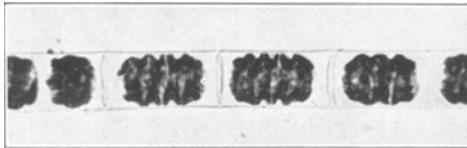


Fig. 3

Herstellen des Plasmolytikums, da es infolge seiner durch den Kohlensäuregehalt bedingten Wasserstoffionenkonzentration schädigend auf das Protoplasma einwirkt. Aus den Untersuchungen von Sakamura und Loo (1925) geht hervor, daß *Spirogyra* in stärker sauren Lösungen erheblich geschädigt werden kann, und daß schon relativ kleine Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration bei diesem Objekt eine bedeutende Veränderung der Plasmaviskosität hervorrufen. Aus diesem Grunde wurde Brunnenwasser als Lösungsmittel benutzt, dessen pH infolge geringer Pufferung wenigstens für einige Stunden relativ konstant ist (pH 7,6) und für *Spirogyra* nicht ungünstig zu sein scheint.

Dadurch wurde die Gefahr einer Schädigung durch die Wasserstoffionen des Plasmolytikums nach Möglichkeit eingeschränkt.

Die Behandlung des Materials wurde mit möglichster Sorgfalt durchgeführt, um mechanische Schädigungen auszuschalten, gegen die — wie Lepeschkin (1924) gezeigt hat — *Spirogyra* besonders empfindlich ist.

Wie im nächsten Abschnitt zu erörtern sein wird, kommen für die vorliegenden Untersuchungen von den bei *Spirogyra* möglichen bzw. bereits bekannten Plasmolyseformen vor allem die „eckige“ und die „konvexe“ Plasmolyseform in Betracht. Es seien daher an dieser Stelle Abbildungen dieser beiden Plasmolyseformen gegeben und zwar einerseits eine halbschematische Darstellung (Fig. 1) (entnommen der Monographie von Heilbrunn) und andererseits mikrographische Aufnahmen dieser Plasmolysetypen (Fig. 2 und 3).

## I. Die Beeinflussung der Plasmolyseform und -zeit durch die Konzentration des Plasmolytikums

Abgesehen von den besonders eigenartigen Formen der Plasmolyse, der „Schraubenplasmolyse“ (Weber, 1925), die unter der oligodynamischen Wirkung des Kupferions auftritt, und der „Krampfplasmolyse“

(Weber, 1925), die unter dem Einfluß des Aluminiumions sich einstellen, sind es bei *Spirogyra* vor allem die konvexe und die eckige Plasmolyse, die besonders häufig zur Beobachtung kommen. „Eckige“ Plasmolyse, ein Anzeichen erhöhter Plasmaviskosität, kann sowohl als allererstes Symptom des Unwohlbefindens bei veränderten Kulturbedingungen im Laboratorium auftreten, oder willkürlich durch Kältewirkung hervorgerufen werden, oder aber auch „spontan“ sich zeigen bei einem Algenmaterial, das seinen physiologischen Zustand geändert hat, indem es aus dem rein vegetativen Zustand heraus in das Vorstadium der Kopulation eintritt.

Die im folgenden zu schildernden Versuche wurden unternommen, um zu prüfen, ob bei einem im typisch vegetativen Stadium befindlichen *Spirogyra*-Material, das unter gewöhnlichen Plasmolysebedingungen konvexe Plasmolyseform aufweist, durch Erhöhung der Konzentration des Plasmolytikums eckige Plasmolyse hervorgerufen werden kann. So weit uns bekannt, liegen in der Literatur nur ganz wenige Angaben vor, daß der Plasmolyseablauf je nach der Konzentration des Plasmolytikums verschieden vor sich geht. Strasburger (1901) hat gefunden, daß sich in Kalisalpeterlösung bei der Plasmolyse die Fadenbildung erst bei Anwendung stärkerer Konzentrationen einstellt. Bei Blättern von *Mnium affine* vollzog sich die Plasmolyse unter Einwirkung von 5—7% Salpeterlösung mit glatten Umrissen, während eine 12% Salpeterlösung den Rückzug des Protoplasten unter starker Fadenbildung zur Folge hatte. Strasburger ist daher der Ansicht, daß die klebrige Beschaffenheit der Protoplasmahautschicht, auf der das Fadenziehen bei Plasmolyse beruht, häufig erst bei Anwendung stärker plasmolysierender Lösungen zustande kommt und somit eigentlich erst eine Folge der Wirkung dieser letzteren ist. „Mit schwächeren Lösungen lassen sich in dem gleichen Falle oft glatte Ablösungen erlangen. Also könnte Wasserentziehung die Viskosität der Hautschicht bedingen, beziehungsweise das stärkere Anhaften dieser Hautschicht an der Zellwand veranlassen.“

Diesen Einfluß der Konzentration des Plasmolytikums konnte Strasburger ebenso bei *Pteris*-Prothallien sowie auch bei höheren Pflanzen, so bei Blättern von *Viscum* beobachten, wo nur mit einer besonders hohen Salzkonzentration (20%) Fadenbildung konstant zu erreichen ist. Bei anderen Pflanzen soll sich dagegen nach Strasburger der Einfluß der Konzentration auf die Fadenbildung nicht erweisen lassen. Schon vor Strasburger hatten Gardiner (1884) und Chodat und Bouvier (1898) ähnliche Beobachtungen gemacht.

Gardiner hat beobachtet, daß bei einer stärkeren Konzentration des Plasmolytikums (Kochsalz) das Protoplasma mit dickeren Strängen an der Wand haften bleibt, dagegen feinere Fäden gebildet werden, bei verdünnteren Lösungen. Er führt die Wirkung der konzentrierteren Lösungen auf eine teilweise Gerinnung des Protoplasmas zurück.

Er sagt darüber wörtlich: "I employed as dehydrating agents solutions of common salt of the following strengths viz. 2.5 p. c., 5 p. c. and 10 p. c. and I was able to demonstrate not only that by the action of strong solutions the protoplasm suffers apparent partial coagulation, separates with difficulty from cell-wall, and is then frequently connected to the cell-wall by somewhat thick strands in addition to the finer ones which may also be present, but also that when the plasmolytic condition is more gradually induced by the use of dilute solutions the contracted protoplasmic body remains connected to the cell-wall by excessively fine strands which may at first be invisible, but subsequently come into view."

Auch Chodat und Bouvier geben an, daß bei Steigerung der Konzentration des Plasmolytikums die Fadenbildung stärker ausgeprägt erscheint.

Nachdem die Steigerung der Fadenbildung ebenso wie die eckige Plasmolyse auf einer Erhöhung der Plasmaviskosität beruhen dürfte, war nach diesen oben erwähnten Befunden zu erwarten, daß auch die Bildung eckiger Plasmolyseformen bei *Spirogyra* durch Erhöhung der Konzentration des Plasmolytikums gefördert werden würde.

Schon die ersten Versuche sowohl mit *Spirogyra varians* als auch mit *Spirogyra crassa* ergaben, daß tatsächlich bei starken Abstufungen in der Konzentration des Plasmolytikums auch tiefergreifende Unterschiede in der Plasmolyseform sich zeigen. Werden die Algen mit 20% Rohrzuckerlösung plasmolysiert, so tritt typische konvexe Plasmolyse ein. Die Abrundung des sich plasmolytisch kontrahierenden Protoplasten erfolgt entweder sofort vom Anfang an oder aber doch binnen kürzester Zeit.

Bei Verwendung von 40% Rohrzucker als Plasmolytikum dagegen tritt ausschließlich nur eckige Plasmolyse ein, eine Abrundung des Protoplasten erfolgt entweder überhaupt nicht oder doch erst sehr spät und auch dann meist nur in ganz unvollkommener Weise.

Es ergab sich nun die weitere Frage, ob auch bei weniger weit voneinander liegenden Abstufungen in der Konzentration des Plasmolytikums der Zustand des Protoplasmas so geändert wird, daß sich die

Änderung im Verlauf der Plasmolyse zu erkennen gibt. Wie bereits eingangs erwähnt, ist die Beobachtung der Plasmolyse-Form nicht geeignet, besonders geringfügige Änderungen aufzudecken oder doch objektiv zahlenmäßig darzustellen, da ja die feineren Übergänge der Plasmolyseform von konvex zu eckig nur schwer faßbar sind und das subjektive Moment bei der Beurteilung solcher kleinen Unterschiede in der Form eine Fehlerquelle bedeuten müßte. Die hier gestellte Aufgabe war daher nur mit einer empfindlicheren Methode lösbar und es wurde versucht, zu diesem Zweck die eingangs in ihrem Wesen dargelegte Plasmolysezeit-Methode heranzuziehen; für den Fall, daß sie sich dabei bewährte, war zugleich damit ein Beispiel und Beweis für die Brauchbarkeit dieser neuen Methode gegeben.

Die Versuche wurden so durchgeführt, daß gleichzeitig immer die Wirkung von je drei verschiedenen Konzentrationen des Plasmolytikums auf gleichartiges Versuchsmaterial studiert wurde. Die Ergebnisse, welche aus einer solchen Versuchsreihe resultieren, sind dann untereinander vollkommen vergleichbar. Gearbeitet wurde je nach dem Material mit 25%, 30%, 40% oder mit 20%, 25%, 30% Rohrzuckerlösung. Für jeden Versuch wurde genügend reichlich *Spirogyra*-Material verwendet, um die Dauer der Abrundung des Protoplasten feststellen zu können. Bei gesundem Algenmaterial ist das Verhalten der Zellen in bezug auf die Plasmolysezeit durchaus einheitlich. Zellfäden, die sich infolge irgendwelcher Schädigungen offensichtlich abnormal verhalten, bleiben unberücksichtigt.

Es folgen im Anhang die betreffenden Versuchsprotokolle. Die mit römischen Zahlen bezeichneten Versuchsreihen wurden an einem Tage serienweise durchgeführt. Diese Ergebnisse können unmittelbar untereinander verglichen werden. Die Ergebnisse der an verschiedenen Tagen durchgeführten Versuchsreihen dürfen dagegen nur in relativer Hinsicht zum Vergleich untereinander herangezogen werden und zwar aus folgendem Grunde:

Bezeichnet man die mit der schwächsten Konzentration des Plasmolytikums erzielte Plasmolysezeit als Grundwert der Plasmolysezeit, so ist — wie aus den Tabellen ersichtlich — an den verschiedenen Versuchstagen dieser Grundwert nicht gleich. Dies hat seine Ursache darin, daß eben der Protoplasmazustand der Algenzellen — vermutlich infolge geringer Änderung in den Kulturbedingungen — an den verschiedenen Tagen, wenn auch nur in geringem Grade, verschieden ist.

Als physiologisch vollkommen gleichwertig und in bezug auf die Plasmolysezeiten direkt vergleichbar wäre demnach nur dasjenige Algenmaterial zu bezeichnen, bei dem bei gleicher Konzentration des Plasmolytikums der Grundwert der Plasmolysezeit derselbe ist.

### Ergebnis

Aus den tabellarisch mitgeteilten Plasmolysezeiten läßt sich eindeutig die Tatsache folgern, daß die Plasmolysezeit durch Unterschiede in der Konzentration des Plasmolytikums beeinflußt wird. Je geringer die Konzentration des Plasmolytikums ist, desto kürzer ist die Plasmolysezeit. Je höher die Konzentration des Plasmolytikums ist, desto länger ist die Plasmolysezeit. Bei sehr stark hypertonischen Konzentrationen (40% Rohrzucker) wird die Plasmolysezeit unendlich, das heißt es kommt überhaupt nicht mehr zur Abrundung des Protoplasten. Es resultiert sonach für dauernd die eckige Plasmolyseform. Man sieht gerade in diesem Falle, wie innig die Plasmolyseform und -zeit zusammenhängen. Es läßt sich weiterhin erkennen daraus, daß beide Methoden sich gut ergänzen: die Plasmolyseform läßt extremere Zustandsänderungen des Plasmas erkennen, während die Plasmolysezeit-Methode es gestattet, den dazwischenliegenden Bereich messend zu untersuchen.

Es hat sich gezeigt, daß die Empfindlichkeit der Plasmolysezeit-Methode derartig groß ist, daß es mit ihr möglich wird, physikochemische Zustandsänderungen des Protoplasten, welche bei einer Veränderung der Konzentration des Plasmolytikums von 5 zu 5% vor sich gehen, noch zu erfassen.

Die Deutung des Ergebnisses dieses Abschnittes im Zusammenhang mit der gegebenen Literatur soll in der Diskussion erörtert werden.

Nur auf eine sich aus den obigen Versuchsergebnissen ergebende Folgerung soll schon an dieser Stelle besonders aufmerksam gemacht werden:

Die große Empfindlichkeit der Plasmolysezeit-Methode und die Tatsache, daß der im obigen definierte Grundwert der Plasmolysezeit bei sonst nicht erkenntlichen Änderungen im Protoplasmazustand der Zellen zahlenmäßig faßbare Unterschiede aufweist, läßt die Plasmolysezeit-Methode zugleich als eine außerordentlich empfindliche Methode erscheinen zur Prüfung von Zellmaterial auf „physiologische Identität“.

Ulehla und Moravek (1924) haben in der Arbeit "On a new method of stating the physiological identity" auf die dringliche Notwendigkeit hingewiesen, insbesondere bei zellphysiologischen Untersuchungen ein "standard testing" zur Feststellung der physiologischen Identität des Versuchsmaterials vorzunehmen, und zwar verwendeten die genannten Autoren bei ihren Studien an *Basidiobolus ranarum* das unter bestimmten Bedingungen sich einstellende Platzen der Hyphen-Spitzen als Kriterium der physiologischen Identität.

Weber (1925) hat in einem Aufsatz „Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit“ weitere Beispiele für die Notwendigkeit und Möglichkeit der Prüfung auf physiologische Identität beigebracht und unter anderem darauf hingewiesen, daß die Beobachtung der Plasmolyseform die Unterscheidung differenter Zellzustände gestattet. Es braucht in diesem Zusammenhange nicht näher ausgeführt zu werden, daß sich die Plasmolysezeit-Methode als weitere Methode zur Feststellung physiologischer Identität von Zellen besonders eignen wird und zwar erstens wegen ihrer besonders großen Empfindlichkeit, zweitens aber auch deshalb, weil ihr Anwendungsbereich für die verschiedensten Typen von Pflanzenzellen geradezu unbeschränkt ist.

## II. Die Abhängigkeit der Plasmolysezeit von der Temperatur

Über die Veränderungen, welche die Viskosität des Protoplasmas pflanzlicher Zellen unter dem Einfluß von Erhöhung oder Erniedrigung der Temperatur erleidet, liegen bereits verschiedene Beobachtungen vor. So hat Němec (1901) beobachtet, daß in den Zellen der Wurzelspitze von *Vicia faba* die „Statolithenstärke“ und die Zellkerne bei niederen Temperaturen unter dem Einfluß der Schwerkraft viel langsamer sinken als bei höheren Temperaturen. Diese Herabsetzung der Verlagerungsgeschwindigkeit läßt auf eine Erhöhung des Widerstandes, das ist der Zytoplasmaviskosität, schließen. Němec äußert sich darüber in folgender Weise:

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

dickflüssiger geworden. Da man keine erhöhte Wasserabgabe durch die Einwirkung der niedrigen Temperatur an den Wurzeln feststellen kann, die nicht am ehesten eine Erhöhung des spezifischen Gewichtes des Protoplasmas verursachen könnte, so ist eher an die zweite Erklärung zu denken, nämlich daß das Protoplasma dickflüssiger geworden ist.“ Eingehendere Beobachtungen über die Temperaturabhängigkeit der Plasmaviskosität ebenfalls mit der Fallmethode haben F. und G. Weber (1917) an den Stärkescheidenzellen des Epikotyls von *Phaseolus multiflorus* angestellt. Es ergab sich auch hier, daß die Fallzeit der Stärke und mithin die Viskosität des Plasmas mit fallender Temperatur zunimmt. Zu dem gleichen Ergebnis kamen Weber und Hohenegger (1923) in Versuchsreihen, die die mögliche Fehlerquelle der Viskositätsänderung durch Verletzung bei der Präparation ausschließen. Die zuletzt genannten Autoren haben auch den Einfluß niederer Temperaturen auf den Verlauf der Plasmolyse bei *Spirogyra* untersucht und zwar wurden die Versuchsobjekte einerseits bei Temperaturen zwischen 1 und 3° C gehalten, andererseits bei Zimmertemperatur.

Über das Ergebnis dieser Versuche wird folgendes mitgeteilt: „Werden die kalten und die warmen Spirogyren gleichzeitig in das Plasmolytikum gebracht, so erfolgt der Beginn der Plasmolyse in der kalten Zuckerlösung bei den kalten Algen mindestens 5 Minuten später als bei den warmen in der warmen Lösung. Aber auch der Fortgang der Loslösung des Protoplasten ist bei den verschiedenen Temperaturen verschieden. Bei 2° C haftet das Protoplasma stärker an den Querwänden und vermag sich selbst noch bei weit fortgeschrittenem Grade der plasmolytischen Kontraktion nicht davon loszulösen oder bleibt doch wenigstens mit breiten, schon bei schwacher Vergrößerung sichtbaren Strängen mit der Membran in Verbindung. Bei Zimmertemperatur dagegen, wo sich der Plasmolysebeginn früher einstellt, findet das Loslösen auch von den Querwänden leicht und frühzeitig statt, und die Abrundung des Protoplasten wird durch keine bei Hellfeldbeleuchtung sichtbaren Plasmastränge behindert.“ Es wird hier also einerseits eine Begünstigung des Auftretens von eckigen Plasmolyseformen durch die niedere Temperatur festgestellt, außerdem eine Verzögerung des Auftretens der Plasmolyse oder, wie es nach der in der Einleitung gegebenen Begriffsbestimmung auch ausgedrückt werden kann, eine Erhöhung der Grenzplasmolysezeit.

Daß Erwärmung die Abkuglung der plasmolysierten Protoplasten begünstigt (also nach der hier eingeführten Terminologie die Plasmolyse-

zeit verkürzt), hat übrigens bereits de Vries (1885) kurz angedeutet, indem er sagt, daß durch Erwärmen das Ankleben der plasmolysierten Protoplaste an die Zellhaut vermindert und ihr Streben zur Abrundung dadurch begünstigt wird.

Nach diesen in der Literatur vorliegenden Angaben war es naheliegend, mit Hilfe der Plasmolysezeit-Methode den Einfluß der Temperatur auf den Protoplasmazustand der *Spirogyra*-Zellen genauer zu verfolgen.

Die Versuche wurden im Herbst 1928 mit *Spirogyra crassa* durchgeführt. Die Algen wurden außer bei Zimmertemperatur (17° C) vor den Plasmolyseversuchen einerseits bei niedriger, andererseits bei erhöhter Temperatur gehalten und zwar bei ungefähr plus 10° C (zwischen den Fenstern), bei Temperaturen, die an verschiedenen Tagen zwischen minus 1° und plus 10° C betragen (vor dem Fenster) und im Thermostaten bei plus 25° bis 30° C. Die Beleuchtungsverhältnisse waren bei diesen verschiedenen Aufbewahrungsorten allerdings verschieden, doch hat — wenn genügend große Kulturgefäße verwendet werden — ein Aufenthalt bei verschiedenen Lichtintensitäten, wenn er nicht länger dauert als es die Versuchsanordnung erfordert, soweit sich feststellen ließ, auf die Plasmolysezeit keinen merklichen Einfluß, so daß angenommen werden darf, daß außer dem variierten Faktor, nämlich der Temperatur die übrigen maßgebenden Faktoren gleich geblieben sind. Nach den Ergebnissen des vorhergehenden Abschnittes war es natürlich vor allem auch nötig, zur Plasmolyse immer ein Plasmolytikum von gleicher Konzentration zu nehmen, und zwar wurde durchweg 25% Rohrzuckerlösung verwendet.

Die Spirogyren wurden mindestens 30 Minuten, in der Regel aber 60 Minuten bei der jeweiligen Versuchstemperatur gehalten, so daß sie während dieser Zeit die betreffende Temperatur angenommen haben mußten. Auch die Plasmolytika wurden, bevor sie zur Anwendung kamen, in allen Temperaturstufen auf die entsprechende Temperatur gebracht. Das Ausgangsmaterial bildete stets das bei Zimmertemperatur gehaltene Algenmaterial, so daß es sich bei den meisten Versuchen (die Thermostatenversuche ausgenommen) um die Wirkung der Temperaturerniedrigung handelte.

Direkt vergleichbar waren, wie bei den Versuchen des vorhergehenden Abschnittes, stets nur die Versuche derjenigen Serien, die an ein und demselben Tage (womöglich) gleichzeitig durchgeführt wurden.

### Ergebnis

Aus den Protokollen ist folgendes ersichtlich:

Die Plasmolysezeit ist in hohem Maße von der Temperatur abhängig. Bei vorherigem Aufenthalt bei  $0^{\circ}\text{C}$  rundet sich der Protoplast während der Beobachtungszeit entweder überhaupt nicht ab, die Plasmolysezeit ist dann, praktisch genommen, unendlich, es resultiert dauernd die eckige Plasmolyseform. Oder aber die Abrundung des Protoplasten geht sehr langsam vor sich, die eckige Plasmolyseform bleibt lange Zeit hindurch bestehen, konvexe Plasmolyse wird sehr spät erreicht, die Plasmolysezeit ist lang.

Im Temperaturintervall von  $0$  bis plus  $10^{\circ}\text{C}$  verringert sich die Plasmolysezeit mit steigender Temperatur sehr beträchtlich, während bei  $0$  — wenn überhaupt Abrundung der Protoplaste eintrat — Plasmolysezeiten von 160 Minuten gemessen wurden, war die Plasmolysezeit bei  $10^{\circ}$  nur etwa 50 bis 60 Minuten. Bei weiterem Temperaturanstieg findet im Intervall von  $10$  bis  $20^{\circ}$  ebenfalls noch ein Abfall der Plasmolysezeit statt, der aber nicht mehr ganz so steil ist als im Temperaturintervall von  $0$  bis plus  $10^{\circ}$ , so daß bei  $20^{\circ}$  die Plasmolysezeiten etwa 30 Minuten betragen.

Steigt die Temperatur weiter, so erhält man im Intervall von  $20$  bis  $30^{\circ}\text{C}$  sehr stark variierende Plasmolysezeiten. Dies bringt es mit sich, daß die Zahl der bei höherer Temperatur durchgeführten Versuchsserien nicht mehr ausreicht, um ein vollkommen eindeutiges Resultat zu erzielen. Es kann aber jedenfalls über das Verhalten der Plasmolysezeiten in diesem obersten Temperaturintervall gesagt werden, daß eine wesentliche regelmäßige weitere Abkürzung der Plasmolysezeiten gegenüber denjenigen bei etwa  $20^{\circ}$  nicht mehr beobachtet wird, daß vielmehr häufig bei Temperaturen über  $25^{\circ}$  eine neuerliche Verlängerung der Plasmolysezeit einsetzt. Zugleich häufen sich die abnormalen Plasmolysebilder nach dem Typus der Krampfplasmolyse, ein Zeichen, daß eine Schädigung der Zellen einzusetzen beginnt. Die Erhöhung der Plasmolysezeit bei Temperaturen über  $25^{\circ}\text{C}$  muß also wohl als ein Symptom pathologischer Veränderungen im Protoplasten gewertet werden. Leider fehlen Versuchsreihen, welche die Frage entscheiden würden, ob diese pathologischen Veränderungen bei rechtzeitiger Rückversetzung der Spirogyren in normale (d. h. tiefere) Temperaturen zunächst noch reversibel sind.

Eine graphische kurvenmäßige Darstellung der Abhängigkeit der Plasmolysezeit von der Temperatur läßt also ein Minimum (Tiefpunkt

der Kurve) bei Temperaturen von etwa 20 bis 25° C erkennen; das Ansteigen links von diesem Tief stellt den physiologischen Ast der Kurve dar, das Ansteigen rechts vom Minimum den pathologischen.

### III. Einfluß der Narkotika auf die Plasmolysezeit

Nach Weber (1925) plasmolysieren Spirogyren, welche normalerweise in 20% Rohrzucker „eckige“ Plasmolyse zeigen, nach Vorbehandlung in 2% Ätherwasser typisch „konvex“. Bei diesen damaligen Plasmolyseform-Studien beziehen sich die Bezeichnungen „eckige“ bzw. „konvexe“ Plasmolyseform auf die ersten Plasmolysestadien möglichst bald nach Einlegen in das Plasmolytikum. Auf die Plasmolysezeit wurde dabei insofern nicht Rücksicht genommen, als auf ein eventuelles Abrunden zunächst eckig plasmolysierter Protoplaste in einem späteren Zeitpunkte nicht geachtet wurde. Aus den erwähnten Plasmolyseform-Unterschieden der ätherisierten und nicht ätherisierten Spirogyren wurde eine Herabsetzung der Viskosität der Protoplasmagrenzschicht erschlossen. Einen zahlenmäßigen Ausdruck der Wirkung der Narkotika konnten diese Plasmolyseform-Studien nicht erbringen, sie wären daher auch nicht geeignet, den Wirkungsgrad verschiedener Narkotika miteinander vergleichen zu lassen. Die im folgenden zu schildernden Versuche sollten prüfen, ob die Plasmolysezeit-Methode die Wirkungsweise der Narkotika auf die Plasmaviskosität — zunächst im Vergleich zu den Zellen im Narkotikum — freier Kontroll-Kultur-Medien bis zu einem gewissen Grad der Genauigkeit zahlenmäßig zu ermitteln gestattet.

Erst wenn dieser Nachweis erbracht ist, können spätere Narkosestudien die Plasmolysezeit-Methode zu vergleichenden Untersuchungen über die Wirkungsstärke verschiedener Narkotika heranziehen, was ja bei Untersuchungen über die Theorie der Narkose unerlässlich ist.

Auch bei den Narkoseversuchen war *Spirogyra crassa* das Studienobjekt. Als Plasmolytikum wurde 30% Rohrzuckerlösung verwendet.

Als Narkotika wurden herangezogen: Ätherwasser, und zwar in Konzentrationen von 1 und 2% in Leitungswasser gelöst; Chloralhydrat, 1 und 1,5% in Leitungswasser; Chloroform in starker Verdünnung meist 1% der gesättigten Lösung. Die Hauptversuche wurden mit Ätherwasser durchgeführt, gegen Chloroform zeigte sich *Spirogyra* sehr empfindlich, es wurden damit nur relativ wenig orientierende Versuche durchgeführt. Die Versuche wurden so vorgenommen, daß die Algen vor der Plasmolyse in verschlossenen Gläsern 10 Minuten bis eine

Stunde in der betreffenden Narkotikumlösung vorbehandelt wurden, dann kamen sie in das Plasmolytikum, dem ebenfalls das gleiche Narkotikum in derselben Konzentration zugesetzt wurde; für diese Versuche wurde der Zucker also nicht in Leitungswasser sondern gleich in der betreffenden Narkotikumlösung gelöst. Die Kontrollalgen wurden ebenso lange in verschlossenen Gläsern in narkotikumfreiem Leitungswasser gehalten und dann in das narkotikumfreie Plasmolytikum übertragen. Eigene Versuche haben gezeigt, daß der geringfügige Grad, um den die Zuckerkonzentration des narkotikumhaltigen Plasmolytikums durch Zusatz des Narkotikums verschieden sein konnte von der Konzentration des narkotikumfreien Plasmolytikums für die Plasmolysezeit nicht in Betracht kommt.

### Ergebnis

#### I. Äther als Narkotikum.

Vorbehandlung mit 2% Ätherwasser in der Dauer von 15 Minuten bis eine Stunde und darüber setzt die Plasmolysezeit der Spirogyren sehr beträchtlich herab. Während die ätherfreien Kontrollen in einem Versuch z. B. eine Plasmolysezeit von 75 Minuten zeigen, beträgt die Plasmolysezeit für die ätherisierten Spirogyren nur etwa 20 Minuten. 2% Ätherlösung vermag die Plasmolysezeit noch etwas weiter (bis auf 15 Minuten) zu verkürzen. 3% Ätherwasser wirkt bei einer Einwirkungs-dauer von einer halben Stunde auf viele Zellen schädigend, bei denjenigen Zellen, welche diese hohe Ätherkonzentration ohne sichtliche Schädigung vertragen, wird die Plasmolysezeit ganz besonders abgekürzt, und zwar bis auf 10 Minuten.

#### II. Chloralhydrat als Narkotikum.

Bei einer Narkosedauer von 15 Minuten bis eine Stunde wirkt Chloralhydrat in der Konzentration von 1 $\frac{1}{2}$ % in hohem Grade abkürzend auf die Plasmolysezeit ein. Selbst bei Spirogyren, welche bei einer Plasmolysezeitdauer von einer Stunde überhaupt noch keine oder nur eine unvollständige Abrundung zeigen, wird nach Vorbehandlung in 1 $\frac{1}{2}$ % Chloralhydrat die Plasmolyse bereits nach 15 Minuten konvex.

#### III. Chloroform als Narkotikum.

In der starken Verdünnung von 1% der gesättigten Lösung wirkt Chloroform in ähnlichem Ausmaße abkürzend auf die Plasmolysezeit ein wie Chloralhydrat in obiger Konzentration. Doch zeigen sich — als Folge starker Empfindlichkeit der Spirogyren gegen dieses Narkotikum — weitgehende Differenzen zwischen dem Verhalten der einzelnen Zellen,

so daß den Chloroformversuchen ein nur vorläufiger orientierender Charakter zugebilligt werden kann.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß auch zum Studium der Narkotikawirkung auf die Viskosität des Protoplasmas die Plasmolysezeit-Methode sich gut eignet und daher zu vergleichenden Untersuchungen über die Wirkungsstärke verschiedener Narkotika zweifellos mit Erfolg wird herangezogen werden können.

#### IV. Plasmolysezeit und Wasserstoffionenkonzentration

Bei allen Untersuchungen — und zwar gilt dies sowohl für *Spirogyra varians* als auch für *Spirogyra crassa* — hat es sich gezeigt, daß das *Spirogyra*-Material, welches längere Zeit im Laboratorium in Glasgefäßen in Kultur gehalten wurde, sich in bezug auf die Plasmolysezeit ganz anders verhält als dasjenige, welches unmittelbar vor den Plasmolyseversuchen frisch vom natürlichen Standort geholt wurde. Die Unterschiede in der Plasmolysezeit des „frischen“ und „alten“ Materials können sehr beträchtlich sein, obwohl — was eigens hervorgehoben werden soll — auch das „alte“ Material morphologisch keineswegs etwa ein verändertes oder irgendwie pathologisches Aussehen aufgewiesen hatte. Um ein Beispiel dieser Veränderung der Plasmolysezeit mit dem Andauern der Kultur zu geben, sei folgendes angeführt: bei 30% Rohrzucker als Plasmolytikum dauerte z. B. bei *Spirogyra crassa* bei frisch eingeholtem Material (bei Beginn der Kultur) die Plasmolysezeit 20 bis 30 Minuten; bei Spirogyren desselben Materials konnte dagegen im selben Plasmolytikum nach einer Kulturdauer von 14 Tagen die Plasmolysezeit 60, ja selbst 100 Minuten betragen.

Es mußte sich die Frage aufdrängen, welche durch die länger dauernde Kultur gegebenen Veränderungen des Mediums diese so sehr auffallende Verlängerung der Plasmolysezeit verursacht haben mochte. Sakamura und Loo (1925) haben gezeigt, daß die Plasmaviskosität der Spirogyren bei Änderung der Wasserstoffionenkonzentration des Mediums beträchtliche Unterschiede aufweist. Solche Viskositätsänderungen müßten auch in der Plasmolyseform und -zeit zum Ausdruck kommen. Es war daher naheliegend, die bei *Spirogyra* sich einstellende Verlängerung der Plasmolysezeit auf eine Änderung in der H-Ionenkonzentration des Kulturwassers zurückzuführen. Diese Annahme findet auch in den Ergebnissen einer Arbeit von Prát (1926) eine wichtige Stütze, worin ermittelt wurde, daß die Wasserstoffionen-

konzentration auf den Ablauf der Plasmolyse einen nicht unwesentlichen Einfluß nimmt.

Prát stellte seine Beobachtungen an den Epidermiszellen von *Allium cepa* an und fand, „daß saure Lösungen rascher eine perfekte, konvexe, glatte Plasmolyse hervorrufen als alkalische Lösungen“.

Die Aufgabe der in diesem letzten Abschnitt zu schildernden Versuche war es keineswegs, die Frage nach dem Einfluß der Wasserstoffionen auf die Plasmolysezeit eingehend zu klären, es sollte nur das eine festgestellt werden, ob sich die Annahme stützen läßt, daß die sich im Verlauf der Kultur einstellenden Änderungen in der Plasmolysezeit auf Unterschiede im pH des Kulturwassers zurückzuführen sind. Wenn diese Annahme richtig ist, muß sich erstens bei längerer Dauer der Kultur eine Änderung in der H-Ionenkonzentration des Kulturwassers nachweisen lassen und zweitens muß sich bei künstlicher Änderung des pH des Kulturwassers auch eine dementsprechende Änderung in der Plasmolyseform und -zeit einstellen.

I. Das pH des Wassers bei länger dauernder Kultur.

Die Bestimmung des pH des Kulturwassers wurde mit Hilfe des Merkschen Universalindikators durchgeführt. Die Genauigkeit dieser Bestimmung ist allerdings nicht groß, da ja nur Unterschiede von pH 0,5 durch den jeweiligen Farbenumschlag angezeigt werden. Doch waren die auftretenden pH-Unterschiede des Kulturwassers so groß, daß mit diesem einfachen Hilfsmittel das Auslangen gefunden werden konnte. Das Wasser des natürlichen Standortes, von dem die Spirogyren geholt wurden, wies eine Wasserstoffionenkonzentration auf, die zwischen pH 6 und pH 7 schwankte, in der Regel etwa pH 6,5 betrug. Wenn die Spirogyren — meist mit einem größeren oder kleineren Quantum des Standortwassers — in das Kulturgefäß mit Brunnenwasser kamen, hatte das Kulturwasser am ersten Tage in der Regel pH 7. Je länger die Kultur dauerte, um so weitere Fortschritte machte das Ansteigen der Alkalität. Schon am zweiten Tage wurde meist pH 7,5, ja selbst pH 8 erreicht und dann stieg der Alkalitätsgrad noch weiter, meist bis pH 9.

### Ergebnis

Aus den Tabellen läßt sich folgendes entnehmen.

Nach vorhergehendem Aufenthalt in saurem Kulturwasser geht die Abrundung relativ rasch vor sich, die Plasmolysezeit ist kurz; in alkalischem Kulturwasser geht die Abrundung langsam vor sich, die

Plasmolysezeit ist lang. Bei Verwendung einer relativ schwachen Zuckerlösung als Plasmolytikum (25 %) ergibt sich, daß bei pH 8 die Plasmolysezeit das doppelte, bei pH 9 sogar das dreifache der Plasmolysezeit bei pH 6 ist. Bei Verwendung stärkerer Konzentrationen als Plasmolytikum (30 bzw. 40 %) wird die Plasmolysezeit bei pH 8 oder 9 oft unendlich, das heißt, eine Abrundung findet dann überhaupt nicht mehr statt, es resultiert dauernd eckige Plasmolyseform, während nach Vorbehandlung in saurer Lösung (pH 6) auch bei diesen stärkeren Konzentrationen des Plasmolytikums meist konvexe Plasmolyseform zustande kommt.

Diese erste Gruppe von Versuchen zeigte also, daß tatsächlich — wie vermutet worden war — bei länger dauernder Kultur eine Änderung des pH des Wassers sich einstellt und zwar eine immer stärker sich ausprägende Verschiebung nach der alkalischen Seite.

Da die angegebene Verlängerung in der Plasmolysezeit mit dieser Verschiebung des pH-Wertes parallel geht, die übrigen Bedingungen jedoch nach Möglichkeit gleich gehalten wurden, so erscheint die Annahme berechtigt, daß tatsächlich die Abnahme der H-Ionenkonzentration bzw. die Zunahme der OH-Ionenkonzentration die Zunahme der Plasmolysezeit verursacht hat. Die im folgenden noch anzuführenden orientierenden Versuche mit künstlich auf verschiedene pH-Werte gebrachtem Kulturwasser sprechen wohl ebenfalls in diesem Sinne.

## II. Vorbehandlung mit durch Essigsäure angesäuertem Kulturwasser.

Bei der großen Empfindlichkeit von *Spirogyra* gegenüber der Zusammensetzung des Kulturwassers nicht nur in bezug auf dessen Gehalt an H-Ionen, sondern auch hinsichtlich der Gegenwart anderer Ionen, würde es eingehender Vorstudien bedürfen, um eine geeignete, vollkommen unschädliche Pufferlösung ausfindig zu machen. Im folgenden sollen einige orientierende Versuche geschildert werden, die aber keineswegs Anspruch auf größere Genauigkeit erheben können.

Diese Versuchslösungen wurden derartig hergestellt, daß zu dem durch seinen geringen Salzgehalt leicht gepufferten Brunnenwasser Essigsäure zugesetzt wurde, bis der gewünschte Säuregrad erreicht war. Um ein neuerliches Ansteigen der Alkalinität zu verhindern, wurden die als Kulturgefäße verwendeten Glaskolben innen paraffiniert. Es wurden drei Lösungen mit verschiedener Wasserstoffionenkonzentration hergestellt, und zwar mit pH 7,5 und pH 6,5 und pH 5,5. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration wurde mit einem Doppelkeilkolorimeter nach Hildner durchgeführt. Als Indikator wurde Bromthymolblau-

lösung benutzt. In den mit Kulturwasserproben mit verschiedenem pH beschickten paraffinierten Kolben wurden die Spirogyren mindestens 24 Stunden gehalten, bevor mit den Plasmolyseversuchen begonnen wurde. Wichtig waren vor allem Vergleichs-Plasmolyseversuche mit Spirogyren, die sich in infolge längerer Kultur alkalisch gewordenem Wasser befanden. Die Konzentration des Plasmolytikums betrug 30% Rohrzucker.

### Ergebnis

Während die Spirogyren aus dem stärker alkalischen Kulturwasser (pH 8 bis 9) relativ lange Plasmolysezeiten aufwiesen, ja die Plasmolyseform bisweilen überhaupt nicht konvex wurde (Plasmolysezeit unendlich), zeigten die Spirogyren aus den nur schwach alkalischen Lösungen (pH 7,5) oder aus den schwach sauren Lösungen (pH 6,5) auffallend kurze Plasmolysezeiten von nur 10 bis 20 Minuten.

Nach Vorbehandlung in den stärker sauren Lösungen von pH 5,5 wird die Plasmolysezeit sehr unregelmäßig, es treten nicht selten als Schädigungssympton konkave Plasmolyseformen auf, so daß aus den bisherigen Versuchen über die Plasmolysezeiten nach Vorbehandlung in stärker sauren Lösungen nichts Sicheres ausgesagt werden kann.

### Diskussion

Das Hauptergebnis der vorliegenden Untersuchung ist folgendes: Die Plasmolysezeit variiert innerhalb weiter Grenzen, ja sie kann bei *Spirogyra* einerseits den Wert Null, andererseits den Wert unendlich erreichen.

Es wurde die Abhängigkeit der Plasmolysezeit von einigen Außenfaktoren studiert und zwar insbesondere von der Konzentration des Plasmolytikums, von der Temperatur und von der Vorbehandlung mit Narkotica. Dabei ergab sich vor allem bei den Versuchen über den Einfluß der Konzentration, daß schon relativ geringe Änderungen dieses Faktors beträchtliche Unterschiede in der Plasmolysezeit zur Folge haben, so daß die Plasmolysezeit als empfindliches Reagens angesehen werden kann für Änderungen, die der Protoplast bei Variation der Außenbedingungen erfährt.

Die wichtige Frage, die nun zu erörtern bleibt, ist die: Welche Änderung im Zustand des Protoplasmas wird durch die Unterschiede in der Plasmolysezeit zum Ausdruck gebracht; für welche Eigenschaften des Protoplasmas gibt die Plasmolysezeit ein Kriterium ab.

Definitionsgemäß wird unter Plasmolysezeit diejenige Zeitdauer verstanden, die der Protoplast braucht, um sich bei Plasmolyse abzurunden.

Die Abrundung des plasmolysierten Protoplasten ist seit jeher als ein Ausdruck und als ein wichtiges Argument für die Flüssigkeitsnatur des Protoplasten angeführt worden. Es haben ja eben die Flüssigkeiten als Folge der Wirkung der Oberflächenspannung das Bestreben, Formen *minimae areae* anzunehmen.

Je ausgeprägter die Flüssigkeitsnatur einer Substanz ist, das heißt je höher ihre Fluidität, je geringer ihre Viskosität ist, um so leichter wird unter der Wirkung der Oberflächenspannung die Abkugelung zustande kommen. Schon aus diesem Grunde läßt sich aus der Schnelligkeit der Abkugelung — wie sie in der Plasmolysezeit bestimmt wird — auf den Flüssigkeitsgrad schließen.

Protoplaste, die sich bei der Plasmolyse nicht oder nur schwer abrunden, können — ein Schluß, den schon u. a. Němec (1801) gezogen hat — nur einen geringen Fluiditätsgrad aufweisen, sie müssen relativ zäh sein und zwar werden sie — *ceteris paribus* — um so zäher sein, je langsamer die Abrundung erfolgt, je länger die Plasmolysezeit ist.

Höfler hat für die ein ähnliches Phänomen darstellende Abrundung der Vakuole dargelegt, daß es sich dabei auch um die Wirkung einer elastischen Spannung handeln kann. Er sagt darüber:

„Mit Absicht will ich vorläufig nicht von ‚Kapillarspannung‘ oder von ‚elastischer Spannung‘ der Vakuolenwandung sprechen, um nichts darüber zu präjudizieren, ob die Rundungserscheinung als ein Oberflächenphänomen an der Grenze zweier Flüssigkeiten oder als der Ausdruck elastischer Spannung eines mehr oder minder fest zu denkenden Häutchens zu denken ist. Ich wähle darum den neutralen Ausdruck ‚Spannung‘ oder Kugelspannung, denn die Tendenz, die Form von Minimalflächen anzunehmen, ist ja den Grenzflächen nicht mischbarer Flüssigkeiten und gespannten elastischen Häutchen gemeinsam.“

Auch für die Abrundung des Protoplasten hat diese Argumentation Gültigkeit.

Bei der Abrundung des plasmolysierten Protoplasten kann aber die Oberflächenspannung bzw. die elastische Spannung nicht ungehindert zur Geltung kommen, da ja der Protoplast zunächst nicht frei in einer Flüssigkeit schwebt, sondern mit einem festen Körper, nämlich der Zellmembran, sich in Kontakt befindet. Über die Art dieses Kontaktes sind die Ansichten noch keineswegs geklärt, es kann sich entweder bloß um eine Berührung handeln oder um einen viel innigeren Zusammenhang,

eine Durchdringung der Zellmembran mit den protoplasmatischen Grenzschichten, wie es Hansteen-Cranner (1919) annimmt. Auf jeden Fall wird ein Teil der die plasmolytische Kontraktion bedingenden Kräfte (Elastizität, Oberflächenspannung) zur Überwindung, zur Lösung dieses Kontaktes erforderlich sein. Unter anderm hat es Höfler (1918) klar ausgedrückt, daß die Plasmolyseform (konkav oder konvex) davon abhängt, ob die Adhäsion des Protoplasmas an der Membran schwerer oder leichter überwunden wird. Demnach würde die „Adhäsion“ des Protoplasmas für die Plasmolysezeit ein nicht unwesentlicher Faktor sein.

Die Verhältnisse liegen aber noch weit komplizierter.

Wie aus den Untersuchungen von Hecht (1912) hervorgeht, findet bei der Plasmolyse kein restloses Loslösen der Protoplasten von der Membran statt, es bleibt vielmehr ein mehr oder weniger dünner Protoplasmafilm an der Membran haften und von diesem reißt sich die Hauptmasse des Protoplasten los. Es findet demnach eigentlich gar keine Überwindung der Adhäsion des Protoplasmas an der Zellmembran statt, sondern eher eine Überwindung der Kohäsion zwischen den peripheren Protoplastenteilen selbst. Dabei besteht die weitere Komplikation, daß dieses Zerreißen und Auseinanderweichen des Protoplasmas nicht glatt vor sich geht, sondern unter „Fadenziehen“. Dieses Fadenziehen (Weber, 1921) wurde bisher viel zu wenig beachtet. Es ist zweifellos, daß das Fadenziehen einmal wichtige Aufschlüsse über die physikochemischen Eigenschaften der Plasmagrenzschichten geben können wird; bisher scheinen allerdings die rein physikalischen Vorarbeiten dafür nur spärlich vorhanden zu sein, obwohl das Fadenziehen bei manchen technisch wichtigen Substanzen, wie etwa die Kunstseide, eine wichtige Rolle spielt. Erst vor kurzem erschienen in dieser Hinsicht aufschlußreiche Arbeiten von Jochims (1927, 1928), welche die Ursachen der „Spinnfähigkeit“, das ist die Eigenschaft fadenziehend zu sein, in dem Vorhandensein mikroskopischer oder ultramikroskopischer fadenförmiger Strukturen dieser Substanzen sieht.

Die Verhältnisse bei den Versuchen über die Spinnfähigkeit des Eiklars (Jochims) lassen sich natürlich nicht ohne weiteres auf das lebende Protoplasma übertragen, das eine ist aber wohl als sicher anzunehmen, daß für die Art und Weise des Fadenziehens die Viskosität der kolloiden Lösung eine wichtige Bedeutung hat.

Speziell bei *Spirogyra* — unserem Versuchsobjekt — spielt das Fadenziehen für die Ausprägung der Plasmolyseform und demnach auch für die Plasmolysezeit eine wichtige Rolle.

Die eckige Plasmolyseform kommt zustande und bleibt bestehen, wenn der Protoplast besonders von den Querwänden sich schwer ablöst und mit breiteren Plasmasträngen an den Ecken mit den Querwänden in Verbindung bleibt. Bei der halbschematischen Darstellung der eckigen Plasmolyseform, wie sie Heilbrunn (1928) nach Weber gibt, sieht man in den Ecken des nach dem eckigen Typus plasmolysierten und daher im optischen Querschnitt rechteckig erscheinenden Protoplasten Protoplasmazipfel, die nach den Zellecken hin gerichtet sind. In der betreffenden Figur, welche das Plasmolysebild bei schwacher Vergrößerung darstellt (Fig. 1), enden diese Plasmazipfel blind, in Wirklichkeit aber — wie bei stärkerer Vergrößerung sichtbar — setzen sie sich bis an die Zellwände hin fort. Bei konvexer Plasmolyseform sind solche Plasmastränge nicht vorhanden, doch läßt Dunkelfeldbeleuchtung auch bei konvexer Plasmolyseform das Vorhandensein zahlreicher feinsten Plasmafäden erkennen. Es scheint also, daß die Plasmafäden, wenn sie sehr zart (und daher im Hellfeld kaum oder nicht mehr sichtbar) sind, für das Zustandekommen konvexer Plasmolyseform kein wesentliches Hindernis bedeuten und daher eine relativ kurze Plasmolysezeit zulassen; sind aber die Plasmafäden (insbesondere die von den Ecken ausgehenden) dicke Plasmastränge, so verzögern sie die plasmolytische Abrundung des Protoplasten und bedingen so eine Verlängerung der Plasmolysezeit. Der genaue Zusammenhang zwischen der Dicke bzw. der Zerreißfähigkeit der Plasmafäden und der Viskosität der Plasmagrenzschichten ist nicht bekannt; es wurde aber bisher von allen Autoren angenommen, daß die Ausbildung breiter Plasmastränge, welche die Abrundung verzögern oder verhindern, auf eine Erhöhung der Plasmaviskosität hinweisen lassen.

Die von Weber (1921) parallel mit den Plasmolyseform-Studien durchgeführten Zentrifugierungsversuche haben auch stets ergeben, daß bei Zellmaterial, welches eckige bzw. konkave Plasmolyseformen aufweist, eine Erschwerung der Verlagerungsfähigkeit spezifisch schwerer Inhaltskörper der Zelle zu beobachten ist, was wiederum auf eine Erhöhung der Plasmaviskosität hinweist. Da die Zentrifugierungsmethode bei geeigneten Objekten eine zahlenmäßige Messung der Plasmaviskosität gestattet, so ließe sich — falls die Änderungen an der Endoplasmaviskosität mit solchen der Ektoplasmaviskosität vollkommen übereinstimmen — durch Zentrifugierungs-Versuche, die den Plasmolysezeit-Versuchen parallel gehen, gewissermaßen eine empirische Eichung der experimentell gefundenen Plasmolysezeiten vornehmen. Bisher liegen

aber derartige vergleichende Studien mit der Zentrifugierungs-Methode und der Plasmolysezeit-Methode nicht vor. Es läßt sich also derzeit wohl mit Sicherheit sagen: Je länger die Plasmolysezeit ist, um so höher ist die Plasmaviskosität. Es läßt sich aber keine genauere Relation zwischen diesen beiden Größen angeben; man kann also keineswegs etwa behaupten, daß ein Anstieg der Plasmaviskosität auf den doppelten Wert etwa auch eine Verlängerung der Plasmolysezeit auf das Doppelte zur Folge haben muß, und umgekehrt darf man aus einer Verdoppelung der Plasmolysezeit ohne weiteres wohl nicht auf eine Steigerung der Viskosität auf das Zweifache schließen.

Bisher vermittelt also die Plasmolysezeit-Methode nur einen zahlenmäßigen Ausdruck für Änderungen von in ihrem Wesen noch nicht eindeutig faßbaren physikalischen Protoplasma-Eigenschaften; gerade die in dieser Arbeit angezeigte hohe Empfindlichkeit der Plasmolysezeit-Methode, die ja zahlenmäßige Bestimmungen zuläßt, macht es wahrscheinlich, daß diese Methode sich zu einer quantitativen Methode der Messung von Plasmazustandsänderungen wird ausbauen lassen, wenn einmal die Relation, die zwischen der Plasmolysezeit und bestimmten physikalischen Eigenschaften des Protoplasten, insbesondere der Viskosität, sicherlich bestehen, auf experimentellem Wege klargelegt sein werden.

Unter der Annahme, daß die Plasmolysezeit und ihre Veränderung ein Kriterium abgibt für Änderungen bestimmter physikalischer Eigenschaften des Protoplasmas, besonders aber für Änderungen der Cytoplasmaviskosität, erübrigt es sich, noch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung in Vergleich zu setzen mit denjenigen früherer Autoren, welche den Einfluß derselben Außenfaktoren auf die Plasmaviskosität studiert haben. Dabei kann bezüglich der einschlägigen Literatur auf die Kapitel "The absolute viscosity of protoplasm, The action of temperature, The action of fat solvents" in der Monographie von Heilbrunn (1928) verwiesen werden, worin die betreffenden Fragen ausführlich und kritisch behandelt worden sind.

## I. Der Einfluß der Konzentration des Plasmolytikums

Aus den im experimentellen Teil geschilderten Versuchen geht hervor: Die Plasmolysezeit wird länger bei steigender Konzentration des Plasmolytikums. Nach der im obigen gemachten Annahme hat demnach die Konzentration des Plasmolytikums in dem Sinne einen Einfluß auf die Plasmaviskosität als das Plasmolytikum, je höher seine Kon-

zentration (das ist sein osmotischer Wert) ist, um so mehr die Viskosität des Zytoplasmas erhöht.

Nun liegen direkte Messungen der Viskosität von Protoplasten, die unter dem Einfluß hypertotonischer Lösungen standen, wohl kaum vor. Dagegen berichtet Heilbrunn (1928, S. 212) über den Einfluß hypotonischer Lösung auf die Viskosität des Plasmas von *Arbacia*-Eiern und zwar über eine ausgesprochene Viskositätsabnahme. Unter der Wirkung durch Zusatz von destilliertem Wasser hypotonisch gemachten Seewassers kann die Plasmaviskosität auf  $\frac{1}{2}$  herabgesetzt werden.

Dieser Nachweis einer Herabsetzung der Plasmaviskosität als Wirkung hypotonischer Lösung steht jedenfalls in guter Übereinstimmung mit der aus der Plasmolyseform und -zeit erschlossenen Viskositätserhöhung durch hypertotonische Lösungen. Per analogiam würde der Schluß nahe liegen, daß bei Vorbehandlung in hypotonischer Außenlösung die Plasmolysezeit herabgesetzt wird. Obwohl eigene Versuche mit dieser Fragestellung nicht vorliegen, so erhellt doch aus den Beobachtungen von Fitting (1915) und Höfler (1918) über den Einfluß des „Wässerns“ auf den Plasmolyseverlauf, daß das „Wässern“, das ist die Vorbehandlung in hypotonischer Lösung (destilliertem Wasser), die plasmolytische Abrundung begünstigt. Höfler hat diese Tatsache klar mit folgenden Worten zum Ausdruck gebracht:

„An Schnitten, die vor dem Plasmolysieren gewässert wurden, erfolgt die Ablösung von der Zellwand viel leichter und wird schöne Endplasmolyse viel schneller erreicht als in ungewässerten Präparaten. Die Adhäsion scheint leichter überwunden zu werden. Das gilt nicht nur für den Rohrzucker, sondern ebenso für andere Plasmolytika. Bei Objekten, welche direkt plasmolysiert, nur konkave Plasmolyse geben, kann man durch vorangehendes Einlegen in  $H_2O$  schöne vollkommene Endplasmolyse erzielen.“

Es ist wahrscheinlich, daß die Herabsetzung der Viskosität beim Wässern auf eine Wasseraufnahme von Seiten des Zytoplasmas zurückzuführen ist. Umgekehrt müßte dann Wasserabgabe eine Viskositätserhöhung nach sich ziehen. Von Interesse sind in dieser Hinsicht die Angaben von Němec (1901, S. 130), daß durch Welken bedingter Wasserverlust eine Erhöhung der Konsistenz des Zytoplasmas mit sich bringt. Der Nachweis der Konsistenzenerhöhung wurde mit der Schwerkraft-(Fall-)Methode erbracht.

„Schon in ganz wenig gewelkten Wurzeln von *Pisum sativum* und *Vicia faba* wird die Bewegung der Stärkekörner verlangsamte. Man

findet, wenn man die Versuche unter konstanten äußeren Bedingungen ausführt, Umstände, unter welchen in der Kolumella die Stärke noch beweglich ist, der Kern jedoch nicht mehr, und schließlich auch so gewellte Wurzeln, wo auch die Stärkekörner ihre Beweglichkeit verlieren.“

Die hier zur Diskussion gestellte Tatsache, daß das Plasmolytikum selbst, je nach seiner Konzentration den Plasmazustand und vermutlich in erster Linie die Viskosität des Protoplasmas in verschiedenem Grade ändert, ist auch für die Frage von Bedeutung, ob die plasmolytische Methode dazu geeignet ist, Aufschlüsse über die normale Zellpermeabilität zu gewähren. Dies wird in neuester Zeit auf Grund recht verschiedener Anzeichen immer häufiger in Zweifel gezogen.

Die von Stiles (1924, S. 249) als „Viscosity Theory“ der Permeabilität bezeichnete Anschauung, daß für die Permeabilität der Plasmagrenzschichten in erster Linie die Viskosität derselben maßgebend ist, müßte aus der Tatsache der Viskositätsänderung durch den Einfluß des Plasmolytikums jedenfalls den Schluß ziehen, daß schon allein durch die Hypertonie des Plasmolytikums die Permeabilitätsverhältnisse der Zelle geändert werden und sich durch die plasmolytische Methode daher die normale Durchlässigkeit nicht studieren läßt.

Aber auch wenn man die Permeabilität auf Grund anderer mehr gangbarer Theorien zu verstehen sucht, muß es in Hinsicht auf die durch das Plasmolytikum bedingte Zustandsänderung des Protoplasten zweifelhaft erscheinen, ob durch die Hypertonie des Plasmolytikums in seinen physikalischen Eigenschaften offenbar weitgehend verändertes Zytoplasma noch dieselben Permeabilitätsverhältnisse aufweisen kann wie das Zytoplasma im normalen Zellzustand.

Vielleicht findet der Unterschied zwischen der Impermeabilität bzw. äußerst geringen Durchlässigkeit für Zucker im Plasmolyseversuch und der anzunehmenden wesentlich höheren Permeabilität für Zucker unter physiologischen Bedingungen in einer Herabsetzung der Permeabilität durch die Hypertonie des Plasmolytikums wenigstens zum Teil eine Erklärung.

## II. Der Einfluß der Temperatur

Die durch unsere Versuche ermittelte Tatsache, daß — innerhalb des für *Spirogyra* zuträglichen Temperaturbereiches — die Plasmolysezeit mit steigender Temperatur fällt, ist mit den meisten Befunden über die Temperaturwirkung auf die Viskosität des Protoplasmas pflanzlicher Zellen gut in Einklang zu bringen.

G. und F. Weber (1917) und Weber und Hohenegger (1923) haben mittels der Fallmethode an den Stärkescheidenzellen von *Phaseolus multiflorus* ein Ansteigen der Viskosität mit sinkender Temperatur festgestellt. Nach den hier vorliegenden Beobachtungen über die Änderungen der Plasmolysezeit kann in bezug auf die Plasmaviskosität folgendes geschlossen werden:

Das Minimum der Viskosität liegt bei etwa 25° C. Fällt die Temperatur, so steigt die Viskosität an, und zwar zunächst etwa im Temperaturbereich von 20 bis 10° relativ langsam. Bei weiterem Sinken der Temperatur findet dann ein auffallend rascher Anstieg der Viskosität statt.

Auch die eben zitierten Befunde über die Temperaturabhängigkeit der Plasmaviskosität bei *Phaseolus* hatten ergeben, daß die Viskositätszunahme im Bereich der niederen Temperaturen stärker ist als die im Bereich der höheren Temperaturen. Während bei *Phaseolus* die Plasmaviskosität bei steigender Temperatur auch über das Temperaturoptimum hinaus bis zum Maximum abfällt, wurde bei *Spirogyra* folgendes beobachtet: Steigt die Temperatur über 25°, so findet keine weitere Verkürzung der Plasmolysezeit und demnach also keine weitere Abnahme der Plasmaviskosität mehr statt, die Plasmolysezeit und damit auch die Viskosität steigt vielmehr neuerdings nicht selten rapid an. Wie bereits erwähnt, handelt es sich hier offenbar um eine pathologische, der Hitze-koagulation vorangehende Erscheinung. Heilbrunn (1928, S. 115) führt eine Reihe von Beispielen dafür an, daß bei supraoptimalen Temperaturen ein rascher Anstieg in der Viskosität stattfindet. Die Versuche über die Veränderung in diesem Temperaturbereich würden einen weiteren Ausbau bedürfen. Es bleibt vor allem zu untersuchen, ob die durch die Zunahme der Plasmolysezeit angezeigte Wärmestarre reversibel ist. Es ist jedenfalls überraschend, daß bei unserem Versuchsmaterial schon in dem relativ niedrigen Temperaturbereich von 25 bis 30° ein pathologischer Viskositätsanstieg sich bemerkbar macht. Es hängt dies vielleicht damit zusammen, daß die Spirogyren im allgemeinen und speziell die hier verwendeten Spezies im Frühling und Herbst, also bei relativ niedrigen Wassertemperaturen, ihre beste Entwicklung aufwiesen und daher an niedere Temperaturen angepaßt und gegen höhere besonders empfindlich sind. Es ist ja bekannt, daß manche Algen (wie *Hydrurus foetidus*), die in besonders kaltem Wasser leben, schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur absterben.

Auf die Arbeit von Baas-Becking (1928), die uns erst nach Abschluß der Versuche zugänglich wurde, kann nicht näher eingegangen

werden; die Konsistenz des Protoplasmas in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur wird hier durch die Messung der Brownschen Molekularbewegung bestimmt.

### III. Einfluß der Narkotika

In einer Reihe von Arbeiten hat Weber gezeigt, daß Narkotika in schwachen Konzentrationen die Abrundung des Protoplasten bei Plasmolyse begünstigt. Das gilt sowohl für *Spirogyra* (Weber, 1921, 1925) als auch für Zellen von *Callisia repens* und *Elodea canadensis* (Weber, 1925). Schon früher hat Seifriz (1923) gefunden, daß bei *Elodea*-Blättern, die normalerweise konkave imperfekte Plasmolyse zeigen, nach Vorbehandlung mit 10% Alkohol die Plasmolyse konvex beginnt. Noch weiter zurück liegt die Beobachtung von Åkerman (1915), daß bei *Allium cepa* Epidermiszellen bei Plasmolyse mit Traubenzuckerlösung die Plasmolyseform normalerweise eckig ist, nach Vorbehandlung mit 5% Äthylalkohol aber rund.

Åkerman selbst scheint diesen Unterschied in der Plasmolyseform gar nicht beachtet zu haben, doch geht er mit voller Schärfe aus seinen mikrophotographischen Abbildungen (Fig. 24 und 25 seiner Abhandlung) hervor. Åkerman hat bei seinen Studien auf die Fadenbildung im Endoplasma geachtet.

Er findet, daß im alkoholhaltigen Plasmolytikum die Fadenbildung im Endoplasma, die sonst reichlich auftritt, unterbleibt. In dieser Hinsicht ist es von Interesse, daß auch die Fadenbildung des Ektoplasmas (zwischen dem sich kontrahierenden Protoplasten und der Membran) unter der Einwirkung der Narkotika unterbleibt (Weber, 1925) bzw. die Fäden rasch verschwinden. Es verhält sich also Endo- und Ektoplasma in bezug auf die Bildung und die Beständigkeit der Fäden unter dem Einfluß der Narkotika gleich. Das Unterbleiben der Fadenbildung bei Plasmolyse ist wohl einer der Faktoren, die das Zustandekommen der konvexen Plasmolyseform unter dem Einfluß der Narkotika bedingen oder wenigstens begünstigen.

Das Ausbleiben der Fadenbildung kann verschiedene Ursachen haben. Die Narkotika setzen die Oberflächenspannung herab, es könnte sich also um eine Folge der Oberflächenspannungsänderung handeln. An diese Möglichkeit haben Seifriz (1923) und Lloyd (1924) gedacht. Der andere Faktor, der in Betracht kommt, ist die Herabsetzung der Plasmaviskosität unter dem Einfluß der Narkotika. Weber (1921 und

1925) hat durch Zentrifugierungsversuche gezeigt, daß tatsächlich bei denselben Objekten, welche in der Narkose eine Änderung der Plasmolyseform im Sinne der Förderung der Abrundung aufweisen, eine Herabsetzung der Plasmaviskosität nachweisbar ist. Auch mit anderen Methoden ließ sich ja eine Herabsetzung der Plasmaviskosität unter Narkotika-Wirkung erweisen, so von Heilbrunn (1914) durch die Fallmethode und erst vor kurzem von Brinley durch die Beobachtung der Brownschen Molekularbewegung. Diese letztere Arbeit ist auch deshalb hier von Interesse, weil an dem Untersuchungsobjekt (*Amoeba*) in Narkose außer der Zunahme der Intensität der Brownschen Bewegung ("indicating a liquefaction of the protoplasm") auch noch ein Einziehen der Pseudopodien und rasches Abkugeln der Zelle zu beobachten war, was in gewisser Hinsicht mit dem raschen Einziehen der Plasmafäden und der Abrundung des plasmolysierten Protoplasten verglichen werden kann.

Die Herabsetzung der Plasmaviskosität unter dem Einfluß schwacher Narkotikakonzentrationen wird auch vielfach aus der Beschleunigung der Plasmaströmung erschlossen. So haben u. a. Nadson und Meisl (1926) die Wirkung von Chloroform auf das Plasma von *Allium cepa* Epidermiszellen studiert und setzen die Beschleunigung der Plasmaströmung in Beziehung zu «une certaine liquéfaction du protoplasme et une diminution de sa viscosité». Die weitere einschlägige Literatur findet sich bei Heilbrunn (1928) erörtert.

Nach diesen Angaben war bei unseren Versuchen an Spirogyren eine Herabsetzung der Plasmolysezeit durch die in schwachen Konzentrationen dargebotenen Narkotika zu erwarten. Dies ist nun tatsächlich der Fall und zwar hat sich ergeben, daß die Abkürzung der Plasmolysezeit eine sehr beträchtliche ist. Unter Versuchsbedingungen, bei welchen die Narkotikum-freien Spirogyren eine Plasmolysezeit von 75 Minuten aufweisen, zeigten die mit 2% Äther vorbehandelten Spirogyren eine Plasmolysezeit von nur 15 Minuten. Es handelt sich hier also um eine Verkürzung der Plasmolysezeit auf ein Fünftel der normalen. Wie bereits ausgeführt, ist es zwar nicht statthaft, den Schluß zu ziehen, daß damit auch die Plasmaviskosität auf ein Fünftel herabgesetzt wird, da ja die genaue Relation zwischen Plasmolysezeit und Viskosität noch nicht bekannt ist. Nichtsdestoweniger sind aber diese hochgradigen Unterschiede für Narkosestudien heute schon von Wichtigkeit, weil sie die Messung relativer Unterschiede des Plasmazustandes gestatten. Solche Messungen sind für vergleichende Untersuchungen

über die Wirkungsstärke der Narkotika erforderlich. Die Frage, ob die Herabsetzung der Viskosität des Zytoplasmas unter dem Einfluß der Narkotika der erregenden oder der lähmenden Phase der Narkotikawirkung zuzurechnen ist, soll hier nicht erörtert werden, da unsere Versuche an Spirogyren keine neuen Argumente dafür erbringen. Die Frage ist im übrigen in zusammenfassender Weise in den Monographien von Winterstein (1926) und Heilbrunn (1928) dargelegt worden.

#### IV. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration

Die Beobachtungen über die Plasmolysezeit von Spirogyren, die in Kulturwasser mit verschiedenen pH gehalten werden, haben — obwohl sie nur orientierenden Charakter hatten — doch das eine mit Bestimmtheit ergeben, daß die Plasmolysezeit nach vorherigem Aufenthalt in Kulturwasser mit ungleichem pH sehr beträchtliche Unterschiede aufweisen. Dies läßt weiterhin den Schluß zu, daß der Plasmazustand der Spirogyren bei verschiedenem pH des Kulturmediums ein recht verschiedenartiger ist.

Damit stehen Beobachtungen von Lepeschkin (1923) in guter Übereinstimmung, nach denen die Hitzegerinnung des Protoplasmas in hohem Maße von dem pH des Mediums abhängt, was ebenfalls auf eine tiefgehende Zustandsänderung des Zytoplasmas schließen läßt. Im gleichen Sinne sind ja auch die Beobachtungen von Sakamura (1925) und von Bode (1926) zu deuten.

Beziehungen bestehen zweifellos auch zu den Befunden von Ulehla (1923), daß die Kopulationsbereitschaft bei *Spirogyra* in erster Linie durch Änderungen im pH des Standortswassers hervorgerufen wird. Noch unveröffentlichte Untersuchungen von Weber haben ferner ergeben, daß bei abnehmender Wasserstoffionenkonzentration des natürlichen Standortswassers sich tatsächlich alle diese Veränderungen an Spirogyren gleichzeitig beobachten lassen: Änderung in der Hitzeempfindlichkeit, Änderung in der Plasmolyseform, Änderung in der Verlagerungsfähigkeit des Chloroplasten bei Zentrifugierung (Änderung der Zytoplasmaviskosität), Übergang aus dem rein vegetativen Stadium in das Vorstadium der Kopulation. Als weiteres Anzeichen der Veränderung des Plasmazustandes kommt nach den vorliegenden Beobachtungen also noch die Zunahme der Plasmolysezeit hinzu. Es bedarf weiterer Untersuchungen, um aufzuklären, inwieweit kausale Beziehungen zwischen diesen einzelnen Symptomen bestehen.

### Zusammenfassung

- I. Das Versuchsobjekt der vorliegenden Arbeit waren zwei Arten von *Spirogyra*. Als Plasmolytikum wurden Rohrzuckerlösungen verschiedener Konzentration verwendet. Es wurde der Verlauf des Plasmolysevorganges beobachtet unter besonderer Berücksichtigung der Form, welche der Protoplast dabei annimmt, (Plasmolyseform) und der Plasmolysezeit.
- II. Als Plasmolysezeit wird mit Weber (1929) diejenige Zeitdauer verstanden, welche verstreicht vom Moment des Einlegens der Zelle in das Plasmolytikum bis zur Erreichung der konvexen Plasmolyseform.
- III. Es werden die Gründe dargelegt für die Annahme, daß kurze Plasmolysezeit auf einen niedrigen, lange Plasmolysezeit auf einen hohen Viskositätsgrad des Zytoplasmas hinweist.
- IV. Je stärker die Konzentration des Plasmolytikums ist, um so länger ist die Plasmolysezeit; daraus kann geschlossen werden, daß hyper-tonische Lösungen um so mehr die Viskosität des Zytoplasmas erhöhen, je höher ihr osmotischer Wert ist.
- V. Nach Vorkultur bei niederen Temperaturen ist die Plasmolysezeit lang, ja sie kann bei 0° sogar unendlich werden. Je höher die Temperaturen sind, bei welchen die Vorkultur erfolgt, um so kürzer wird die Plasmolysezeit, und zwar gilt dies für das Temperaturintervall von 0 bis höchstens 25° C. Dies zeigt an, daß innerhalb des genannten Temperaturintervalls die Protoplasma-viskosität um so niedriger ist, je höher die Temperatur ist. Bei Temperaturen über 25° findet dagegen eine Steigerung der Viskosität statt.
- VI. Narkotika (Äther, Chloralhydrat) in geringen nicht schädigenden Dosen setzen — bei einer Einwirkungs-dauer von 1/4 bis mehreren Stunden — die Plasmolysezeit beträchtlich herab, erhöhen also die Fluidität des Protoplasmas.
- VII. Je länger die zu den Versuchen verwendeten Spirogyren in Kultur stehen, um so mehr erhöht sich die Plasmolysezeit derselben. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß diese Verlängerung der Plasmolysezeit durch eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration des Kulturwassers bedingt ist. In schwach saurem oder neutralem Kulturwasser sind die Plasmolysezeiten ceteris paribus kurz und werden um so länger, je mehr sich die Reaktion des Kulturwassers nach der alkalischen Seite hin verschiebt.

VIII. Die Plasmolysezeit-Methode hat sich als eine sehr empfindliche Methode erwiesen, um Zustandsänderungen des Protoplasten vergleichend zahlenmäßig zu charakterisieren. Sie eignet sich deshalb auch sehr zur Prüfung von Zellmaterial auf „physiologische Identität des Plasmazustandes“.

### Literatur

- Åkerman, Å., 1915, Studier över tradlika protoplasmabildningar i växtcellerna. Lunds Univ. Arsskrift, N. F. Avd., 2. Bd., 12.
- Baas, Becking, Sande Bakhuizen, and Hotelling, 1928, The physical state of protoplasm. Verh. Koninkl. Akad. Wetenschappen, Amsterdam. Afd. Natuurk. II. Sect., Deel XXV.
- Bode, H. B., 1926, Untersuchungen über die Abhängigkeit der Atmungsgröße von der H-Ionenkonzentration bei einigen *Spirogyra*-Arten. Jahrb. wiss. Bot., Bd. 65.
- Brinley, F. J., 1928, The effect of chemicals on viscosity of protoplasm of amoeba. Protoplasma. Bd. IV.
- Chodat et Boubier, 1898, Sur la plasmolyse et la membrane plasmique. Journ. de Bot. Tome 12.
- Cholodny, N., 1924, Über Protoplasmaveränderungen bei Plasmolyse. Biochem. Zeitschr., Bd. 147.
- De Vries, H., 1885, Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 16.
- 1877, Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung, ausgehend von der Einwirkung von Salzlösungen auf den Turgor wachsender Pflanzenzellen. Opera e Periodicis Collata, Bd. 1, Utrecht MCMXVIII.
- Fitting, H., 1915, Untersuchung über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 56.
- Gardiner, W., 1884, On the continuity of the protoplasm, through the walls of vegetable cells. Arb. Bot. Inst. Würzburg, Bd. 3.
- Hansteen-Cranner, B., 1919, Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 37.
- Hecht, K., 1912, Studien über den Vorgang der Plasmolyse. Beiträge Biol. Pfl., Bd. 11.
- Heilbronn, A., 1914, Zustand des Plasmas und Reizbarkeit. Ein Beitrag zur Physiologie der lebenden Substanz. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 54.
- Heilbronn, L. V., 1928, The colloid chemistry of protoplasm. Protoplasma Monographien, Bd. 1, Berlin.
- Höfler, K., 1918, Eine plasmolytisch-volumetrische Methode. Denkschr. Ak. Wiss. Wien, Mathem. Naturw. Klasse, Bd. 95.
- Jochims, J., 1927, Zur Methodik der Spinnfähigkeit nebst Spinnfähigkeitsuntersuchungen an Eierklar. Kolloid-Zeitschr., Bd. 43.
- 1928, Über den Zusammenhang von Spinnfähigkeit und Struktur beim Eierklar. Biochem. Zeitschr., Bd. 203.
- Küster, E., 1926, Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. Protoplasma, Bd. 1.

- Lepeschkin, W. W., 1923, The constancy of the living substance. (Experiments made on *Spirogyra*) Studies from the Plant Physiological Laboratory of Charles University Prague, vol. 1.
- 1924, Kolloidchemie des Protoplasmas, Berlin.
- Lloyd, F. E., 1924, Some effects of narcotics on *Spirogyra*. Anesthesia and Analgesia, vol. 3.
- Missbach, G., 1927, Versuche zur Prüfung der Plasmaviskosität. Protoplasma, Bd. 3.
- Nadson et Meisl, 1926, Le mécanisme de l'action du chloroform sur le protoplasm. C. R. Ac. Paris. Tome 94.
- Naegeli, C., 1855, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. Zürich.
- Němec, B., 1901, Über die Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen. Jahrb. wiss. Bot., Bd. 36.
- Prát, S., 1926, Wasserstoffionenkonzentration und Plasmolyse. Kolloid-Zeitschr., Bd. 40.
- Pringsheim, N., 1854, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle, Berlin.
- Sakamura, T. und Loo, T., 1925, Über die Beeinflussung des Pflanzenplasmas durch die H-Ionen in verschiedenen Konzentrationen. Bot. Mag. Tokyo., Bd. 39.
- Seifriz, W., 1923, Observations on the reaction of protoplasm to some reagents. Ann. of Botany, vol. 37.
- Stiles, W., 1924, Permeability, London.
- Strasburger, E., 1901, Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. Jahrb. wiss. Bot., Bd. 30.
- Timmel, H., 1927, Zentrifugenversuche über die Wirkung chemischer Agentien, insbesondere des Kaliums auf die Viskosität des Protoplasmas. Protoplasma, Bd. 3.
- Traube, J., 1914, Vorwort. Internat. Zeitschr. Physik-chem. Biologie, Bd. 1.
- Ulehla, V., 1923, Über den Einfluß der Wasserstoffionen auf einige niedrige Pflanzen. Studia Mendeliana. Brno.
- Ulehla und Moravek, 1923, On a new method of stating the physiological identity. Sborniku 1. Sjezdu es. bot. Praha.
- Weber, F., 1921, Zentrifugierungsversuche mit ätherisierten Spirogyren. Biochem. Zeitschr., Bd. 126.
- 1922, Reversible Viskositätserhöhung des lebenden Protoplasmas bei Narkose. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 40.
- 1924, Krampfplasmolyse bei *Spirogyra*. Pflügers Arch., Bd. 206.
- 1924, Plasmolyseform und Protoplasnaviskosität. Österr. Bot. Zeitschr., Bd. 73.
- 1925, Schraubenplasmolyse bei *Spirogyra*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 43.
- 1925, Plasmolyseform und Ätherwirkung. Pflügers Arch., Bd. 208.
- 1925, Über die Beurteilung der Plasmaviskosität nach der Plasmolyseform (Untersuchungen an *Spirogyra*). Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. 42.
- 1925, Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. Österr. Bot. Zeitschr., Bd. 74.
- 1929, Plasmolyse-Zeit-Methode. Protoplasma, Bd. 5.
- Weber, F. und G., 1917, Die Temperaturabhängigkeit der Plasmaviskosität. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 34.
- Weber und Hohenegger, 1923, Reversible Viskositätserhöhung des Protoplasmas bei Kälte. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 41.
- Weis, A., 1925, Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. Planta, Bd. 1.
- Winterstein, H., 1926, Die Narkose. 2. Aufl., Berlin.

### Protokolle

In den Protokollen wird nur ein Teil der Versuchsdaten wiedergegeben; weggelassen wurden in erster Linie die nicht vollständigen Versuchsreihen.

Die Plasmolysezeit ist in Minuten angegeben; sie wird in dem in der Einleitung definierten Sinne verstanden. In denjenigen Fällen, wo bei Abschluß der Beobachtung die Plasmolyse noch immer nicht rund sondern eckig ist, bedeuten aber die unter Plasmolysezeit angeführten Zeitwerte nicht die „Plasmolysezeit“, sondern die Dauer der Plasmolyse.

Das Plasmolytikum ist ausschließlich Saccharose verschiedener Konzentration in Gewichtsprozent angegeben.

#### I. Versuchsprotokolle über die Einwirkung verschiedener Konzentrationen des Plasmolytikums auf die Plasmolysezeit und -form

Nr.	Versuchsbeginn	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
29. X. 28		I		
1	10 <sup>h</sup> 15	25	25	rund
		30	35	rund
		40	—	eckig
2	11 <sup>h</sup> 5	25	20	rund
		30	30	rund
		40	—	eckig
3	11 <sup>h</sup> 45	25	20	rund
		30	30	rund
		40	—	eckig
4	15 <sup>h</sup> 25	25	20	rund
		30	30	rund
		40	—	eckig
5	15 <sup>h</sup> 50	25	20	rund
		30	25	rund
		40	—	eckig
29. X. 28		II		
1	16 <sup>h</sup> 35	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig
2	16 <sup>h</sup> 40	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig
3	17 <sup>h</sup> 5	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig
4	17 <sup>h</sup> 25	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig

Nr.	Versuchsdauer	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
30. X. 28		III		
1	8 <sup>h</sup> 50	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig
2	10 <sup>h</sup> 10	25	15	rund
		30	20	rund
		40	—	eckig
31. X. 28		IV		
1	10 <sup>h</sup> 10	25	30	rund
		30	40	rund
		40	—	eckig
2	10 <sup>h</sup> 25	25	30	rund
		30	40	rund
		40	—	eckig
2. XI. 28		V		
1	9 <sup>h</sup> 35	25	30	rund
		30	40	rund
		40	—	eckig
3. XI. 28		VI		
1	10 <sup>h</sup> 40	25	25	rund
		30	45	rund
		40	—	eckig
6. XI. 28		VII		
1	10 <sup>h</sup> 30	25	25	rund
		30	52	rund
		40	150	eckig
2	10 <sup>h</sup> 45	25	25	rund
		30	45	eckig
		40	120	eckig
3	12 <sup>h</sup>	25	35	rund
		30	50	eckig
		40	60	eckig
9. XI. 28		VIII		
1	11 <sup>h</sup> 40	25	35	rund
		30	60	rund
		40	—	eckig
2	12 <sup>h</sup>	25	35	rund
		30	60	eckig
		40	60	eckig

Nr.	Versuchsbeginn	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
9. XI. 28		VIII		
3	16 <sup>h</sup> 5	25	35	rund
		30	60	rund
		40	100	eckig
4	16 <sup>h</sup> 20	25	35	rund
		30	60	rund
		40	90	eckig
5	17 <sup>h</sup>	25	35	rund
		30	60	rund
		40	60	eckig
10. XI. 28.		IX		
1	9 <sup>h</sup> 30	25	60	rund
		30	95	eckig
		40	—	eckig
2	9 <sup>h</sup> 45	25	60	rund
		30	95	eckig
		40	—	eckig
3	9 <sup>h</sup> 55	25	60	rund
		30	85	eckig
		40	—	eckig
10. XI. 28		X		
1	11 <sup>h</sup> 25	20	15	rund
		25	60	rund
		30	100	eckig
2	11 <sup>h</sup> 30	20	15	rund
		25	62	rund
		30	90	eckig
3	11 <sup>h</sup> 45	20	15	rund
		25	60	rund
		30	75	eckig
4	12 <sup>h</sup> 5	20	15	rund
		25	55	rund
		30	60	eckig
10. XI. 28		XI		
1	16 <sup>h</sup>	20	15	rund
		25	55	rund
		30	90	eckig

Nr.	Versuchsbeginn	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
10. XI. 28		XI		
2	16 <sup>h</sup> 5	20	15	rund
		25	55	rund
		30	90	eckig
3	16 <sup>h</sup> 10	20	15	rund
		25	55	rund
		30	90	eckig
4	16 <sup>h</sup> 35	20	15	rund
		25	50	rund
		30	65	eckig
5	17 <sup>h</sup>	20	15	rund
		25	50	rund
		30	65	eckig

11. XI. 28		XII		
1	9 <sup>h</sup> 35	20	15	rund
		25	45	rund
		30	75	eckig
2	9 <sup>h</sup> 40	20	15	rund
		25	45	rund
		30	70	eckig
3	9 <sup>h</sup> 45	20	15	rund
		25	45	rund
		30	75	eckig
4	10 <sup>h</sup> 5	20	15	rund
		25	45	rund
		30	60	eckig
5	10 <sup>h</sup> 40	20	15	rund
		25	45	rund
		30	60	eckig

## II. Versuchsprotokolle über die Abhängigkeit der Plasmolysezeit und -form von der Temperatur

Nr.	Versuchsbeginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
16. XI. 28		I			
1	11 <sup>h</sup>	25	12	10	rund
			28	25	rund

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolyse- zeit	Plasmolyseform
16. XI. 28			I		
2	11 <sup>h</sup> 15	25	12	10	rund
			28	25	rund
3	11 <sup>h</sup> 40	25	12	10	rund
			28	25	rund
4	12 <sup>h</sup> 5	25	12	10	rund
			28	25	rund
19. XI. 28			II		
1	15 <sup>h</sup> 15	25	12	10	rund
			29	30	rund
2	15 <sup>h</sup> 50	25	12	10	rund
			29	30	rund
3	16 <sup>h</sup>	25	12	10	rund
			29	30	rund
4	16 <sup>h</sup> 15	25	12	10	rund
			29	30	rund
5	16 <sup>h</sup> 30	25	12	10	rund
			29	30	rund
6	16 <sup>h</sup> 50	25	12	10	rund
			29	30	rund
7	17 <sup>h</sup>	25	12	10	rund
			29	30	rund
8	17 <sup>h</sup> 10	25	12	10	rund
			29	30	rund
9	17 <sup>h</sup> 20	25	12	10	rund
			29	30	rund
10	17 <sup>h</sup> 30	25	12	10	rund
			29	30	rund
11	17 <sup>h</sup> 45	25	12	10	rund
			29	30	rund
20. XI. 28			III		
1	10 <sup>h</sup> 55	25	12	15	rund
			26	25	rund
2	11 <sup>h</sup> 10	25	12	15	rund
			26	25	rund
3	15 <sup>h</sup> 30	25	12	20	rund
			26	30	rund

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolyse- zeit	Plasmolyseform
23. XI. 28			IV		
1	15 <sup>h</sup> 33	25	7	55	rund
			12	40	rund
			24	25	rund
2	16 <sup>h</sup> 20	25	7	55	rund
			12	40	rund
			24	25	rund
3	17 <sup>h</sup> 5	25	7	60	rund
			12	40	rund
			24	25	rund
26. XI. 28			V		
1	10 <sup>h</sup> 10	25	7	50	rund
			23	25	rund
2	11 <sup>h</sup>	25	7	50	rund
			17	30	rund
3	11 <sup>h</sup> 10	25	7	60	rund
			17	30	rund
4	14 <sup>h</sup> 30	25	16	30	rund
			26	20	rund
5	14 <sup>h</sup> 55	25	16	30	rund
			26	20	rund
6	15 <sup>h</sup> 5	25	16	30	rund
			26	20	rund
7	15 <sup>h</sup> 40	25	16	30	rund
			26	20	rund
8	16 <sup>h</sup> 10	25	16	35	rund
			26	20	rund
9	16 <sup>h</sup> 20	25	16	35	rund
			26	20	rund
27. XI. 28			VI		
1	9 <sup>h</sup> 50	25	5	120	rund
			10	40	rund
2	10 <sup>h</sup> 40	25	7	120	rund
			12	40	rund
3	10 <sup>h</sup> 50	25	7	120	rund
			12	40	rund

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolyse- zeit	Plasmolyseform
27. XI. 28			VI		
4	11 <sup>h</sup>	25	7	120	rund
			12	40	rund
5	15 <sup>h</sup> 55	25	5	120	rund
			10	40	rund
6	16 <sup>h</sup>	25	5	120	rund
			10	40	rund
7	16 <sup>h</sup> 5	25	5	120	rund
			10	40	rund
8	16 <sup>h</sup> 15	25	5	130	rund
			10	40	rund
9	16 <sup>h</sup> 50	25	5	130	rund
			10	40	rund
10	16 <sup>h</sup> 55	25	5	130	rund
			10	40	rund
28. XI. 28			VII		
1	10 <sup>h</sup> 10	25	5	120	rund
			10	40	rund
2	10 <sup>h</sup> 15	25	5	120	rund
			10	40	rund
3	10 <sup>h</sup> 20	25	5	120	rund
			10	40	rund
4	10 <sup>h</sup> 25	25	5	120	rund
			10	40	rund
5	10 <sup>h</sup> 30	25	5	120	rund
			10	40	rund
29. XI. 28			VIII		
1	10 <sup>h</sup> 15	25	5	105	rund
			10	60	rund
			16	25	rund
2	10 <sup>h</sup> 45	25	5	105	rund
			10	60	rund
			16	25	rund

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolyse- zeit	Plasmolyseform
29. XI. 28		VIII			
3	11 <sup>h</sup> 25	25	5	105	rund
			10	60	rund
			16	25	rund
4	11 <sup>h</sup> 30	25	5	105	rund
			10	60	rund
			16	25	rund
30. XI. 28		IX			
1	10 <sup>h</sup> 40	25	5	150	rund
			10	75	rund
			17	35	rund
			25	20	rund
2	11 <sup>h</sup> 40	25	10	75	rund
			17	35	rund
			25	20	rund
3	16 <sup>h</sup> 45	25	0	60	eckig
			8	60	rund
			15,5	35	rund
			25	20	rund
4	16 <sup>h</sup> 55	25	0	60	eckig
			8	60	rund
			15,5	35	rund
			25	20	rund
3. XII. 28		X			
1	16 <sup>h</sup>	25	4	75	rund
			10	50	rund
			17	30	rund
			28	55	rund
2	16 <sup>h</sup> 5	25	4	75	rund
			10	50	rund
			17	30	rund
			28	55	rund
3	17 <sup>h</sup>	25	4	75	rund
			10	50	rund
			17	30	rund
			28	50	rund

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	Temperatur Grad Celsius	Plasmolyse- zeit	Plasmolyseform
3. XII. 28		X			
4	17 <sup>h</sup> 10	25	4	75	rund
			10	50	rund
			17	30	rund
			28	50	rund
4. XII. 28		XI			
1	10 <sup>h</sup> 40	25	7	65	rund
			11	45	rund
			19	35	rund
			29	45	rund
2	10 <sup>h</sup> 50	25	7	65	rund
			11	45	rund
			19	35	rund
			29	45	rund
3	12 <sup>h</sup> 5	25	7	70	rund
			12	50	rund
			20	35	rund
			30	45	rund
6. XII. 28		XII			
1	10 <sup>h</sup> 45	25	5	120	rund
			10	90	rund
			19	30	rund
			30	60	rund
2	11 <sup>h</sup>	25	5	120	rund
			10	90	rund
			20	30	rund
			30	60	rund
22. II. 29		XIII			
1	14 <sup>h</sup> 40	25	0	160	rund
			16	50	rund
2	14 <sup>h</sup> 50	25	0	160	rund
			16	50	rund
3	15 <sup>h</sup>	25	— 1	150	eckig
			16	50	rund
4	16 <sup>h</sup> 15	25	— 2	200	eckig
			16	50	rund

### III. Versuchsprotokoll über die Veränderung der Plasmolysezeit durch Narkotika

Vorbehandlung				Versuchs- beginn	Versuch		
Nr.	Beginn	% Äther	Dauer (Minuten)		Plasmolytikum %	Plasmo- lysezeit	Plasmo- lyseform
10. XII. 28				I			
1	16 <sup>h</sup> 30	1 % Wasser	15	16 <sup>h</sup> 45	30 30	15 30	rund eckig
2	16 <sup>h</sup> 30	1 % Wasser	30	17 <sup>h</sup>	30 30	15	rund eckig
11. XII. 28				II			
1	9 <sup>h</sup> 30	1 % Wasser	30	10 <sup>h</sup>	30 30	20 75	rund rund
2	9 <sup>h</sup> 30	1 % Wasser	60	10 <sup>h</sup> 40	30 30	20 75	rund rund
3	9 <sup>h</sup> 30	1 % Wasser	120	11 <sup>h</sup> 30	30 30	20 45	rund eckig
12. XII. 28				III			
1	11 <sup>h</sup> 5	1 % Wasser	30	11 <sup>h</sup> 35	30 30	20 60	rund eckig
2	11 <sup>h</sup> 5	1 % Wasser	40	11 <sup>h</sup> 45	30 30	20 60	rund eckig
3	11 <sup>h</sup> 5	1 % Wasser	60	12 <sup>h</sup> 5	30 30	20 60	rund eckig
4	11 <sup>h</sup> 5	1 % Wasser	50	11 <sup>h</sup> 55	30 30	20 60	rund eckig
12. XII. 28				IV			
1	15 <sup>h</sup> 55	1 % Wasser	30	16 <sup>h</sup> 25	30 30	20 60	rund eckig
2	15 <sup>h</sup> 55	1 % Wasser	35	16 <sup>h</sup> 30	30 30	20 60	rund eckig
3	15 <sup>h</sup> 55	1 % Wasser	35	16 <sup>h</sup> 30	30 30	20 60	rund eckig
13. XII. 28				V			
1	10 <sup>h</sup> 20	2 % 1 % Wasser	40 40	11 <sup>h</sup>	30 30 30	15 20 60	rund rund eckig
2	10 <sup>h</sup> 20	2 % 1 % Wasser	50 50	11 <sup>h</sup> 10	30 30	15 20	rund rund
					30	60	eckig

Vorbehandlung				Versuchs- beginn	Versuch		
Nr.	Beginn	% Äther	Dauer (Minuten)		Plasmolytikum %	Plasmo- lysezeit	Plasmo- lyseform
13. XII. 28				VI			
1	16 <sup>h</sup> 40	2%	15	16 <sup>h</sup> 55	30	15	rund
		1%	15		30	20	rund
		Wasser			30	60	eckig
2	16 <sup>h</sup> 40	2%	20	17 <sup>h</sup>	30	15	rund
		1%	20		30	20	rund
		Wasser			30	60	eckig
3	16 <sup>h</sup> 40	2%	45	17 <sup>h</sup> 25	30	15	rund
		1%	45		30	20	rund
		Wasser			30	40	eckig
4	16 <sup>h</sup> 40	2%	60	17 <sup>h</sup> 40	30	15	rund
		1%	60		30	20	rund
		Wasser			30	40	eckig
14. XII. 28				VII			
1	9 <sup>h</sup> 45	2%	40	10 <sup>h</sup> 25	30	15	rund
		1%	40		30	20	rund
		Wasser			30	60	rund
2	9 <sup>h</sup> 45	2%	60	10 <sup>h</sup> 45	30	15	rund
		1%	60		30	20	rund
		Wasser			30	60	rund
15. XII. 28				VIII			
1	9 <sup>h</sup> 10	3%	30	9 <sup>h</sup> 40	30	10	rund
		2%	30		30	15	rund
		Wasser			30	105	rund
2	9 <sup>h</sup> 10	2%	60	10 <sup>h</sup> 10	30	15	rund
		Wasser			30	105	rund
17. XII. 28				IX			
1	10 <sup>h</sup> 10	2%	45	10 <sup>h</sup> 55	30	15	rund
		Wasser			30	60	rund
2	10 <sup>h</sup> 10	2%	60	11 <sup>h</sup> 10	30	15	rund
		Wasser			30	60	rund

Die mit 3% Äther vorbehandelten Spirogyren erscheinen zum Teil stark beschädigt.

Vorbehandlung				Versuchs- beginn	Versuch		
Nr.	Beginn	% Chloral- hydrat	Dauer (Minuten)		Plasmolytikum %	Plasmo- lysezeit	Plasmo- lyseform
22. XII. 28				X			
1	10 <sup>h</sup> 20	1%	15	10 <sup>h</sup> 35	30	60	rund
		Wasser			30	120	rund
2	10 <sup>h</sup> 20	1%	30	10 <sup>h</sup> 50	30	50	rund
		Wasser			30	120	rund
3	10 <sup>h</sup> 20	1%	45	11 <sup>h</sup> 5	30	50	rund
		Wasser			30	105	eckig
4	10 <sup>h</sup> 20	1%	60	11 <sup>h</sup> 20	30	50	rund
		Wasser			30	90	eckig
29. XII. 29				XI			
1	9 <sup>h</sup> 30	1,5%	15	9 <sup>h</sup> 45	30	20	rund
		Wasser			30	150	rund
2	9 <sup>h</sup> 30	1,5%	30	10 <sup>h</sup>	30	15	rund
		Wasser			30	150	rund
3	9 <sup>h</sup> 30	1,5%	45	10 <sup>h</sup> 15	30	15	rund
		Wasser			30	150	rund
4	9 <sup>h</sup> 40	1,5%	60	10 <sup>h</sup> 30	30	15	rund
		Wasser			30	120	rund
5	10 <sup>h</sup> 35	1,5%	30	11 <sup>h</sup> 5	30	15	rund
		Wasser			30	95	eckig
6	10 <sup>h</sup> 35	1,5%	50	11 <sup>h</sup> 25	30	15	rund
		Wasser			30	80	eckig
7	10 <sup>h</sup> 35	1,5%	60	11 <sup>h</sup> 35	30	15	rund
		Wasser			30	70	eckig
31. XII. 28				XII			
1	10 <sup>h</sup> 45	1,5%	15	11 <sup>h</sup>	30	15	rund
		Wasser			30	90	rund
2	10 <sup>h</sup> 45	1,5%	30	11 <sup>h</sup> 15	30	15	rund
		Wasser			30	90	rund
3	10 <sup>h</sup> 45	1,5%	40	11 <sup>h</sup> 25	30	15	rund
		Wasser			30	75	rund

Vorbehandlung				Versuchs- beginn	Versuch		
Nr.	Beginn	% Chloro- form	Dauer (Minuten)		Plasmolytikum %	Plasmo- lysezeit	Plasmo- lyseform
12. I. 29				XIII			
1	10 <sup>h</sup> 45	0,007%	15	11 <sup>h</sup>	30	15	rund
		Wasser			30	60	rund
2	10 <sup>h</sup> 45	0,007%	35	11 <sup>h</sup> 20	30	15	rund
		Wasser			30	60	rund
14. I. 29				XIV			
1	10 <sup>h</sup> 20	0,007%	15	10 <sup>h</sup> 35	30	40	rund
		Wasser			30	60	rund
2	10 <sup>h</sup> 20	0,007%	20	10 <sup>h</sup> 40	30	40	rund
		Wasser			30	60	rund
3	10 <sup>h</sup> 20	0,007%	30	10 <sup>h</sup> 50	30	40	rund
		Wasser			30	60	rund
4	10 <sup>h</sup> 20	0,007%	60	11 <sup>h</sup> 20	30	40	rund
		Wasser			30	60	rund

### VI. Versuchsprotokolle über die Beeinflussung der Plasmolysezeit und -form durch die Wasserstoffionenkonzentration

Nr.	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform	pH des Kultur- wassers
7. III. 28		I		
1	25	10	rund	8—8,5
	30	30	rund	8—8,5
	45	—	eckig	8—8,5
8. III. 28		II		
1	25	5	rund	6
	30	10	rund	6
	45	—	eckig	6
2	25	10	rund	8
	30	20	rund	8
	45	—	eckig	8
9. III. 28		III		
1	25	15	rund	9
	30	—	eckig	9
	40	—	eckig	9

Nr.	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform	pH des Kultur- wassers
12. III. 28		IV		
1	25	20	rund	9
	30	—	eckig	9
	40	—	eckig	9
2	25	5	rund	6,5
	30	8	rund	6,5
	40	20	eckig	6,5
3	25	10	rund	9
	30	20	rund	9
	40	—	eckig	9
13. III. 28		V		
1	25	20	rund	9
	30	30	eckig	9
	40	—	eckig	9
2	30	—	eckig	6
14. III. 28		VI		
1	25	5	rund	7
	30	—	eckig	7
	40	—	eckig	7
2	25	20	rund	9
	30	—	eckig	9
	40	—	eckig	9
3	25	10	rund	6
	25	30	rund	9
16. III. 28		VII		
1	25	10	rund	6
	25	30	rund	9
20. III. 28		VIII		
1	25	10	rund	6,5
	30	30	rund	6,5
2	25	60	rund	9
	30	—	eckig	9
21. III. 28		IX		
1	25	10	rund	7,5
	30	20	rund	7,5

Nr.	Plasmolytikum %	Plasmolysezeit	Plasmolyseform	pH des Kultur- wassers
22. III. 28		X		
1	25	10	rund	8,5
	30	20	rund	8,5
2	25	10	rund	8
	30	20	rund	8
3	25	30	rund	9
	30	50	rund	9
26. III. 28		XI		
1	25	30	rund	9
	30	50	rund	9
2	25	30	rund	9
	30	50	rund	9
17. IV. 28		XII		
1	25	10	rund	8,5
	30	20	rund	8,5
18. IV. 28		XIII		
1	25	20	rund	8,5
	30	30	rund	8,5

**Vorversuche mit durch Zusatz von Essigsäure  
angesäuerten Lösungen**

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	pH	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
3. XII. 28		I			
1	12 <sup>h</sup> 45	30	7,5—8	25	rund
			6 —6,5	—	eckig
4. XII. 28		II			
1	12 <sup>h</sup> 4	30	7,5—8	25	rund
			6 —6,5	25	eckig
2	12 <sup>h</sup> 35	30	7,5—8	20	rund
			6 —6,5	20	eckig
3	16 <sup>h</sup> 10	30	7,5—8	20	rund
			6 —6,5	20	eckig

Nr.	Versuchs- beginn	Plasmolytikum %	pH	Plasmolysezeit	Plasmolyseform
5. XII. 28		III			
1	17 <sup>h</sup> 15	30	7,5—8	20	eckig
			6 —6,5	20	rund
2	17 <sup>h</sup> 40	30	7,5—8	20	eckig
			6 —6,5	20	rund
6. XII. 38		IV			
1	11 <sup>h</sup> 55	30	7,5—8	10	rund
			6 —6,5	15	rund
			5,5	15	rund
2	12 <sup>h</sup> 5	30	7,5—8	10	rund
			6 —6,5	15	rund
			5,5	15	rund
3	12 <sup>h</sup> 40	30	7,5—8	10	rund
			6 —6,5	15	rund
			5,5	15	rund