

Botany. — *Spiralwachstum, Wandbau und Plasmaströmung bei Phycomyces.* Von A. J. P. OORT und P. A. ROELOFSEN. (Communicated by Prof. F. A. F. C. WENT.)

(Communicated at the meeting of June 25, 1932).

Einleitung. Da in den letzten Jahren die Kenntnis über die Feinstruktur der Zellwand so sehr zugenommen hat, lag es auf der Hand auch die Wand des Sporangienträgers von *Phycomyces* näher zu untersuchen und dies um so mehr als *Phycomyces* Spiralwachstum zeigt (OORT 1931) und eines der wenigen Objekte ist, von welchen wir die Richtung des Streckungswachstums der einzelnen Zelle genau ermitteln können. Spiralwachstum nennen wir die Erscheinung, wobei die Zellwand in eine Spiralarichtung anwächst, sodass der oberhalb der wachsenden Zone liegende Teil der Zelle um seine Achse dreht. Dabei ist zu erwähnen, dass die Wachstumszone sich von $\frac{1}{2}$ mm bis 2—3 mm unter dem Sporangium befindet und dass also ausser dieser Zone kein Wachstum und also auch keine Drehung stattfindet. Die Richtung der Spirale ist der botanischen Nomenklatur zufolge meistens rechts, d.h. dass man, wenn man die Spirale als eine Wendeltreppe betrachtet, beim Hinaufsteigen die rechte Hand an der Innenseite hat. Es gab keine feste Beziehung zwischen der Grösse des Längenwachstums und der Drehung, sodass der Winkel, den die Spirale mit der Längsachse macht, bei demselben Träger zu verschiedenen Zeitpunkten und bei verschiedenen Trägern in der Grösse wechselt. Dieser Winkel kann selbst null oder die Spirale links sein, aber das bleiben Ausnahmen. Im Mittel wurde für die Rechtsspirale ein Winkel von 6° gefunden.

In der obengenannten Mitteilung über Spiralwachstum bei *Phycomyces* wurde schon auf eine mögliche Beziehung zwischen Spiralwachstum, Wandstruktur und Protoplasmaströmung hingewiesen. Es ist das Ziel dieser Arbeit eine Einsicht in den Wandbau und die Protoplasmaströmung zu bekommen, um damit zu versuchen der Erscheinung des Spiralwachstums und des Wachstums im allgemeinen näher zu kommen.

Ueber die Ursache des Spiralwachstums sind verschiedene Hypothesen, welche ganz mit den Hypothesen über die Entstehung einer Spiralstruktur vergleichbar sind, aufzustellen. Da es wahrscheinlich ist, dass Spiralwachstum und Spiralstruktur zwei Erscheinungen mit derselben Ursache sind, werden wir die Hypothesen, welche über die Entstehung einer Spiralstruktur handeln, hier kurz mitteilen. Mutatis mutandis kann dies dann auch auf das Spiralwachstum Anwendung finden.

A. Die Spiralstruktur wird durch die Zellwand selbst bestimmt. Strömt auch das Protoplasma spiralig, so wäre die Ursache in einer Induktion aus

der Zellwand zu suchen. Dabei gibt es dann verschiedene Möglichkeiten, wovon man einige bei NAEGELI und SCHWENDENER (1877, S. 415), HERZOG (1924) und FREY (1927, S. 628) angeführt findet.

B. Die Spiralstruktur soll von einer spiralförmigen Protoplasmaströmung bestimmt werden. Diese richtet die Teilchen der Wand und setzt sie in Spiralketten gerichtet ab. Wie man sich solches sehr verständlich machen kann, hat VAN ITERSON (1927, S. 186), der die alte Theorie von DIPPEL (1868) wieder aufnimmt, dargelegt. Später (1931, S. 27) führt VAN ITERSON eine Arbeit von SINGER (1930) an, worin dies für Stärke bewiesen wird. Zugleich wird darauf hingewiesen, dass dies auch für *Phycomyces* wahrscheinlich ist. Auch FREY (1930) neigt sich in neuester Zeit mehr der Protoplasmatheorie zu.

Wir werden nun erst untersuchen, wie es sich mit der Wandstruktur und Protoplasmaströmung bei *Phycomyces* verhält und kommen dann später auf diese Hypothesen zurück.

Gearbeitet wurde hauptsächlich mit einer + Kultur von *Phycomyces Blakesleanus* Burgeff. Soweit die — Kultur untersucht wurde, konnte kein Unterschied mit der + Kultur festgestellt werden. Die Varietät *piloboloides* ist auch untersucht; dabei wurde aber hinsichtlich der Zellwand kein wesentlicher Unterschied gefunden, weiterhin wird darum nur von *Phyc. Blakesl.* die Rede sein. Erwähnenswert ist hier nur, dass während der für die Varietät charakteristischen Anschwellung des Sporangienträgers, keine Drehung des Sporangiums statt findet und also auch keine Torsion des Trägers auftritt, wie BURGEFF (1914, S. 279) erwähnt hat.

Methode. Der Pilz wurde in Töpfchen mit feuchtem Brot kultiviert. Die Plasmaströmung kann man am besten studieren, wenn man die Träger vorsichtig aus dem Substrat loszieht und sie auf einem Objektträger in Luft, Wasser oder Paraffinöl betrachtet. Die Strömung kann so noch Stunden ungestört weitergehen, wie sich auch in Versuchen, worin die Träger nicht losgelöst wurden, zeigte.

Zum Studium des Feinbaus der Zellwand muss die einfache Wand untersucht werden. Zudem ist es notwendig die Achse der Zelle zu behalten um die Richtung der Teilchen hinsichtlich dieser bestimmen zu können. Der Zartheit wegen kann man nicht wie bei Fasern verfahren und es müssen also die verwendeten Präparationsmethoden — zur Raumersparung kurz — beschrieben werden.

1. Eine turgeszente Hyphe wird auf einen Objektträger gelegt, die Basis wird festgeklebt und unter dem Mikroskop wird die Zelle nahe an der Befestigungsstelle angeschnitten. Durch das Loch schiebt man einen dünn ausgezogenen Glasfaden in die Hyphe und kratzt nun vorsichtig mit einem Messerchen über den Faden, sodass die Wand der Länge nach durchgeschnitten wird. Der Faden wird dann fortgenommen und die Wand so gut wie möglich flach gelegt. Die Achsenrichtung bleibt nahezu behalten, aber von der zarten Wachstumszone bekommt man niemals gute

Präparate. Um Torsionen vorzubeugen darf man den Glasfaden nicht so weit durchschieben, bis die Hyphe von selbst aufspaltet.

2. Die Wachstumszone kann man dadurch studieren, dass man turgeszente Träger auf ein nasses Objektglas legt und sie durch Druck sprengt. Dies veranlasst eine Spaltlinie, die bis 3 cm lang sein kann. Diese Spaltlinie zeigt eine steile Rechtsspirale, sodass die Längsrichtung nicht beibehalten bleibt.

3. Zur genauen Bestimmung der Auslöschungsrichtungen kann man auch einen Träger unter einem scharfen Winkel durchschneiden, dann das Stück 90° um seine Achse drehen und platt drücken. Man bekommt so ein rautenförmiges Stück der einfachen Wand nebst einem Stück der doppelten Wand, wovon die Längsrichtung ganz genau behalten bleibt. Für die Wachstumszone ist diese Methode nur in Kombination mit 1 brauchbar. Man schneidet unter scharfem Winkel durch und schiebt anderswoher einen Glasfaden ein, bis dieser der Zellwand eng anliegt. Nun kann man das Präparat ohne Mühe in die gewünschte Lage drehen, was ohne Glasfaden in der schlaffen Wachstumszone nicht möglich wäre.

4. Zum Studium der verschiedenen Schichten der Wand, kann man von einer nach Methode 1 präparierten einfachen Wand Streifen abziehen. Dafür ist es erwünscht, die Wand vorher durch Eintrocknen auf den Objektträger entweder mit der Innen-, oder mit der Aussenseite festkleben zu lassen. Den Bau in tangentialer und axialer Richtung kann man an Schnitten untersuchen. Diese sind aber schwierig herzustellen. Die Doppelbrechung in tangentialer Richtung studiert man am Einfachsten am Rand von Zylinderpräparaten (d.h. von Präparaten, bei denen man durch Einschleiben von Glasfäden die Zylinderform behalten hat). Zudem kann man sich leicht über die Doppelbrechung orientieren, indem man die Ränder von in die Wand gestochenen Löchern — wo die Wand also mehr oder weniger hervorsteht, — betrachtet.

Chemische Eigenschaften der Zellwand. VAN WISSELINGH (1925, S. 187) führt *Phycomyces* als einen Fall an, wobei er das Vorkommen einer Substanz, die von ihm Chitin genannt wurde, bewiesen hat. Tatsächlich fällt die Chitosanreaktion positiv aus; zudem konnten wir auch Chitosansulfatsphaeriten bekommen. Wenn man die entgegengesetzten Meinungen über das eventuelle Vorkommen von meistens nicht scharf definierten Stoffen, wie Kallose, Pilzzellulose, Pektinen in Betracht zieht, so darf man vielleicht diese Chitinbestimmung nicht als ganz beweisend ansehen; man vergleiche aber auch KÜHNELT (1928). Zellulosereaktionen fallen negativ aus, aber aus den Untersuchungen von THOMAS (1928, 1930) ergibt sich, dass die Wand Stoffe enthalten kann, welche durch andere derart verdeckt werden, dass sie erst nach langer Behandlung zum Reagieren imstande sind.

Kongorot und Rutheniumrot werden, wenn die Wand durch Aufkochen in Lauge permeabel gemacht ist, stark aufgenommen; aber das sagt nichts

aus, weil auch Chitosan sich damit färbt. Da die optischen Eigenschaften, wie näher erörtert werden soll, von Zellulose-fasern stark abweichen, ist es wohl sehr wahrscheinlich, dass die Wände grösstenteils aus Chitin bestehen und dass Zellulose nicht oder nur in geringer Menge vorkommt.

Es muss noch erörtert werden, dass die Wand an der Aussenseite für Farbstoffe, Wasser und Plasmolytika völlig impermeabel ist. Dabei ist zu erwähnen, dass diese Stoffe von innen direkt eindringen. Das äusserste Schichtchen hat also kutikulare Eigenschaften, die es aber erst unter der Wachstumszone bekommt.

Protoplasmaströmung. Unter der Wachstumszone ist das wandständige Plasma dünn und besteht, dem Anschein nach, aus vielen dünnen Fädchen, die alle in einer Richtung laufen. In diesen Fädchen werden Körnchen und Fetttropfen gleichende Teilchen mitgeführt. Hauptsächlich bewegen sie sich der Spitze hin, aber fast immer findet man auch wenige Fädchen, die basalwärts gehen. Diese Plasmaströmchen laufen meistens in einer steilen Spirale rechts um die Achse herum. Der Neigungswinkel, den die Spirale mit der Achse bildet, kann bei demselben Träger von $\pm 15^\circ$ rechts bis $\pm 15^\circ$ links wechseln, doch sind Umkehrungen von rechts nach links oder umgekehrt ziemlich selten. Ein ausschliesslich links strömender Träger wurde nur einmal beobachtet. Neigungswinkel von fast null oder null wurden ziemlich oft gefunden.

In der Wachstumszone hat es den Anschein, als ob das ganze Zellvolumen mit Plasma gefüllt ist. Lässt man die Zelle leer laufen, dann sieht man einen deutlichen Unterschied zwischen einem in Dicke variierenden wandständigen Plasma und einem flüssigeren zentralen Plasma. Die Strömung ist gering und ohne bevorzugte Richtung. Die Teilchen wirbeln durcheinander, ohne dass man aussagen kann, welcher Teil durch die BROWNSche Bewegung und welcher Teil durch eine eigene Bewegung verursacht wird.

Der Bau der Zellwand. Untersucht man eine einfache oder doppelte Zellwand zwischen gekreuzten Nikols, so findet man nur eine schwache Doppelbrechung. Das rührt daher, dass die natürliche schwach dichroitische blau-schwarze Farbe der Wand, die schon wenige cm unter dem Sporangium aufzutreten anfängt, die Untersuchung stört. Durch vorsichtiges Erwärmen in Lauge, Bleichen in Chlor oder Behandlung mit Diaphanol verschwindet diese. Die Doppelbrechung tritt nun deutlich hervor, ist aber noch schwach, sodass wir nur orientierend beobachten können, dass es eine dünne äussere Schicht gibt, die in radialer Richtung gesehen (also in Flächenaufsicht) isotrop ist, und eine dicke innere, die hinsichtlich der Achse positiv doppelbrechend ist. Eine schiefe Auslöschung ist nur in günstigen Fällen und in starkem Licht zu finden. Die Wachstumszone ist in radialer Richtung isotrop, hier ist also nur die äussere Schicht anwesend. In tangentialer und axialer Richtung gibt es eine schwache Doppelbrechung.

Für eine nähere Untersuchung haben wir die wenig bekannte Tatsache, die Doppelbrechung mittels Färbungen zu verstärken (siehe u.a. SCHMIDT 1931), benutzt. Es zeigte sich, dass Jod in Chlorzinkjodlösung ein sehr geeigneter Farbstoff war. Ausser Verstärkung der Doppelbrechung trat dazu ein starker Dichroismus auf. Die Jodfärbung hat zudem noch den Vorteil, dass damit die Streifung viel deutlicher hervortritt.

Es stellte sich nun heraus, dass es in ausgewachsenen Wänden mindestens drei Schichten gibt, die zusammen ungefähr 3μ dick sind. Die Dicke der einzelnen Schichten ist nicht genau feststellbar, Schicht 1 und 3 sind sehr dünn (0.5μ oder dünner), während die mittlere also mindestens 2μ dick ist.

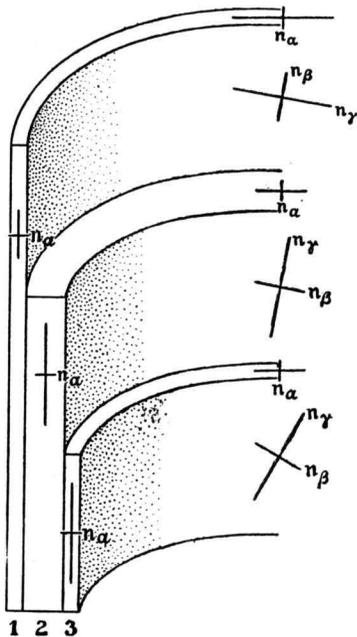


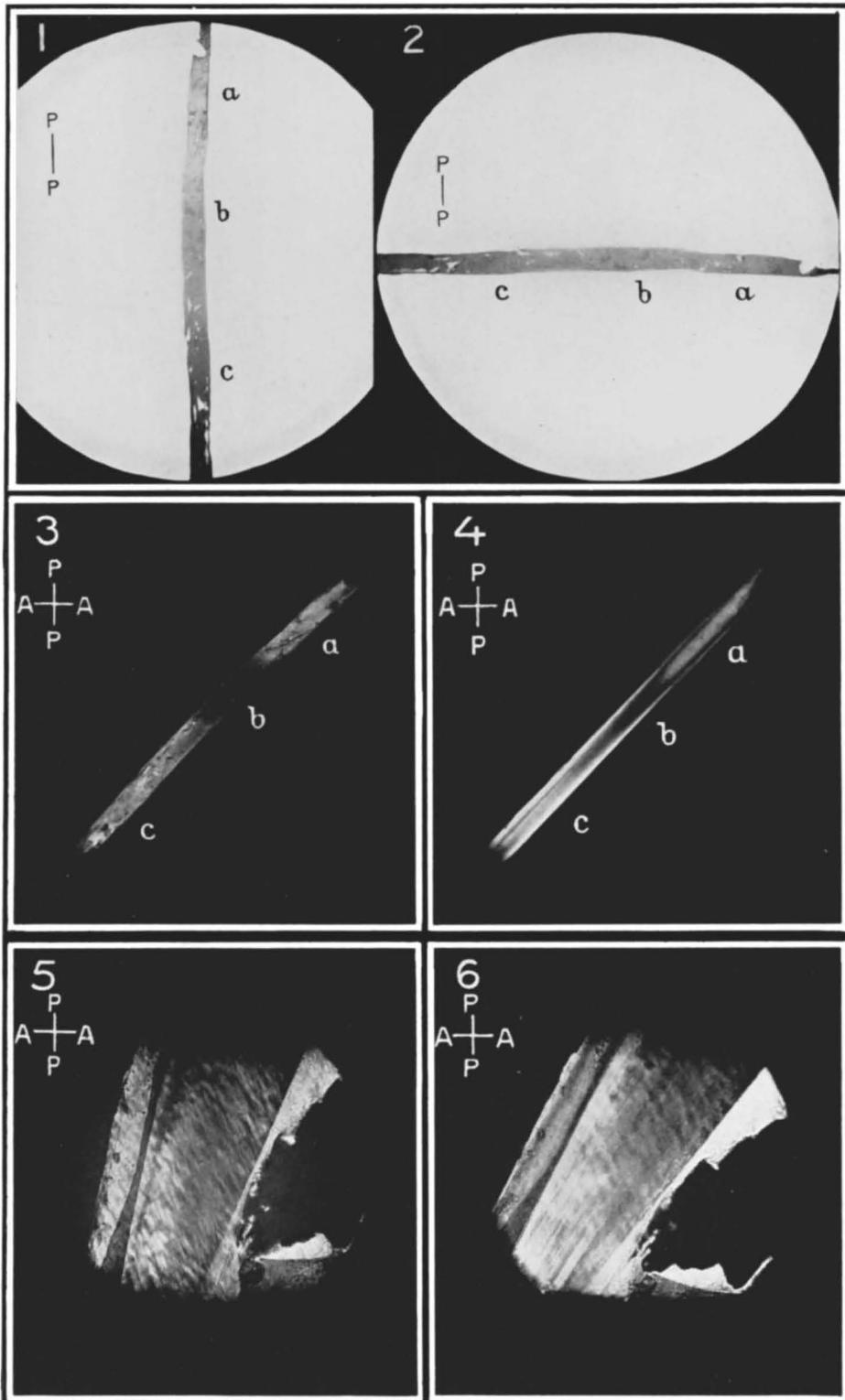
Fig. 1. Schematische Darstellung der Wandschichtung mit eingetragenen Brechungsindices.

Wir werden nun die Schichten gesondert besprechen (Fig. 1).

Schicht 1 (primäre Wand) stimmt mit der oben genannten äusseren Schicht überein. In der Wachstumszone tritt sie gesondert auf, ist aber über die ganze Länge als eine leicht von der folgenden zu spaltende Schicht vorhanden. Die längste Achse des dreiaxigen Indexellipsoids, n_γ , läuft nahezu tangential, n_β nahezu axial und n_α radial. Die Hyphe ist also bezüglich der Längsrichtung negativ. Der Dichroismus ist positiv in Hinsicht auf n_γ , also negativ hinsichtlich der Längsachse (Tafel 1, Fig. 1 und 2 : a). Die Auslöschung zwischen gekreuzten Nikols ist schief, der Neigungswinkel ist nur gering. Die Spirale verläuft meistens rechts, bisweilen auch links. Genaue Winkelmessungen waren

nicht möglich, doch ist es deutlich, dass n_β mit der Wachstumsrichtung, wenigstens ungefähr, übereinstimmt. In Zylinderpräparaten (siehe Methode) findet man zu beiden Seiten der Mitte zwei nicht aufleuchtende Zonen dort, wo die negative Doppelbrechung in radialer Richtung in die positive in tangentialer Richtung übergeht (Tafel 1, Fig. 4 : a).

Bei Druckerhöhung mit Tusche in und unter der Wachstumszone markierter und in Wasser gelegter Träger, können wir beobachten, dass die Zelle sich ausschliesslich in der Wachstumszone dehnt und sich während der Dehnung so dreht, dass die Richtung der grössten Dehnbarkeit meistens in einer steilen Rechtsspirale verläuft. Die Dehnung ist elastisch, sie geht also bei Druckabnahme wieder zurück. Auch in normalen turgeszenten Zellen sieht man bei Turgorverminderung die Dehnung unter Drehung zurückgehen. Wird der Druck zu gross, so platzt die Zelle in und



unter der Wachstumszone auf. Die Spaltlinie verläuft in einer steilen, meist Rechtsspirale. Die Richtung, worin die Elastizitätsgrenze zuerst überschritten wird, steht also senkrecht zur Richtung der grössten Dehnbarkeit und stimmt also mit n_γ überein.

Zusammenfassend finden wir also, dass die Wachstumsrichtung, die Richtung einer der Achsen des Indexellipsoids (n_β), die Richtung der Dehnbarkeit und der Spaltbarkeit zusammenfallen; n_γ steht senkrecht dazu und läuft tangential.

Bisweilen beobachtet man eine sehr feine Streifung, ungefähr parallel zu der Spaltlinie. Zudem gibt es bei Quellung ein System in Längs- und Querrichtung verlaufender Aederchen, die den Eindruck von kleinen Rissen machen.

Bisweilen gibt es dem Anschein nach, noch andere Streifungssysteme, aber wir haben hiervon kein deutliches Bild bekommen. So ist es eine Frage, ob diese primäre Wand noch aus mehr Schichtchen gebildet ist. Die Wand lässt sich aber nicht in mehr Schichtchen spalten. Sie ist schlaff und biegsam und zerreisst in allen Richtungen, zeigt auch keine Fibrillarstruktur. Das äusserste Schichtchen der primären Wand ist unter der Wachstumszone für Farbstoffe usw. impermeabel und hat also kutikuläre Eigenschaften. Das schliessen wir daraus, dass die primäre Wand von innen her ganz gut, von aussen her nicht gefärbt wird, und polare Permeabilität ziemlich unwahrscheinlich ist. Jod wird stark aufgenommen, vermutlich noch relativ stärker als durch Schicht 2.

Schicht 2 (sekundäre Wand) tritt unter der Wachstumszone auf und bekommt eine grössere Dicke als 1. n_γ verläuft parallel zu der Protoplasmaströmung, wie in vielen Fällen festgestellt wurde. Von markierten Trägern wurde erst die Protoplasmaströmung bestimmt und danach die Auslöschungsrichtung. Besonders bei Umkehrung in einer Linksspirale, war die Parallelität sehr auffällig. Im Gegensatz mit 1 ist die Doppelbrechung positiv hinsichtlich der Achse (Fig. 1), ebenso der Dichroismus (Taf. 1, Fig. 1 und 2 : c). n_β verläuft tangential, n_α wie bei 1 radial. Weil Schicht 1 negativ, Schicht 2 positiv hinsichtlich der Achse ist, findet man beim Dickerwerden von Schicht 2 unter der Wachstumszone eine Stelle, wo beide Schichten einander kompensieren und die also in Diagonalstellung unter gekreuzten Nikols nicht aufleuchtet (Tafel 1, Fig. 3 : b). Auch Zylinderpräparate zeigen dasselbe, aber nur in der Mitte (Tafel 1, Fig. 4 : b). Diese Kompensationsstelle liegt bei gut wachsenden Trägern 3 bis 4 mm unter dem Sporangium, also 1 bis 2 mm unter der Wachstumszone. Wir haben dies u.a. bestimmt, indem wir zuerst die Länge der Wachstumszone und danach von derselben Zelle die Kompensationsstelle massen. Es ist wohl sehr wahrscheinlich, dass Schicht 2 also ungefähr am Ende der Wachstumszone aufzutreten anfängt.

In gequollenen Präparaten findet man eine sehr deutliche Längsstreifung, parallel zu n_γ und der Plasmaströmung, meistens also in einer steilen

Rechtsspirale. Schneidet man die Zelle unter scharfem Winkel durch, so bekommt man am Rand sehr schöne Fibrillen. Diese laufen parallel zur Streifung. Die Dehnbarkeit ist sehr gering, die Spaltung parallel der Streifung geht leicht.

Schicht 3 ist sehr dünn. Sie tritt unter der Wachstumszone auf, aber es lässt sich schwer sagen wo, weil das gesonderte Auftreten dieser Schicht in den Präparaten mehr oder weniger zufällig ist. Sie ist nur nach Jodfärbung zu finden und nur wenn diese genügend stark ist, während Schicht 1 und 2 sich schon in schwachen Chlorzinkjodlösungen färben. Meistens sieht man Schicht 3 (präpariert nach Methode 4) mit einem dickeren oder dünneren Schichtchen von 2 überdeckt. Ist Schicht 2 völlig oder mit Schicht 1 anwesend, so ist Schicht 3 durch die stärkere Färbbarkeit von Schicht 1 und 2 meistens nicht zu beobachten. Das Indexellipsoid ist vermutlich dreiachsig, n_y verläuft unter einem Winkel von 20° — 40° , immer in einer Rechtsspirale. Keine Beziehung mit der Protoplasmaströmung. Die Schicht zeigt eine ziemlich grobe netzförmige oder schachbrettartige Zeichnung, keine Streifung wie bei Schicht 2. Das auf Tafel 1, Fig. 5 und 6, abgebildete Präparat löscht unter einem Winkel von 20° mit der Längsrichtung aus. Dreht man das Präparat aus dieser Lage 10° nach links (Taf. 1, Fig. 5), so sieht man eine Zeichnung von abwechselnd lichten und dunkeln Feldchen. Dreht man das Präparat aus dem Dunkelstande nach rechts (Taf. 1, Fig. 6), so sind die dunkeln Feldchen licht und die lichten dunkel geworden. In der ersten Lage ist die Zeichnung am besten zu sehen, die lichten Fleckchen sind lichtgelb, die dunkeln dunkelgrau. In der zweiten Lage tritt Schicht 2 störend auf (sich Streifung), die lichten Feldchen sind gelborange, die dunkeln orangerot und der Farbenunterschied ist damit weniger intensiv. Auch bei dieser Schicht ist der Dichroismus hinsichtlich n_y positiv.

Die wechselnden Neigungswinkel, sowohl von Schicht 1, wie von 2 und 3 machen es wahrscheinlich, dass nicht die Wand, sondern die Protoplasmaströmung die Teilchen richtet (siehe Einleitung).

Micellarstruktur und Formdoppelbrechung. Die gefundene Verstärkung der Doppelbrechung und der Dichroismus deuten auf eine Micellarstruktur hin. Dabei sind doppelbrechende oder nicht doppelbrechende Teilchen, die sog. Micellen, in eine intermicellare Substanz eingebettet. Gibt es einen Unterschied im Brechungsindex zwischen Micellen und intermicellarer Substanz, so tritt der Theorie von WIENER (1912) zufolge Doppelbrechung auf (Formdoppelbrechung). Sind die Teilchen selbst doppelbrechend, so ist die Wand auch doppelbrechend (Eigendoppelbrechung). Meistens sind beide Formen der Doppelbrechung zugleich da, sind also doppelbrechende Teilchen in eine Substanz von anderem Brechungsindex eingebettet. Bei *Phycomyces* ist die Eigendoppelbrechung den Resultaten mit ungefärbten Zellen gemäss, gering (wenn nicht Eigen-

und Formdoppelbrechung einander ganz oder teilweise kompensieren). Dies weist also auf einen Unterschied mit Zellulose, die eine starke Eigendoppelbrechung hat, hin. Wegen der schwachen Doppelbrechung in ungefärbtem Zustand ist es beschwerlich die Doppelbrechung in verschiedenen Imbibitionsflüssigkeiten zu untersuchen, um daraus auf die *Form* der Teilchen zu schliessen. Doch wollen wir die Möglichkeiten betrachten. Zufolge WIENER ist die Formdoppelbrechung in idealen Fällen mit einem optisch einachsigen Kristall zu vergleichen. Indem wir nun ein dreiaxsiges Indexellipsoid fanden, das praktisch nur auf die Formdoppelbrechung zurückzuführen ist, weil die Färbung ausschliesslich die Formdoppelbrechung verstärkt, können wir nun z.B. annehmen, dass die Micellen wohl in einer Richtung orientiert sind, aber in radialer Richtung hinsichtlich der Längsrichtung schief stehen. Im Querschnitt wird dann keine Isotropie gefunden. Oder wir können annehmen, wie auch FREY (1930) es tut, dass die Micellen hauptsächlich in einer Richtung orientiert sind, aber in einer bestimmten Ebene Abweichungen zeigen. Schicht 1 würde dann zum Typus „Röhrenstruktur“ gehören, wobei die Teilchen tangential mit Abweichungen in axialer Richtung gerichtet sind. Schicht 2 würde zum „Faser“-typus gehören, wobei die Teilchen axial mit Abweichungen in tangentialer Richtung gerichtet sind. Wiewohl FREY diese Fälle nur für Stäbchendoppelbrechung behandelt, gilt diese Betrachtung auch für Plättchendoppelbrechung nur mit Umkehrung des Vorzeichens der Doppelbrechung. Bei *Phycomyces* würden beide Fälle möglich sein, weil, wie schon gesagt, ein Schluss auf die Form noch nicht möglich ist. Obendrein kann man ein dreiaxsiges Indexellipsoid auch durch eine vollkommen parallele Orientierung rhombischer (also dreiachsiger) Micellen erklären.

Dichroismus. Auf einige Besonderheiten des schon früher erwähnten Dichroismus wollen wir näher eingehen. Im Gegensatz zu Rameh-fasern oder Cobaea-fäden, welche den Dichroismus schwarz-farblos aufweisen, ist der Dichroismus in mit Chlorzinkjod gefärbten Zellwänden von *Phycomyces* nur relativ. Bei schwacher Färbung tritt der Farbenunterschied gelb-orange, bei starker Färbung rotbraun-schwarz auf. Auch diese Tatsache weist auf einen Unterschied mit Zellulose hin. Die Adsorptionskräfte sind bei Chitin offenbar viel weniger stark, wodurch die Jodteilchen weniger gerichtet werden. Auch der Umstand, dass das Jod wiederum ziemlich rasch aus der Wand verschwindet, spricht dafür. Es würde selbst möglich sein, dass bei *Phycomyces* das Jod nur absorbiert wird, welche Möglichkeit von FREY für Zellulose angeführt, aber verworfen wird.

Bestimmen wir die Auslöschungsrichtungen von dichroitisch gefärbten Fasern unter gekreuzten Nikols (z.B. Rameh, Vinca, Flachs mit *Ag*, *Au*, *J* oder *Te* gefärbt), so finden wir, dass diese niemals einen Winkel von 90° miteinander bilden, wie bei ungefärbten Fasern. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass in Chlorzinkjod gefärbte Fasern als Nikol wirken und aus verschiedenen orientierten Schichten bestehen, kann man dies sehr leicht

erklären. In Fig. 2 sind die verschiedenen Möglichkeiten abgebildet. Bei Cobaea-fäden und Kunstseide bilden die Auslöschungsrichtungen einen geraden Winkel miteinander. Diese fallen zugleich mit den Schwingungsebenen zusammen (Fig. 2: a, links). Hier haben wir es also mit einer ein-

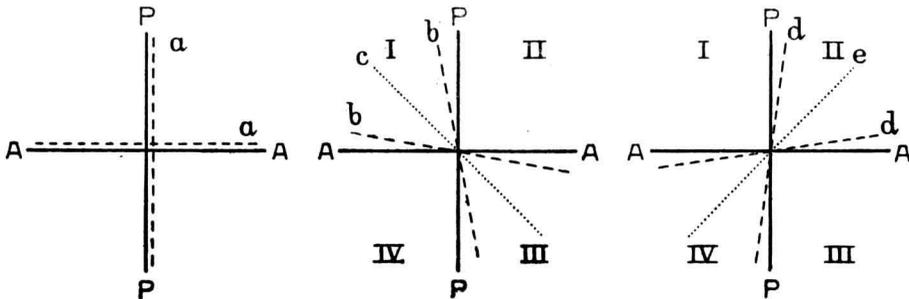


Fig. 2. Schema der Auslöschungsrichtungen in Chlorzinkjod gefärbter Fasern und Zellen unter gekreuzten Nikols. *P—P*, bzw. *A—A* Schwingungsebene des Polarisators bzw. Analysators. Links: Cobaea-fäden und Kunstseide (a). Mitte: Rameh-faser und doppelte Wand von *Phycomyces* (b), Baumwolle (c), alle mit Rechtsspiralstruktur. Rechts: Flachs- und Vinca-fasern (d), Baumwolle (e), alle mit Linksspiralstruktur.

fachen, in der Längsrichtung verlaufenden Struktur zu tun. Bei Ramehfasern fallen die Auslöschungsrichtungen in den Quadranten I und III (Fig. 2: b, Mitte). Dies deutet auf eine Struktur, die hauptsächlich¹⁾ in einer Rechtsspirale verläuft, hin. Bei Vinca- und Flachsfasern liegen die Auslöschungsrichtungen in den Quadranten II und IV (Fig. 2: d, rechts). Hier haben wir es also mit einer Struktur, die hauptsächlich¹⁾ in einer Linksspirale verläuft, zu tun. Bei Baumwolle fallen die Auslöschungsrichtungen je zwei und zwei ungefähr zusammen. Die Strukturrichtung bildet hier dann auch einen grossen Winkel ($\pm 29^\circ$, siehe BALLS 1923) mit der Längsrichtung. Wir finden nun abwechselnd Auslöschung in den Quadranten I und III (c, Mitte) und in II und IV (e, rechts); dies weist auf eine bald Rechts- bald Links-spiralstruktur, wie sie tatsächlich da ist, hin.

Ohne weiter hierauf eingehen zu können, haben wir zu erwähnen, dass die Untersuchung speziell mit Chlorzinkjod gefärbter Zellwände uns instand setzt zu bestimmen, ob eine Wand aus verschiedenen orientierten Schichten besteht. Finden wir, dass die Auslöschungsrichtungen keinen Winkel von 90° miteinander bilden, so sind wir sicher, es mit mindestens zwei verschieden orientierten Schichten zu tun zu haben. Finden wir einen geraden Winkel, so dürfen wir auf eine oder mehrere gleich gerichtete Schichten schliessen.

Bei *Phycomyces* und bei schwächer dichroitischen Färbungen haben wir

¹⁾ Wir legen den Nachdruck auf das Wort: hauptsächlich. Flachs hat z. B. eine dünne primäre Wand, die rechtsgewunden ist und eine dicke sekundäre Wand, die linksgewunden ist. Offenbar bestimmt hier die dicke Schicht die Auslöschungsrichtung in der gefärbten Wand.

es nur mit einer partiellen Nikolwirkung oder mit Nikolwirkung für eine bestimmte Farbe zu tun. Doch ist nach der oben angegebenen Methode bei *Phycomyces* schon direkt auf Spiralbau zu schliessen. Auf das Zusammenwirken von verschiedenen orientierten Schichten, die hinsichtlich der Farbe verschiedenes Absorptionsvermögen und einen verschiedenen Dichroismus besitzen können, sind die bisweilen komplizierten Erscheinungen (z.B. der eigenartige Farbenwechsel, der bei Schicht 2 und 3 auftritt) zurückzuführen.

Zusammenfassung.

1. Die Zellwand von *Phycomyces* besteht wahrscheinlich hauptsächlich aus Chitin und enthält kein oder wenig Zellulose. Auf das Fehlen der Zellulose weisen auch die schwache Eigendoppelbrechung und die dichroitischen Erscheinungen hin.

2. In der primären Wand (Schicht 1 ist in der Wachstumszone allein vorhanden) stimmt die Richtung der grössten Dehnbarkeit, der Spaltbarkeit, einer feinen Streifung und von n_z mit der Wachstumsrichtung überein. Diese verläuft meistens in einer steilen Rechts-, bisweilen auch Linkspirale. n_y steht senkrecht auf dieser Richtung und verläuft ungefähr tangential. Die Plasmaströmung hat keine bevorzugte Richtung.

In der sekundären Wand (Schicht 2) steht n_y axial, parallel zur Streifung und zur Plasmaströmung, die hier deutlich gerichtet ist. Diese Schicht tritt unterhalb der Wachstumszone auf und erreicht eine ziemliche Dicke. Die Richtung der Streifung verläuft meistens in einer steilen Rechtsspirale, bisweilen (anscheinend öfters als bei Schicht 1) ist sie auch gerade oder verläuft sie in einer steilen Linkspirale.

Eine dritte, dünne Schicht hat eine schachbrettartige Struktur und verläuft unter einem Winkel von 20° — 40° immer in einer Rechtsspirale.

3. Die Eigendoppelbrechung ist schwach, ebenso wie die Formdoppelbrechung. Diese letzte kann aber durch Färbung mit Chlorzinkjod sehr verstärkt werden.

Die Erscheinungen der Färbung (Dichroismus und Verstärkung der Doppelbrechung) deuten auf eine Micellarstruktur hin. Die Form der Teilchen konnte nicht bestimmt werden. Es ist möglich, dass die Farbe nur absorbiert wird und nicht adsorbiert, wie für Zellulose wahrscheinlich ist.

4. Es wird hingewiesen auf die Möglichkeit dichroitisch gefärbte Zellwände zwischen gekreuzten Nikols auf die eventuelle Anwesenheit verschieden orientierter Schichten zu untersuchen.

Wageningen }
Utrecht } Juni 1932.

LITERATUR.

AMBRONN, H. und FREY, A. Das Polarisationsmikroskop. 1926.

BALLS, W. L. The determiners of cellulosestructure, as seen in the cellwall of cotton hairs. Proc. Roy. Soc. London. 95 B: 72. 1923.

- BURGEFF, H. Untersuchungen über Variabilität, Sexualität und Erbllichkeit bei *Phycomyces nitens* Kunze. *Flora* **107**: 259. 1914.
- DIPPEL, L. Die wandständigen Protoplasmaströmchen in den Pflanzenzellen usw. *Abh. Naturf. Ges. Halle* **10**: 55. 1868.
- FREY, A. Die Technik der dichroitischen Metallfärbungen. *Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.* **42**: 421. 1925.
- Das Wesen der Chlorzinkjodreaktion und das Problem des Faserdichroismus. *Jahrb. wiss. Bot.* **67**: 597. 1927.
- WYSSLING. Mikroskopische Technik der Micellaruntersuchung von Zellmembranen. *Zeitschr. f. wiss. Bot.* **47**: 1. 1930.
- HERZOG, R. O. Ueber den Feinbau der Faserstoffe. *Naturw.* **12**: 955. 1924.
- ITERSON, G. VAN. De wording van den plantaardigen celwand. *Chem. Weekblad* **24**: 166. 1927.
- Links en rechts in de levende natuur. *Handelingen 23e Ned. Nat. en Geneesk. Congres. S. 4.* 1931.
- KÜHNELT, W. Studien über den mikrochemischen Nachweis des Chitins. *Biol. Zentralbl.* **48**: 374. 1928.
- NAEGELI, C. und SCHWENDENER, S. *Das Mikroskop.* 1887.
- OORT, A. J. P. The Spiral-growth of *Phycomyces*. *Proc. Roy. Acad. Sc. Amsterdam.* **34**: 564. 1931.
- SCHMIDT, W. J. Dichroitische Färbung tierischer und pflanzlicher Gewebe. *Abderh. Handb. Abt. V, Teil 2, Heft 16.* S. 1835. 1931.
- SINGER, R. Ueber die Strömungsdoppelbrechung der Molekülkolloide. *Ztschr. physik. Chem. A.* **150**: 257. 1933.
- THOMAS, R. C. Composition of fungus hyphae. *Amer. Journ. Bot.* **15**: 537. 1928 und **17**: 779. 1930.
- WIENER, O. Die Theorie des Mischkörpers für das Feld der stationären Strömung. *Abh. Sächs. Ges. d. Wiss., math. phys. Kl.* **32**: 507. 1912.

ERKLÄRUNG DER TAFEL I.

- Fig. 1 und 2. Einfache Wand in der Wachstumszone (a) und darunter (c). *P—P*, Schwingungsebene des Polarisors. Bei a ist der Dichroismus negativ, bei c positiv hinsichtlich der Längsrichtung, b ist die Kompensationsstelle.
- Fig. 3. Dasselbe Präparat wie bei 1 und 2 in Diagonalstellung zwischen gekreuzten Nikols. Buchstaben wie bei 1 und 2.
- Fig. 4. Ein Zylinderpräparat in Diagonalstellung zwischen gekreuzten Nikols, Buchstaben wie bei 1 und 2. In a wird die aufleuchtende Mitte zu beiden Seiten von nicht aufleuchtenden Zonen begrenzt, dort, wo die negative Doppelbrechung in radialer Richtung in die positive in tangentialer Richtung übergeht. Äusserster Rand des Präparats in a wiederum aufleuchtend.
- Fig. 5 und 6. Schicht 3 mit einem dünnen Schichtchen von 2 bedeckt in verschiedenen Lagen unter gekreuzten Nikols (siehe Text). Sämtliche Präparate in Chlorzinkjod gefärbt. Aufnahme auf panchromatischen Platten. Vergrößerung von 1—3 $\pm 8\times$, von 4 $\pm 25\times$, von 5 und 6 $\pm 160\times$.