

1. Fraß von *Apion aestivum* an *Phaseolus vulgaris*. 7. 8. 41, aus einem Garten in Bredstedt bei Massenaufreten.
2. Fraß von *Apion aestivum* an *Petroselinum hortense* var. *radicosum*. 11. 8. 41, Käfigversuch.
3. Fraß von *Apion aestivum* an *Lactuca sativa*. 12. 8. 41, Käfigversuch.
4. Fraß von *Apion aestivum* an *Daucus carota* subsp. *sativus*. 13. 8. 41, Käfigversuch.
5. Fraß von *Apion aestivum* an *Taraxacum officinale*. 14. 8. 41, Käfigversuch.
6. Fraß von *Apion aestivum* an *Aegopodium podagraria*. 17. 7. 41, Käfigversuch.  
(Aufn. Dr. Lindemuth.)

normaler Vermehrung fressend angetroffen worden ist. Tiere, die einmal in den Hungerzustand versetzt worden sind, können nicht mehr in Versuchen zur Feststellung der normalen Fraßpflanze gebraucht werden. Wenn man den Begriff »Fraßpflanze« so faßt, kommen als Fraßpflanzen für *Apion aestivum* nur *Trifolium*-Arten in Betracht.

Am 8. Oktober waren in dem befallenen Garten noch deutlich die Spuren des Schadens zu erkennen. In dem humosen Sandboden wurden unter den abgefallenen Blättern noch zahlreiche lebende *Apion aestivum* und auch *Apion assimile* gefunden. Es ist anzunehmen, daß beide Tiere vielfach gemeinsam vorkommen und daß an den gelegentlichen Schädigungen *Apion assimile* ebenfalls beteiligt ist.

Erwähnenswert erscheint es, daß ein ähnlicher Schaden durch *Apion aestivum* auch schon im Jahre 1937 in derselben Gegend beobachtet worden ist. Damals wurde Fraß an jungem Gemüse, Bohnen, Petersilie, Mohrrüben, Salat und Küchenkräutern außer Borretsch und Portulak gemeldet. Eine den Garten begrenzende Weißdornhecke wurde nicht angegangen. Ein gelegentlicher Futterwechsel scheint also bei *Apion aestivum* nicht allzu selten zu sein.

Als Bekämpfungsmittel gegen die Käfer wurde mit gutem Erfolg das Derrispräparat Kümex der Chemischen Werke Lübeck angewendet.

#### Schrifttum.

- (1) Wagner, Hans, Über das Sammeln von Apionen. Coleopterologische Rundschau, Bd. 26, 1940, S. 41.
- (2) Rostrup-Thomsen, Die tierischen Schädlinge des Ackerbaues. Berlin 1931, S. 171.
- (3) Urban, C., Die Nahrungspflanzen der Apionen. Entomologische Blätter, Bd. 19, 1923, S. 173.
- (4) Lengerken, H. v., Von Käfern erzeugte Pflanzengallen. Entomologische Blätter, Bd. 37, 1941, S. 145.

## Eiweißkristalle im Gewebe der Kartoffelknolle

Von Dr. Rudolf Janisch, Pflanzenschutzamt Königsberg (Pr.).

Während morphologischer Arbeiten mit dem Lumineszenzmikroskop nach Zeiß-Jena fielen die nachstehend abgebildeten Kristalleinschlüsse innerhalb der Zellen des Knollengewebes der Kartoffel durch ihr überaus häufiges und zahlreiches Auftreten auf. Diese Kristalle sind zwar seit langem bekannt (1), doch werden sie in den Zellen meist nicht beachtet. Ihre Lichtbrechung ist zwar größer als die des Plasmas, doch entziehen sie sich leicht bei der Unübersichtlichkeit der mit vielen verschiedenartigen Inhaltsstoffen (Plasma, Zellkern, Nebenkern, Stärke, Chloroplasten, Leukoplasten u. dgl.) gefüllten Zellen der unvorbereiteten Erwartung. Bei Betrachtung im U. V.-Licht des Lumineszenzmikroskops fallen die Kristalle jedoch leicht durch ihre grünlichblaue Eigenlumineszenz auf, während insbesondere das Plasma und die Stärke nicht lumineszieren und daher unsichtbar bleiben. Bemerkenswert erscheint, daß sich die Farbe der Eigenlumineszenz der Kristalle im wesentlichen nur durch die etwas geringere Intensität von der des Zellkerns unterscheidet.

Sehr leicht aufzufinden sind die Kristalle im U. V.-Licht nach Anfärbung mit gewissen Fluorochromen im Sinne Haitingers (2). Allerdings sind nur wenige der gebräuchlichen Fluorochrome zur Anfärbung der Kristalle geeignet. Eine intensive Anfärbung läßt sich leicht nur mit Thiazolgelb G erreichen, doch ist auch diese Färbung sehr unbeständig. Mit Abstand folgen Auramin, Coriphosphin und Primulin. Als schwach fluorochromierend erwiesen sich noch Corallin, Rubin (beide in 30% Alkohol gelöst) und Eosin. Zur Fluorochromierung verwandt wurde meist eine Lösung der Farbstoffe im Verhältnis 1 : 1000. Das Arbeiten mit den Fluorochromen bietet den Vorteil, daß sie äußerst rasch und in außergewöhnlich starker Verdünnung (1 : 1000, 1 : 10 000, 1 : 100 000) bereits verhältnismäßig intensive Lumineszenzerscheinungen auslösen. Bei hinreichend vorsichtigem Arbeiten läßt sich erreichen, daß nur die Kristalle und etwa noch der Zellkern angefärbt werden, während die übrigen Zellinhaltsstoffe ungefärbt bleiben. Dies ermöglicht nicht nur ein relativ schnelles Arbeiten,

das das Leben der Zelle schont, sondern gestattet auch in sehr weitem Sinne eine Vitalfärbung der Zelle. In allen Fällen gleicht die Farbe des nach der Anfärbung mit Fluorochromen von den Kristallen ausgesandten Lumineszenzlichtes der Färbung der Zellkerne. Bei der sonst auffallend starken Differenzierungsfähigkeit der Fluorochrome scheint dies auf eine gewisse Verwandtschaft der Substanz der Kristalle

Kristallen von Vorratseiweiß, wie sie sich in sehr vielen Samenarten finden. Diese färben sich nach Haitingers<sup>2)</sup> Erfahrungen, die ich bestätigen kann, in sauren Farbstoffen. Auch Methylgrün-Essigsäure ist verwendbar, doch färben sich in ihr die Kristalle nur sehr schwer. Nach Gegenfärbung des Präparates mit Thiazolgelb G leuchten im U. V.-Licht ausschließlich nur die Kristalle schwach violettrot auf, während

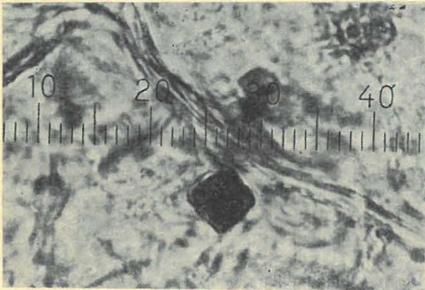


Abb. 1.  
Kartoffelknolle: Quadratischer Kristall.  
(Vergr. 800 ×) 1 Teilstrich = 2,2 μ.

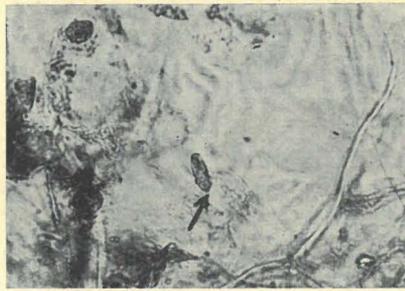


Abb. 2.  
Kartoffelknolle: Quadratischer Kristall.  
Seitenansicht.  
(Vergr. 800 ×) Bei ↗ Pyramidenflächen.

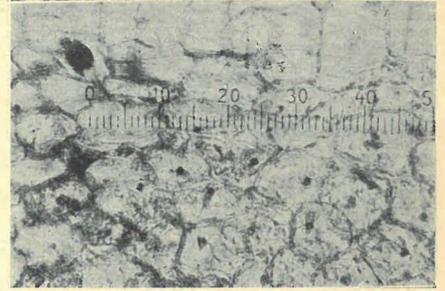


Abb. 3.  
Kartoffelknolle: Querschnitt Schalen-  
teil. Lokalisierung der Eiweißkristalle.  
(Vergr. 108,5 ×) 1 Teilstrich = 10 μ.

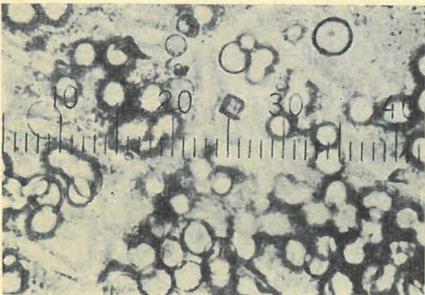


Abb. 4.  
Kartoffel-Lichtkeim: 2 1/2 cm hoch.  
Eiweißkristall in prim. Rinde.  
(Vergr. 305 ×) 1 Teilstrich = 5,6 μ.



Abb. 5.  
Kartoffel-Lichtkeim: 2 1/2 cm hoch.  
Eiweißkristall im Phloem.  
(Vergr. 305 ×) 1 Teilstrich = 5,6 μ.



Abb. 6.  
Kartoffelknolle: 6seitiger Kristall im  
gequollenen Zellkern.  
(Vergr. 800 ×)



Abb. 7.  
Kartoffelknolle: Hexagonaler Kristall  
mit Zellkernrest und erhaltenem Neben-  
kern.  
(Vergr. 800 ×)

und der Zellkerne hinzuweisen, unterscheiden sich doch häufig sehr deutlich Kern, Nebenkern und Plasma durch ihre Lumineszenz nach der Fluorochromierung.

Für das sichtbare Licht sind die Kristalle verhältnismäßig schwer anzufärben. Nach Versuchen mit 34 verschiedenen Farbstoffen scheinen hierfür nur die (basischen) Kernfarbstoffe in Betracht zu kommen, von denen Karmin-Essigsäure bei weitem die besten Ergebnisse erzielt. Hier zeigt sich ein bemerkenswerter Unterschied zu den wohl am besten bekannten

die übrigen Zellbestandteile einschließlich Zellwand und Kern durch Lumineszenzlöschung nicht mehr aufleuchten. Diese Erscheinung läßt sich ausnutzen, wenn es gilt, nur schwach mit Kristallen besetzte Präparate durchzumustern.

Die Kristalle geben Eiweiß- (Protein-) Reaktion und sind brennbar. Sie sind unlöslich in verdünnter Essigsäure, Salzsäure, kaltem Wasser und organischen Lösungsmitteln. In kochendem Wasser und verdünnter Kalilauge quellen sie nach einiger Zeit auf, ohne sich jedoch anscheinend zu lösen. Die zuweilen auf-

tretenden typischen Korrosionserscheinungen, die offenbar durch intrazelluläre Lösungsvorgänge bewirkt wurden, scheinen anzudeuten, daß für das Lösen dieser Kristalle die gleichen physikalischen Gesetzmäßigkeiten gelten wie für andere Kristallgebilde. Irgendeine Art stäbchenförmiger Struktur oder einen Zerfall in Kristallnadeln, wie sie von den äußerlich sehr ähnlichen, häufig beschriebenen (3), (4) Eiweißkristallen aus mosaikkranken Pflanzen bekannt sind, konnte ich bisher nicht beobachten.

Die Kristalle wurden bisher in zwei verschiedenen Formen gefunden. Bei weitem am häufigsten traten in dem mir zur Verfügung stehenden, durchweg aus der Provinz Ostpreußen stammenden Material Kristalle mit quadratischem Umriß auf. Sie stellen jedoch nicht einfache quadratische Tafeln oder gar Würfel dar, sie werden vielmehr sozusagen durch zwei flache Pyramidenstümpfe gebildet, die mit ihren Basisflächen aufeinanderstehen. Anscheinend handelt es sich bei diesen Kristallen um tetragonale Bipyramiden mit Basisflächen. Um einfache, reguläre Würfel handelt es sich in diesem Falle nicht, da Nebenflächen auftreten. Auch um Würfel mit Oktaeder kann es sich nicht handeln. Beim Oktaeder betragen die Kantenwinkel  $109^{\circ} 28' 16''$ ; wie jedoch aus Abb. 2 ersichtlich, ist der Kantenwinkel der geneigten Flächen mit Sicherheit kleiner und nicht größer als  $90^{\circ}$ . Der Größenordnung nach dürfte dieser Kantenwinkel etwa  $78^{\circ}$  betragen. Das entspricht nicht dem Oktaeder des regulären, sondern eher der Bipyramide des tetragonalen Systems. Die Größe dieser Kristalle schwankt innerhalb sehr weiter Grenzen. Die Seitenlängen des größten Umfangsquares, das auch zugleich bei mikroskopischer Betrachtung den optischen Querschnitt bildet, wurden zwischen  $5,0$  und  $20,0 \mu$  schwankend gefunden. Die Seitenlängen der Basisflächen schwanken dagegen zwischen  $4,0$  und  $10,0 \mu$ . Die Höhe der Kristalle (Abstand der beiden Basisflächen voneinander) scheint im allgemeinen ziemlich genau halb so groß zu sein wie die Seitenlänge des größten Umrißquadrates.

Weniger häufig vertreten in dem von mir untersuchten Material waren ziemlich regelmäßig sechseckig gestaltete Tafeln, welche wenigstens der Form nach den häufig abgebildeten, für Viruseiweiß gehaltenen hexagonalen Kristallen auffallend ähnlich sehen. Ausgeprägte Nebenflächen scheinen bei diesen Kristallen nicht aufzutreten. Ihr optischer Querschnitt bei Seitenlage gleicht einem Rechteck. Die Seitenlänge der Kristallsechsecke schwankte ebenfalls zwischen  $5,0$  und  $20,0 \mu$ , doch sind die sechseckigen Kristalle durchschnittlich etwas größer als die quadratischen.

Was die Lokalisierung der Kristalle anbetrifft, so lassen sie sich häufig und meist reichlich vor allem in der Knolle finden, wo sie weit überwiegend an Zahl in den Zellschichten zwischen Schale und Gefäßbündelring liegen (Abb. 3). In den weiter im Innern der Knolle gelegenen Zellen treten sie nur verhältnismäßig spärlich auf. Innerhalb der Zellen der korkigen Schale, der Siebröhren und Begleitzellen sowie der Gefäße habe ich sie bisher noch nicht gefunden. Innerhalb der oberirdischen Stengelteile der Kartoffelstaude konnte ich sowohl die quadratischen als auch die sechseckigen Kristalle ebenfalls nachweisen, wo sie gelegentlich selbst in den Haaren der Blätter und Stengel anzutreffen sind.

Innerhalb der kristallführenden Zelle scheinen sich die hexagonalen Kristalle in der Hauptsache innerhalb der Zellkerne zu bilden. Soweit sich bisher übersehen läßt, scheint sich die Kristallbildung folgendermaßen abzuspielen: Unter starkem Aufquellen des Kernes zeichnet sich zunächst schwach, dann mit immer deutlicheren Konturen der Kristall innerhalb des Zellkerns ab. In weiteren Stadien platzt schließlich der Kern und zerfällt in kleine, schollige Stücke. Der Nukleolus selbst ist an dieser Veränderung nicht sichtbar beteiligt. Man kann ihn jedenfalls sehr häufig noch erhalten sehen, wenn der Kern selbst bereits völlig zerfallen ist (Abb. 7).

Während die hexagonalen Kristalle sich offenbar innerhalb der Zellkerne bilden, scheinen die tetragonalen Kristalle frei im Innern der Zelle zu entstehen (Abb. 3). Sie wurden von mir jedenfalls bisher stets außerhalb der Zellkerne gefunden.

Die Kernveränderung bei der Entstehung der hexagonalen Kristalle hat nichts oder nur sehr wenig mit dem von Nitsche-Koswig-Förster (5) beschriebenen Kernzerfall bei kräuselkranken Rüben zu tun. Einen Kernzerfall, der diesem bei der Rübe beschriebenen ganz auffallend gleich, konnte ich auch innerhalb der Kartoffelknolle überaus häufig beobachten. Alle Stadien des Kernzerfalls, vom Aufquellen bis zur endgültigen Auflösung, lassen sich besonders schön im meristemartigen Phellogen der Kartoffelschale verfolgen. Ich fand ihn praktisch stets in den viruskranken und in den kristallhaltigen Knollen. Den gleichen Kernzerfall habe ich jedoch auch bei anderweitigen Schädigungen der Knolle, z. B. durch Naßfäule, Fusarium- und Alternariabefall, ja gelegentlich sogar im Wundgewebe nach mechanischer Beschädigung gefunden. Eine Nachprüfung der Zusammenhänge zwischen Kernzerfall und Virus führte weder bei Freilandkulturen noch bei der Augenstecklingsmethode zu eindeutigen Ergebnissen, da stets mit einem Latentbleiben des Virusbefalls selbst bei der Augenstecklingsmethode gerechnet werden muß. Ich bin deshalb geneigt, diesen Kernzerfall für nicht charakteristisch und spezifisch für Virusbefall zu halten. Er dürfte vielmehr nur ein allgemeines Anzeichen pathologischer Vorgänge innerhalb des betroffenen Gewebes sein. Das schließt jedoch nicht aus, daß im Einzelfall auch die durch das Virus gesetzte Schädigung der Zelle den beschriebenen Kernzerfall auslösen kann. Um Artefakte braucht es sich auch in dem von obengenannten Autoren beschriebenen Falle m. E. nicht zu handeln. Ich sah den Kernzerfall auch bei intravital fluorchromierten plasmolysierbaren Zellen der Kartoffelknolle. Beziehungen zwischen exogenen Schädigungen der Knollen und der Bildung hexagonaler Kristalle konnte ich bisher nicht beobachten. Das Auftreten dieser Kristalle war in den beschädigten Knollen, was Häufigkeit und Lokalisierung innerhalb der Knolle anbetraf, durchschnittlich nicht anders als in den unbeschädigten Knollen.

Ob Beziehungen der Kernveränderungen bei der Bildung der hexagonalen Kristalle zu den Kernveränderungen bestehen, die Esau (6) im Protophloem curly-top-kranker Zuckerrüben durch das Virus ausgelöst sah, ist bisher nicht zu entscheiden. Besonders das Aufquellen des Kernes vor der Abscheidung des Kristalls scheint eine gewisse, wenn auch entfernte Ähnlichkeit mit einzelnen Stadien der von Esau beschriebenen Kernveränderungen zu haben.

Als eine dritte Form von Eiweißkristallen finden sich in der Knolle sowohl als auch ganz besonders in den Lichtkeimen reguläre, ziemlich regelmäßig ausgebildete Würfel, die den schon oft beschriebenen und in jedem einschlägigen Lehrbuch erwähnten Reserve-Eiweißkristallen entsprechen dürften. Die Kantenlänge dieser Würfel ist mit durchschnittlich  $16,3 \mu$  etwas größer als die der tetragonalen Kristalle mit durchschnittlich  $10,5 \mu$ , denen sie sonst im optischen Umriß sehr ähnlich sehen. Im färberischen Verhalten und in ihren sonstigen Eigenschaften sind sie den tetragonalen Kristallen sehr ähnlich. Ihre Natur als Reserveeiweiß möchte ich bezweifeln aus Gründen, die zu diskutieren einer anderen Arbeit vorbehalten bleiben muß.

Nicht verwechselt werden dürfen die Eiweißkristalle mit den in wechselnder Häufigkeit auftretenden Kalziumoxalatkristallen, von denen sie sich wohl am einfachsten durch die Art der Doppelbrechung und durch ihre Färbbarkeit mit Carminessigsäure unter-

scheiden. Da diese Oxalatkristalle sehr häufig als monokline, würfelförmige Prismen oder tetragonale Pyramiden mit Prisma kristallisieren, ist im nicht vorbehandelten Präparat die Unterscheidung von den Eiweißkristallen nicht immer leicht.

#### Literatur.

- (1) Schimper, A. F. W.: Untersuchungen über die Proteinkristalle der Pflanzen. Diss. Straßburg 1878. Referat in Justs bot. Jahrb. 1878.
- (2) Haitinger, M.: Fluoreszenz-Mikroskopie. Leipzig 1938.
- (3) Stanley, W. M.: Biochemistry and biophysics of viruses. In Doerr-Hallauer: Handbuch der Virusforschung I. Wien 1938 (dort auch weitere Literatur).
- (4) Kausche, G. A.: Über Versuche zum Nachweis und zur Sichtbarmachung von pflanzlichem Virus. Mitt. aus d. B. R. A. Heft 59. Berlin 1939.
- (5) Nitsche-Koswig-Förster: Histologische Veränderungen in kräuselkranken Rüben. Nachrichtenblatt für den Deutschen Pflanzenschutzdienst 18. Berlin 1938.
- (6) Esau, K.: Initial localization and subsequent spread of curly top symptoms in sugar beet. Hilgardia IX. 8. 1935.

## Über das Vorkommen von Eiweißkristallen in virusinfizierten Kartoffelknollen

Von E. Köhler.

(Dienststelle für Viruspathologie in der Biologischen Reichsanstalt.)

Der vorstehende Aufsatz von R. Janisch-Königsberg veranlaßt mich, auch meinerseits in aller Kürze einige eigene Befunde über in Kartoffelknollen angetroffene Eiweißkristalle mitzuteilen. Das Vorkommen von würfelförmigen Eiweißkristallen in Knollen und Laub der Kartoffel ist schon seit langem bekannt, auch waren diese Kristalle schon vielfach Gegenstand eingehender Untersuchung (Cohn 1859, Sorauer 1868, Schimper 1878 u. a.). Herr R. Janisch, der diese Würfelkristalle<sup>1)</sup> unlängst wieder entdeckte, hat in einem Schreiben an mich wohl als Erster die Frage aufgeworfen, ob es sich etwa um Viruskristalle handeln könne. Er gab damit den Anstoß zu den im folgenden mitgeteilten Untersuchungen, in deren Verlauf zum erstenmal auch nadelartige Kristalle in der Kartoffelknolle nachgewiesen werden konnten.

Seit einer Reihe von Jahren kultiviere ich im Gewächshaus in Töpfen unter Ausschluß von virusübertragenden Blattläusen Stämme der Kartoffelsorte »Erdgold«, die teils virusfrei, teils mit einem der Kartoffelviren A und X, teils mit dem Gemisch A und X infiziert sind. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Schnitten durch die peripheren Zellschichten von Knollen dieser Stämme im Winter 1941/42 stellte ich die Anwesenheit von Kristallen in den Zellen fest, und zwar wurden in den A-Knollen in reichlichen Mengen Kristalle von Würfelform (Abb. 1), in den X-Knollen Bündel von sehr feinen Nadelkristallen angetroffen (Abb. 2). Auch in den virusfreien Knollen wurden, wenn auch in sehr geringer Zahl, Würfelkristalle vorgefunden, die jedoch bei weitem nicht die Größe der in den A-Knollen vorkommenden aufwiesen und gegen Ende des Winters aus den im Eisschrank aufbewahrten Knollen wieder

verschwanden. Die Kristalle in den virushaltigen Knollen blieben dagegen bei gleicher Behandlung bis in den Sommer hinein — so lange reichen die Beobachtungen — erhalten. Die Nadelbündel fanden sich ausschließlich bei den X-kranken Knollen, und zwar

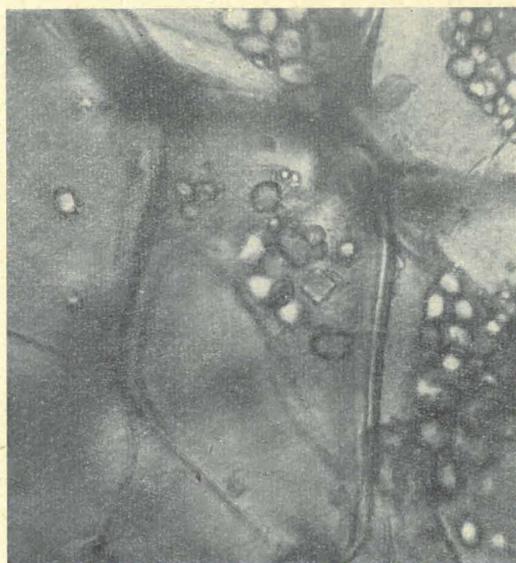


Abb. 1. Würfelkristall im Rindenparenchym einer Kartoffelknolle.

regelmäßig bei allen unseren drei kultivierten Stämmen, die mit verschiedenen Typen des X-Virus infiziert sind.

Die Würfelkristalle finden sich vorzugsweise in den äußeren Zellschichten unterhalb der Schale, meist nur durch eine schmale Zone von dieser getrennt, während die Nadeln regelmäßig in einer etwas tieferen, ebenfalls sehr schmalen Zone anzutreffen sind. In

<sup>1)</sup> Nach der Auffassung von R. Janisch (s. oben) soll es sich freilich nicht um echte Würfel handeln.