

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 59 (1949)

Artikel: Formgestaltung im sublichtmikroskopischen Gebiet

Autor: Frey-Wyssling, A.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-571122>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 11.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Formgestaltung im sublichtmikroskopischen Gebiet

Von A. Frey-Wyßling

(Pflanzenphysiologisches Institut der ETH Zürich)

Mit Tafeln 1—6

Eingegangen am 12. Januar 1949

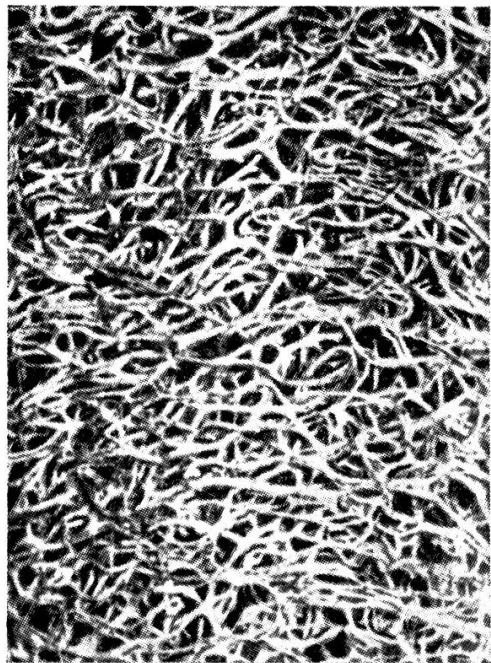
Die Kolloidchemie hat durch ihre klassischen Methoden der Ultramikroskopie, der Ultrafiltration und der Ultrazentrifugierung die Existenz sublichtmikroskopischer Teilchen bewiesen sowie deren Form und Größe ermittelt. Trotz dieser großartigen Leistung hat die Zellmorphologie im Bereich der kolloiden Dimensionen nicht den revolutionären Aufschwung erfahren, den man erhofft hatte. Die Ursache hiervon ist die Tatsache, daß sich die formgestaltenden Zellbestandteile im Gelzustand befinden. Gele erscheinen jedoch im Ultramikroskop optisch leer, und sie lassen sich ohne vorherige Zerstörung ihrer Struktur weder der Ultrafiltration noch der Trennung in der Ultrazentrifuge unterwerfen. Durch die Erkenntnis, daß die *Gele retikulär gebaut sind* (9) und sich daher von den korpuskular dispersen Solen morphologisch prinzipiell unterscheiden, mußten für die Erforschung ihres Feinbaues grundsätzlich andere Untersuchungsmethoden eingeführt werden. Da das Gelgefüge in der Regel von sublichtmikroskopischen Strängen gebildet wird, die stark anisotrop und vielfach sogar kristallin sind, eigneten sich vor allem die polarisationsmikroskopische und die röntgenspektrographische Methode. Mit ihrer Hilfe konnten viele Gelstrukturen weitgehend aufgeklärt werden (10) durch qualitative Bestimmung des Verlaufs der unsichtbaren Gelstränge und durch quantitative röntgenometrische Messung ihrer Ausrichtung und Dicke. Besonders bedeutsam war die Erkenntnis, daß gleichartige fädige Bauelemente zu ganz verschiedenen *Texturen* zusammentreten können, woraus sich eine sublichtmikroskopische Gefügelehre ergab.

Durch die Entdeckung des Elektronenmikroskops eröffnete sich die Möglichkeit, die mit Hilfe der bisher verwendeten Methoden auf indirektem Wege erschlossenen Texturschemata durch objektive Bilder auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Gelstruktur

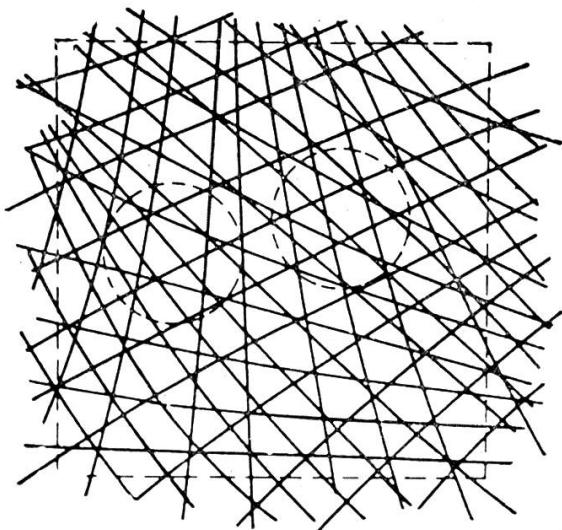
Für die Charakterisierung des sublichtmikroskopischen Gelbaus waren makroskopische Modelle wie Textfigur 1 oder vereinfachte

Schemata wie Textfigur 2 vorgeschlagen worden. Über die Dicke der verflochtenen und streuenden fädigen Elemente konnte nichts Bestimmtes ausgesagt werden; es wurde wahrscheinlich gemacht, daß die Stränge



Figur 1
Makroskopisches Modell des Gelfeinbaus
1938 (9); Leitbündelskelett der Kürbis-
frucht von *Luffa*

je nach ihrer Natur sublichtmikroskopische (Gele mit Micellargerüst) oder amikroskopische Dicke (Gele mit Molekulargerüst) aufweisen können. Von diesen beiden Gruppen ist zurzeit nur die erste der elektronenmikroskopischen Untersuchung zugänglich. In zwei typischen Fällen



Figur 2
Schema des sublichtmikroskopischen
Gelfeinbaus 1938 (10, S. 78)

konnte der erwartete Gelbau abgebildet werden (18, 19). Abbildung 1 (Tafel 1) zeigt den Feinbau eines Vanadinpentoxyd-Gels. Man erkennt ein dichtes Gerüst von etwa 100 Å dicken Fäden. Diese verlaufen nach allen Richtungen und erscheinen gerade oder gebogen. Da das Elek-

tronenmikroskop verglichen mit dem Lichtmikroskop eine größere Tiefenschärfe besitzt, täuscht das Bild eine zu große Dichte der Fäden vor. Während das Lichtmikroskop bei Verwendung starker Objektive Schnitte von der Größenordnung des Auflösungsvermögens (zirka $0,5 \mu$) durch das untersuchte Objekt scharf abbildet, gibt das Elektronenmikroskop trotz 100mal gesteigertem Auflösungsvermögen Schichtdicken bis 5μ scharf wieder. Das in Abbildung 1 (Tafel 1) abgebildete Gelgerüst ist daher sehr locker gebaut, und die für Gele charakteristische große Menge Hydratationswasser findet in den vorhandenen Maschen Platz.

Die große Tiefenschärfe des Elektronenmikroskops ist für die Erschließung der Gelstruktur günstig; sie erlaubt, gewissermaßen in die Gele hineinzusehen und stereoskopische Bilder ihres Aufbaues zu gewinnen. Andererseits ist es bei einem so tiefen, scharf abgebildeten Raum oft schwer festzustellen, welche Fäden näher oder ferner liegen.

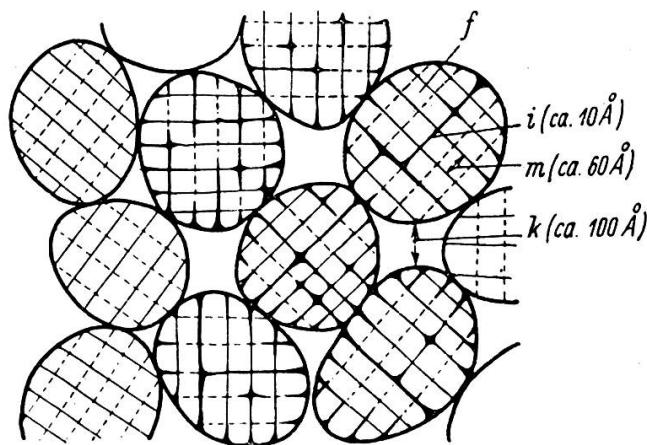
Vanadinpentoxyd ist ein anorganisches Gel. Es enthält ein Schwermetall von der Atomnummer 23, während in den organischen Gelen, welche die Zytologie interessieren, nur die leichten Atome C, N und O mit den Atomnummern 6, 7 und 8 vorkommen. Dies wirkt sich für die elektronenoptische Abbildung von Biogelen ungünstig aus, da solche leichten Atome die Elektronen nur schwach zerstreuen, wodurch zu wenig kontrastreiche Bilder entstehen. Die erste Aufnahme eines solchen Geles, die uns gelungen ist, gibt Abbildung 2 (Tafel 1) wieder. Es ist ein dünner Zellulosefilm, der sich auf der Oberfläche der Nährösung einer Kultur von *Bacterium xylinum* gebildet hat. In der Nährösung vorhandene Glukose wird von diesem Bakterium extrazellulär zu Zellulose polymerisiert. Es entsteht ein amorpher Schleim, in welchem sich die Kettenmoleküle der Zellulose zu 200 bis 300 Å dicken Fäden zusammenlagern. Abbildung 2 (Tafel 1) weist nur eine bescheidene Vergrößerung von 6000mal auf, welche das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops von 50 Å keineswegs ausschöpft. Durch Steigerung der Vergrößerung verliert das vorliegende Bild jedoch den Kontrast und wird zu flau.

Zur Kontrasterhöhung der Bilder organischer Partikel in korpuskular dispersen Kolloiden (Suspensioide von Viren, Phagen, globulären Makromolekülen) hat Wyckoff (43) mit großem Erfolg die Methode der schießen Metallbedämpfung oder Beschattung (shadow casting) ausgearbeitet. Die Objekte werden mit einem unter schießem Winkel aufgedampften 10 bis 30 Å dicken Metallfilm von Chrom oder Palladium überzogen, wobei metallarme Lee- oder Schattenseiten und metallreiche Luvseiten entstehen. Durch den großen Unterschied der Elektronenzerstreuung der beiden Objektseiten wird das Bild außerordentlich kontrastreich und erscheint wie ein Relief bei schiefer Beleuchtung. Außerdem werden die organischen Objekte gegen elektrische Aufladung durch die Elektronen und Verkohlung durch zu große Erwärmung geschützt.

Es erhob sich nun die Frage, ob diese Methode sich auch für die Aufklärung des Gelfeinbaus eignet, insbesondere ob trotz der Aufdampfung eines Metallfilms weiterhin in das Gelgerüst hineingesehen werden kann. Um diese Frage abzuklären, wurde Dr. Mühlenthaler veranlaßt, bei Dr. Wyckoff in Bethesda (USA) diese neue Methode für unsere Untersuchungen zu erlernen. Es kann vorweggenommen werden, daß unsere Erwartungen durch die Tiefe und die Schärfe der nach diesem Verfahren abgebildeten Gelstrukturen mehr als übertrffen worden sind.

Fasertextur

Die indirekten Methoden haben bewiesen, daß in Pflanzenfasern, Seide, Sehnen, Muskelfasern usw. sublichtmikroskopische Stränge aus

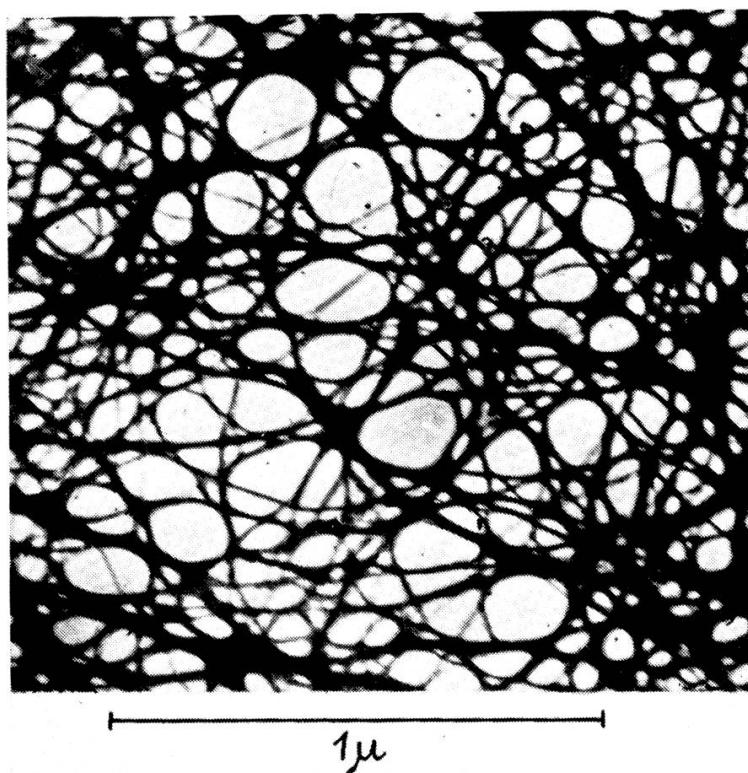


Figur 3

Schematischer Querschnitt durch den sublichtmikroskopischen Feinbau der Sekundärwand einer Bastfaser 1937 (7). Micellarstränge *m* zu Mikrofibrillen *f* von zirka 250 Å Durchmesser zusammengefügt; *i* intermicellare Spalten, *k* interfibrillarer Kapillarraum

Fadenmolekülen von kristalliner Natur (Micellarstränge) parallel gelagert sind. Für die pflanzlichen Zellulosefasern (Bastfasern, Holzfasern und Baumwolle) errechneten Hengstenberg und Mark (24) aus der Breite der Röntgeninterferenzen Micelldicken von 50 bis 60 Å. Durch Einlagerung kolloider Metalle (Au, Ag, Cu, Hg, Silberamalgam usw.) mit Teilchengrößen von über 100 Å Durchmesser konnte bewiesen werden, daß in den nativen Zellulosefasern sublichtmikroskopische Kapillaren von etwa 100 Å Weite vorkommen. Das Auftreten solcher Räume wurde so gedeutet, daß sich viele Micellarstränge zu *Mikrofibrillen* mit Durchmessern von der Größenordnung 250 Å zusammenfügen (7), was durch den schematischen Faserquerschnitt von Textfigur 3 veranschaulicht worden ist. Unbekannt blieb, ob die Mikrofibrillen seitlich miteinander verwachsen sind und was für eine Länge ihnen zukommt.

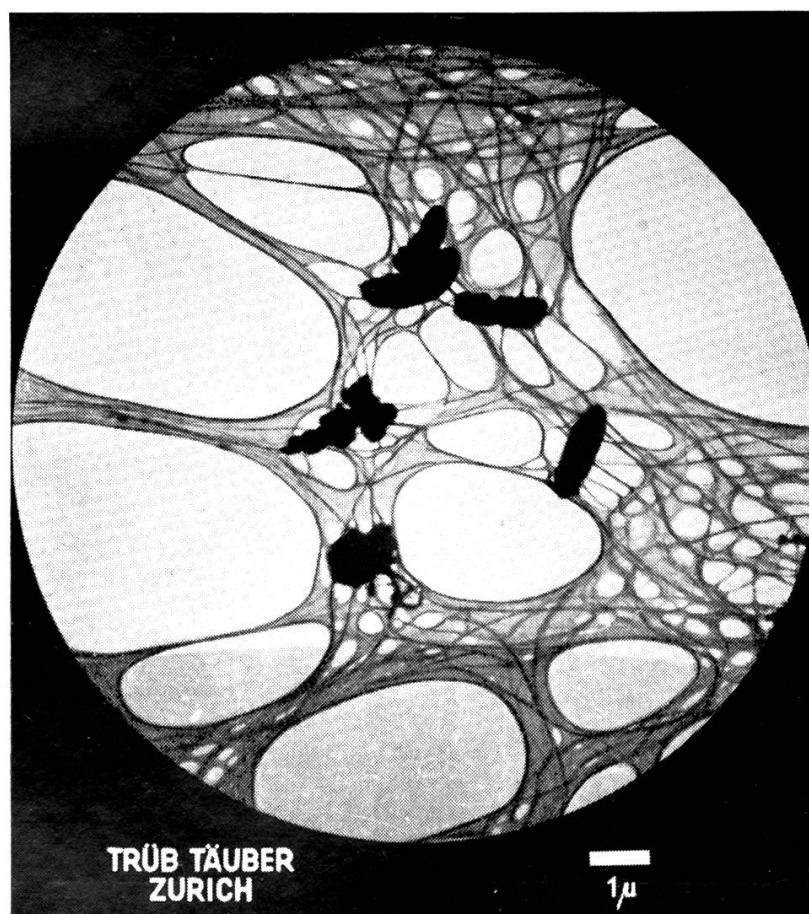
Tafel 1



1 μ

Abbildung 1

Gel von Vanadinpentoxyd, elektronenoptisch 1944 (18)



1 μ

Abbildung 2

Gel von Bakterienzellulose, elektronenoptisch 1946 (19)

Tafel 2

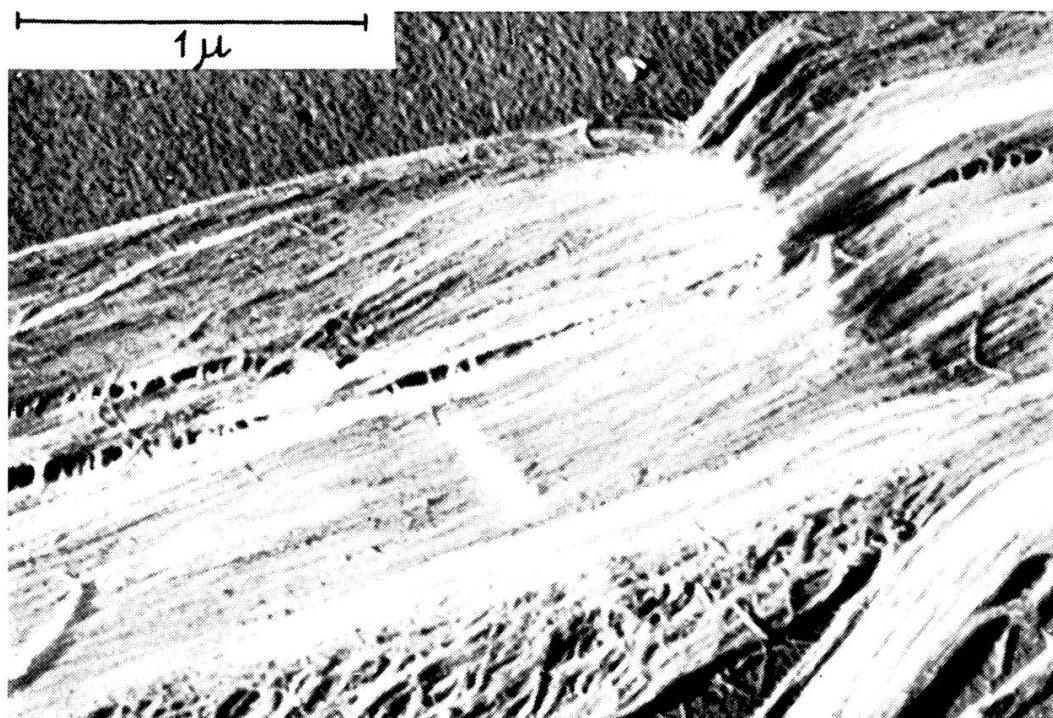


Abbildung 3

Elektronenbild der Sekundärwand von Baumwolle 1948 (21). Rechts eine Verschiebungsfigur (vgl. Textfiguren 4 und 5)

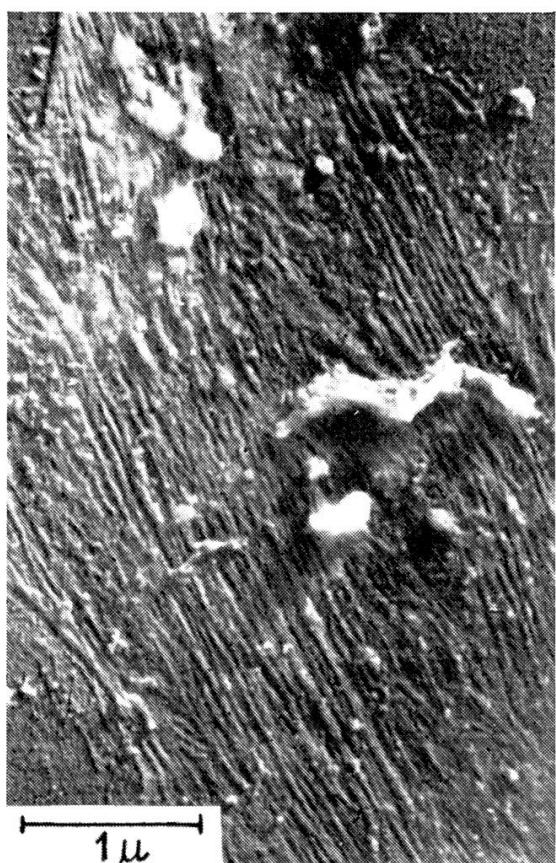


Abbildung 4 a

Elektronenbild einer Fichtenholzfaser,
(vgl. 30)

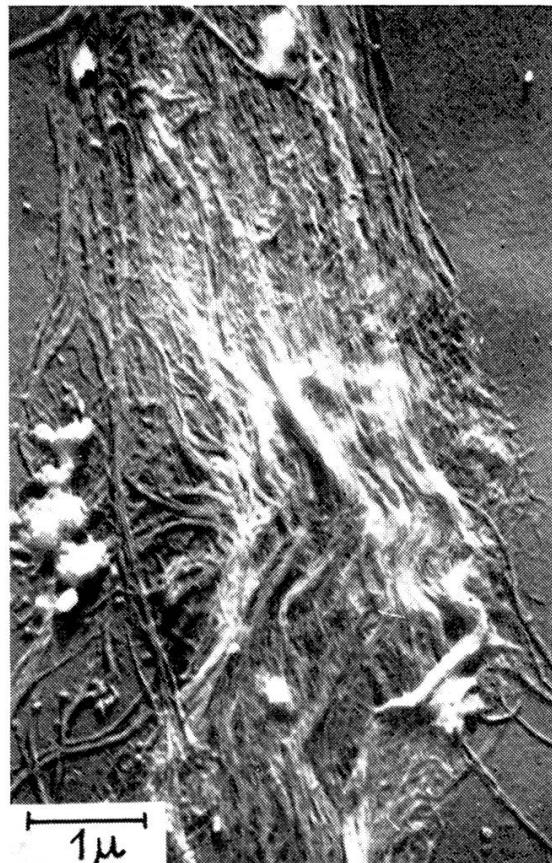


Abbildung 4 b

Elektronenbild einer delignifizierten
Fichtenholzfaser

Tafel 3

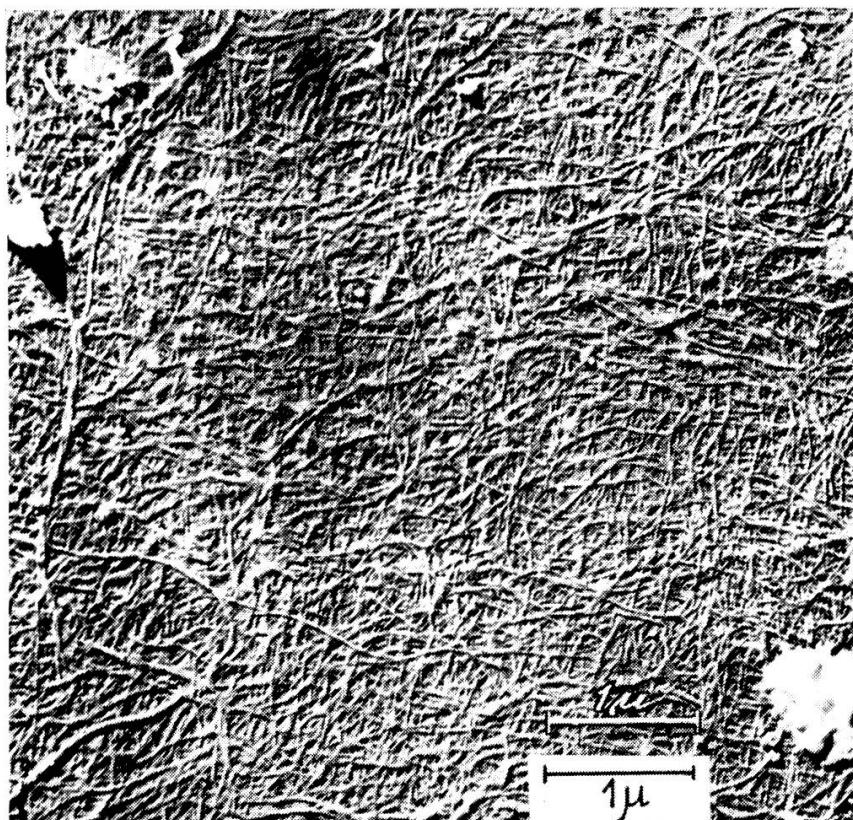


Abbildung 5
Elektronenbild der Primärwand einer Flachsfaser 1948 (21)

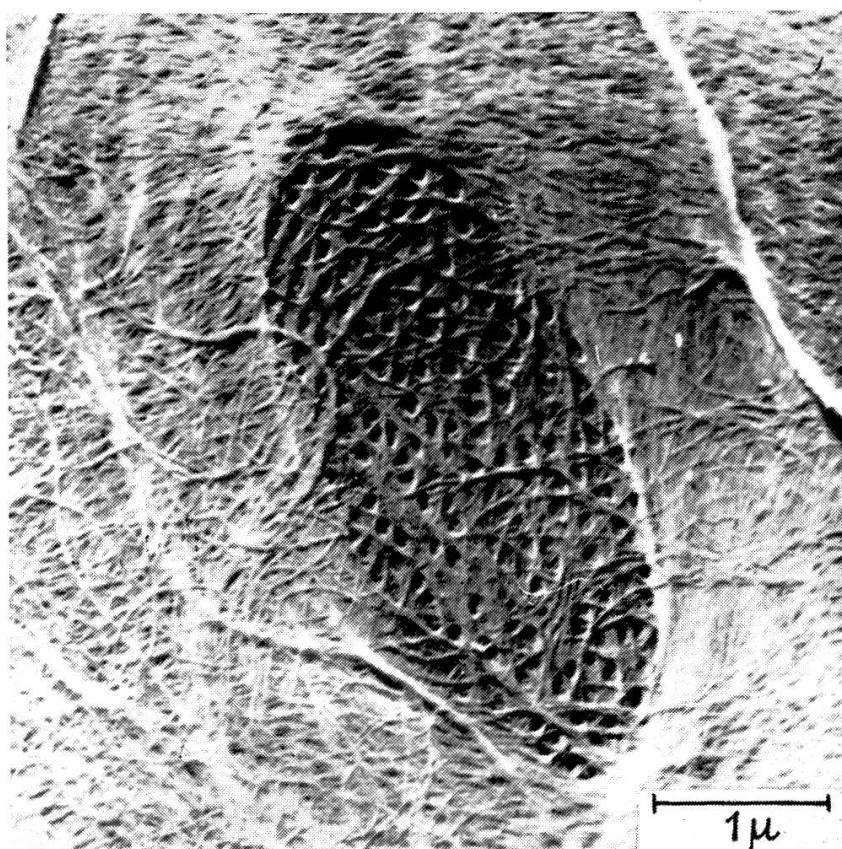


Abbildung 6
Elektronenbild einer Tüpfelschließhaut aus dem Wurzelmeristen eines Maiskeimlings
1949 (17, 31)

Tafel 4



Abbildung 7

Elektronenbild einer Zellwand aus dem Wurzelmeristem von Mais. Röhrentextur 1948 (21), vgl. Textfiguren 6 und 8

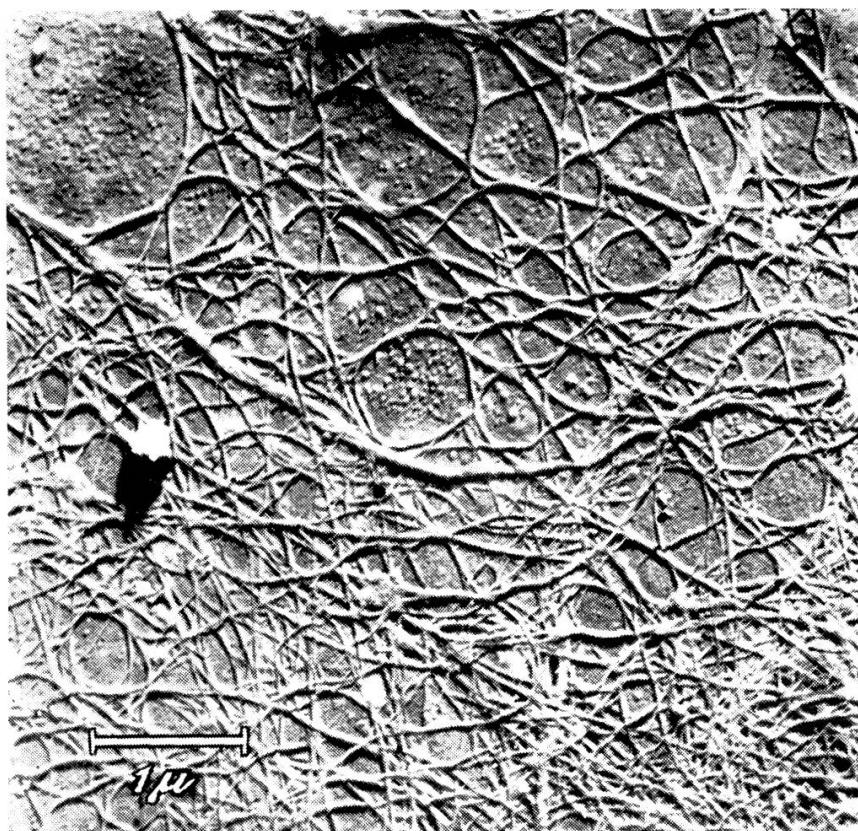


Abbildung 8

Elektronenbild einer Zellwandstelle mit Flächenwachstum 1948 (21). Ausweitung der Texturmaschen (vgl. Textfigur 9 c), rechts unten ungestörte Textur

Tafel 5

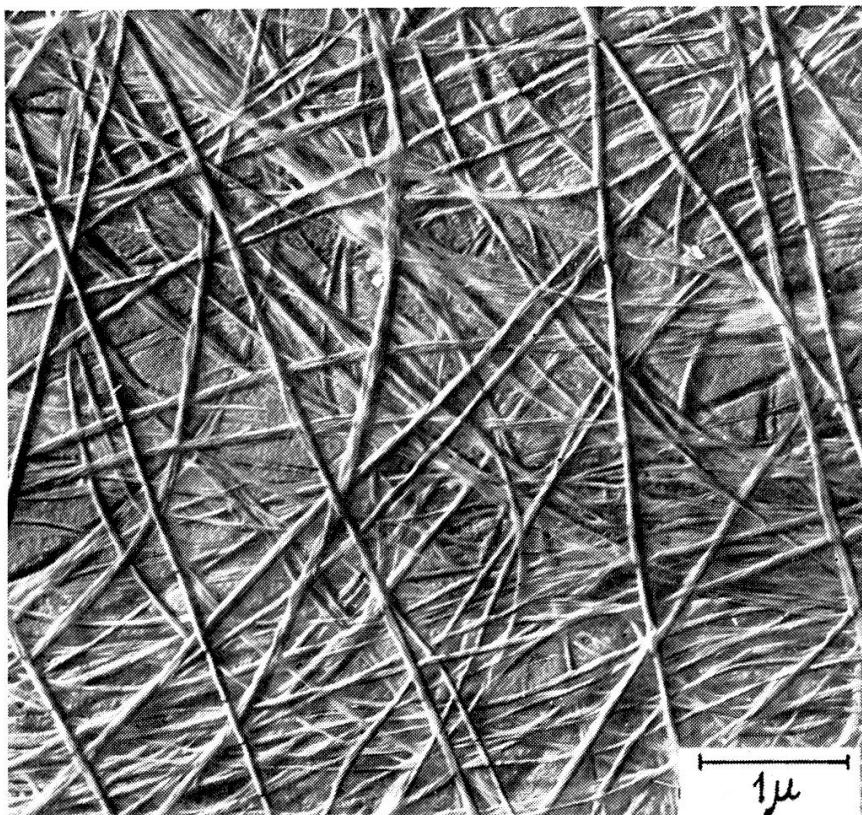


Abbildung 9

Elektronenbild von Bakterienzellulose 1949 (32). Mikrofibrillen bilden Aggregate, die sich beim Trocknen verdrillen

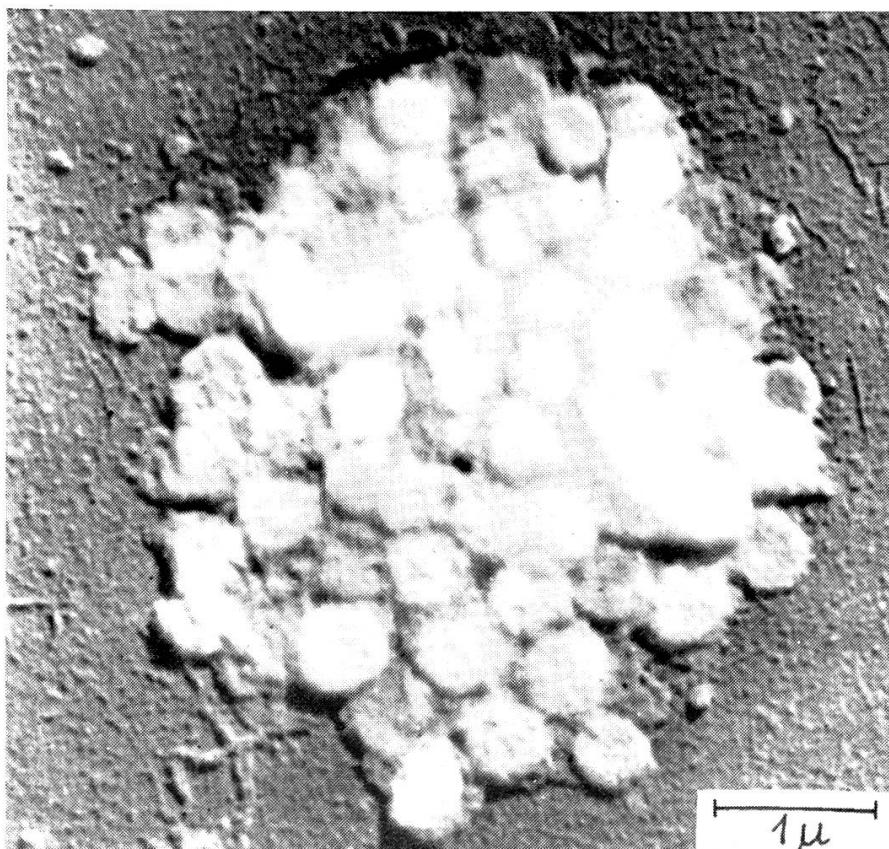


Abbildung 10

Elektronenbild eines Chloroplasten aus dem Tabakblatt 1949 (33)

Tafel 6

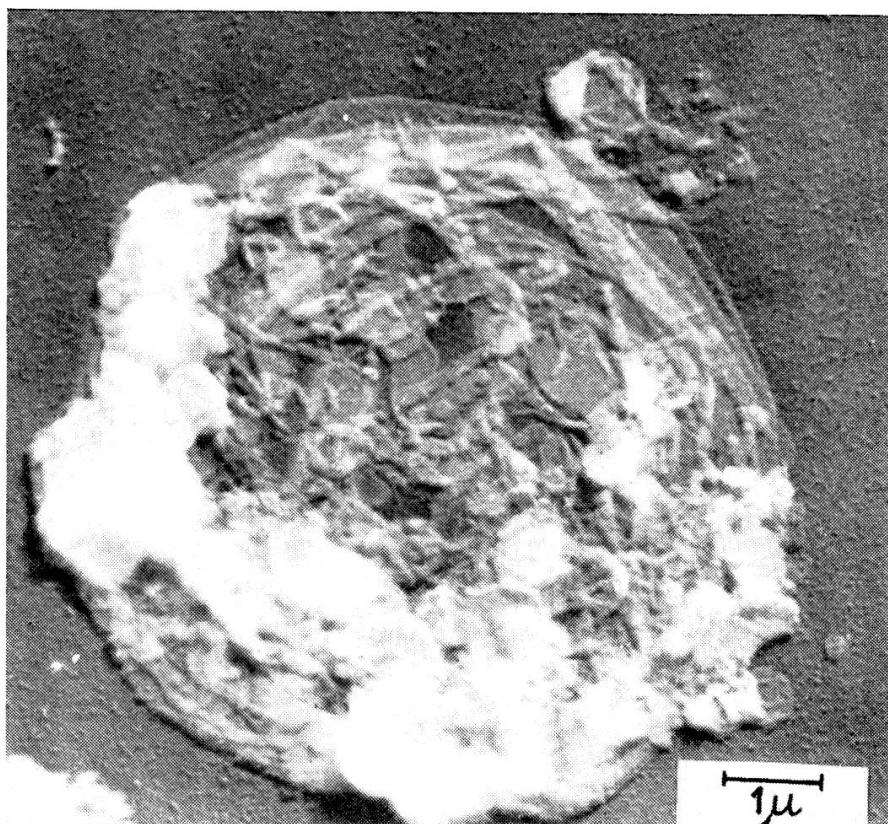


Abbildung 11

Elektronenbild eines Chloroplasten aus dem Tabakblatt mit deutlich sichtbarer Plastidenhaut 1949 (33)

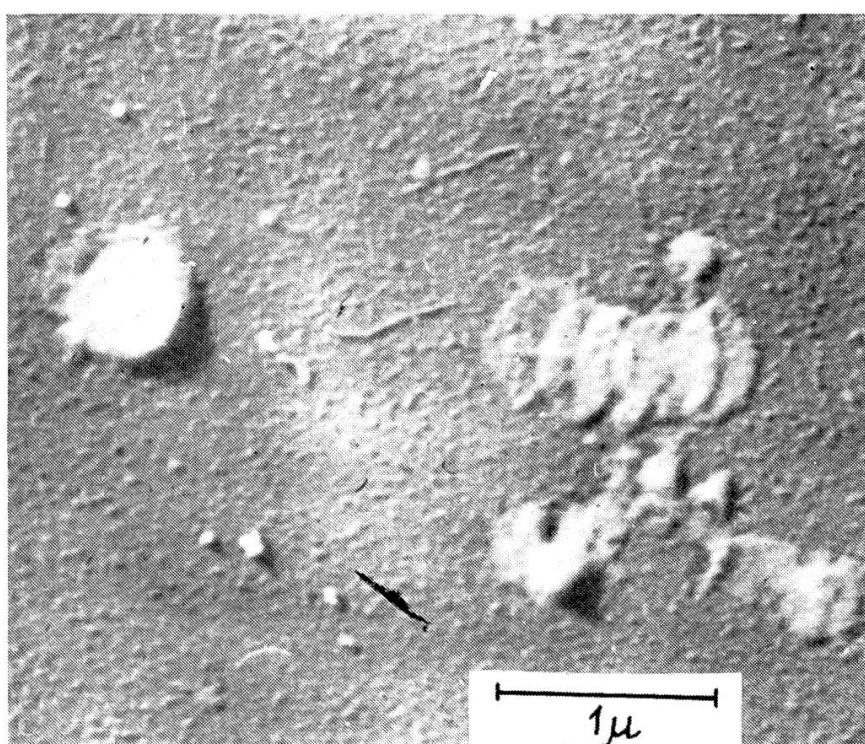


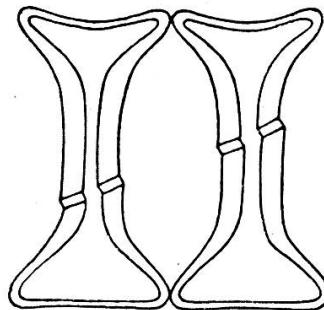
Abbildung 12

Elektronenbild isolierter Granen (vgl. Textfigur 10)

Das Elektronenmikroskop zeigt nun, daß tatsächlich Mikrofibrillen von 200 und 300 Å Durchmesser vorhanden sind (21), die schön parallel verlaufen (Abbildung 3, Tafel 2). Da die Zellwand bester Baumwolle etwa 10μ dick und aus 25 Tagesschichten aufgebaut ist, dürfte jede Schicht zirka 16 Fibrillen und die ganze Wand etwa 800 Fibrillen stark sein. Diese sind vollkommen individualisiert und nirgends miteinander verwachsen. Über die Länge kann weiterhin nichts gesagt werden, da keine Enden sichtbar sind.

Der rechte Teil von Abbildung 3 (Tafel 2) zeigt eine Verschiebung der Paralleltextur. Solche Störungen im Zellwandbau sind den Pflanzenanatomen von alters her als Verschiebungsfiguren bekannt (26); aber man konnte deren Feinbau, den man mit Gleitstörungen in Kristallen verglich (2), nicht deuten. Da Paralleltexturen knickempfindlich sind, erklärte der Verfasser diese Verschiebungen als Stauchungen (Textfigur 4), wobei die Micellarstränge nicht gebrochen, sondern nur leicht geknickt würden; dabei muß eine Auflockerung der Paralleltextur nach

Figur 4
Verschiebungsfiguren der Sanduhrzellen
aus der Samenschale der Sojabohne;
lichtmikroskopisch 1934 (5)



Maßgabe des Verschiebungswinkels τ erfolgen, indem der Durchmesser d' der verschobenen Stelle nach der Beziehung $d' = d/\sin \tau$ (d = ursprüngliche Dicke) eine Verbreiterung erfährt. Diese Anschauung wurde durch vergleichbare Stauchungen bei Asbestfasern (Textfigur 5) mit lichtmikroskopischer Fibrillierung illustriert (5). Es ist interessant, daß das elektronenmikroskopische Bild dieser Voraussage genau entspricht.

Die geringe Knickfestigkeit der Fasertextur hat eine mangelhafte Druckfestigkeit der Zellulosewand in Richtung der Faserachse zur Folge. Um diese mechanische Unzulänglichkeit zu beheben, werden die Fasern der Gefäßpflanzen mit Lignin inkrustiert, wodurch ein seitliches Ausweichen der Zellulosefibrillen vereitelt wird. Verholzte Zellwände verhalten sich daher wie armierter Beton mit sublichtmikroskopischer Armierung, indem die Zellulosemikrofibrillen die zugfesten Stäbe und das Lignin das druckfeste Füllmaterial vorstellen. Abbildung 4 a (Tafel 2) zeigt die starre Wand einer Holzfaser im Elektronenmikroskop; durch Herauslösung des Lignins werden die Zellulosefibrillen frei und geschmeidig (Abbildung 4 b, Tafel 2), so daß sie einem Drucke in achsialer Richtung nachgeben (30). Die in neuerer Zeit durch Papierchemiker

postulierte Ansicht, die verholzte Zellwand stelle keine Durchdringungsstruktur von Zellulose und Lignin, sondern einen einheitlichen Stoff dar (41), dürfte durch diese Bilder zugunsten der alten Ansicht der Botaniker endgültig entschieden sein.

Mit Hilfe der Röntgenanalyse ist festgestellt worden, daß in pflanzlichen Bastfasern neben 60 bis 80% kristallisierter 20 bis 40% amorphe



Figur 5
Verschiebungsstelle in Asbestfasern mit licht-
mikroskopischen Fibrillen 1939 (5)

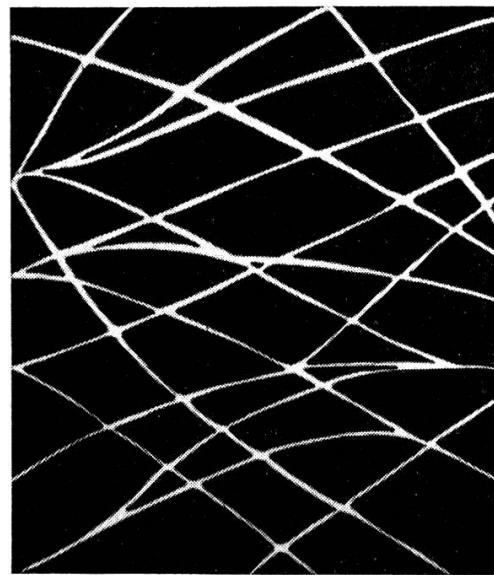
Zellulose vorhanden sei (25, 34). Von solchen amorphen Zellulosemassen ist auf den Elektronenbildern (Abbildungen 3 und 4 b) nichts zu sehen. Es ist daher anzunehmen, daß die Mikrofibrillen nicht vollkommen kristallisiert sind, sondern daß in ihnen ideale und gestörte Kettengitterbereiche vorkommen, wodurch sich ihre große Biegsamkeit erklären würde.

Bei Kunstseide (20) und Naturseide läßt sich im Elektronenmikroskop keine so regelmäßige Fibrillierung nachweisen. Vielmehr beobachtet man Stränge verschiedener Stärke, so daß der Mikrofibrillenbau offenbar eine Besonderheit der gewachsenen Zellulosezellwände ist.

Folientextur

Ein wichtiges Ergebnis der polarisationsoptischen Membranuntersuchung war die Feststellung, daß es neben den Paralleltexturen der Fasern Streuungstexturen geben müsse, in welchen die sublichtmikroskopischen Stränge um eine Hauptrichtung streuen. Es wurden Formeln entwickelt, die erlauben, aus der optischen Anisotropie räumlicher und filmartiger Gele den Streuwinkel der Stränge zu errechnen (14). Bei

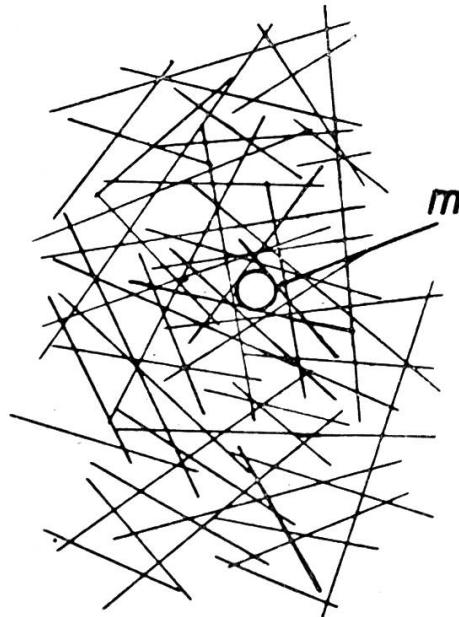
einem Streuwinkel von 90° verlaufen sie in einem flächenhaften Objekt nach allen möglichen Richtungen der Ebene (Textfiguren 6 und 7). Eine solche Membran erscheint in der Aufsicht statistisch isotrop (13). Der



Figur 6
Schema des sublichtmikroskopischen Feinbaus primärer Zellwände, Röhrentextur 1936 (6)

sublichtmikroskopische Aufbau derartiger Membranen ist als *Folientextur* bezeichnet worden.

Preston (35, 36) hat sich gegen die Existenz von Streuungstexturen ausgesprochen, da sich in Zellwänden die Zellulosekettenmole-



Figur 7
Schema des sublichtmikroskopischen Feinbaus in der Nachbarschaft eines einfachen Tüpfels 1942 (13).
m Mündung des Tüpfels. Folientextur

küle nach dem Prinzip der Ordnung in kleinsten Bereichen parallel ausrichten müßten. Heute ist diese Streitfrage durch das Elektronenmikroskop zugunsten der Streuungstextur entschieden worden.

Abbildung 5 (Tafel 3) zeigt den Feinbau der *Primärwand* einer Flachsfaser. Wie bei der Fasertextur erkennt man Mikrofibrillen, die indessen nicht parallel, sondern nach verschiedenen Richtungen verlaufen. Es ist allerdings nicht so, daß alle Richtungen gleichmäßig mit Fibrillen belegt sind, sondern es gibt zwei sich ungefähr senkrecht überkreuzende Hauptrichtungen. Dies könnte die Vermutung aufkommen lassen, es liege eigentlich keine Streuungstextur, sondern ein gekreuztes System (11) von im wesentlichen parallelen Texturen vor, wie dies für die Zellwand der Alge *Valonia* röntgenometrisch (3) und neuerdings auch elektronenmikroskopisch nachgewiesen worden ist (37).

Die genaue Betrachtung unseres Bildes läßt jedoch erkennen, daß sich seine Textur prinzipiell von Schichtpaketen mit Lamellen verschieden ausgerichteter Paralleltextur unterscheidet. In Abbildung 5 (Tafel 3) sind nämlich die Mikrofibrillen miteinander *verwoben*. Sie können sich deshalb bei der Wandbildung nicht schichtenweise aufeinander gelegt haben, sondern sie müssen entweder gleichzeitig direkt als Gewebe entstanden sein, oder dann sind die einen Fäden durch Spitzenwachstum nachträglich zwischen bereits vorhandenen Fibrillen hindurch gewachsen, ähnlich wie der Einschlag beim Weben in den Zettel gelegt wird. Die gegenseitige *Durchflechtung* der Mikrofibrillen liefert eine Membran, die im Gegensatz zu der mächtigen Sekundärwand der Fasern nicht in lichtmikroskopische Fibrillen gespalten oder wie die Zellwand von *Valonia* in feinste Lamellen aufgeblättert werden kann. Die Zellwände mit Folientextur besitzen somit einen einheitlichen Bau aus einem Guß. Es wird interessant sein, mit Hilfe des Elektronenmikroskops zu entscheiden, welche der zahlreichen bekannten Fälle von biologischen Membranen mit kreuzweise verlaufenden Bauelementen (38) Folientextur besitzen und welche aus Lamellenpaketen bestehen.

Die Formbeständigkeit der erwähnten Membranen, ihre von einer Kugeloberfläche abweichende Gestalt sowie ihre Elastizität und Festigkeit sind auf ihren Fibrillenbau zurückzuführen. Sie unterscheiden sich dadurch grundsätzlich von mono-, bi- oder multimolekularen Grenzfilmen, die den Gesetzen der Oberflächenspannung unterworfen sind, die Minimumfläche der Kugeloberfläche anstreben und nur eine unbedeutende Festigkeit besitzen. Solche bestehen aus kleinen Molekülen, die gegeneinander beweglich sind, so daß sich die Grenzschicht in flüssigem Zustand befindet. Im Gegensatz dazu verhalten sich Membranen mit Folientextur eher wie feste Körper (Formbeständigkeit und Elastizität). Es ist daher anzunehmen, daß nicht nur die zellulischen Pflanzenzellwände, sondern auch alle anderen behäuteten biogenen Objekte (Erythrozyten, Bakterien, Bakteriophagen usw.), deren Formgestaltung den Gesetzen der kleinstmöglichen Oberflächen widerspricht, eine sublichtmikroskopische Fibrillartextur aufweisen müssen.

In den pflanzlichen Zellwänden werden *Tüpfel* für die Erleichterung des Stoffaustausches zwischen benachbarten Zellen ausgespart. Abbildung 6 (Tafel 3) zeigt, wie die Tüpfelschließhaut, die im Lichtmikroskop meist homogen erscheint, von zahlreichen Löchern durchbrochen ist. Die Porenplatte ist aus den gleichen Fibrillen wie die übrige Wand aufgebaut. Die Umgrenzung des Porenfeldes erfolgt durch tangential angeordnete Fibrillen, deren zirkularer Verlauf mit Hilfe des Polarisationsmikroskops vorausgesagt worden war (Textfigur 7). Durch die abgebildeten Poren kommunizieren benachbarte Protoplasten mittels Plasmodesmen. Die Streitfrage über die Realität der an der Grenze des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens liegenden Plasmodesmen in den Tüpfelschließhäuten ist somit durch das Elektronenmikroskop endgültig entschieden worden.

Röhrentextur

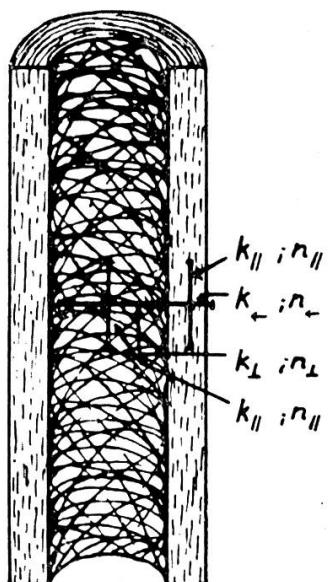
Unter den Texturen der pflanzlichen Zellwände ist jene besonders wichtig, deren Streuung um die tangentiale Hauptrichtung senkrecht zur Zellachse erfolgt. Wir haben sie ursprünglich als Röhrenstruktur, später besser als Röhrentextur bezeichnet, weil sie in der Wand von Milchröhren entdeckt worden ist (4) und auch in der Siebröhrenwand auftritt. Ihre große Bedeutung verdankt sie jedoch ihrem Vorkommen in den Primärwänden aller streckungsfähigen Meristemzellen. Sie bildet daher die Grundlage für das ungewöhnliche Flächenwachstum bei der Zellstreckung in den Geweben junger Koleoptilen, Filamente, Stengel, Wurzeln usw. (15, 16, 17).

Wie bereits erwähnt, ist die Streuungstextur von Preston im allgemeinen (35) und für die mit Flächenwachstum begabten Primärwände im besonderen (36) abgelehnt worden. Um neben den Doppelbrechungerscheinungen neue Argumente für die Beurteilung der umstrittenen Röhrentextur zu gewinnen, wurde der Chlorzinkjod-Dichroismus der Milchröhren von *Euphorbia splendens* genau analysiert (12) und auf Grund der ermittelten Absorptionsverhältnisse das Schema von Textfigur 8 entworfen.

Die elektronenoptische Aufnahme enthüllt von Primärwänden aus dem Wurzelmeristem von Maiskeimlingen das staunenerweckende Bild von Abbildung 7, Tafel 4 (21, 31). Man erkennt um eine Hauptrichtung streuende Mikrofibrillen. Sie sind in der wachsenden Primärwand interessanterweise von der gleichen Dicke (250 bis 300 Å) wie in den Sekundärwänden der Fasern. Diese Feststellung ist sehr bemerkenswert, da man bisher wegen der bescheidenen Anisotropie und der flauen Röntgendiagramme von Primärwänden der Meinung war, in jungen Zellwänden müßten die Zellulosestränge viel dünner und feiner sein als in den ausgewachsenen Sekundärwänden. Es muß nun weiter untersucht werden, ob eventuell eine verschiedene Kristallinität im inneren Aufbau der pri-

mären und sekundären Mikrofibrillen vorliegt. Morphologisch betrachtet, baut jedoch das Zytoskelet die Zellmembranen unabhängig davon, ob es sich um das Flächenwachstum der Primärwände oder um das Appositionswachstum der Sekundärwände handelt, mit den gleichen Mikrofibrillen auf!

Über das rätselhafte Flächenwachstum der primären Zellwände ist auf Grund optischer Untersuchungen das schematische Bild von Textfigur 9 a entwickelt worden (6). Bei künstlicher Dehnung ändern die Stränge ihre Richtung (Textfigur 9 b), wie aus dem Umschlag des Doppelbrechungsvorzeichens hervorgeht. Beim Flächenwachstum verändert sich jedoch der Charakter der Doppelbrechung nicht, woraus geschlossen wurde, daß das Gelgerüst aufgelockert (Textfigur 9 c) und so die



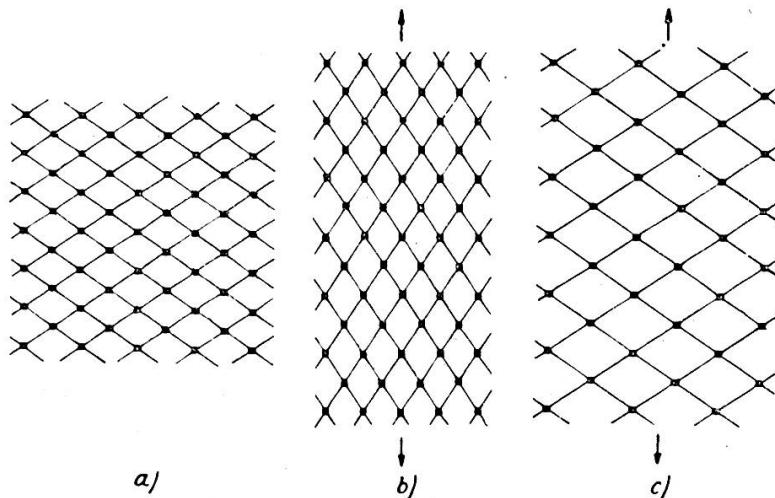
Figur 8
Schema der Röhrentextur 1942 (12). k Absorptionskoeffizienten, n Brechungsindizes in achsialer \parallel , radialer \leftarrow und tangentialer \perp Richtung

Fläche vergrößert werde, worauf nachträglich durch Intussuszeption neue Gefäden eingezogen würden.

Es ist gelungen, dieses Bild der Gelauflockerung beim Flächenwachstum (Abbildung 8, Tafel 4) im Elektronenmikroskop festzuhalten (21, 31). In Abbildung 8 (Tafel 4) ist rechts unten das ursprüngliche Gelgeflecht der Mikrofibrillen zu erkennen, während das übrige Bild die aufgelockerte Textur zeigt. In diesem Zustand kann die Wand durch den Turgordruck der Zelle gedehnt werden. Die Querdehnung wird indessen behindert, indem wie ersichtlich sofort neue, horizontal verlaufende Fibrillen eingeflochten werden, wodurch sich die als Streckungswachstum bekannte vertikale Flächenvergrößerung ergibt. Die Auflockerung des Fibrillengeflechtes ist kaum anders denkbar als durch Mithilfe einer enzymatischen Auflösung (Verdauung) gewisser Fibrillen, wodurch das vordem elastische Gewebe in eine plastische Textur umgewandelt wird. Die früher nachgewiesene Plastizierung der Zellwand

durch vermehrte Hydratation der Gelfäden könnte wohl allein kaum genügen, um das in Abbildung 7 (Tafel 4) sichtbare innige Geflecht in den Zustand von Abbildung 8 (Tafel 4) überzuführen.

Aus diesem Bilde geht hervor, daß die Zellwandauflockerung lokal erfolgt. Es wird offenbar die Zellwand nicht in ihrer gesamten Flächen-erstreckung erweicht, sondern nur an bestimmten Orten, die nach ihrer Dehnung wieder erstarken und durch neue plastizierte Felder abgelöst werden. Die Membran wächst also nicht als Ganzes, sondern mosaikartig in die Fläche. Dies erklärt die bisher schwer verständlichen lokalen Wachstumserscheinungen sich ausdifferenzierender Zellen, wie das Spitzenwachstum von Fasern und Pollenschläuchen, das Auswachsen



Figur 9

Schema des Flächenwachstums primärer Zellwände 1936 (6). a Röhrentextur; b Umorientierung der Stränge bei künstlicher Dehnung; c Maschenausweitung beim Flächenwachstum

von Wurzelhaaren, die Zellverzweigungen ungegliederter Milchröhren und das Interpositionswachstum (40, intrusion growth 42).

Ein sehr interessantes Problem ist die Frage, auf welche Weise die Zellulosemikrofibrillen in den Zellmembranen ihre *Individualität* während des Intussuszeptionswachstums in den primären und des Appositions-wachstums in den sekundären Wänden bewahren. Im Zelluloseschleim von *Bacterium xylinum* entstehen Fibrillen von vergleichbarer Dicke (250 bis 300 Å), wie aus Abbildung 9 (Tafel 5) hervorgeht (32). Diese zei-gen jedoch die Tendenz, seitlich miteinander zu verkleben. Es entstehen dadurch bandartige Fäden, die sich beim Eintrocknen verdrillen und dadurch wie gezwirnt aussehen. Die Verschmelzungstendenz und die Verdrillung sind durch den Kettengitterbau der Fäden bedingt. Im Kri-stallgitter der Zellulose ist die Ebene mit dem kristallographischen Sym-bol (101) die hydrophilste Fläche, so daß die Fibrillen, die auf der Ober-

fläche der Kulturlösung schwimmen, dem Wasser offenbar diese Ebene zuwenden. Dadurch sind alle Fibrillen kristallographisch gleich orientiert, und wenn sie seitlich zur Berührung gelangen, können sie miteinander Aggregate bilden. Wenn man ihnen die Flüssigkeit, auf der sie sich ausbreiten, entzieht, hört die orientierende Wirkung der Wasseroberfläche auf, die Kohäsionskräfte streben eine dichtere Packung der Bänder an, was zufolge der großen Länge der Fibrillen zur beobachteten Tordierung führt.

In den Zellmembranen ist weder eine Aggregierung noch eine Tordierung der Mikrofibrillen zu beobachten. Man muß daher annehmen, daß die Gitterkräfte an den Fibrillenoberflächen abgesättigt sind; dies ist leicht möglich, weil die Zellwände neben Zellulose stets eine Vielzahl begleitender Membranstoffe (vor allem Pektinstoffe) enthalten, die geeignet sind, die molekularen Anziehungskräfte der Fibrillenoberflächen zu befriedigen.

Eigenartig ist die Konstanz der Fibrillendicke (250 bis 300 Å). Bei der Auskristallisation aus der amorphen Zellulosemasse, die von *Bacterium xylinum* synthetisiert worden ist, kann man annehmen, daß lineare Kristallkeime in statistisch regelmäßigen Abständen auftreten, so daß Einzugsgebiete mit einer vergleichbaren Anzahl von Zelluloseketten für die Gleichartigkeit der entstandenen Fibrillen verantwortlich wären. Beim Wachstum der Mikrofibrillen in der Zellwand sind solche Überlegungen jedoch kaum angezeigt, denn die Kristallisation erfolgt hier nicht aus einem amorphen Schleim durch Parallelisierung der Zelluloseketten. Vielmehr muß man annehmen, daß die Fibrillen gleichzeitig mit den Zellulosekettenmolekülen durch Polymerisation aus Glukose entstehen. Es muß sich somit ein ähnlicher Vorgang abspielen wie bei der Bildung der Stärkekörner im Schoße der Leukoplasten. Aus dieser Analogie darf man schließen, daß die Mikrofibrillen bei ihrer Entstehung von einer Zytomaschicht umgeben sind und daher nicht an der Oberfläche des Plasmalschlauches ausgeschieden werden. Deshalb muß die sich bildende Wand vom aufbauenden Zytosol *durchtränkt* sein. Die Gleichmäßigkeit der Fibrillendicke ist dann so zu verstehen wie das Ebenmaß der Stärkekörner in einem Speichergewebe, das heißt die morphologische Kongruenz zahlloser gleichartiger Syntheseprodukte der Zelle muß dem unbekannten Formbildungsvermögen des Protoplasmas zugeschrieben werden.

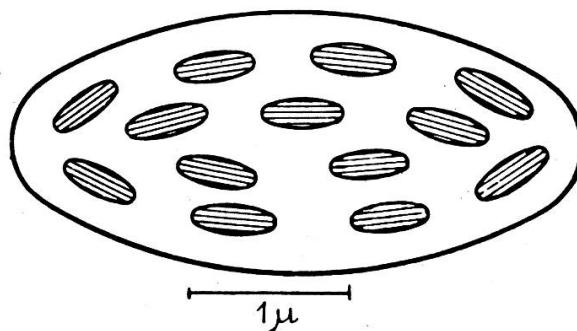
Schichtentextur

Die Abhängigkeit der Doppelbrechung der großen Chloroplasten von *Mougeotia*, Clostridien und anderer Konjugaten-Algen vom Brechungsindex des Einschlußmittels (22, 28) verrät, daß sie den Feinbau eines Schichtenmischkörpers besitzen müssen (8). Bei den Chlorophyll-

körnern der höheren Pflanzen wurde der Schichtenbau auf Grund ihrer Optik in die Granen verlegt, da sich das Stroma isotrop verhält (Textfigur 10). Die schwache Gesamtanisotropie der Chlorophyllkörner wird nicht vom Stroma, sondern von der Chloroplastenhaut verursacht.

Mühlenthaler hat diesen vermuteten Lamellenbau der Granen im Elektronenmikroskop nachweisen können. Abbildung 10 (Tafel 5) zeigt die Granenstruktur der Chloroplasten (33), wie sie bereits von holländischen (1) und amerikanischen Untersuchern (23) abgebildet worden sind. Die Granen liegen als Scheiben in einem körnigen Stroma, das von einer Haut umhüllt wird, wie aus Abbildung 11 (Tafel 6) ersichtlich ist. Dieses Bild läßt die unerwarteten Möglichkeiten der Wyckoffischen Beschattungsmethode in wundervoller Weise erkennen. Trotzdem die Bedämpfung einen Oberflächenüberzug aus Metall liefert, lassen sich die Granen unter der alles umschließenden Chloroplastenhaut naturgetreu wahrnehmen. Die beschattete Haut wirkt wie ein zarter Schleier; sie ist durchsichtig und läßt tief ins Innere des Objektes hineinschauen. Ge-

Figur 10
Schema des Feinbaus eines
Chlorophyllkernes im Aufriß.
Isotropes Stroma und ge-
schichtete Granen 1937 (8)



wöhnlich platzen die Chlorophyllkörper bei der Präparation, ihr Inhalt fließt aus. Die isolierten Granen erscheinen als flache Zylinderscheiben, deren Höhe aus ihrem Schatten abgeschätzt werden kann. In Abbildung 12 (Tafel 6) ist ein solcher Zylinder umgestoßen, und man erkennt, wie er, einer Geldrolle vergleichbar, aus dünnsten Lamellen besteht. Die Feinheit der Lamellen geht aus dem kurzen Schatten, den sie werfen, und aus ihrer Durchsichtigkeit hervor.

Das flächenhafte Bauprinzip läßt sich somit bei den Chlorophyllkörnern durch drei Größenordnungen hinab verfolgen. Die lichtmikroskopischen diskusartigen Chloroplasten enthalten scheibenförmige Granen, deren Durchmesser und Dicke bald etwas über, bald etwas unter dem Auflösungsvermögen des Lichtmikroskops liegen. Ihrerseits sind diese Granen aus Lamellen von etwa 200 Å Dicke aufgeschichtet. Dem hohen Lipoidgehalt der Chloroplasten entsprechend (37,4 % beim Spinat, 29), und auf Grund der Granenfärbbarkeit mit Sudan und Rhodanin B, sollte man erwarten, daß diese Lamellen Lipoidschichten vorstellen. Da indessen die Chloroplastenlipide zu Myelinscheiben mit veränderlichem

Durchmesser zusammenfließen (33), dürfte es sich bei den in Abbildung 12 (Tafel 6) wiedergegebenen Grana-Lamellen eher um Eiweißschichten (evtl. das Chromoproteid Chloroplastin) handeln.

Sublichtmikroskopische Morphologie

In den Zellwänden und den Chloroplasten sind sublichtmikroskopische Bausteine mit indirekten Methoden nachgewiesen und neuerdings mit dem Elektronenmikroskop abgebildet worden. Bei ihrer Anordnung gelten ähnliche Gestaltungsprinzipien wie in der lichtmikroskopischen oder makroskopischen Morphologie: retikulare Systeme (Abbildung 1, Tafel 1), Geflechte und Gewebe (Abbildung 5, Tafel 3; Abbildungen 7 und 8, Tafel 4), gezwirnte Fäden (Abbildung 9, Tafel 5), Porenfelder (Abbildung 6, Tafel 3), Fibrillenpakete (Abbildung 3, Tafel 2), Schichtpakete (Abbildung 12, Tafel 6), Stauchungen (Abbildung 3, Tafel 2) usw.

Wer nach der Lehre vom Stufenbau der Materie (39) im sublichtmikroskopischen Gebiete einfachere Organisationsprinzipien erwartet hat, muß erkennen, daß die Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops keine solche Stufenschranke vorstellt. Vielmehr handelt es sich um eine ganz zufällige, durch die Wellenlänge des Lichtes gegebene Grenze, die für die Morphologie keineswegs zu vereinfachten oder verarmten Formproblemen hinüberleitet; sondern wir finden hier die gleichen Fragen der Gestaltung und Morphogenese wie in der lichtmikroskopischen Morphologie. Beim Übergang zu den amikroskopischen, molekularen Dimensionen mögen durch das Vorherrschen von molekularen und atomaren Bindekräften andersartige Gestaltungsprinzipien in Erscheinung treten; aber im elektronenmikroskopisch zugänglichen Bereiche lassen sich die Biostrukturen mit den uns geläufigen Begriffen erfassen und umschreiben. Die Erwartung, es lasse sich eine vereinfachte Morphologie auf Grund des Molekülbaus der biogenen Gele auffinden, konnte sich nicht verwirklichen, denn sie beruhte auf der Verkennung der Tatsache, daß zwischen der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops und den Molekülen der organischen Chemie noch das weite Feld der kolloiden Abmessungen liegt. So können wir heute noch nicht ohne Übertreibung von einer « Molekular-Morphologie » (molecular morphology) oder von einer « Molekular-Biologie » (molecular biology) sprechen, wohl aber von einer gut fundierten und große Erfolge versprechenden « Sublichtmikroskopischen Morphologie ».

Die von Wyckoff (44) abgebildeten Bakteriophagen sind mit Abmessungen von 1000 Å nur wenig größer als globuläre Eiweißmoleküle von 400 Å Durchmesser. Trotzdem weisen die Phagusteilchen morphologische Besonderheiten auf (wie einen schwanzartigen Fortsatz, eine Außenmembran mit andeutungsweiser fibrillarer Textur und einen körnigen Inhalt), die sich nicht ohne weiteres aus der Molekular-Morphologie

ergeben. Vielmehr müssen kleine Moleküle nach bestimmten Gestaltungsprinzipien zu den festgestellten Formen gefügt werden.

Ein und dasselbe Bauelement wie zum Beispiel die Zellulosemikrofibrille der Zellwände kann in ganz verschiedener Weise zu Folien verwoben, Siebfeldern angeordnet oder Fasern zusammengelegt werden. In allen Fällen ist der molekulare Aufbau der Fibrillen ähnlich, theoretisch könnte er sogar gleich sein. Die Molekular-Morphologie gibt uns daher keine Auskunft über die Gestaltungsprinzipien, deren sich die lebende Substanz bedient, um komplizierte, wachstumsfähige Zellmembranen aufzubauen. Wir brauchen daher einen besonderen Zweig der Morphologie, der den kolloiden Feinbau der verschiedenen Zellbestandteile beschreibt. Diese Morphologie ist unerlässlich, um die kommende Wissenschaft der Zellphysiologie vorzubereiten. Denn wie die menschliche Anatomie und die Histologie die großen Wegbereiterinnen der Organ- und Gewebephysiologie gewesen sind, so ist auch die Kenntnis des kolloiden Zellbaus unerlässlich, um die physiologischen Verrichtungen einer Zelle zytologisch zu lokalisieren und ihr großartiges Zusammenspiel erfassen zu lernen.

Ebenso wie die Organe aus Geweben bestehen und diese wiederum aus verschiedenen gestalteten Zellen (Parenchymzellen, Fasern, Kollenchymzellen) aufgebaut sind, enthalten die Zellen ihre Organelle Kern, Plastiden, Chondriosomen, Zellwand, Vakuolenhaut (Tonoplast), die im Zusammenhang mit ihrer funktionellen Aufgabe einen ganz bestimmten sublichtmikroskopischen Aufbau besitzen müssen. Wie an Hand der Zellwände und der Chloroplasten gezeigt worden ist, sind diese Strukturen sehr vielgestaltig. Die Mikrurgie der Zellen ist daher berufen, in der Zukunft eine ähnlich wichtige Rolle zu spielen wie die Histologie in der Organlehre.

Ein prinzipieller Unterschied bleibt indessen bestehen, denn man darf wohl die entdeckten Bauelemente (Mikrofibrillen und Granenblättchen) nicht als selbständige Lebenseinheiten betrachten, wie dies von den Zellen als Bausteine der Vielzeller feststeht. Lehmann (27) ist zwar der Meinung, daß die Zellen nicht die kleinste lebende Einheit vorstellen, sondern daß ihre durch Selbstvermehrung ausgezeichneten Bestandteile (Chromosomen, Plasmafibrillen mit Chromidien, Plastiden) als sogenannte Biosomen selbständige Untereinheiten bilden. Diese Biosomen sind indessen, verglichen mit den von uns nachgewiesenen sublichtmikroskopischen Bauelementen, sehr komplizierte und recht große Gebilde, da ihre Abmessungen noch im Bereich des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens liegen. Sie sind sicher aus verschiedenen sublichtmikroskopischen Elementen aufgebaut, denn so wie den Chloroplastengranen dürfte auch den Chromosomen und Chromidien ein bestimmtes Bauprinzip zukommen.

Bei den Zellwänden werden die sublichtmikroskopischen Bauelemente (Mikrofibrillen) vom Zytoplasma gebildet, bei den Stärkekörnern und Chloroplastengranen vom Plastidenplasma, so daß wir heute neben den Biosomen noch viel kleinere, unselbständige Elementarbausteine der Zelle kennengelernt haben.

Interessanterweise muten uns die sublichtmikroskopischen Texturen aus diesen Bauelementen ebenso ästhetisch an (Abbildung 6, Tafel 3; Abbildung 7, Tafel 4; Abbildung 11, Tafel 6) wie die lichtmikroskopischen Kunstformen der Natur, so daß sich die auf Grund indirekter Untersuchungsmethoden ausgesprochene Vermutung (10, Seite 288) in unerwartet kurzer Zeit bewahrheitet hat: « Die Zelle ist ein wundervolles Gebäude, dessen Feinbau, könnte man ihn sehen, jeden Beobachter ebenso sehr begeistern müßte wie die (licht)mikroskopische Zytomorphologie. »

Literaturverzeichnis

1. *Algera, L., Beijer, J.J., van Iterson, W., Karstens, W.K.H., and Thung, T.H.*: Some data on the structure of the chloroplast, obtained by electron microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* **1**, 517 (1947).
2. *Ambrogn, H.*: Über Gleitflächen in Zellulosefasern. *Koll. Z.* **36**, 311 (1925).
3. *Astbury, W.T., Marwick, T.C., and Bernal, J.D.*: X-ray analysis of the structure of the wall of *Valonia ventriculosa*. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **109**, 443 (1932).
4. *Frey-Wyßling, A.*: Die submikroskopische Struktur der Zellmembranen. *Jb. wiss. Bot.* **65**, 195 (1926).
5. — Über die Verschiebungsfiguren zellulöser Zellwände. *Z. wiss. Mikr.* **51**, 29 (1934). — Über Verschiebungsfiguren in Asbestfasern. *Ebenda* **56**, 309 (1939).
6. — Der Aufbau der pflanzlichen Zellwände. *Protoplasma* **25**, 262 (1936).
7. — Röntgenometrische Vermessung der submikroskopischen Räume in Gerüstsubstanzen. *Ebenda* **27**, 372 (1937).
8. — Der Aufbau der Chlorophyllkörper. *Ebenda* **29**, 279 (1937).
9. — Die Micellarlehre, erläutert am Beispiel des Faserfeinbaues. *Koll. Z.* **85**, 148 (1938).
10. — Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Leipzig, 1938 (2. Aufl. in englischer Sprache, Amsterdam und New York, 1948).
11. — Optik gekreuzter Feinbausysteme und Zellwandstreckung. *Protoplasma* **35**, 527 (1941).
12. — Über Zellwände mit Röhrentextur. *Jb. wiss. Bot.* **90**, 705 (1942).
13. — Über den Feinbau der Steinzellen. *Zellulosechemie* **20**, 55 (1942).
14. — Berechnung des Orientierungsgrades von Gelen aus Refraktionsmessungen. *Helv. chim. Acta* **26**, 833 (1943).

15. Frey-Wyßling, A.: Das Streckungswachstum pflanzlicher Zellen. Arch. Jul.-Klaus-Stift. **20 A**, 381 (1945).
16. — Über die Dehnungsarbeit beim Streckungswachstum pflanzlicher Zellen. Viertelj'schr. Naturf. Ges. Zürich **93**, 24 (1948).
17. — Growth in surface of the plant cell wall. Growth, 1949 (im Druck).
18. — und Mühlenthaler, K.: Elektronenoptische Abbildung des submikroskopischen Gel-Feinbaus. Viertelj'schr. Naturf. Ges. Zürich **89**, 214 (1944).
19. — Submicroscopic structure of cellulose gels. J. Polymer Sc. **1**, 172 (1946).
20. — Elektronenmikroskopie der pflanzlichen Zellwände. Bauzeitung (Zürich), Heft zu Ehren von Prof. Rohn, 15.1.1949.
21. — Mühlenthaler, K., und Weyckoff, R. W. G.: Mikrofibrillenbau der pflanzlichen Zellwände. Experientia **4**, 475 (1948).
22. — und Steinmann, E.: Die Schichtendoppelbrechung großer Chloroplasten. Biochim. Biophys. Acta **2**, 254 (1948).
23. Granick, S., and Porter, K. R.: The structure of the spinach chloroplast as interpreted with the electron microscope. Amer. J. Bot. **34**, 545 (1947).
24. Hengstenberg, J., und Mark, H.: Über Form und Größe der Micelle von Zellulose und Kautschuk. Z. Krist. **69**, 271 (1928).
25. Hermans, P.-H.: Sur le rapport domaines cristallisés—domaines amorphes dans les fibres de cellulose. J. Chim. Phys. **44**, 135 (1947).
26. v. Hohenel, F.: Über den Einfluß des Rindendruckes auf die Beschaffenheit der Bastfasern der Dicotylen. Jb. wiss. Bot. **15**, 311 (1884).
27. Lehmann, F. E.: Über die plasmatische Organisation tierischer Eizellen und die Rolle vitaler Strukturelemente, der Biosomen. Rev. suisse Zool. **54** (1947).
28. Menke, W.: Polarisationsoptische Untersuchungen zur Frage der Chloroplastenstruktur. Ber. dtsch. bot. Ges. **56**, 27 (1938).
29. — Isolierung von Chloroplasten aus Spinatblättern. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. **257**, 43 (1938).
30. Mühlenthaler, K.: Electron micrographs of plant fibres. Biochim. Biophys. Acta 1949 (im Druck).
31. — Investigation on the development of cell walls. Ebenda 1949 (im Druck).
32. — The structure of bacterial cellulose. J. Polymer Sc. 1949 (im Druck).
33. — und Frey-Wyßling, A.: Über den Feinbau der Chlorophyllkörper. Viertelj'schr. Naturf. Ges. Zürich 1949 (im Druck).
34. Philipp, H. J., Nelson, M. L., and Ziifile, H. M.: Cristallinity of cellulose fibers as determined by acid hydrolysis. Text. Res. J. **17**, 585 (1947).
35. Preston, R. D.: The organisation of the conifer tracheid. Philos. Trans. B **224**, 131 (1934).
36. — The structure of the walls of parenchyma in *Avena* coleoptiles. Proc. Roy. Soc. Lond. B **125**, 372 (1938).
37. — Nicolaï, E., Reed, R., and Millard, A.: An electron microscope study of cellulose in the wall of *Valonia ventriculosa*. Nature **162**, 665 (1948).
38. Rosin, S.: Über Bau und Wachstum der Grenzlamelle der Epidermis bei Amphibienlarven. Rev. suisse Zool. **53**, 133 (1946).
39. Schmid, E.: Der Stufenbau der Materie und die biologischen Wissenschaften. Viertelj'schr. Naturf. Ges. Zürich **88**, 261 (1943).

40. Schöch-Bodmer, H.: Interpositionswachstum, symplastisches und gleichendes Wachstum. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* **55**, 313 (1945).
 41. Schütz, F.: Das Holz als einheitlicher Rohstoff. *Holzforsch. (Berlin)* **2**, 33 (1948).
 42. Sinnott, E. W., and Bloch, R.: Changes in intercellular relationships during the growth and differentiation of living plant tissues. *Amer. J. Bot.* **26**, 625 (1939).
 43. Williams, R. C., and Wyckoff, R. W. G.: Applications of metallic shadow-casting to microscopy. *J. Appl. Phys.* **17**, 23 (1946).
 44. Wyckoff, R. W. G.: The electron microscopy of developing bacteriophage. I. Plaques on solid media. *Biochim. Biophys. Acta* **2**, 27 (1948).
-