

DAS VERHALTEN VON KERN UND CHLOROPLASTEN BEI DER REGENERATION.

Von

E. HEITZ
(Greifswald).

Mit 10 Textabbildungen und Tafel II.

(Eingegangen am 24. November 1924.)

I.

Beim Studium der Regenerationsweise verschiedener Laub- und Lebermoosarten stieß ich, die ersten Stadien der Neubildung verfolgend, auf einige interessante Erscheinungen. Des öfteren sind diese Pflanzen zum Studium der morphologischen und physiologischen Fragen des

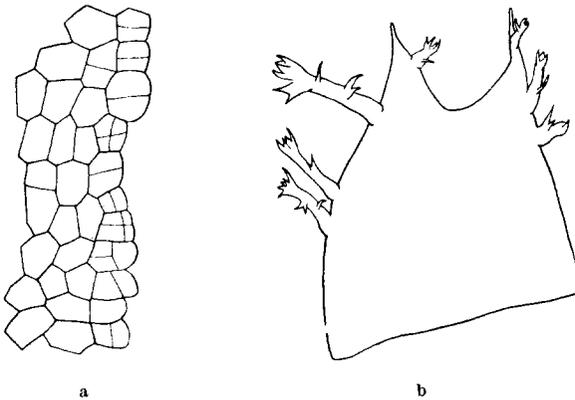


Abb. 1. *Lophocolea bidentata*. a) Randzellen; Bildung der kleinen Protonemen. b) Blatt mit jungen Pflänzchen.

Regenerationsproblems herangezogen worden, cytologisch dagegen wurden sie in dieser Hinsicht vernachlässigt. Bei der Kleinheit der Kerne scheinen sie keine besonders günstigen Objekte zu sein. Das Gegenteil ist der Fall. Wie gezeigt werden wird, gibt es wohl kaum eine andere Pflanzengruppe, bei der man ebenso mühelos wie klar die Veränderungen, welche in einer zur Regeneration schreitenden Zelle vor sich gehen, beobachten und *lebend* in ihrem ganzen Verlauf verfolgen kann.

Zu den Untersuchungen eignet sich besonders gut das weit verbreitete Lebermoos *Lophocolea bidentata*. Die einschichtigen Blätter ermöglichen

eine dauernde Prüfung der Zellen unter dem Mikroskop. Sie werden am besten nach dem Abtrennen vom Sproß auf feuchtem Fließpapier oder kleinen Gipsblöckchen kultiviert, die in Nährlösung oder einfach Leitungswasser stehen. Nach ungefähr 14—20 Tagen erscheinen am Blattrand Pflänzchen (Textabb. 1), die aus einem kleinen, flächenartigen Protonema ihren Ursprung nehmen. Auf der Blattfläche selbst treten nie Regenerate auf, wenn auch wohl einzelne Zellen oder Zellgruppen sich teilen.

Untersuchen wir die ausgelegten Blättchen schon früher, etwa nach 6—8 Tagen, so stoßen wir auf eine merkwürdige Erscheinung (Abb. 2). Sie war es, die mich veranlaßte, die ersten Veränderungen an regenerierenden Zellen überhaupt näher zu verfolgen. In den noch

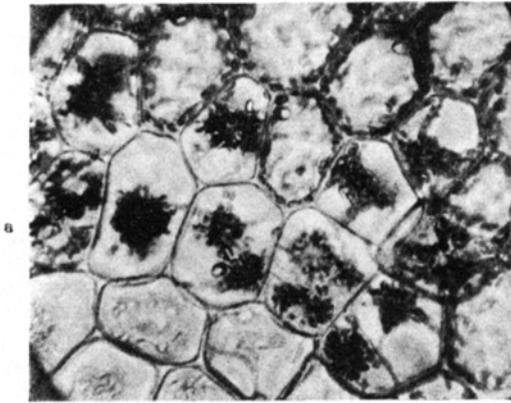


Abb. 2. Regenerierende Zellen von *Lophocela bidentata*. Lebendaufnahme. Zelle a—e: a) Chloroplasten um 2 Tochterkerne gelagert. b) Sammlung um den Kern vor der ersten Kernteilung; c) geteilter Chloroplastenhaufen; in dieser und der darüberliegenden Zelle. Ölkörper an der Peripherie der Haufen sichtbar; e) Bildung der ersten Zellwand.

ungeteilten Randzellen, hier und da auch solchen der Blattfläche, liegen die Chromatophoren nicht mehr wie gewöhnlich im Plasma der Zellaußenwände, sondern zu verschieden geformten Haufen geballt in der Vacuole. Man könnte zuerst glauben, die betreffenden Zellen seien im Absterben begriffen. Alles andere als dies ist der Fall: sie sind es, die zur Zellteilung schreiten und ein Protonema bilden. Wir können leicht durch Abzählen der Randzellen bis zur Spitze oder Basis des Blattes eine einmal beobachtete Zelle wiederfinden. Nach einiger Zeit hat sich der in der Zellmitte liegende Haufen in zwei geteilt, und zwischen ihnen bildet sich schließlich eine Zellwand. In Abb. 2 sieht man nebeneinanderliegende Zellen in diesen zwei verschiedenen Stadien. Die Häufung der Chloroplasten bleibt, bevor es zur Zellteilung kommt, bei Licht und Dunkelheit erhalten, ebenso wie die Entstehung dieser

Systrophe nicht durch die Veränderung der Beleuchtungsverhältnisse hervorgerufen wurde. Die Ursache dafür liegt in der regenerierenden Zelle selbst. Denn in den anderen behalten die Plastiden ihre normale Lage, trotzdem sie sich infolge der Abtrennung des Blattes unter gleichsinnig veränderten Bedingungen befinden.

Diese Chloroplastenverlagerung ist die auffälligste, nicht aber die erste und einzige Veränderung, welche nach dem Abtrennen des Blattes in den Randzellen stattfindet.

Die Zellkerne sind an frischen Blättchen nur schlecht, oft auch gar nicht zu sehen¹⁾. Einmal sind sie wie meistens bei den Bryophyten sehr klein, bei *Lophocolea* 4—5 μ groß. Vor allen Dingen liegen sie oft an den Fugenwänden. Es läßt sich in der Lage eine gewisse Gesetzmäßigkeit erkennen. Manchmal sind sie in einer Zellgruppe auf die Fugen-, in einer anderen benachbarten auf die Zellaußenwände verteilt. Haben dagegen die Blättchen einige Tage auf dem Gipsblock gelegen, so sind ihre Kerne sehr deutlich besonders in den Randzellen zu erkennen. Folgendes ist der Grund: Sie sind in die Zellmitte gerückt und haben bedeutend an Größe zugenommen (Taf. II, a—d). Diese Verlagerung und Größenzunahme des Zellkernes ist eines der ersten Anzeichen beginnender Zellteilung. Schon vorher haben sich starke, die Zelle durchkreuzende Plasmafäden gebildet; auf ihnen wandern Kern und Chromatophoren in die Mitte der Zelle.

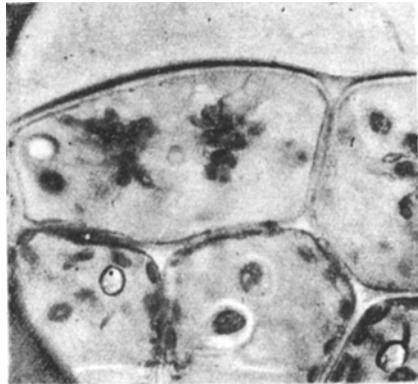


Abb. 3. *Lophocolea bidentata*. Lebendaufnahme. Chloroplasten an den Kernpolen. In der Mitte der große Nucleolus.

Die Teilung des Chloroplastenhaufens geschieht, wie eine genaue Untersuchung lehrt, nie nach sondern vor der Kernteilung (Taf. II, e, g; Abb. 3). Der auf dem Höhepunkt der Häufung meistens verborgene Kern streckt sich und an seine Pole wird je eine Hälfte der Chloroplastenmasse gelagert. Er steht jetzt gewöhnlich in der Prophase. Später sind die Spindelfasern zwischen den Chromatophoren gespannt (Abb. 5d).

¹⁾ Zur Fixierung gut geeignet ist das Ladowskysche Gemisch (100 Teile Wasser, 15 Teile Alkohol 96 vH., 15 Teile Formaldehyd conc., 25 Teile Eisessig), Färbung nach HEIDENHAIN oder Ehrlichs Hämatoxylin. In vielen Fällen am besten ohne Färbung, da Zellwände und Chromatophoren den Farbstoff sehr energisch festhalten.

Während sich der Kern vor und bei der Verlagerung vergrößert, geschieht mit den Chromatophoren gerade das Entgegengesetzte. Sie wachsen nicht, sondern teilen sich nur und haben, um den Kern gelagert, deutlich an Größe abgenommen. Dieses Kleinerwerden durch fortgesetzte Vermehrung hat CORRENS einmal als erste Änderung in den Zellen von *Mnium*, die Protonema austreiben, beschrieben. In anderen Fällen setzt die zur Verkleinerung führende Teilung erst während der Kernpollage ein, dauert aber immer über mehrere Zellteilungen an. Schließlich kommt es zu einer starken Herabsetzung der ursprünglichen Größe, bis die für embryonale Zellen typische erreicht ist.

Noch eine Erscheinung verdient besonders hervorgehoben zu werden. Die Zellen von *Lophocolea* führen wie die meisten Lebermoose drei bis sechs große Ölkörper. Gleich dem Chloroplasten werden auch sie zum Kerne hin und an die Spindelpole verlagert (Abb. 2c u. 4). Sie liegen



Abb. 4. Vergr. 1400 \times . *Lophocolea bidentata*. Wanderung der Ölkörper mit den Chloroplasten.

meistens an der Peripherie des Plastidenhaufens und nehmen auch in der Kernpollage diese Stellung ein.

Die Sammlung um den Kern ist meistens keine vollständige. Öfters bleiben einzelne Chloroplasten im Wandbelag zurück oder wenigstens in einiger Entfernung vom Kern auf den Plasmasträngen und liegen dort noch, wenn die anderen schon auf die Kernpole verteilt sind. Später aber, wenn die Wandbildung einsetzt, liegen nur noch selten welche im Plasma zerstreut (Abb. 5d). Nach vollzogener Zellteilung umlagern die Plastiden natürlich gleichmäßig den jungen Kern. Bereitet sich dieser zur neuen Teilung vor, und dies geschieht recht bald, da zwischen den ersten Zellteilungen kaum Zellwachstum stattfindet, so wiederholt sich dasselbe Schauspiel der Kernpolwanderung (Taf. II, f—h).

Wie *Lophocolea* verhalten sich auch alle anderen untersuchten Laub-

und Lebermoose. Stets gehen der ersten Zellteilung die geschilderten Veränderungen an Kern und Chloroplasten voraus. Die Laubmoose sind zur Beobachtung weniger gut geeignet. Während bei Lebermoosen zuerst Zellteilungen mit Spindeln, deren Achse stets in der Ebene des Blattes oder Thallus fällt, auftreten, ist bei den Laubmoosen die Spindel meistens senkrecht zur Ebene des Blattes und damit zur Beobachtungs-

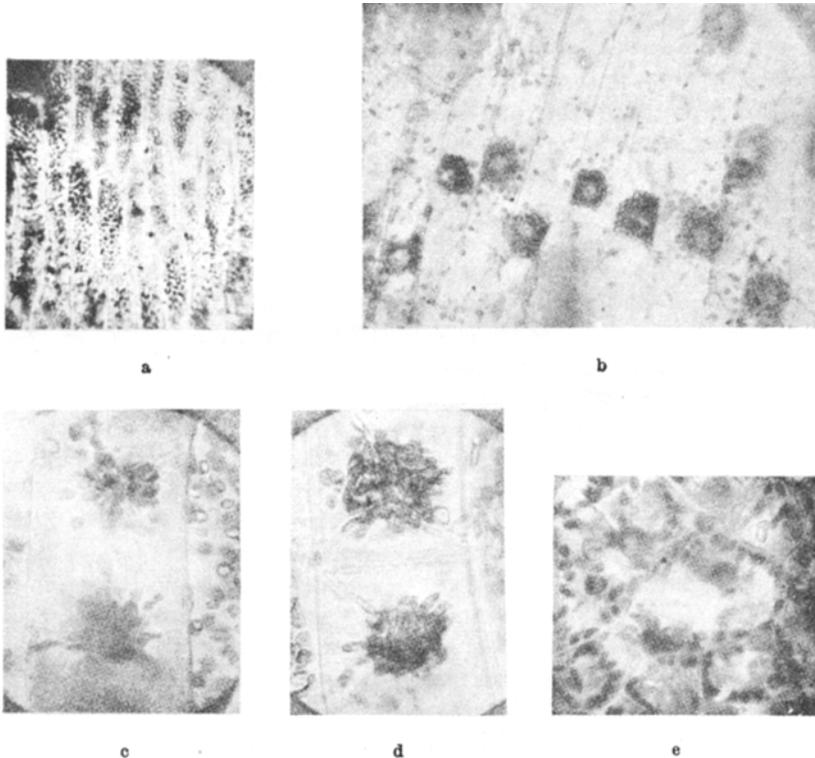


Abb. 5. Erste Regenerationsstadien bei *Pellia epiphylla*. Lebendaufnahme. a ruhende vegetative Zellen; b Chloroplastensammlung um die Kerne; c Teilung des Chloroplastenhaufens, in der Mitte Kern mit Nucleolus sichtbar; d Wandbildung, Chloroplasten an den Spindelpolen; e Zellteilung in der Nähe des Vegetationspunktes, Chloroplasten an den Spindelpolen, in der Mitte die Chromosomen zu erkennen.

ebene orientiert. Im Gegensatz zu den Lebermoosen wächst ja die regenerierende Zelle bei Laubmoosen zu einem fädigen Protonema aus und das kann natürlich nur senkrecht zur Blattfläche geschehen.

Zur Untersuchung ein besonders schönes Objekt ist *Pellia* mit ihren großen Zellen (Abb. 5). Zwar ist die Lebendbeobachtung nicht ganz so bequem wie bei *Lophocolea* und den anderen foliosen Lebermoosen, weil meistens die Zellen der mehrschichtigen Mittelrippe regene-

rieren. Der Vorgang läßt sich nur an den nach außen hin liegenden Rippenzellen verfolgen. Viel baldere als bei *Lophocolea* häufen sich nach Zerschneiden des Thallus in kleine Stücke die Chloroplasten um den Kern. Dieser erreicht nicht selten eine Größe von 30 μ , eine für vegetative Kerne recht ansehnliches Volumen, besonders wenn wir bedenken, daß Bryophyteneikerne kaum zu diesen Dimensionen heranwachsen. Es sei erwähnt, daß nicht nur auf dem Stadium der Wandbildung, wie sie Abb. 5d zeigt, die Spindelfasern lebend zu beobachten sind, sondern auch auf dem Stadium der Äquatorialplatte. Hierauf sowie auf die experimentelle Herstellung bivalenter Lebermoose, die aus diesen Zellen möglich erscheint, soll demnächst näher eingegangen werden.

II.

Was sind die Ursachen für die beschriebenen Veränderungen an Kern und Chloroplasten und in welcher Beziehung stehen sie zur Regeneration? A priori haben wir keinen Grund anzunehmen, daß es zu den beschriebenen Erscheinungen kommen muß. Zu erwarten wäre vielmehr, daß die vegetative Zelle unter Beibehaltung von Größe und Lage ihrer Organellen sich teilt.

Die Frage ist wichtig, warum der Kern sich gerade in die Zellmitte begibt. In ruhenden, ausgewachsenen Zellen ist dort nichts vorhanden, was physikalisch oder chemisch einen Anziehungspunkt für ihn bilden könnte, denn die Vacuole ist gleichmäßig von Zellsaft erfüllt. Ja, es fehlt sogar der Weg, auf den er dorthin gelangen könnte, da der Zellsafttraum nicht von Plasmasträngen durchzogen ist. Erst einige Zeit nach der Lostrennung der Blätter vom Sproß beginnt das Plasma an Masse zuzunehmen und in Strängen die Vacuole zu durchziehen. Das Primäre in der Lageänderung der Zellbestandteile ist demnach eine Lageänderung des Plasmas, und zwar unter bestimmter Anordnung in bezug auf die Zellmitte. Die Wanderung des Kernes dorthin ist erst durch das Plasma bedingt. Fragen wir nun wiederum nach den Gründen für das Zustandekommen dieses „plasmatischen Centrums“, so können sie nur in ihm selbst liegen. Können wir uns auch keine Vorstellung von ihrem Wesen machen, so scheint doch die Annahme, es handle sich um physikalische Kräfte, die einzig mögliche. Ein chemisches protoplasmatisches Centrum ist selbstverständlich vorstellbar, aber nicht eine chemische Differenz innerhalb des Plasmas als Entstehungsursache dieses Centrums. Und wenn nun schon ein dynamisches Centrum im Plasma gegeben ist, so ist die natürlichste und naheliegendste Annahme, daß auch der Zellkern unter seinem Einfluß steht und deshalb in die Zellmitte sich bewegen muß. Dasselbe gilt dann auch für die Chromatophoren: Die Ursache für ihre Verlagerung ist im Plasma gegeben, auch sie ist mechanisch bedingt.

Die Auffassung einer mechanischen, durch das Plasma dirigierten Verlagerung wird bewiesen durch das *Verhalten der Ölkörper*. Diese können als tote Gebilde chemisch vom Zellkern nicht angezogen werden und mechanisch ebensowenig wie die Chloroplasten. Die Vorstellung ist unmöglich, daß die Ölkörper mechanisch durch das Plasma, die Plastiden infolge eines chemischen, vom Kern ausgehenden Reizes verlagert werden. Ich behaupte damit nicht, daß in anderen Fällen Kernlagerungen der Chloroplasten chemisch bedingt sein könnten. Dafür sprechen eindeutig die von SENN (1919) gemachten Beobachtungen an Braunalgen, bei welchen im Gegensatz zu unserem Objekt leblose Zellbestandteile (Fukosanbläschen) die Wanderung nicht mitmachen. Der Schluß jedoch scheint berechtigt, daß bei Moosen auch die durch Veränderung in den Beleuchtungsverhältnissen hervorgerufenen Systropheen nicht aktiver, sondern passiver Natur sind.

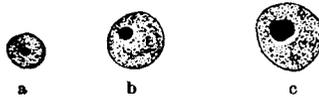


Abb. 6. Vergr. 1400 ×.

Im Gegensatz zu den Verlagerungen ist das Kernwachstum wenigstens zum Teil einer experimentellen Untersuchung zugänglich. Folgende Ursachen kommen für die Kernvergrößerung in Betracht. Erstens: Störung des normalen Stoffwechsels in den vom Sproß losgelösten Teilen, entweder hervorgerufen durch die bloße Isolierung oder durch die damit verbundene Verwundung. Zweitens: Direkter Einfluß der Wundstoffe.

Eine Untersuchung der nicht sich teilenden Zellen ergibt, daß auch in ihnen der Kern vergrößert wird. Textabb. 6a zeigt einen Zellkern von *Lophocolea* gleich nach dem Abtrennen des Blattes fixiert, b einen solchen einer nicht regenerierenden und c den einer regenerierenden Zelle nach Stägiger Kultur des Blattes. (Man darf natürlich nur Kerne aus gleichgroßen Zellen miteinander vergleichen.) In frisch abgetrennten Blättchen sind bei *Lophocolea* und *Funaria* alle Kerne innerhalb einer gewissen Variationsbreite gleich groß. Die drei Kernvolumina verhalten sich wie 1 : 4 : 5, die der Nucleolen wie 1 : 3,5 : 12. Ebenso verhält sich *Funaria* wie Textabb. 7a—c zeigt. Die Kernvolumina lassen sich hier bei der oft gestreckten Gestalt schlecht berechnen. Auch hier ist die Volumzunahme des Nucleolus größer als die des Kernes. In regenerierenden wie in nicht regenerierenden Zellen wächst er ungefähr gleich stark, dagegen vergrößert sich der Nucleolus um das Acht- bis Zehnfache in regenerierenden.

Daß bei den untersuchten Objekten nach der Abtrennung des

Blattes in sämtlichen Fällen die Kerne wachsen, steht außer Frage. Vor Jahren haben ja schon NESTLER und PROWACZEK, um nur zwei Namen zu nennen, Kernwachstum nach Verwundung beobachtet. Die Einwände SCHÜRHOFFS (1906), NESTLER habe Kerne vor sich gehabt, die schon in der Prophase standen, dürften nicht zu Recht bestehen. Denn NESTLER, er untersuchte verschiedene *Tradescantia*-Arten, die an der intakten Pflanze durch Nadelstiche verletzt wurden, betont ausdrücklich, daß die Kernvergrößerung nach dem Zurückwandern des traumatotaktisch verlagerten Kernes wieder verschwunden ist. Damit vereinbar ist die Beobachtung MIEHES an *Tradescantia virginica*, „daß sämtliche in der Nähe der Wunde gelegene Kerne reichlich körnige Substanzhäufungen aufweisen. Eine Teilung selbst beobachtete ich nicht.“ Substanzhäufung bedeutet natürlich Vermehrung der Kernmasse, wenn auch der Kerndurchmesser unverändert geblieben ist. Später hat RITTER (1911) an herausgeschnittenen Stückchen der Epidermisoberseite von *Allium* die Angaben NESTLERS vollkommen bestätigt. Auch er findet, daß die Vergrößerung des Kernes zurück-

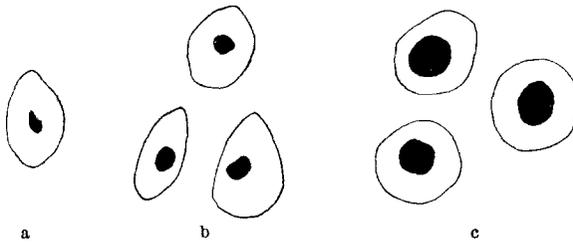


Abb. 7. Vergr. 1400 \times . *Funaria hyemale*. a normaler Kern; b Kerne nicht regenerierender; c Kerne regenerierender Zellen nach 12 tägiger Kultur des Blattes.

gegangen ist, wenn dieser seine normale Lage in der Zelle wieder einnimmt.

Geht aus den Beobachtungen von NESTLER, MIEHE und anderen sicher hervor, daß die Kernvergrößerung direkt zusammenhängen muß mit der Verwundung, sei es, daß die Wundstoffe selbst sie herbeiführen oder der durch die Verwundung veränderte Stoffwechsel, so lagen in unseren Versuchen die Verhältnisse nicht so eindeutig. Vor allen Dingen habe ich bei *Lophocolea* wenigstens nie eine besondere Kernvergrößerung in den der Wunde zunächst liegenden Zellen konstatieren können. Und daß die Wundstoffe in den vom Schnitt entfernt gelegenen Stellen Kernvergrößerungen hervorrufe, scheint wenig wahrscheinlich, weil sie in ganz minimaler Menge entstehen. Die Blättchen sind einschichtig, beim Abtrennen vom Sproß werden nur einige wenige Zellen verletzt. Am nächsten lag vielmehr der Gedanke, die Stoffstauung sei die Ursache des Kernwachstums. Ich konnte zeigen (HEITZ 1922), daß

die Vermehrung der Chloroplasten zu ihr in Beziehung steht und habe schon damals beobachtet, daß es zu einer starken Anhäufung von Stärke in den Chromatophoren kommen kann. In dieser Richtung angestellte Versuche bestätigten meine Vermutung. In *Funaria*-Blättchen, die auf 5—10proz. Saccharoselösungen längere Zeit hindurch kultiviert wurden, wiesen *alle* Zellen sehr viel größere Kerne auf (etwa so wie sie Abb. 7c zeigt) als in Kontrollkulturen. Trotzdem hatten die Blättchen aber nicht regeneriert, ein Beweis dafür, daß Kernvergrößerung nicht immer Kernteilung zur Folge zu haben braucht. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse für die Vermehrung der Chloroplasten: Teilung wird durch *starke* Zuckergaben ebenfalls gehemmt.

Über analoge Beobachtungen hat MAIGE (1922) berichtet. In Erbsen- und Bohnenkeimlingen, die nach einer kurzen Hungerperiode ohne ihre Cotyledonen auf Lösungen verschiedener Zucker kultiviert wurden, zeigte Kern und Nucleolus deutliche Volumzunahme. Auch in diesen Versuchen war die Nucleolusvergrößerung stärker.

Ich habe auch Verwundungsversuche an Blättchen von *Mnium*, die an der Pflanze belassen wurden, gemacht. Es trat deutliche Kern- und Nucleolusvergrößerung in den die Wunde umgebenden Zellen ein, und zwar nur in diesen. Das Wachstum von Kernen in abgeschnittenen Blättchen weit von der Wundstelle entfernt, ist also sicher nicht durch die Verletzung selbst hervorgerufen, insbesondere können die Wundstoffe bei unseren Pflanzen nicht die Ursache der Kernvergrößerung und Kernteilung in den zur Regeneration vorbestimmten Zellen sein. Hierauf werden wir im folgenden noch einmal zurückkommen.

III.

Wir haben versucht, über die Ursache der Veränderungen von Kern und Chromatophoren Aufschluß zu bekommen und wollen sie jetzt im Zusammenhang mit dem Regenerationsvorgang verstehen lernen. Während in nicht regenerierenden Zellen die Kerne ebenfalls vergrößert werden, vollziehen sich alle übrigen Erscheinungen nur in regenerierenden Zellen.

Unsere Frage lautet. Sind die Größe- und Lageveränderungen des Zellinhaltes für regenerierende Zellen allein typisch oder lassen sie sich *mutatis mutandis* auf den Bau und die Teilung embryonaler Zellen zurückführen? Letzteres ist der Fall, eine Tatsache, die ganz den Erfahrungen entspricht, die man z. B. über Amitosen gemacht hat. Lange Zeit glaubte man, daß diese bei der Regeneration vorkämen, bis sich zeigte, daß hier die Kernteilung in nichts von der in embryonalen Zellen verschieden ist.

Besonders das merkwürdige Verhalten der Chromatophoren scheint in Verbindung zu stehen mit dem Regenerationsprozeß, wenn man von

folgenden Erwägungen ausgeht. Die Plastiden ausgewachsener Zellen sind mindestens 60—80mal größer als die embryonalen. Es muß, damit die für die Pflanze charakteristische Größe erreicht wird, Teilung ohne dazwischenliegendes Wachstum stattfinden, wie es in der Tat eintritt. Dabei kommt es naturgemäß zu einer starken Vermehrung. Da nun die Chloroplastenzahl embryonaler Zellen viel geringer ist als die ausgewachsener, muß nach der Vermehrung Verteilung auf die neu entstehenden Zellen folgen. Die Annahme ist somit nicht von der Hand zu weisen, daß die Häufung der Chromatophoren um den Kern und ihre Abwanderung nach den Polen den Zweck hat, die Chloroplastenmasse auf die Körperzellen gleichmäßig zu verteilen.

Es wäre jedoch auffallend, wenn nur in regenerierenden Zellen ein solcher Verteilungsmechanismus existierte. Gerade bei Moosen ist in sich teilenden embryonalen Zellen eine Sammlung der Chromatophoren an den Spindelpolen beschrieben worden (vgl. besonders SAPEHIN 1915, SCHERRER 1914, v. HOOK 1900, TISCHLER 1921/22, S. 321). Abgesehen davon, daß sich die Untersuchungen in der Hauptsache nur auf Zellen mit einem oder doch nur wenigen Chromatophoren erstrecken (Sporenmutterzellen, Spermatozoidmutterzellen, vegetative Zellen von *Anthoceros*), geht aus den Arbeiten dieser Autoren nur hervor, daß die Plastiden während der Zellteilung an den Spindelpolen liegen, nicht wie sie dort hin gelangen. Die betreffenden Angaben erwecken den Eindruck, daß sie vom Plasma aus an die Pole wandern. So sagt SAPEHIN: „Während der Kernteilung stellen sich die Chromatophoren gewöhnlich an die Kernpole, und jede neugebildete Zelle bekommt immer mehrere Plastiden.“ Ebenso wenig kann man Näheres aus den Angaben von VAN HOOK über die Entstehung der Kernpollage entnehmen. Nur für *Anthoceros* wissen wir aus der Schilderung von SCHERRER, SAPEHIN und NEMEC, daß in der Prophase der hier in der Einzahl vorhandene Chromatophor dem Kerne anliegt, sich noch vor ihm teilt und je einer an die Kernpole rückt. Dies entspricht ganz dem Verhalten der Plastiden in regenerierenden Zellen, allerdings mit dem Unterschied, daß bei *Anthoceros* Teilung und Verteilung zusammenfallen.

Ich habe, um mich davon zu überzeugen, ob auch in embryonalen Zellen mit mehreren Chromatophoren eine Sammlung um den Kern der Polwanderung vorausgeht, eine Reihe von Moosen daraufhin untersucht. *Funaria*, *Mnium*, *Fontinalis* und *Pellia* sind zur Untersuchung gut geeignet. Besonders bei *Pellia* (Abb. 5e) kann man leicht in der Nähe des Scheitels Zellen finden, in denen die hier ja schon grünen Plastiden einmal gleichmäßig um den Kern gelagert, das andere Mal an den Kernpolen gesammelt sind. Und die anderen genannten Objekte verhalten sich genau so. Diese Beobachtungen wie die Untersuchungen der obengenannten Autoren zeigen, daß bei den *Bryophyten* während

der Zellteilung ein Mechanismus existiert, der ähnlich der Verteilung der Chromosomen die der Chloroplasten auf die Tochterzellen gewährleistet¹⁾.

Wir sehen, daß in der regenerierenden Zelle schon vor der Kernteilung die Chloroplasten sich vermehren. Wie liegen die Verhältnisse in embryonalen Zellen? Es ist sicher, daß auch hier dauernd Plastidenteilung (nicht zu verwechseln mit der postembryonalen Vermehrung beim Wachstum der Zelle!) stattfinden muß, damit die typische Zahl erhalten bleibt. Sonst würde durch jede Zellteilung, wie das SAPEHIN bei der Bildung der Sporenmutterzellen beschrieben hat, die Gesamtzahl dauernd vermindert. Sicher entscheiden konnte ich bis jetzt noch nicht, ob wie die Chromosomen, auch die Plastiden im Moment der Kernteilung in doppelter Menge vorhanden sind, doch sprechen die meisten Beobachtungen dafür, daß der vorhin erwähnte Fall von *Anthoceros* für alle Moose gilt: daß nämlich während der Prophase die Chloroplasten sich teilen. In Verbindung mit anderen Fragen werde ich hierauf ausführlich zurückkommen.

Zusammenfassend können wir sagen: Die Sammlung der Chromatophoren in regenerierenden Zellen, ihre Verkleinerung durch fortgesetzte Teilung ohne dazwischenliegendes Wachstum ist typisch und einzig für den ersten Regenerationsschritt. Beide Erscheinungen bedeuten aber nichts anderes als die Rückkehr der Zelle in den embryonalen Zustand. Die Polwanderung entspricht der in embryonalen Zellen.

Als Rückkehr in den embryonalen Zustand sind auch die Größen- und Lageveränderungen von Kern und Plasma zu verstehen, wenn wir uns nur ihre Entwicklung während des Überganges der Zelle vom Embryonal- in den Dauerzustand vergegenwärtigen. Diese lassen sich ausgezeichnet an Moosblättchen verschiedenen Alters oder noch einfacher an einem einzigen nicht zu weit vom Vegetationspunkt entfernten studieren. Da die Zellen im unteren Teile des Blattes oft sich noch vermehren, im mittleren wachsen und im oberen bereits ausgewachsen sind, findet man in *einem* Präparat Kerne und Plasma jeglichen Alters. Am besten kommen die Blättchen wieder fixiert und ungefärbt zur Untersuchung.

Zwei Feststellungen lassen sich ohne weiteres machen (Textabb. 8).

¹⁾ Auch bei Phanerogamen scheinen die Verhältnisse dieselben zu sein. Bei der Kleinheit der Plastiden sind freilich die Zellen des Vegetationspunktes zur Untersuchung weniger geeignet. Meistens finden sich aber in einiger Entfernung von ihm noch Zellen, die sich verspätet teilen und deutlich ausgebildete Chromatophoren besitzen. So habe ich häufig in jungen Fruchtknoten von *Melandryum* die Chromatophoren um den Kern gelagert und auf die Kern- und Spindelpole verteilt gesehen. Es besteht kein Zweifel, daß das erste dieser Stadien den beiden anderen vorausgeht.

Der Kern hat im Verhältnis zur Zellgröße nur wenig an Volumen zugenommen, manchmal ist er sogar in ausgewachsenen Zellen absolut kleiner als in embryonalen. Diese Verkleinerung des Kernes, wie sie ROSEN und SCHWARZ gesehen haben, konnte ich nicht allzuoft, meistens nur in sehr alten Blättchen feststellen. Noch ausgesprochener verhält sich in dieser Hinsicht der Nucleolus. Sein Volumen nimmt während der Entwicklung der Zelle nicht zu, im Gegenteil, um vieles ab, und zwar meistens während der Zellstreckung. Bei *Pellia* sind die Kerne auch eben ausgewachsener Zellen stets kleiner als die embryonaler.

Ich habe versucht, die Größenbeziehungen zwischen Kern und Plasma zahlenmäßig zu bestimmen. In erwachsenen Zellen verhält sich $K:P$ wie 1:5, eine Zahl, die mit der von A. MEYER erhaltenen

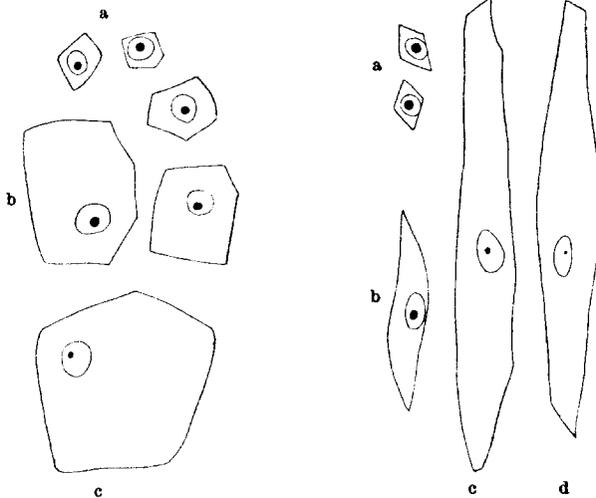


Abb. 8. Vergr. 800 \times . Kerne während des Zellwachstums (Blatt). 1. *Lophocolea bidentata*. 2. *Bryum* sp. a) Noch ungestreckte Zelle, b) Zellstreckung, c) eben ausgewachsen, d) sehr alt ausgewachsen.

übereinstimmt; im embryonalen wie 1:3. Doch ist es ausgeschlossen, mehr als grobe Annäherungswerte zu erhalten. In jungen Zellen läßt sich das Plasmavolumen, der ganze Zellraum ist ja von Plasma erfüllt, wohl annähernd bestimmen. In ausgewachsenen Zellen stößt dies aber auf große Schwierigkeiten. Wenn das Plasma wenigstens nur der Zellwand anläge, käme man noch einigermaßen zum Ziele. Nun durchziehen aber sehr oft Plasmastränge die Vacuole. Es ist unmöglich, ihre Masse mit in die Rechnung einzubeziehen. Ferner wissen wir gar nichts über die Dichte des Plasmas in verschieden alten Zellen. Auch ließe sie sich nicht zahlenmäßig ausdrücken. Für uns genügt es jedoch zu wissen, daß in ausgewachsenen Zellen der Kern im Verhältnis zum Plasma sicher relativ, der Nucleolus fast immer auch absolut kleiner ist.

Was lehrt der Vergleich dieser Tatsachen mit den Geschehnissen in regenerierenden Zellen? Dabei ist zu beachten, daß eine ausgewachsene Zelle direkt zur embryonalen werden kann wie bei den Laubmoosen. Hier erscheint die Vergrößerung von Kern und Plasma selbstverständlich. Wir werden darauf noch zurückkommen. Oder — und das gilt für die meisten Fälle — die ausgewachsene Zelle wird nur vorübergehend zu einer embryonalen. Mit der ersten Zellteilung beginnt die Herunterregulierung auf die Embryonalgröße. Bezüglich des Plasmas stimmen die Meinungen der verschiedenen Autoren überein. Noch immer ist bei der Regeneration Vermehrung des Zellplasmas beobachtet worden. So selbstverständlich ist aber diese Tatsache nicht. Absolut ist die erwachsene Zelle reicher an Plasma, und es besteht daher kein Grund, daß es bei Beginn der Regeneration an Masse zunimmt. Wenn das Plasma aber wächst, so kann dies nur geschehen, damit bestimmte Massenbeziehungen, die in embryonalen Zellen zwischen den einzelnen Zellbestandteilen vorhanden sein müssen, wieder hergestellt werden. In Betracht kann kommen:

1. Das Verhältnis der Masse des Plasmas zu dem Raum, den es einnimmt; dieses ist in embryonalen Zellen ja ein ganz anderes, stark zugunsten des Plasmas verschobenes.

2. Das Verhältnis von Plasma zur Menge des Zellsaftes; im embryonalen Zustand der Zelle ebenfalls zugunsten des ersteren verschoben.

3. Das Verhältnis der Plasma- zur Plastidenmenge. In erwachsenen Zellen besteht der größte Teil des Wandbelages aus Chromatophorenschubstanz, in sich streckenden Zellen nehmen die Plastiden ungefähr den dritten Teil ein. Es kann nicht geleugnet werden, daß uns ein kausales Verständnis, weshalb diese Beziehungen bestehen müssen, vorläufig noch abgeht. Aber sicher muß eine ausgewachsene Zelle bei der Regeneration wieder die morphologische Beschaffenheit der embryonalen herstellen. Zur Erläuterung von Punkt 3 sei folgende Beobachtung angeführt. Der intensiven Chloroplastenvermehrung, die ich in nicht regenerierenden Zellen von *Funaria*-Blättchen eintreten sah, ging eine Vermehrung des Plasmas parallel. Daß auch die Kerne in solchen Zellen wachsen, sahen wir bereits. Es ist durchaus denkbar, daß eine bestimmte Plasma- und Kernmasse vorhanden sein muß, damit Teilung der Chromatophoren eintreten kann, wie sie besonders stark in regenerierenden Zellen stattfindet.

Wir sahen, daß nach der Abtrennung des Blattes in sämtlichen Zellen die Kerne an Volumen zunehmen; in regenerierenden war diese Vergrößerung besonders stark (Textabb. 6c und 7c). Hier müssen also noch andere Ursachen für das Wachstum maßgebend sein. Ich konnte nicht entscheiden, ob zuerst das Plasma, dann die Kerne sich vergrößern, und es so vielleicht zu einer Verschiebung der Kernplasma-

relation zugunsten des Plasmas kommt, wie sie GODLEWSKY 1910 bei der Schwanzregeneration von *Salamandra* beobachtet hat. Zuerst vermehrte sich das Plasma, $K:P$ wurde von $1:1,2$ nach $1:2,6$ verschoben, und die Folge war Vermehrung von Kernteilungsfiguren. Auf diese Weise wird das normale Verhältnis $1:1,2$ wieder hergestellt. Die Resultate stehen also im Einklang mit der Theorie R. HERTWIGS, daß eine Verschiebung der Kernplasmarelation zugunsten des Plasmas Kernteilung auslöst. Unsere Beobachtungen können nicht in diesem Sinne verwertet werden. Sicher ist nur, daß Kern und Plasma eine Größenzunahme erfahren und dadurch die ausgewachsene Zelle zu einer ver-

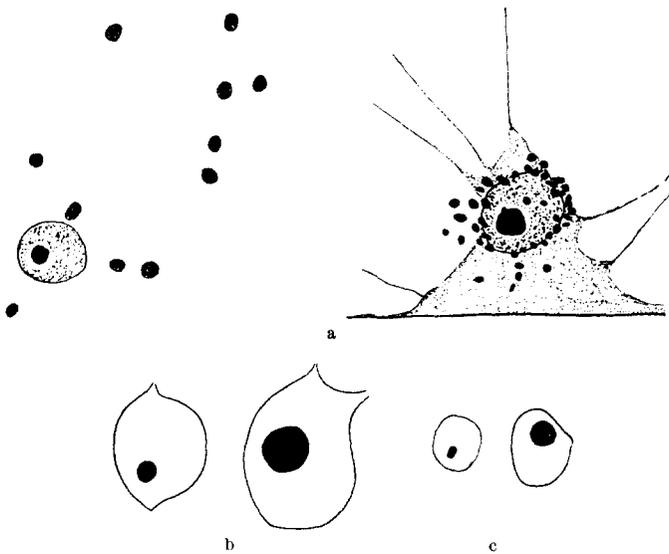


Abb. 9. Vergr. $1400\times$. Kerne aus kultivierten Blattstücken, links von der Wundfläche entfernt, rechts aus der Nähe der Wundflächen. a) *Peperomia* (Wassergewebe) nach 7 Tagen Kultur. Außer der Kernvergrößerung deutlich Verkleinerung der Chloroplasten durch Vermehrung; Sammlung um den Kern. b) *Calandrinia* (Schwammparenchym) nach 4 Tagen Kultur. c) *Bryophyllum* (Leitparenchym) nach 2 Tagen Kultur. (Bei b und c die Chloroplasten nicht eingezeichnet.)

größerten embryonalen wird. Doch wird der Kern im Verhältnis zum Zellraum (nicht Plasmavolumen) nie so groß wie in diesen Zellen (vgl. Textabb. 8a und Taf. II, b—d). Von der ersten Zellteilung ab setzt dann Kern- und Zellverkleinerung ein, bis die für embryonales Gewebe typischen absoluten Größenmaße erreicht sind.

Etwas anders liegen, wie schon gesagt, die Verhältnisse bei Laubmoosen. Hier wird die regenerierende Zelle nicht in kleine aufgeteilt, sondern wächst direkt zur Protonemaendzelle aus. Die ruhende Zelle wird direkt zur embryonalen. Dementsprechend kommt es auch nicht zu einer sekundären Kernverkleinerung.

Es wurde bereits erwähnt, daß für phanerogame Pflanzen die Frage der Kernvergrößerung in regenerierenden Zellen noch umstritten ist. So sagt WINKLER gelegentlich der Besprechung des Entstehens der Tetraploidie von *Gigas*-Rassen: „Auch in regenerierenden Geweben von *Solanum nigrum* und *S. lycopersicum* habe ich niemals auch nur die geringsten Anhaltspunkte dafür finden können, daß die Kerne unter dem Einfluß des Wundreizes hypertrophierten.“ Und TISCHLER zieht die bekannten Untersuchungen HABERLANDTS heran, um zu zeigen, daß „in Zellen mit der allerverschiedensten Kernplasmaspaltungen Mitosen auftreten können“.

Demgegenüber haben wir folgendes zu beachten: Wenn WINKLER sagt, er habe in regenerierenden *Geweben* nie eine Volumenzunahme des Kernes beobachtet, so können wir ihm sicher darin folgen. Hier muß der Kern wieder die für embryonale Zellen der betreffenden Pflanze charakteristische Größe besitzen. Es kommt darauf an, *vor der ersten Teilung* das Verhalten des Kernes festzustellen. Hierüber läßt sich ebenfalls nichts aus den Untersuchungen HABERLANDTS entnehmen.

Deshalb habe ich nach den an Laub- und Lebermoosen gemachten Beobachtungen auch Phanerogamen in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen. Kleine, quadratische Blattstückchen von *Peperomia*, *Calandrinia*, *Bryophyllum* wurden in Petrischalen auf feuchtem Fließpapier kultiviert und die Zellkerne in der Nähe und entfernter von der Wunde gelegenen Zellen nach 2—8 Tagen an Hand- und Mikrotomschnitten untersucht. *In der Nähe der Wundfläche hatten Kern und Nucleolus unverkennbar an Volumen zugenommen.* Besser als Messungen veranschaulicht das Textabb. 9. Ausdrücklich betonen möchte ich, daß alle vergrößerten Kerne ruhend und noch nicht in das Prophasestadium getreten waren. Erwähnt sei, daß wie bei Laub- und Lebermoosen auch hier Sammlung der Chromatophoren um den Kern und Verkleinerung durch Teilung stattfindet. Bei *Calandrinia* trat keine Kernteilung ein. Dagegen bildete sich bei *Bryophyllum* und *Peperomia* stets ein Wundgewebe aus. Die beiden letztgenannten Pflanzen waren unter anderem auch die Versuchsobjekte HABERLANDTS. Wie bei Laub- und Lebermoosen konnte auch hier nicht festgestellt werden, ob zuerst das Plasma oder der Kern an Masse zunimmt. Offenbar findet das Wachstum beider gleichzeitig statt, und es ist nicht möglich, von einem kausalen Zusammenhang zu sprechen. Ebenso wenig läßt sich etwas über eine Verschiebung der Kernplasmarelation hier aussagen. Das Plasma liegt um den Kern gehäuft und durchzieht in Strängen die Vacuole, so daß an eine Volumberechnung nicht zu denken ist. Wir müssen uns damit begnügen, festzustellen, daß Kern und Plasma in regenerierenden Zellen auch der Phanerogamen eine Volumzunahme erfahren. Wie bei den Moosen wird dann bei der Cambium-

bildung die Kerngröße auf die für embryonale Zellen typisch herunter reguliert.

Das Wachstum von Kern und Plasma, die Verkleinerung der Chloroplasten wurde oben als eine Rückkehr der Zelle in den Embryonalzustand bezeichnet. Die Richtigkeit dieser Auffassung veranschaulicht folgende Beobachtung (Abb. 10). Seit langem ist bekannt, daß, bei vielen Laubmoosen besonders, bestimmte schon morphologisch erkenn-

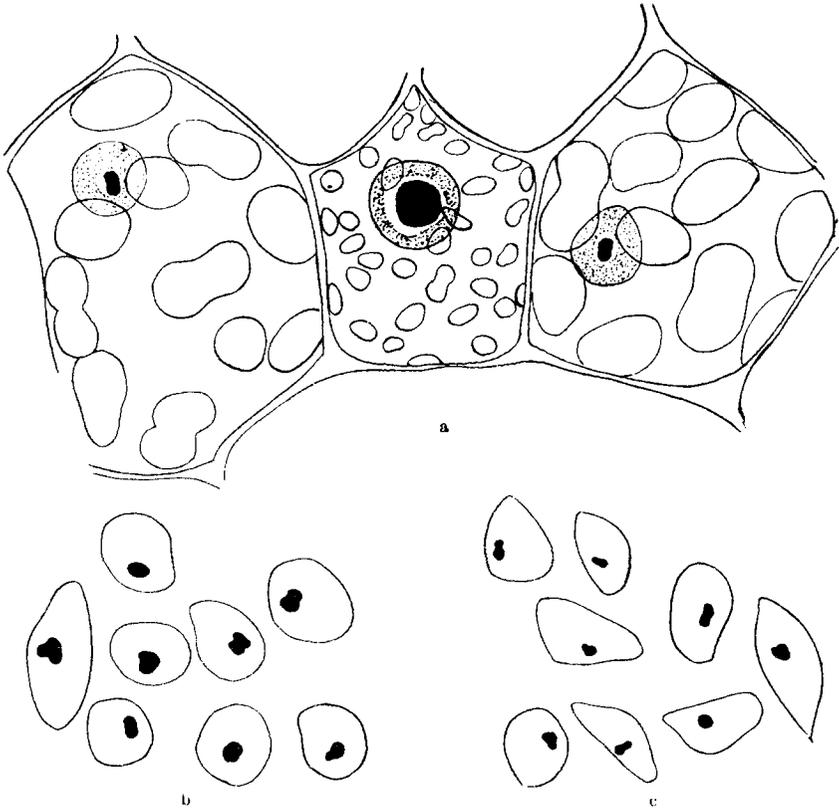


Abb. 10. Vergr. 1400 \times . a) Protonemalinitialzelle von *Mnium*. b) Kerne aus den Initialzellen von *Pottia truncatula*. c) Kerne aus gewöhnlichen Zellen.

bare „Protonemalinitialen“ vorhanden sind. Sie zeichnen sich durch geringeres Volumen und kleinere Chloroplasten aus. CORRENS (1899) bemerkt gelegentlich einmal, daß auch die Kerne kleiner seien als die der vegetativen Zellen. Dies trifft nach meinen Untersuchungen nicht zu. Lassen sich Initialen überhaupt morphologisch unterscheiden, so ist der Kern und vor allen Dingen der Nucleolus stets größer. Die Verhältnisse liegen bei den einzelnen Arten verschieden und scheinen

auch vom Zustand der Pflanze abhängig zu sein. Diesen Moosen mit Initialen stehen die von uns untersuchten ohne Initialen gegenüber. Bei ihnen werden die regenerierenden Zellen erst nach dem Abtrennen des Blattes embryonal und vergrößern ihren Kern erst jetzt.

Die präformierten Protonemaitialen sind aber nicht einfach im Embryonalzustand stehen geblieben. Sie sind vielmehr vergrößerte embryonale Zellen, wie sie bei *Lophocolea* und *Funaria* erst nach dem Abtrennen des Blattes sich ausbilden.

Zusammenfassung.

1. In regenerierenden Zellen von Laub- und Lebermoosen und auch Phanerogamen verändern sich Lage und Größe der Zellbestandteile.

Kern und Plasma nehmen deutlich an Volumen zu und wandern in die Zellmitte. Die Volumenzunahme ist, die Laubmoose ausgenommen, nur vorübergehend. Während der ersten Zellteilungen werden Kern- und Plasmamasse wieder auf die für die betreffenden embryonalen Zellen typische Größe herunterreguliert.

Im Gegensatz zu Kern und Plasma erfahren die Chloroplasten von Beginn der Regeneration ab Verkleinerung durch anhaltende Teilung. Sie sammeln sich um den Kern und werden durch daran anschließende Wanderung an die Kern- bzw. Plasmapole bei der Zellteilung regelmäßig verteilt.

Die mechanische Natur der Verlagerung sämtlicher Zellbestandteile durch das Plasma wird wahrscheinlich gemacht.

Die Größenzunahme von Kern und Nucleolen ist bedingt durch Stauung von Zucker.

2. Die beschriebenen Veränderungen bedeuten Verwandlung der ausgewachsenen Zelle in eine embryonale. Dies wird am Verhalten des Kernes während des normalen Zellwachstums erläutert. Insbesondere sind auch in embryonalen Zellen sämtlicher untersuchten Moose die Chloroplasten um den Kern gelagert und werden durch Wanderung an die Kernpole regelmäßig auf die Tochterzellen verteilt.

Literatur.

CORRENS (1899): Untersuchungen über die Vermehrung der Laubmoose durch Brutorgane und Stecklinge. Jena. — GODLEWSKY (1910): Plasma und Kernsubstanz im Epithelgewebe bei der Regeneration der Amphibien. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen **30**, 81. — HABERLANDT (1922): Über Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung, Befruchtung, Parthenogenese und Adventivembryonie. Biol. Zentralbl. **42**, 145. — HEITZ (1922): Untersuchungen über die Teilung der Chloroplasten. Straßburg. — v. HOOK (1900): Notes on the division of the cell and nucleus in Liverworts. Botan. gaz.

30, 394. — MAIGE (1922): Influence de la nutrition organique sur le noyau des cellules végétales. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 87, 1297. — MIEHE (1901): Über Wanderungen des pflanzlichen Zellkerns. Flora 88, 105. — NESTLER (1898): Über die durch Wundreiz bedingten Bewegungserscheinungen des Zellkerns und des Cytoplasmas. Sitzungsber. d. Akad. Wien, Mathem.-naturw. Kl. I, 107, 708. — NEMEC (1910): Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytologische Fragen. Jena. — PROWACEK (1907): Zur Regeneration der Algen. Biol. Zentralbl. 27, 737. — RITTER (1911): Über Traumatotaxis und Chemotaxis des Zellkerns. Zeitschr. f. Botan. 3, 1. — ROSEN (1896): Kerne und Kernkörperchen in meristematischen und sporogenen Geweben. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 7, 225. — SAPHIRIN (1915): Untersuchungen über die Individualität der Plastide. Arch. f. Zellforsch. 13, 319. — SCHERRER (1914): Untersuchungen über Bau und Vermehrung der Chromatophoren und das Vorkommen von Chondriosomen bei *Anthoceros*. Flora 107, 1. — SCHÜRHOFF (1906): Das Verhalten des Kernes im Wundgewebe. Beih. z. botan. Zentralbl. 19, I, 359. — SCHWARZ (1887): Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Teilung. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanzen 4, 79. — SENN (1919): Weitere Untersuchungen über Gestalts- und Lageveränderung der Chromatophoren. Zeitschr. f. Botanik 11, 81. — TISCHLER (1921/22): Allgemeine Pflanzencaryologie. — WINKLER (1916): Über die Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. Zeitschr. f. Botanik 8, 417.

Erklärung der Tafel II.

Sämtliche Abbildungen nach dem Lebenden.

Vergößerung 1400fach. Für den Druck etwas verkleinert.

Lophocolea bidentata; erste Stadien der Regeneration.

a) Ruhende, ausgewachsene Zelle. b) Bildung von Plasmasträngen. Wachstum von Kern und Nucleolus. Beginn der Chromatophorenwanderung. c), d) Weiter vorgeschrittene Stadien. e) Kern längsgestreckt, Chromatophoren an die Pole verlagert. f) Die ersten zwei Tochterzellen. Die Chromatophoren sind bedeutend kleiner geworden. g) Teilung der Tochterzelle, die Chromatophoren wieder an die Spindelpole verlagert. h) Nach der Kernteilung. Kern nur in der rechten Zelle sichtbar.