Über die Spindelfigur bei der somatischen Mitose der Prothalliumzellen von *Osmunda japonica* Thunb. *in vivo*¹⁾

Von

Bungo Wada

Kaiserliche Universität Tokyo

(Mit 25 Textfiguren)

Eingegangen am 26. November 1940

Einleitung

Seitdem es STRASBURGER (1880) gelang, bei den Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* die Kernteilung im lebenden Zustande durch alle Phasen zu verfolgen, gelten die *Tradescantia*-Haarzellen als unübertreffliches Material für die Untersuchung der Mitose *in vivo* (vgl. KÜSTER 1933). Jedoch haben wir jetzt festgestellt, daß diese Haarzellen als Material für die Lebendbeobachtung der achromatischen Figur nicht immer geeignet sind. Die Spindelfigur der Haarzellen tritt fast voll im Zellraum auf, und zwar ist sie selbst mit langen großen Chromosomen so angefüllt, daß ihrer äußeren Form die Deutlichkeit fehlt. Im Gegensatz zum schmalen Zellraum der *Tradescantia*-Haarzellen geht die somatische Mitose bei den Prothalliumzellen einiger Farnen in einem stark vakuolisierten großen Zellraum vor sich, und da kommt oft ein Teil der Spindelfigur unbedeckt von der Zytoplasmaschicht mit der Vakuole in Berührung, wodurch sich die äußere Form anschaulich erkennen läßt.

Wären zur Zeit STRASBURGERS alle Phasen der Mitose statt an den *Tradescantia*-Haarzellen an jungen Farnprothalliumzellen *in vivo* verfolgt worden, so würde die Kenntnis über die achromatische Figur etwas anders als die heutige sein. Man würde das Verschwinden der Kernwandung und das Vermischungsvermögen der Kernflüssigkeit mit dem Zytoplasma beim Auftreten der Metaphasespindel als Folge der Fixierungsartefakte und die Nicht-Mischbarkeit derselben als einen wirklichen Zustand der Spindelsubstanzen anerkennen.

In der vorliegenden Arbeit habe ich die morphologischen Veränderungen der achromatischen Figur, nämlich ihre Entstehung, ihre kontinuierliche Veränderung zum Phragmoplasten, die Ent-

1) Contributions from the Divisions of Plant-Morphology and of Genetics, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University, No. 266.

wicklung der Scheidewand und den Abbau der achromatischen Substanzen durch Lebendbeobachtung, studiert. Weiterhin bedürfen wir auf Grund der mitotischen Vorgänge *in vivo* und der Atraktoplasma-Theorie der Richtigstellung des bis heute fast ausschließlich auf fixierten Präparaten beruhenden Begriffes über die achromatische Figur.

Material und Methode

Die Mitose der Prothalliumzellen von folgenden Farnen wurde geprüft¹⁾: *Equisetum arvense* L. var. *boreale* RUPR., *Nephrolepis hirsutula* PRESL., *Polypodium Fauriei* CHRIST, *Pteris Fauriei* HIERON., *Osmunda japonica* THUNB. und *Osmunda bromeliaefolia* COPEL. Von diesen Arten eignen sich die Prothalliumzellen von *Osmunda japonica* THUNB. für die Lebendbeobachtung der Mitose am besten, da dieser Farn an Größe des Kern- und Zellraums und Zahl der mitotischen Figuren die anderen Arten übertrifft. Um die Lebendbeobachtung der Mitose der Prothalliumzellen zu erleichtern, ließ ich die Sporen im hängenden Tropfen einer Feuchtkammer keimen. Das Leitungswasser, welches für das Keimen der Sporen und für das Wachsen der Prothallien nötig ist, wurde in einer Reihe von schmal geschnittenen *Sphagnum*-Blättchen unter einem Deckglas der Feuchtkammer angesammelt und bildete also dort schmale hängende Wasserkanäle (Fig. 1). Ich stellte die Sporen vorher mit einer Mikronadel vorsichtig an eine Seite der Blättchenreihe und ließ sie dort zu Prothallien heranwachsen (Fig. 2).

Im hängenden Tropfen keimen die Sporen in einigen Tagen, und diese jungen 5-20zelligen Prothallien eignen sich für die Lebendbeobachtung der Mitose am besten. Bei noch weiter herangewachsenen Prothallien treten die Mitosen an der oberen Seite sehr selten, aber an ihrer unteren häufiger auf; diese Mitosen liegen aber fast immer außerhalb der Brennweite des Ölimmersionsobjektivs und sind für die Lebendbeobachtung nicht geeignet. Dasselbe gilt auch für sehr junge zwei- oder dreizellige Prothallien, da ihre dicht mit Chloroplasten angefüllten Zellen undurchsichtig sind. Das rauhe bräunliche Exospor der *Osmunda*-Sporen bleibt nach deren Keimen lange Zeit zurück, bedeckt gewöhnlich die Spitze der jungen Prothallien und wirkt oft störend auf die klaren Bilder der mitotischen Figuren. Daher beseitigte ich immer vorsichtig vor der Beobachtung bei drei- oder vierzelligen Prothallien mit einer Mikronadel das Exospor (Fig. 2).

1) Diese Pflanzen wurden mir von Herrn Dr. S. MOMOSE aus seinem Untersuchungsmaterial zur Verfügung gestellt. An dieser Stelle spreche ich ihm meinen verbindlichsten Dank aus.

Als optische Apparate habe ich LEITZ Ölimmersionsobjektiv 100 $\times$ und Okular 10 $\times$ und für die Mikrophotographierung LEITZ Makam mit einem Periplanokular 10 $\times$ benutzt, wobei ich die elektrische Lampe nach FUJII als Lichtquelle verwendete. Diese Lampe besteht aus einer Doppel-Filamente-Birne (100 und 500 watt Filamente); man kann mittels des Schalters augenblicklich das 100 watt Licht zum 500 watt Licht umschalten. Für die Lebendbeobachtung eignet sich das 100 watt Licht, genügt aber nicht für die Mikrophotographierung und es bedarf hier des 500 watt Lichtes. Von den Mikrophotographien im Text sind Fig. 16–21 und 23 in zweifacher Größe (Vergr. ca. 1800 $\times$) und die anderen in der Größe der originalen Negative (Vergr. ca. 900 $\times$ mit Ausnahme von Fig. 1–2) reproduziert.

Fig. 1. Ein Teil der Feuchtkammer (Vergr. ca. 3 $\times$): *b* eine Reihe von schmal geschnittenen *Sphagnum*-Blättchen, *c* mit Wasser durchtränkte Wattestreifen, *f* ein Teil der Mittelleiste der Feuchtkammer, *d* das junge Prothallium, 10 Tage nach dem Aussäen. Fig. 2. Ein Teil der *Sphagnum*-Blättchenreihe (Vergr. ca. 30 $\times$): *e* das beseitigte Exospor.

Beobachtung

Karyokinese: Bei den Prothalliumzellen von *Osmunda japonica* sieht die Struktur des Ruhekernes granulär aus, wie der Ruhekern der *Tradescantia*-Zellen (Fig. 15, 22). Aber die Größe der *Osmunda*-Kerne beträgt ungefähr zwei Drittel der *Tradescantia*-Kerne. Am Anfang der Prothalliumentwicklung wachsen die Zellen so merklich, daß die noch teilungsfähigen Kerne in stark vakuolisierten großen Zellen liegen (Fig. 3). In solchen meristematischen Zellen gestaltet sich das Zytoplasma zu einen dünnen Plasmawandbelag, welcher fast gleichmäßig mit Chloroplasten bedeckt ist. Bei der Beobachtung der Karyokinese liegen jedoch diese Chloroplasten außerhalb der Brennweite des Ölimmersionsobjektivs, da die Brennweite im Ver-

gleich mit der Größe des Hohlraums um den Kern sehr gering ist.

In großen Zellen pflegt der in der Teilung begriffene Kern nicht im Zentrum des Zellraums sondern an einer Seite der Zelle zu liegen und dort die Spindelbildung durchzuführen (Fig. 3). Diese Stellung des Kernes zur Mitose, welche hauptsächlich durch ein eigenartiges Verhalten des Zytoplasmas um den Kern hervorgerufen wird, erleichtert die Entwicklung der Spindelfigur und die Bildung der Scheidewand. Im Gegensatz zu fixierten Präparaten ist das Verhalten dieses Zytoplasmas in lebenden Zellen auffallend. Mit dem Einsetzen der Karyokinese bewegen sich einige der Zytoplasmateile am Wandbelag zur Kernumgebung, einige andere jedoch in der entgegengesetzten Richtung; jedenfalls bewegen sich einige Chloroplasten vom Wandbelag zur Kernumgebung (Fig. 4). Während der Hin- und Herbewegung der Plasmastränge um den Kern, treten viele Plasmastränge an der der Zellwand näher liegenden Seite der Zelle auf und führen den Kern näher an die Zellwand. Infolge dieser zytoplasmatischen Vorbereitung findet die Karyokinese nicht im Zentrum des herangewachsenen großen Zellraums sondern immer an der Zellwand anliegend statt. Die Polplasmastränge, deren eigenartigen Charakter ich (1935) schon bei Mitosen der *Tradescantia*-Haarzellen erklärt habe, treten auch bei Prothalliumzellen auf und schließen sich der Bestimmung der Spindelachse und daher auch der Richtung der Scheidewand an (Fig. 7).

Betreffs der Lage des Prophasekernes wurde neulich von SINNOTT und BLOCH (1940) ein ganz entgegengesetztes Beispiel bei der Mitose der Wundgewebe einiger Pflanzen berichtet. Bei ihren Materialien bewegen sich die in der Teilung begriffenen Kerne vom Plasmawandbelag ins Zentrum der stark vakuolisierten Zelle. Um diese Kerne herum sammeln sich viele Zytoplasmastränge an und bilden eine, aus miteinander etwas verbundenen Zytoplasmasträngen bestehende Platte. Diese Platte, die sich in der Äquatorialebene des Zellraums verbreitet, bezeichneten SINNOTT und BLOCH als „Phragmosome“; diese Plasmaplatte nimmt die Stelle ein, an welcher später die Scheidewand gebildet wird.

Im Kernraum der *Osmunda*-Zellen entwickelt sich die granulär aussehende Chromonemastruktur zu Chromatinfäden und weiter zu Chromosomen (Fig. 3-5). In der späten Prophase wird der Kernraum in seiner Mitte mit den Chromosomen und in seiner Peripherie mit dem aus Karyolympe entstandenen Atraktoplasma gefüllt. Das Atraktoplasma, welches sich allmählich an den entgegengesetzten polaren Seiten des Kernraums ansammelt, erweist sich als durchsichtig und granulenfrei, wie die Karyolympe im Ruhekern, aber das Atraktoplasma verhält sich bei physikalischen oder chemischen

Angriffen ganz anders als die letztere, wie ich (1935, 1939, 1940) bereits diese Eigenschaften wiederholt durch experimentelle Untersuchungen festgestellt habe. Besondere Aufmerksamkeit widmete ich der Veränderung der Kernwandung um festzustellen, ob das Verschwinden der Kernmembran und infolgedessen eine direkte Vermischung der Kernflüssigkeit mit dem Zytoplasma bei dem Auftreten der Metaphasespindel zustandekommen oder nicht.

Am Ende der Prophase verändert der Kern seine äußere Form kontinuierlich von einer kugelförmigen (Fig. 4) zu einer elliptischen (Fig. 5) und weiter zu einer spindelförmigen und tritt in die Metaphase ein (Fig. 6). Die angeschwollenen Teile des Kernraums in Fig. 5 bilden in der folgenden Teilungsphase die Spindelpole; daher kann man während dieser Gestaltsveränderung ununterbrochen die Wandung der Teilungsfigur beobachten. Man stellt dabei fest, daß weder das Verschwinden der Kernwandung am Ende der Prophase noch ein Vermischen der Kernflüssigkeit mit dem Zytoplasma beim Auftreten der Metaphasespindel stattfindet. Dieses ist der echte Zustand der Metaphasespindel in lebenden Zellen. Aber es kommt nicht selten vor, daß die Wandung einer jungen Spindelfigur durch sich bewegende Zytoplasmateile oder durch eine Ansammlung von Chloroplasten an der Kernoberfläche teilweise unklar wird.

In der Metaphase sammelt sich an beiden Spindelpolen mehr Zytoplasma als an der Äquatorialgegend an (Fig. 6). Die Grenzoberfläche des Atraktosoms ist dort besonders deutlich erkennbar, wo sie mit dem Zellsaft in Berührung kommt. Es kommt dabei nicht in Frage, ob eine dünne Zytoplasmaschicht zwischen ihnen vorhanden ist oder nicht, da sich das Atraktoplasma selbst weder mit dem Zytoplasma noch mit dem Zellsaft im lebenden Zustand als mischbar erweist.

Im Gegensatz zur Klarheit des Atraktosoms bei *Osmunda*-Zellen sind die Chromosomen in ihm infolge ihrer Kleinheit und ihrer großen Anzahl schwer zu verfolgen. Den Untersuchungen von OKUNO (1936) nach, enthält die Zelle in der Wurzelspitze von *Osmunda japonica* THUNB. 44 Chromosomen; ihre Gestalten treten *in vivo* nicht so deutlich wie bei *Tradescantia*-Zellen hervor, jedoch kann man einige von ihnen im mikroskopischen Sehfeld erkennen und auf Grund ihrer Stellungen die Teilungsphasen feststellen.

In Fig. 7 setzt die Wanderung der Tochterchromosomen nach den Spindelpolen ein, und die Kernteilung tritt in die Anaphase ein. Fig. 8 weist eine späte Anaphase auf, in der sich die Tochterchromosomen von einander getrennt zur Spindelachse parallel ordnen. Wenn die Tochterchromosomen die Spindelpole erreichen, wird das Atraktoplasma gezwungen, sich an beiden polaren Teilen zur

Äquatorialgegend hin fortzubewegen (vgl. WADA 1935); dann fängt das Atraktosom in seiner Äquatorialgegend zu schwellen an und verändert sich allmählig zu einem tonnenförmigen Körper (Fig. 9). Dieser Körper ist nichts anderes als der Phragmoplast. Aus diesem Verhalten des Atraktosoms und auch aus seinen weiteren Veränderungen ergibt sich, daß der Phragmoplast stofflich vom Atraktoplasma und gestaltlich vom Atraktosom infolge kontinuierlicher Veränderungen gebildet wird (Fig. 8–10, 18–20). Die Nicht-Mischbarkeit des Atraktoplasmas mit dem Zytoplasma wird auch dem Phragmoplasten übermittelt und dauert einige Zeit an. Nach dem Auftreten des Phragmoplasten setzt fast gleichzeitig die Entstehung der Wandanlage ein und die Teilungsfigur tritt in die Telophase ein (Fig. 9).

Zytokinese: Im Gegensatz zur Zytokinese in einem schmalen Zellraum wie bei *Tradescantia*-Haarzellen scheint die Scheidewandbildung in einem stark vakuolisierten großen Zellraum bei *Osmunda*-Zellen sehr verwickelt zu sein. In Fig. 10 tritt die Mitose in die mittlere Telophase ein; das Zytoplasma, welches sich in der Meta- und Anaphase an den Spindelpolen stark anhäuft, bewegt sich jetzt vom Spindelpol zur Äquatorialgegend hin und bedeckt den Phragmoplasten. Da der Phragmoplast an der Mutterzellwand anliegend gebildet ist, kommt die noch sehr junge Zellplatte fast gleichzeitig mit dem einen Phragmoplastrand auf leichte Weise mit der Mutterzellwand in Berührung, der andere Rand bleibt jedoch weit von der Mutterzellwand entfernt (Fig. 11). Unter diesen ungleichen Zuständen der Zellplattränder setzt die Bildung der festen Scheidewand

Fig. 3–15. Serienaufnahme der Mitosenvorgänge von ein und derselben Zelle. In Fig. 4–14 ist der die mitotische Figur nicht enthaltende Teil des Zellraums ausgelassen. 3. Photographiert 10.29 am 20. Mai 1940, neun Tage nach dem Aussäen¹⁾. Frühe Prophase. Man beachte die Lage des Kernes und die Größenverhältnisse des Kern- und Zellraums. 4. 11.24. Mittlere Prophase. Anhäufung einiger Chloroplasten um die Kernwandung. 5. 11.35. Späte Prophase. Im elliptischen Kernraum häuft sich das Atraktoplasma an beiden Polgegenden an, die Chromosomen jedoch in der Mitte. Die Kernoberfläche ist von dem sich bewegenden Zytoplasma verhüllt. 6. 11.40. Metaphase. Man beachte die kontinuierliche Gestaltveränderung des Prophasekernes zur Metaphasespindel. 7. 11.55. Frühe Anaphase. Ein Spindelpol und seine Polplasmastränge deutlich sichtbar. 8. 12.05. Späte Anaphase. 9. 12.10. Frühe Telophase. Man beachte die kontinuierliche Gestaltveränderung des Atraktosoms zum Phragmoplasten, in welchem die Bildung der Wandanlage schon beginnt. 10. 12.20. Mittlere Telophase. 11. 12.33. Späte Telophase. Das laterale Wachsen des Phragmoplasten in der Vakuole. 12. 12.40. Weiteres Heranwachsen des Phragmoplasten. 13. 12.54. Die innerhalb der von den Tochterkernen isolierten Phragmoplastzone gebildete junge Wandanlage und die außerhalb derselben gebildete Scheidewand. 14. 13.26. Die Zytoplasmatisierung der Phragmoplastzone

1) 10.29 bedeutet 10 Uhr 29 Minuten; die Worte Uhr und Minute sind (wie auch bei den folgenden Zeitangaben) weggelassen.

und das Übrigbleiben der dicken Plasmastränge. 15. 21. Mai, ein Tag nach der Mitose: *n* Nukleolus, *e* Zytoplasmastränge oder solche Anhäufung, *i* Grenzoberfläche des Atraktosoms und des Phragmoplasten, *a* Scheidewandanlage, *k* Tochterkern, *r* innere Grenzoberfläche der Phragmoplastzone, *s* gebildete Scheidewand, - Anhäufung der zytoplasmatisierten Phragmoplastsubstanz.

Fig. 16-22. Serienaufnahme der Mitosevorgänge von ein und derselben Zelle. Durch starke Vergrößerung sind die Wandungen der achromatischen Figuren anschaulich gemacht. In Fig. 16-21 ist der die mitotische Figur nicht enthaltende Teil des Zellraums ausgelassen. 16. Photographiert 15.45 am 6. Juni 1939, 16 Tage nach dem Aussäen. Späte Prophase. 17. 15.58. Frühe Anaphase. 18. 16.18. Mittlere

immer von einem Zellplattrand unter der Mitwirkung des Plasmawandbelags der Mutterzelle ein und wächst zum anderen hin.

Der Teil des Phragmoplasten, der im Zentralsaftraum liegt, dehnt sich nach der gegenüberliegenden Mutterzellwand aus (Fig. 12). Beim Wachsen des Phragmoplastteils spielt das Zytoplasma eine Rolle, wie bei der Bestimmung der Stelle und Achse der Spindelfigur. Zuerst treten einige Zytoplasmastränge um die Äquatorialzone des Phragmoplasten und an dem gegenüberliegenden Mutterzellwandbelag auf. Durch Strömung dieser Plasmastränge wird das Wachstum der Phragmoplastzone durch den Zellsaft erleichtert und zu einer bestimmten Lage gebracht (Fig. 13). Mit dem Wachstum der Phragmoplastzone dehnt sich auch die Wandanlage aus, wobei die feste Scheidewand durch die Mitwirkung des Zytoplasmawandbelags der Mutterzelle zentripetal und die neue Wandanlage fortsetzlich in der immer wachsenden Phragmoplastzone zentrifugal gebildet werden. Zwischen dieser jungen Wandanlage und der gebildeten festen Scheidewand bestehen daher verschiedene aber kontinuierliche Entwicklungsgrade der Scheidewand.

Dem zentrifugalen Fortschritt der Scheidewandbildung entsprechend verschwindet der Phragmoplastteil auch zentrifugal, wobei sich der Rest der Phragmoplastsubstanz zur Zytoplasmanatur verändert und schließlich mit dem Zytoplasma der Mutterzelle zusammenströmt. Die Zytoplasmatisierung der Phragmoplastsubstanz setzt parallel mit dem Beginn der Chromonematisierung der Tochterchromosomen von der Umgebung der Tochterkerne aus ein. Daher enthält eine späte telophasische Zelle einerseits eine sehr junge Wandanlage in dem ausgedehnten Phragmoplastteil, andererseits dagegen einen schon bestehenden Scheidewandteil, welcher mit der zytoplasmatisierten Phragmoplastsubstanz bedeckt und von den Tochterkernen durch Vakuolen getrennt wird (Fig. 13, 21). Die Zytoplasmasschicht, welche die äußere Oberfläche der Phragmoplastzone verhüllt und gestützt hat und dem Wachstum der Zellplatte in der Zentralvakuolen geholfen hat, bleibt oft in Form dicker Zyto-

Anaphase. 19. 16.30. Frühe Telophase. Die Wandanlage tritt im Phragmoplasten auf. Man beachte, das gleiche Aussehen der Wandung des Prophasekernes, des Atraktosoms und des Phragmoplasten, die sich kontinuierlich verändert. 20. 16.40. Mittlere Telophase. 21. 16.59. Späte Telophase. Das Heranwachsen der Phragmoplastzone in der Vakuole. 22. 7. Juni, ein Tag nach der Mitose. Fig. 23. Polansicht einer späten Telophase. Zwischen die Tochterkerne und die Phragmoplastzone treten Vakuolen und die neue Scheidewand. *i* Grenzoberfläche des Atraktosoms und des Phragmoplasten, *a* Scheidewandanlage, *r* innere Grenzoberfläche des Phragmoplastzone, *s* gebildete Scheidewand, *k* Tochterkern, *z* Zone der zytoplasmatisierten Phragmoplastsubstanz, *t* Phragmoplastzone, *e* außerhalb der Phragmoplastzone gebildete Zytoplasmastränge.

plasmastränge noch lange Zeit übrig, nachdem die Zytokinese schon vollendet ist (Fig. 14, 22).

Im Vergleich der Scheidewandbildung bei den *Osmunda*-Prothalliumzellen mit derselben bei *Tradescantia*-Haarzellen scheinen die Zytokinesevorgänge der ersteren auffallend verwickelt zu sein. Jedoch bedarf die Scheidewandbildung bei den Haarzellen auch wesentlich derselben Vorgänge wie bei *Osmunda*-Zellen, nur was den Zellraum betrifft, gehen die Zytokinesevorgänge bei den Haarzellen fast gleichzeitig und auch allseitig vor sich. Daher ist es bei den lebenden Haarzellen unmöglich, die Zytokinesevorgänge analytisch zu verfolgen, ohne dabei die Zellen experimentell zu behandeln (vgl. WADA 1939). In *Osmunda*-Zellen gehen die Zytokinesevorgänge im normalen Zustande Schritt für Schritt und von einer Seite nach der anderen vor sich.

Da die sich bewegenden Zytoplasmateile um den Phragmoplasten oft eine scharfe photographische Aufnahme seiner äußeren Form verhindern, füge ich hier eine schematische Darstellung bei. Die Seitenansicht in Fig. 24 entspricht der Fig. 21 in Mikrophotographien und die Polansicht in Fig. 25 der Fig. 23. Durch Ver-

Fig. 24-25. Schematische Darstellung der Teilungsvorgänge in der späten Telophase. 24. Seitenansicht. 25. Polansicht: *a* Phragmoplast, *n* Tochterkern, *p* Chloroplast, *w*₁ Mutterzellwand, *w*₂ Scheidewand, *w*₃ Scheidewandanlage im Phragmoplasten, *c*₁ Zytoplasmawandbelag der Mutterzelle, *c*₂ Zytoplasmasschicht außerhalb der Phragmoplastzone, *c*₃ aus der zytoplasmatisierten Phragmoplastsubstanz entstandene Zytoplasmasschicht.

gleich der beiden Ansichten kann man die Zonenentwicklung der sich an der Scheidewandbildung beteiligenden Elemente richtig verstehen. Der Phragmoplast in Fig. 25 liegt schon von den Tochterkernen entfernt und bildet eine halbkreisförmige Zone. In der Seitenansicht verbindet diese aber die Tochterkerne mit den Plasmaschichten. Die Phragmoplastzone dehnt sich langsam zentrifugal zur Mutter-

zellwand aus; in derselben Weise dehnt sich auch die Wandanlage aus, die in der Phragmoplastzone immer weiter gebildet wird. Die äußere Oberfläche dieser Zone ist mit einer Zytoplasmaschicht bedeckt, welche nach der Zytokinese als Zytoplasmastränge übrigzubleiben pflegt. In der Innenseite der Phragmoplastzone verbreitet sich die gebildete Scheidewand durch den Zellsaftraum und die zytoplasmatisierte Phragmoplastsubstanz bedeckt die Innengrenzoberfläche der halbkreisförmigen Phragmoplastzone.

Schlußbetrachtung

Die intranukleäre Entstehung der Grundsubstanz der Spindelfigur, d.h. die Entstehung des Atraktoplasmas, die Gestalt des Atraktosoms, die morphologische Beziehung zwischen dem Atraktosom und dem Phragmoplasten und die Vorgänge der Scheidewandbildung—alle diese Verhältnisse, die ich (1935, 1939 u. a.) bereits bei der Mitose von *Tradescantia*-Haarzellen festgestellt habe, sind hier bei der Mitose von *Osmunda*-Prothalliumzellen durch Lebendbeobachtungen bestätigt worden. Besonders sind bei den *Osmunda*-Zellen sowohl die Gestaltveränderung des Prophasekernes zur Metaphasespindel als auch die der letzteren zum Phragmoplasten im lebenden Zustande anschaulicher als bei *Tradescantia*-Haarzellen, da die Teilungsfigur infolge des deutlichen Wachsens der Prothalliumzellen ihre äußere Form oft in der Vakuole unverhüllt darstellt. Jedoch bei dem Vegetationspunkte und bei ihm nahe liegenden kleinzelligen Geweben der *Osmunda*-Prothallien, wo die Mitosen häufig auftreten, sind die Volumenverhältnisse des Kern- und Zellraums ähnlich denjenigen bei den *Tradescantia*-Haarzellen. Das Atraktosom nimmt nämlich dabei fast die ganze Breite der Zelle ein und zeigt keinen freien Teil an seiner Grenzoberfläche; daher ist es sehr schwer, die äußere Form des Atraktosoms und seine weiteren Veränderungen zu beobachten.

Was die Bildung der Scheidewand bei der Mitose höherer Pflanzen anbetrifft, wurden Erklärungen bereits von vielen Forschern zu geben versucht (TREUB 1878, STRASBURGER 1880, TIMBERLAKE 1900, u.a.). Die Entwicklung der Scheidewand wurde aber von ihnen fast ausschließlich an fixierten Präparaten behandelt. Nur TREUB bemerkte schon damals bei lebenden Zellen einiger Pflanzen zwei Arten der Zellteilung; nämlich diejenige mit zentral gelegenen Kernen und Phragmoplasten und die mit exzentrisch gelegenen. Im letzteren Fall nahm er bereits wahr, daß die Zellplatte von dem Rande, der zuerst mit der Mutterzellwand in Berührung kam,

zu dem anderen hinüberwächst.¹⁾ Neuerdings werden diese Probleme ebenfalls mittels Lebendbeobachtung erörtert und zwar wird die Mitose der *Tradescantia*-Haarzellen als wichtigstes Material zu ihrer Lösung benutzt (BĚLAŘ 1929, MARTENS 1927, BECKER 1938, YASUI 1939, SINNOTT und BLOCH 1940). YASUI untersuchte kontinuierlich die gesamten Vorgänge der Scheidewandbildung und erläuterte die Beziehungen zwischen der Zellplatte und der MLI (middle lamella initial). Die Zytokinesevorgänge wurden von ihr in zwei Phasen eingeteilt; nämlich in die Zweiteilung des Zytosoms während der ersten Phase durch das laterale Wachsen des Phragmoplasten und in die Zweiteilung des Phragmoplasten während der zweiten Phase durch dasjenige der MLI. Diese Vorstellung halte ich im Allgemeinen nicht für zutreffend, da in den stark vakuolisierten großen Zellen der *Osmunda*-Prothallium das Wachstum des Phragmoplasten, das der Wandanlage und das der festen Scheidewand nach einander vor sich geht und die Zweiteilung des Zytosoms oder des Phragmoplasten nicht von Bedeutung zu sein scheint.

Die Ansicht von SINNOTT und BLOCH über das Phragmosom bei der Mitose der *Osmunda*-Zellen trifft hier nicht zu, da die Differenzierung der Zytoplasmastränge, welche für das Phragmosom gehalten werden, bei den *Osmunda*-Zellen nicht zustandekommt. Ich bemerkte auch die lebhafteste Tätigkeit der Zytoplasmastränge um den Prophasekern; sie bewegen sich jedoch nicht in einer bestimmten Fläche sondern fast in allen Richtungen. Dadurch beteiligen sie sich teils an der Bestimmung der Lage der Teilungsfigur gegen die Mutterzellwand, teils derjenigen der Spindelachse, aber nicht an das Zytoplasmaaggregat um den Phragmoplasten. Erst in der späten Anaphase fängt die Tätigkeit der Zytoplasmastränge sich an den Zytokinesevorgängen zu beteiligen an und erleichtert das Heranwachsen der Wandanlage durch den Zellsaft. Jedenfalls tritt die Scheidewand rechtwinklig in der Richtung zur Spindelachse auf, wobei es keine zytoplasmatische Vorbereitung vor dem Auftreten des Phragmoplasten gibt (Fig. 16–18). Durch Freihandschnitte ist es fast unmöglich, die Lage des Teilungskernes bei ein und derselben Zelle *in vivo* zu verfolgen; dasselbe gilt auch für fixierte Präparate. Bei ihren Materialien bemerkten SINNOTT und BLOCH auch die seitliche Lage der Prophasekerne und die, die Spindelpole mit der Mutterzellwand verbindenden Zytoplasmastränge. Die Frage über die Lagebestimmung der Scheidewand, welche sich auf die Richtung der Spindelachse bezieht, oder auf das Aggregat der Zytoplasma-

1) Zitiert aus der Arbeit TIMBERLAKES (1900).

stränge um den Prophasekern, müßte in Zukunft erst noch durch experimentelle Behandlung gelöst werden.

Die Bedeutung des lateralen Wachstums des Phragmoplasten besteht darin, daß der Phragmoplast durch das Wachsen die im Phragmoplasten fortsetzlich gebildete Wandanlage mit der Mutterzellwand in Berührung treten läßt. Wie ich (1939) bereits bei *Tradescantia*-Haarzellen experimentell festgestellt habe, setzt das Festwerden der Scheidewandanlage immer von derjenigen Seite der Mutterzellwand ein, wo die Wandanlage zuerst die Mutterzellwand erreichte, und schreitet dann weiter nach der anderen Seite fort. Im allgemeinen betragen meristematische Zellkerne, wie die der *Tradescantia*-Haarzellen oder die des kleinzelligen Teils der Prothalliumgewebe, mehr als zwei Drittel der Zellbreite und liegen in der Mitte der Zelle. Daher kommt der lateral wachsende Phragmoplast an seiner Peripherie allseitig und zwar gleichzeitig mit der Mutterzellwand in Berührung. Auch erreicht die Wandanlage auf die gleiche Weise die Mutterzellwand und formiert die Zellplatte; unter diesen Umständen erweist es sich als sehr schwer, das eigene Verhalten des Phragmoplasten und das der Wandanlage analytisch festzustellen.

In *Osmunda*-Zellen wurde die Kernteilung der Pollenmutterzellen bereits von vielen Zytologen untersucht; von ihnen beschäftigte sich SMITH (1900) mit der achromatischen Figur. Seiner Beschreibung wird entnommen, daß die achromatische Spindel gänzlich aus zytoplasmatischem Material (Kinoplasma) besteht, welches in der Metaphase durch das Verschwinden der Kernmembran mit der Kernflüssigkeit mischbar ist. Von STRASBURGERS Zeit an werden das Verschwinden der Kernwandung und die Mischbarkeit der Kernflüssigkeit mit dem Zytoplasma beim Auftreten der Metaphase-spindel im allgemeinen einwandfrei anerkannt. Die Lebendbeobachtung der Mitose bei den *Tradescantia*-Haarzellen trug früher hauptsächlich zur Feststellung der Chromosomenbewegung bei, jedoch nicht zur Feststellung der Gestalt der Spindelfigur und ihrer Veränderungen. Jedenfalls bin ich jetzt zu dem Schluß gekommen, daß die Grenzoberfläche des Atraktosoms immer durch Fixierung, d.h. durch Entwässerung, gestört und unklar wird. Aus den Serien der Mikrophotographien in Fig. 4–9 und 16–19 wird ersichtlich, daß der Zustand der Wandung des Prophasekernes, des Atraktosoms und des Phragmoplasten nicht wesentlich von einander zu unterscheiden ist, daß der Inhalt dieser achromatischen Figuren zwar flüssig, aber sowohl mit dem Zytoplasma als auch mit dem Zellsaft nicht mischbar ist, und daß die Entwicklung der achromatischen Figuren immer durch kontinuierliche Veränderungen ihres Inhalts und ihrer Gestalt

vor sich geht. Gegenwärtig handelt es sich um die Lebendbeobachtung der meiotischen Kernteilung, da eine sichere Methode, durch welche man die in der Reduktionsteilung begriffenen Zellkerne, z.B. solche der Pollenmutterzellen, im lebenden Zustande beibehalten und zytologisch untersuchen könnte, leider noch nicht gefunden ist. Jedoch habe ich mich überzeugt, daß die oben erwähnten Ergebnisse bei somatischen Mitosen wesentlich mit dem Verhalten der achromatischen Figur bei der Reduktionsteilung der Geschlechtzellkerne übereinstimmen.

Nachdem FUJII (1931) das Atraktoplasma als die Grundsubstanz der Spindelfigur vorgeschlagen hat, wurde seine Ansicht durch Lebendbeobachtung bereits bei der Mitose von *Tradescantia*-Haarzellen bestätigt (WADA 1935 u.a., YASUI 1939). Aus der oben beschriebenen Arbeit ergibt sich jetzt, daß sich die Mitose bei den *Osmunda*-Prothalliumzellen auch für die Lebendbeobachtung des Atraktoplasmas als geeignetes Material erweist. Die Ergebnisse der Lebendbeobachtung der Mitose bei diesem Material haben uns die Bestätigung für die früheren Feststellungen geliefert, welche ich hinsichtlich des Verhaltens des Atraktosoms und des Phragmoplasten bei der Mitose der *Tradescantia*-Haarzellen *in vivo* durch Anstichversuche, durch das Dampfgemisch Ammonia-Chloroform und durch andere Behandlungen experimentell gemacht habe. Weiter bedarf es jetzt einer Richtigstellung der hauptsächlich auf Beobachtungen an fixierten Präparaten beruhenden im allgemeinen in botanischen Lehrbüchern aufgenommenen früheren Ansicht über das Verhalten der achromatischen Figuren.

Was das Verhalten der achromatischen Figuren betrifft, würde sich also die Mitose *in vivo* in folgender Weise abspielen: In der späten Prophase sammelt sich das aus der Karyolymphe entstandene Atraktoplasma innerhalb des Kernraums an seinen entgegengesetzten Polen, und die Chromosomen ordnen sich dabei von der peripherischen Lage zur Äquatorialgegend des Kernraums an. Während dieser inneren Verlegung verändert der Prophasekern kontinuierlich seine äußere Form von einer kugeligen zu einer elliptischen und weiter zu einer spindelförmigen, und er entwickelt sich daher ohne Verschwinden seiner Wandung zu dem Atraktosom. Die Differenzierung der Spindelfasern geht ausschließlich innerhalb der Begrenzung des Atraktosoms vor sich. Abgesehen von der Chromosomenbewegung verändert sich das Atraktosom in der späten Anaphase kontinuierlich durch Anschwellung an seiner Äquatorialgegend zum tonnenförmigen Phragmoplasten. Dann entwickelt sich die Scheidewandanlage im Phragmoplasten zentrifugal, aber die feste Scheidewand durch Mitwirkung des Zytoplasmawandbelags der Mutterzelle zentripetal. Aus

diesen Vorgängen ergibt sich, daß sich sowohl das Atraktosom als auch der Phragmoplast *in vivo* vom Zytoplasma sich abgrenzend als ein abgeschlossener Körper verhalten. Erst nach der Bildung der Zellplatte kommt der Abbau des Phragmoplasten durch Zytoplasmatisierung der sich an der Bildung der Scheidewandanlage nicht beteiligten Phragmoplastsubstanz zustande.

Zusammenfassung

Das Verhalten der achromatischen Figur wurde bei der somatischen Mitose der jungen Prothalliumzellen von *Osmunda japonica* THUNB. *in vivo* untersucht.

Aus den Lebendbeobachtungen ergibt sich, daß weder das Verschwinden der Kernwandung am Ende der Prophase noch das Vermischungsvermögen der Kernflüssigkeit mit dem Zytoplasma beim Auftreten der Metaphasespindel stattfinden, daß sich die Wandung des Prophasekernes dabei kontinuierlich zu derjenigen des Atraktosoms und weiter zu derjenigen des Phragmoplasten verändert, und daß sich das als Grundsubstanz der achromatischen Figur aus der Karyolymphe entstandene Atraktoplasma hinsichtlich seiner Gestalt und seiner Funktion vom Zytoplasma sich abgrenzend als ein abgeschlossener Körper verhält.

Die Scheidewandanlage entwickelt sich im Phragmoplasten zentrifugal, die feste Scheidewand jedoch durch Mitwirkung des Zytoplasmawandbelags der Mutterzelle zentripetal, wobei die Scheidewandbildung bei stark vakuolisierten großen Prothalliumzellen von der einen Seite der Mutterzellwand zu einer anderen fortschreitet. Nach der Bildung der Zellplatte degeneriert der Phragmoplast durch Zytoplasmatisierung der sich an der Bildung der Scheidewandanlage nicht beteiligten Phragmoplastsubstanz.

Zum Schluß möchte ich hinzufügen, daß ich der Japanischen Gesellschaft zur Förderung der Zytologie für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet bin.

Botanisches Institut, Naturwissenschaftl.
Fakultät der Kaiserl. Universität Tokyo.

Literatur

- Becker, W. A. 1938. Recent investigations *in vivo* on the division of plant cells. Bot. Review 4: 446-472.
Bělař, K. 1929. Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. Untersuchungen an den Staubfadenhaarzellen und Blattmeristemzellen von *Tradescantia virginica*. Zts. Zellf. mik. Anatom. 10: 73-134.
Fujii, K. 1931. Cytology, past and present. (Japanese). Tokyo.

- Küster, E. 1933. Hundert Jahre Tradescantia. Jena.
- Martens, P. 1927. Recherches experimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. *La Cellule* 39: 69-178.
- Okuno, S. 1936. Chromosome numbers in some sporophyll-bearing ferns. (Japanese with English Résumé). *Bot. Mag. Tokyo* 50: 332-337.
- Smith, R. W. 1900. The achromatic spindle in the spore mother cells of *Osmunda regalis*. *Bot. Gaz.* 30: 361-377.
- Sinnott, E. W. and R. Bloch 1940. Cytoplasmic behavior during division of vacuolate plant cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 26: 223-227.
- Strasburger, E. 1880. Zellbildung und Zellteilung. 3 Aufl. Jena.
- Timberlake, H. G. 1900. The development and function of the cellplate in higher plants. *Bot. Gaz.* 30: 73-99, 154-170.
- Wada, B. 1935. Mikrurgische Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. II. Das Verhalten der Spindelfigur und einige ihrer physikalischen Eigenschaften in den somatischen Zellen. *Cytologia* 6: 381-406.
- 1939. Experimentelle Untersuchungen lebender Zellen in der Teilung. IV. Die Einwirkung des Dampfgemisches von Ammonia und Chloroform auf die Mitose bei den *Tradescantia*-Haarzellen. *Cytologia* 10: 158-179.
- 1940. Lebendbeobachtung über die Einwirkung des Colchicins auf die Mitose, insbesondere über die Frage der Spindelfigur. *Cytologia* 11: 93-116.
- Yasui, K. 1939. On the cytokinesis in some angiosperms, with special reference to the middle lamella initial (MLI) formation and the phragmoplast. *Cytologia* 9: 557-574.
-