

Polarisationsmikroskopische Befunde an den Pollentetraden einiger Cyperaceen-Arten.

Von Hans H. Pfeiffer (Bremen).

Die *anomale Tetradenentwicklung* in der Mikrosporogenese der Cyperaceae, welche wir seit Fr. Elfving durch die Untersuchungen von N. Wille, E. Strasburger, H. O. Juel, A. B. Stout, K. Suessenguth, K. Piech, A. Hakansson und O. Heilborn¹⁾ genauer kennen, ist nach meiner vorausgegangenen Mitteilung²⁾ offenbar für die Familie typisch. In Übereinstimmung mit der Makrosporenbildung der heterosporen Filicinae und der Angiospermen wie der Eireifung der meisten Tiere (außer einer Reihe von Dipteren) entstehen aus dem Kern der Pollenmutterzelle durch die hetero- und die homöotypische Teilung des Reduktionsprozesses vier Kerne, von denen einer als primärer Pollenkern fungiert, die andern drei degenerieren, wobei die Pollenmutterzelle unter Verdickung der Wand direkt zum Pollenkorn wird. Hypothetische Erklärungen für dieses abweichende Verhalten bei der Entstehung der Mikrosporen sind zwar mehrfach gegeben worden, befriedigen aber sämtlich nicht³⁾. Deswegen sind nunmehr *polarisationsmikroskopische Beobachtungen* an zwei früher untersuchten und drei weiteren Arten angestellt und Versuche mit Antheren verschiedenen Alters ausgeführt worden, über welche ganz kurz berichtet werden möge.

Für eine *Beihilfe*, durch die die *instrumentelle Ausrüstung* vervollständigt werden konnte, bin ich der Kolloid-Gesellschaft (Leipzig) zu besonderem *Danke* verpflichtet, den ich hier wiederholen möchte. Ebenso habe ich den Opfischen Werken E. Busch (Rathenow) und meinem Freunde Dr. H. Ziegenspeck (Augsburg) für mehrfache apparative Hilfe sehr zu danken.

Methodische Vorbemerkungen

Zur Untersuchung sind Antheren von *Cyperus alternifolius* L. (Zierpflanze), *Eleocharis palustris* (L.) R. Br. subsp. *uniglumis* (Link) Schult, *Cladium Mariscus* (L.) Pohl (gesammelt bei Dinkelscherben nahe Augsburg), *Scleria longigluma* Kükenth. (Fiebrig 6298!) und *Scl. panicoides* Kunth (Dusén 217a!) herangezogen worden. Bei den drei letztgenannten Objekten ist das hier untersuchte Verhalten hierbei erstmals nachgewiesen worden. Von derselben Anthere werden jeweils Quer- und Längsschnitte hergestellt, da die Pollenmutterzellen auf dem Querschnitte kreisförmig um eine mittlere Achse angeordnet und mit der keilförmigen Verschmälerung gegen die Mitte gekehrt sind. Neben der früher angeführten Karmin-Essigsäurebehandlung ohne bezw. mit Vorfixierung mittels Alkohol-Eisessig⁴⁾ hat sich für die polarisationsmikroskopische Verarbeitung des Materials die schon von Naka-

1) Vgl. die *Literatur* bei K. Schnarf: Embryologie der Angiospermen, S. 5, 11, 43 (Berlin 1927/29), oder G. Tischler: Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2. Aufl., 1, p. 308 (Berlin 1934).

2) H. H. Pfeiffer: Veröff. D. Kolonial- u. Überseemus. 3, p. 200 (1941).

3) Pfeiffer: l. c. 202 f.

4) L. Geitler: Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung, 2. Aufl., S. 6 f., 9 (Berlin 1941); — Pfeiffer: l. c. 201.

mura⁵⁾ empfohlene Vorbehandlung mit Essigsäuredämpfen (10-20 Sek.), das Fixieren mit 75% Alkohol, den man verdampfen läßt, und das Einschließen in Cedernöl (nD 1,515) oder Canadabalsam (nD 1,541-1,547) gut bewährt.

Die *polarisationsmikroskopische Analyse* der Objekte stützt sich vorzugsweise auf konoskopische Beobachtungen, d. h. man benutzt den vollen Lichtkegel bei weiter Kondensoröffnung und beobachtet zwischen gekreuzten Nicols die Austrittspupille des Objektivs. Zur Messung der polarisationsoptischen Anisotropie eignet sich die sehr empfindliche Brace'sche Methode⁶⁾ in der von A. Köhler beschriebenen Ausführungsweise mittels Glimmerplättchens Grau I. Ordnung ($1/16$ Undul.-Glimmerplättchen); eingehende Arbeitsanweisungen dazu werden von Schmidt⁶⁾ gegeben, während bei Kohlrausch⁶⁾ die Bedingungsgleichungen und die Formeln zur Messung der Halbschattenazimute, der Phasendifferenzen und des Elliptizitätskoeffizienten nachgelesen werden können. Der *Glimmerkompensator* (E. Leitz-Wetzlar) der sehr geringen Phasendifferenz wird über dem Polarisator in einer Vorrichtung eingeschaltet, welche eine Drehung in der Ebene um die Mikroskopachse ermöglicht und den Drehungsbetrag mit Nonius abzulesen gestattet. Die Meßgenauigkeit wird durch Gebrauch des *Halbschattenkeiles* nach Macé de Lépinay erhöht, welcher durch einen Schlitz in die Bildebene des *Fadenkreuzokulars* mit Irisblende nach F. E. Wright eingeführt wird; der Analysator muß dementsprechend trotz der damit verbundenen Verengung des Sehfeldes dem Okular aufgesetzt werden.

Um die typische Lokalisierung der vier haploiden Kerne experimentell abzuändern, sind *Zentrifugerversuche*⁷⁾ angestellt worden. Diese sind, um in der Zeit zwischen dem Versuchseingriff und der mikroskopischen Untersuchung jegliche Restitutionsmöglichkeit des Zellsitus auszuschließen, mit einer vorläufigen Nachkonstruktion des *Zentrifugenmikroskops* (der Mikroskopzentrifuge) nach E. Newton Harvey und A. L. Loomis⁸⁾ ausgeführt worden, bei welcher auch die Polarisationsvorrichtung angebracht werden kann. Leider hat sich das erwartete Ziel dieser Versuchsanordnung nur eilweise erreichen lassen (s. S. 242).

Untersuchungsbefunde

Besonders beim ersten (heterotypischen) Teilungsschritte der dann noch ziemlich dünnwandigen Pollenmutterzellen findet man die Chromosomen zu einer sehr regelmäßigen *Kernplatte* vereinigt. Dadurch ist es möglich, die *Chromosomenzahlen* der untersuchten Arten teils zu bestätigen (*Eleocharis palustris* subsp. *uniglumis* $n = 8$; *Cyperus alternifolius* $n = 16$), teils erstmalig zu ermitteln (*Cladium Mariscus* $n = 18$; *Scleria longigluma* $n = 38$; *Scl. panicoides* $n = 29$). Nach der zweiten (homöotypischen) Teilung liegen drei der gebildeten Kerne allgemein in der inneren Ecke der allmählich die Wand verdickenden Pollenmutterzelle,

5) Y. Kuwada and T. Nakamura: Cytologia 6, p. 78 (1934) and 314 (1935); Nakamura: Fujii Jubil. Vol., 482 (Tokyo 1937).

6) D. Brace: Physic. Rev. 18, p. 70 (1904); A. Köhler: Z. w. Mikrosk. 38, p. 29 u. 209 (1921); H. Ambronn u. A. Frey: Das Polarisationsmikroskop, S. 67 f. (Leipzig 1926); — W. J. Schmidt: Handb. biol. Arbeitsmethod. (X), 5, p. 435, 535 f. (1934); — Fr. Kohlrausch: Praktische Physik, 17. Aufl., S. 457-461 (Leipz. u. Berl. 1935); — H. H. Pfeiffer: Chromosoma 2, p. 77 (1941); Verh. 13. Vers. Kolloid-Ges. Dresden, 355 (1941); Ber. D. bot. Ges. 59, p. 288 (1941).

7) H. H. Pfeiffer: Experimentelle Cytologie, S. 191 f. (Waltham/Mass. 1940).

8) E. Newton Harvey: Science 72, p. 42 (1930). — H. H. Pfeiffer: l. c. 193 f., 196; Biodyn. 2, Nr. 35 (1938); Z. w. Mikrosk. 57, p. 379, 397 (1941).

der vierte stets davon entfernt etwa mitten im Zellenraum. Während die Wandung der Zelle weiter verdickt und diese selbst so schließlich zum Pollenkorn entwickelt wird, erfährt der zentral gelegene Kern ein beträchtliches Wachstum. Die drei andern hingegen schreiten entweder noch (wie manchmal bei *Cladium Mariscus* und *Scleria panicoides*) zu einer dann früh zurückgebildeten Teilung und degenerieren erst hernach, oder sie beginnen ohne weitere Teilung zu nekrotisieren. Hierbei rücken sie allmählich flach an die Zellwand und fallen noch lange durch starkes Speicherungsvermögen für Karminlösungen auf. Spätere Stadien zeigen diese Kerne, wie es schon Piech (a. a. O.) geschildert hat, völlig in die (wohl aus Pektinen aufgebaute) Zellwand eingeschlossen; selbst in diesem Zustande hat ihre Farbstoffbindung nur wenig nachgelassen.

Polarisationsmikroskopisch zeigen bereits die beiden Kerne nach der heterotypischen Teilung an der Oberfläche eine geringe, aber deutlich meßbare Doppelbrechung. Sogleich nach Ausbildung der Tetrade im homöotypischen Teilungsschritte sind alle Kerne gleichmäßig anisotrop, und zwar mißt man mit der empfindlichen Brace'schen Methode Gangunterschiede von 20 bis 30 μ . Im einzelnen scheint die Intensität der Doppelbrechung weniger von der Größe (d. i. Dicke) der Kerne als vom Grade ihrer Chromatinschrumpfung abzuhängen. Wie bei den Chromosomen der Zellplatten ist auch bei den Kernen das Vorzeichen der Anisotropie *negativ* zur Länge; mindestens kann man auf solche Weise eine leichte Streckung der Kerne in einer bestimmten, stets offenbar von den gegebenen Raumverhältnissen abhängigen, Richtung erkennen. Hingegen erweisen sich die Spindeln, wenn solche gerade beobachtet werden, als positiv doppelbrechend zur Hauptausdehnung (Intensität stark streuend, meist zwischen 10 und 28 μ). Während der zentral gelegene, wachsende Kern die Anisotropie weiterhin in nahezu unverändertem Grade beibehält, unterscheiden sich die drei *ablebenden Kerne* darin wesentlich. Nur in den ersten Stadien beginnender Nekrose werden an ihnen dieselben oder gar noch etwas höhere Gangunterschiede als beim zentral gelegenen Kerne (Maximum: 38 μ) gemessen, dann sinkt die Doppelbrechung merklich ab, und zumal dann, wenn sie sich an die Innenwände der Zelle gelegt haben, tritt ihre Anisotropie gegen die der nunmehr (wohl infolge ihrer Dickenzunahme) an Doppelbrechung wachsenden Zellwände, welche sich gleichfalls in ihrem optischen Schnitt als negativ in bezug auf die Länge erweisen, immer mehr zurück.

Die Prozesse beim *Absterben der Kerne* ähneln jenen, die von J. Bonnet, G. Tischler, Z. Wóycicki, Fr. Loschnigg,

F. Gioelli, P. Beck mit J. S. Horton u. a. ⁹⁾ an degenerierenden Pollenmutterzellen festgestellt worden sind. Neben *pyknotischen* Kontraktionen und Ballungen des in unserm Falle nicht von der Kernwandung sich ablösenden Reticulums beobachten wir gelegentlich wie bei einer *Karyorhexis* ein Zerbröckeln des Chromatins, das wir vielleicht als hysteretische Ausflockung zu deuten haben. Nach der Einkapselung durch die Pektinwände bleiben die nekrotisierenden Kerne außer bei polarisationsoptischer Beobachtung auch durch Anwendung von Kernfärbungsmethoden, besonders nach der Geitler'schen Karmin-Essigsäuremethode, noch lange gut erkennbar.

Das Ziel der *Zentrifugierversuche*, welche bis soweit nur mit Pollenmutterzellen von *Cladium Mariscus* angestellt worden sind, besteht darin, die nach dem homöotypischen Teilungsschritte gebildeten vier Kerne sämtlich aus der keilförmigen Verschmälerung des Querschnittes der Pollenmutterzelle heraus nach dem peripheren Rande zu verlagern. Dieses Ziel gelingt nicht leicht und setzt voraus, daß die (relativ dicken) Querschnitte der Antheren-Längshälfte auf der Mikroskop-Zentrifuge (S. 239) richtig orientiert und genügend stark und lange geschleudert werden. Aber auch dann leben die Präparate nur eine begrenzte Zeit weiter. Man kann zwar tagelang das Zentrifugieren fortsetzen und ein ziemlich gleichmäßiges *Wachsen aller vier Kerne* der Tetrade erreichen, also die Bevorzugung des anfangs durch seine Lokalisierung am peripheren Rande ausgezeichneten Kernes verhindern. Aber es ist bislang nicht geglückt, alle Kerne der Tetrade zu reifen Pollenkernen oder die Pollenmutterzelle zu einem reifen (mehrkernigen) Pollenkorn sich entwickeln zu sehen. Das Fortleben der drei sonst degenerierenden Kerne erfolgt immer auf Kosten des an der Entwicklung dadurch gehemmten Kernes, der sonst allein zu dem Gametophyten wird. *Polarisationsmikroskopisch* bemerkenswert ist, daß anfangs alle Kerne einer Tetrade gleichmäßig negativ doppelbrechend sind und sich in keiner Weise von dem Verhalten der sonst untersuchten Kerne unterscheiden, daß aber hernach mit fortschreitender Nekrose ebenso sämtliche vier Kerne gleichmäßig an Stärke der Doppelbrechung zu- und dann um so mehr abnehmen.

Diskussion

Wegen der nicht sehr weiten Verbreitung doppelbrechender Strukturen an Pflanzenzellen ¹⁰⁾ ist zuerst zur *Negativität der Anisotropie* der Kerne hervorzuheben die Uebereinstimmung mit

⁹⁾ G. Tischler: l. c. 440 f. — Ueber die *Karyopyknose* und *-rhexis* s. auch Pfeiffer: Experimentelle Cytologie, S. 155, 174 f. Tischler: *ibid.* 2, p. 347 (Berlin 1942).

¹⁰⁾ Siehe S. 2421

Ergebnissen von Kuwada und Nakamura ¹¹⁾ an verschiedenen alkoholfixierten Pollenmutterzellen und von Pfeiffer ¹²⁾ an frisch isolierten und an mikrurgisch gedehnten Chromosomen von *Chironomus*-Speicheldrüsenkernen. Wenn hingegen Küster ¹³⁾ an nekrotisierenden Fadenkernen aus dem Schleimsaft von *Aloe*-Arten *positive* Doppelbrechung gefunden hat, so könnte man aus dem Rückgang der Stärke der Doppelbrechung bei den nekrotisierten Kernen der keilförmigen Zellinnenseite auf ähnliche, dem Grade nach vielleicht geringere, Wirkungen schließen. Ob statt des abgebauten, für die Negativität der Anisotropie verantwortlichen Chromatins hernach die Proteingrundlage der Kerne, welche im Falle von orientierter Anordnung nur zu positiver Doppelbrechung führen kann, wirksam wird, oder ob das Fehlen der Chromatin-komponente in der vorherigen Menge allein einen Rückgang negativer Doppelbrechung hervorruft, kann vorläufig nicht entschieden werden.

Noch mehr zu bedauern ist die Unmöglichkeit, neben der Lokalisierung der Kerne einer Tetrade noch andere cytologische Grundlagen für ihre differente Entwicklung zu ermitteln. Aber wie wir vorläufig den Abortus der drei Schwesterzellen des Embryosackes in der typischen Makrosporogenese noch nicht auf eine ungleiche Ausstattung der Zellen mit mikroskopischen Anteilen zurückführen können, so zeigen in der Mikrosporogenese die nekrotisierten Kerne anfangs selbst nach ihrem leptonischen (submikroskopischen) Aufbau, soweit er polarisationsmikroskopisch erschlossen wird, keinen Unterschied gegenüber dem den Gametophyten bildenden Kerne. So bleibt es weiter nur eine hypothetische Annahme, in den Kernen einer Tetrade Produkte *in-äqualer Teilungen* im Sinne Küster's ¹⁴⁾, d. h. differenter Qualität, zu sehen, welche sich morphologisch nicht äußert und in ihrer stofflichen Grundlage erst im weiteren ontotischen Verlaufe kundgibt.

Einfacher ist wohl die Vorstellung *ungleicher trophischer Versorgung* der nekrotisierenden Kerne und des sich zum Gametophyten entwickelnden Schwesterkerns. Leider kann aber auch die zentrifugalmikroskopische Untersuchung vorläufig keinen *sicheren* Beweis dafür liefern, daß die Lage nahe der peripheren Wand über die Weiterentwicklung, hingegen die dem keilförmigen Innenraum genäherte Lage über die einsetzende Nekrose entscheidet. Durch die experimentell aufgezwungene neue Lokalisierung hat sich jedoch mindestens die verlängerte Lebens-

10) Die Literatur ist gesammelt worden durch W. J. Schmidt: Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Zytoplasma und Metaplasma, S. 90 f. (Berlin 1937); Protoplasma 29, p. 300, 435 (1938), und 34, p. 237, 255 f. (1940); Erg. Physiol. 44, p. 27, 67 f. (1941). — Vgl. auch Fr. Buchthal u. G. G. Knappeis in H. Handovsky, Cellula 1, p. 346, 348 f. (Den Haag 1939).

11) Y. Kuwada and T. Nakamura: Cytologia 6, p. 78 (1934), and 314 (1935); Nakamura: Fujii Jubil. Vol., 482 (1937).

12) H. H. Pfeiffer: Chromosoma 1, p. 526 (1940), und 2, p. 77 (1941).

13) E. Küster: Ber. D. bot. Ges. 52, p. 632 (1935);

14) E. Küster: Pathologische Pflanzenanatomie, 3. Aufl., S. 407 f. (Jena 1925); Pathologie des Protoplasmas, S. 46 f., 49 f. (Berlin 1929); Die Pflanzenzelle, S. 586 f., 588 (Jena 1935).

fähigkeit aller Kerne einer Tetrade zeigen lassen. Daraus folgt mit großer Wahrscheinlichkeit, daß die räumliche Verteilung der Kerne weitgehend ihr Schicksal bestimmt.

Eigenartigerweise zeigt die Familie noch in anderer Hinsicht, nämlich nach den Chromosomenzahlen, eine Sonderstellung im Pflanzenreiche. Die im Vergleich mit allen andern Familien ungewöhnliche Häufigkeit der Aneuploidie¹⁵⁾ ergibt eine ähnlich scharfe oder vielleicht noch deutlichere Grenze wie der Unterschied zwischen Pflanze und Tier. Die von uns hier vorläufig auf trophische Einflüsse zurückgeführte „tendency of an unknown nature“ verhindert wahrscheinlich nach Heilborn¹⁶⁾ die Bildung unreduzierter Pollendyaden; durch welchen Mechanismus das geschieht, ist freilich noch ganz unbekannt. So möchte nach Heilborn die hier untersuchte anomale Mikrosporogenese die Ursache für das Zurücktreten der Allo-Polyploidie zugunsten der Aneuploidie werden. Die Dringlichkeit weiterer Untersuchungen auf diesem Gebiete ist damit erwiesen.

Zusammenfassung

Außer mit der Ermittlung der haploiden Chromosomenzahl bei den 5 untersuchten Cyperaceae befaßt sich die Fortsetzung der Untersuchungen der anomalen Entstehung des Gametophyten unter Nekrose von drei der vier Schwesterzellen des hetero- und des homöotypischen Teilungsschrittes mit polarisationsmikroskopischen Messungen an diesen Kernen. Ihre negative Doppelbrechung bleibt nur bei dem das Wachstum fortsetzenden, dem peripheren Zellrande genäherten Kerne erhalten, erfährt aber bei den drei andern entsprechend der fortschreitenden Nekrose eine Zu- und dann eine Abnahme, bis diese drei Kerne in der sich verdickenden Zellwand eingeschlossen werden, welche mit wachsender Dicke ebenfalls in steigendem Grade negativ doppelbrechend wird. Nach Zentrifugieren ist bisher nur die längere Erhaltung aller Kerne, soweit sie genügend dem peripheren Rande und dem Ernährungsströme genähert werden können, erreicht worden, nicht aber die Fortentwicklung zu mehrkernigen Pollenkörnern. Die Besprechung der Befunde schließt aber die Möglichkeit inäqualer Teilungen als Ursache der anomalen Mikrosporogenese nicht aus und hebt endlich deren besondere Bedeutung hervor.

15) N. Tanaka: Fujii Jubil. Vol., 814, 820 (1937); — C. D. Darlington: Recent advances in cytology, 2nd. ed., 460 f. (London, I. & A. Churchill, 1937).

16) O. Heilborn: Sv. Bot. Tidskr. 26, p. 137, 143, 144 f. (1932).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Veröffentlichungen aus dem Übersee-Museum Bremen](#)

Jahr/Year: 1940-1942

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Pfeiffer Hans H. (Heinrich)

Artikel/Article: [Polarisationsmikroskopische Befunde an den Pollentetraden einiger Cyperaceen-Arten 238-243](#)