

Über Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebesäften und Zelltrümmern.

Von
Hildegard Reiche.
Mit Tafel III.

I. Einleitung.

Es ist allgemein bekannt, daß in den Organen vieler Pflanzen nach Verwundung Zellteilungen eintreten; diese führen zur Bildung eines Vernarbungsgewebes oder auch eines Kallus, von dem Regenerationserscheinungen ausgehen können. H. v. Mohl (14, S. 642 und 651) beschrieb als erster die Entstehung von »Periderm« als Vernarbungsgewebe unter natürlichen und künstlichen Wunden, wobei sich die neu auftretenden Wände parallel zur Wundfläche orientieren. Wie dann später v. Bretfeld (2, S. 138) durch Versuche festgestellt hat, ergeben die verschiedensten Eingriffe dieselbe Wirkung: infolge von Brennen, Brühen, Stich, Stoß sowie nach inneren Verletzungen tritt bei allen Pflanzen, die überhaupt auf Verwundung mit Teilungen reagieren, Vernarbungsgewebe mit der für das Periderm charakteristischen Wandbildung auf.

Welches ist nun die diesen Eingriffen gemeinsame unmittelbare Ursache der Zellteilung?

Seit Frank (5, S. 220, besonders S. 237) zum ersten Male darauf aufmerksam machte, daß nach Verwundung in den der Wundstelle benachbarten unverletzten Zellen eine Umlagerung des Inhaltes, speziell der Chlorophyllkörner, eintritt, und daß diese Veränderungen von Zelle zu Zelle fortschreitend sich auf weite Entfernungen hin übertragen können — seit er für das Fortschreiten dieser Veränderungen die Fortpflanzung eines »durch die Verwundung hervorgebrachten, seiner Natur nach zunächst nicht näher bekannten Reizes« verantwortlich machte,

(4, S. 22), hat sich in der Literatur der Begriff »Wundreiz« eingebürgert. Die Ursachen für alle nach Verwundung eintretenden Veränderungen pflanzlicher Gewebe wurden in diesem Wort zusammengefaßt, da ihr Wesen im einzelnen völlig unbekannt war. Erst in neuerer Zeit wurde der »Wundreiz« einer gedanklichen Zergliederung in einzelne Faktoren unterworfen (Küster 11, S. 341, Haberlandt 10, S. 4 und 5).

Die Versuche Haberlandts brachten die Lösung der Frage nach der unmittelbaren Ursache der Zellteilung an Wundflächen. Schon auf Grund von Kulturversuchen mit isolierten Pflanzenzellen hatte er 1902 betont, daß unter den verschiedenen Faktoren, welche zusammen den sogenannten »Wundreiz« bilden, auch die »Aufnahme der Zersetzungsprodukte getöteter bzw. absterbender Zellen seitens der unverletzten« eine bedeutsame Rolle spielen könnte (8, S. 20). Für die Richtigkeit dieser Annahme bringt Haberlandt in zwei Arbeiten über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone 1921 (9, 10) eindeutige experimentelle Beweise vor:

1. Unter mit Wasser genügend lange abgESPÜLTEN Wundflächen der Kohlrabiknolle treten Zellteilungen bedeutend spärlicher oder wenigstens in einer geringeren Anzahl von Zellschichten auf als unter nicht abgESPÜLTEN. Werden aber die abgESPÜLTEN Wundflächen mit einer dünnen Schicht von Knollenbrei überzogen, so stellen sich darunter wieder reichliche Zellteilungen ein. Analoge Resultate ergaben Versuche mit *Peperomia incana*.

2. Unter Schnittflächen verschiedener Crassulaceenblätter treten Zellteilungen auf; sie unterbleiben aber unter Reißflächen, die keine verletzten und abgestorbenen Zellen aufweisen. Wird auf Reißflächen Gewebesaft aufgetragen, so stellen sich wieder Zellteilungen ein.

3. Ausgewachsene Haare verschiedener Pflanzen (*Coleus Rehneltianus* und *hybridus*, *Saintpaulia ionantha*, *Pelargonium zonale*) wurden auf verschiedene Weise mechanisch verletzt. Zellteilungen treten nicht nur unter den abgestorbenen Zellen auf; auch dann, wenn alle Haarzellen am Leben blieben, teilten sich häufig die nur mäßig verletzten. Die neu auftretenden Wände waren fast stets der Wundstelle genähert.

Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, daß Zersetzungsprodukte der abgestorbenen oder geschädigten Zellen als teilungsauslösende Reizstoffe — »Wundhormone«, wie sie Haberlandt genannt hat — in die Umgebung diffundieren und hier die Reaktion bewirken. Eine auffallende Regelmäßigkeit zeigt sich darin, daß die neuen Wände senkrecht zur Diffusionsrichtung der Wundstoffe angelegt werden.

Nicht immer war, wie erwähnt, bei den Haarversuchen die Bildung von Wundhormonen an das vollkommene Absterben einzelner Zellen geknüpft. Es genügte unter Umständen die lokale mechanische Verletzung einer Zelle, um sie selbst zur Teilung zu veranlassen (10, S. 26 und 40). Eine Parallele hierzu bilden Versuche von Schilling, der durch Bepinselung von Sproßachsen mit Paraffinöl außer größeren Gewebewucherungen eigentümliche Nestbildungen (Teilungsherde) im Parenchym erhielt (19, S. 235—237). Diese wurden häufig durch Absterben einzelner Zellen veranlaßt; in anderen Fällen wurden nach Schillings Angaben die geschädigten Zellen nur pathologisch verändert, schritten selbst zur Teilung und regten auch benachbarte Zellen zur Teilung an. Die Versuche Schillings zeigen also, daß auch ohne grob mechanische Verletzung in geschädigten, am Leben bleibenden Zellen Teilung erfolgen kann.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob man durch verdünnten Gewebebrei und Gewebesäfte Zellen zur Teilung veranlassen könnte, die sich im normalen unverletzten Gewebeverband befinden.

II. Methodik.

Die Methodik bestand in der Injektion interzellularenreicher Pflanzenorgane mit einer Injektionsspritze¹ am jeweiligen Standort der Pflanze. Seltener wurden abgeschnittene Teile mittels der Wasserstrahlluftpumpe infiltriert.

Die jeweils eingespritzten Flüssigkeitsmengen anzugeben, ist nur bei einem der untersuchten Objekte möglich: bei *Nymphaea*, deren weitläufiges Interzellularsystem unter Umständen bis 1,

¹) Lyrsspritze 1 ccm, völlig aus Glas. — Stahlkanülen No. 20 »Record«, 0,25 mm lichte Weite, 0,5 mm Außendurchmesser.

1 $\frac{1}{2}$ oder 2 ccm Flüssigkeit aufnahm. In allen übrigen Fällen war die in das Organ eindringende Flüssigkeitsmenge so gering, daß sie an dem weiten und deshalb nur auf Zehntel von Kubikzentimetern kalibrierten Spritzenröhrchen (sein lichter Durchmesser betrug 8 mm) nicht sicher abgelesen werden konnte. Die Länge des zugeschärften Endes der Kanülen betrug 2 mm, ihre Dicke $\frac{1}{2}$ mm, woraus sich die durchschnittliche Ausdehnung der damit zugefügten Verwundungen ohne weiteres ergibt. Der Einstich wurde stets möglichst flach geführt, wenn nicht zentral gelegene Gewebeteile injiziert werden sollten. Angaben über den Ort des Einstichs, ferner über die Versuchsanordnung bei Luftdruckinjektion folgen weiter unten bei Besprechung der verschiedenen Objekte.

Bei dem an jedem Objekt zur Prüfung seiner Eignung zunächst angestellten Vorversuche wurde in das Interzellulärsystem einerseits arteigener Gewebesaft, andererseits zur Kontrolle Leitungswasser eingeführt. Außerdem wurde stets an verschiedenartigen Wunden die Eigenart der betreffenden Pflanze und ihre Reaktionsfähigkeit auf Wundreiz geprüft. Über das Vordringen der Injektionsflüssigkeit in den Interzellularen gab die Injektion von Farblösungen Auskunft.

Der Gewebesaft wurde nach sorgfältigem Zerreiben frischer Pflanzenteile im Porzellanmörser ohne Verdünnung vom Brei abfiltriert. Da das Filtrieren unter Umständen aber die Reizwirkung aufhob, wurde später meist Gewebesaft verwendet, der außer dem Zellsaft noch Plasmapartikel, zertrümmerte Zellorganellen, mitunter sogar kleine zerquetschte Zellen¹ enthielt. Es ist also zwischen filtriertem und »trübem« Gewebesaft zu unterscheiden; den trüben ließ ich statt der engen Filterporen nur die verhältnismäßig groben Maschen eines dichten Leintuchs passieren. Schließlich ist noch ein Terminus zu erläutern, der bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse stets wiederkehren wird: der »Injektionsrückstand«. Der injizierte Gewebesaft (meist nur der trübe, bei einzelnen Pflanzen auch der fil-

¹) Das meist übliche Verreiben der Pflanzenteile mit Hilfe von Quarzsand wurde unterlassen, weil der bei diesem Verfahren gleichfalls zu Pulver zerriebene Sand nur durch Filtrieren (durch Zentrifugieren nur unvollkommen) aus dem Gewebesaft zu entfernen ist.

trierte) hinterläßt allmählich in den Interzellularen einen festen, doch immer noch wasserhaltigen Rückstand, welcher bereits nach 1—2 Tagen die Wände der angrenzenden Zellen mehr oder minder ungleichmäßig bedeckt. Diese Schicht ist im folgenden unter »Injektionsrückstand« oder »Ablagerungsschicht« zu verstehen. Sie entsteht teils durch Verdunstung des im Gewebesaft enthaltenen Wassers, teils durch seine osmotische Aufnahme seitens der Zellen. Sicherlich aber findet gleichzeitig ein Hinüberdiffundieren verschiedener im Gewebesaft gelöster Stoffe in die Zellen statt, unter welchen auch die »Wundreizstoffe« anzunehmen sind.

III. Injektion des Interzellularsystems.

Objekte mit engen Interzellularen.

1. *Solanum tuberosum*.

Die ersten positiven Ergebnisse erzielte ich mit etiolierten Sprossen von *Solanum tuberosum*. Diese weisen innerhalb des aus Stereom- und Mestomelementen gebildeten Hohlzylinders ein stärkereiches Mark auf, dessen Zellen ein wenig in der Längsachse des Stengels gestreckt und, besonders an ihren Längskanten, von zusammenhängenden Interzellularen begrenzt sind. Die Querschnitte dieser Interzellularen stellen zumeist Dreiecke dar, deren Höhen bei den zur Injektion geeigneten Kartoffelsorten durchschnittlich 14—23 μ betragen. Die Interzellularen der Rinde sind enger und kommen für unsere Versuche deshalb nicht in Betracht. Außer dem normalen Kreis von bikollateralen Gefäßbündeln führen diese jungen Stengel zahlreiche markständige Leptombündel, die von einigen wenigen mechanischen Fasern begleitet werden.

Nach Verwundung verhalten sie sich wie das schon so häufig daraufhin untersuchte Knollengewebe. Die abgestorbenen Zellen, sowie an der Wunde austretender Zellsaft, unterliegen einer intensiven Bräunung, so daß jeder Interzellularraum, der Wundstoffe aufgesaugt hat, sich durch diese Färbung verrät. Die Zellteilungen treten in 2—3 Zellschichten unter der Wundfläche auf.

Die Versuche wurden im Februar und Anfang März 1922 mit etiolierten Sprossen verschiedener Marktsorten stets mit

gleichem Erfolg angestellt. Kräftige, gerade gewachsene 8—10 cm lange Sprosse wurden dicht an der Knolle abgeschnitten, mittels einer Rasierklinge mit ebener Schnittfläche versehen und fast bis an die Spitze in zylindrischen Gläschen in die zu injizierende Flüssigkeit getaucht. Von solchen Gläschen wurden stets eine größere Anzahl gleichzeitig unter dem Rezipienten der Wasserstrahlluftpumpe evakuiert.

Den jeweils erzeugten Unterdruck zu messen, erwies sich als nutzlos, da Sprosse, die in demselben Gläschen evakuiert worden waren, bei der Untersuchung in bezug auf die Steighöhe der eingedrungenen Flüssigkeit sich sehr stark unterschieden. Der Gewebesaft, welcher zur Anwendung gelangte, stammte aus etiolierten Sprossen der gleichen Kartoffelsorte. Die infiltrierte Sprosse wurden $\frac{1}{2}$ Stunde in der Flüssigkeit belassen, die in Gewebesaft getauchten sorgfältig abgespült und dann im Laboratorium (Nordseite) bei 19—20° C am Licht kultiviert. — Ihre Kultur gelang am besten über Wasser in feuchter Atmosphäre. Zu große Trockenheit schwächte die Reaktionsfähigkeit, direkte Berührung mit Wasser bewirkte Fäulnis. Wurden die Sprosse dagegen in enge, mit wenig Wasser gefüllte Gläschen halb hinuntergelassen und mittels eines ringförmig um sie gelegten Wattebausches in dieser Stellung erhalten, so hielten sie sich unter einer Glocke mehrere Wochen lang, trieben manchmal sogar lange Wurzeln in das Wasser hinunter und entfalteten die ersten Blättchen.

So wurden nebeneinander unter denselben Bedingungen nicht injizierte, mit Leitungswasser und mit filtriertem Gewebesaft injizierte Sprosse kultiviert und zeigten, wenn ich nur auf das Verhalten der Markzellen eingehe, folgende wesentliche Unterschiede:

1. Nicht infiltrierte Sprosse: Teilungen fast nur parallel zur Schnittfläche (in 2—3 Zellschichten); Interzellularwände schon in ganz geringer Entfernung nicht mehr gebräunt.

2. Leitungswassersprosse: Teilungen unter der Schnittfläche unregelmäßiger, Interzellularwände auch in weiterer Entfernung (im Höchstfall $\frac{3}{4}$ cm von der Schnittfläche aus) mehr oder minder stark gebräunt oder sogar mit feinkörnigen Resten bedeckt. Neben diesen Interzellularen, die mit dem Wasser zu-

gleich an der Wunde ausgetretene Stoffe aufgesaugt haben, treten später zu beschreibende Teilungen auf. Über dieser Verschleppungszone aber führen alle Interzellularen stets nur Luft, und die angrenzenden Zellen sind vollkommen normal.

3. Gewebesaftrösse: Teilungen unter der Schnittfläche oft unterbleibend. Im ganzen infiltrierten Bereich aber treten an den nicht nur gebräunten, sondern oft ganz verstopften Interzellularen reichliche Teilungen der angrenzenden Zellen ein, die auf die Wirkung des Gewebesaftes zurückzuführen sind.

Unverletzte Zellen des Markes wurden also in einer Region, die in normalen Sprossen, aber auch in »Leitungswassersprossen« stets teilungsfrei ist, durch den Gewebesaft künstlich zur Teilung, wie bei einer Wundreaktion, angeregt. Das Verhalten der gereizten Zellen war wesentlich verschieden, je nachdem es sich um nur lokale oder fast totale Infiltration des Interzellularsystems handelte. Um zerstreut gelegene, mit brauner Substanz erfüllte Interzellularen herum entstehen nämlich Wände, die streng senkrecht zu der Richtung eingestellt sind, in welcher eine Diffusion von Stoffen aus dem Gewebesaft in die Zelle stattfinden konnte. Diese Wände werden ferner dicht in der Nähe des betreffenden Interzellularraumes ausgebildet, so daß Tochterzellen von auffallend ungleicher Größe entstehen. (Taf. III, Fig. 1 und 3.) Der Grund hierfür ist in einer chemotaktischen Verlagerung der Kerne zu suchen, die man nach 3—4 Tagen stets in der Nähe des goldbraunen feinkörnigen Injektionsrückstandes findet. Nach 4—6 Tagen treten die ersten zarten Wände auf; bei länger kultivierten Sprossen findet man sie oft schlauchartig in das Lumen der größeren Tochterzelle vorgestülpt. Bei »totaler« Infiltration dagegen, wo die Zellen von allen Kanten her ungefähr gleichmäßig gereizt werden, erhält man ganz andere Bilder. Man sieht selten verlagerte Kerne und die jungen Wände werden beliebig gerichtet in der Zellmitte angelegt. Auf Querschnitten sieht man sie das ganze Mark kreuz und quer durchziehen. (Taf. III, Fig. 4.)

Von den in erwähnter Weise kultivierten, also hungernden Sprossen hatten die meisten nach 4 Tagen schon sehr viel Stärke verloren. Ganz aufgehellt waren in »Gewebesaftrössen« die Gebiete, wo Zellen in Teilung eintraten, wie dies bei der

Wundheilung für viele Objekte angegeben wird. In diesen Bereichen habe ich die Umwandlung von Leukoplasten in Chloroplasten festgestellt. In den sonst nie Chlorophyll führenden Markzellen waren dann vor und nach der Teilung die Kerne dicht von grüngefärbten Plastiden umgeben. Diese Erscheinung, die ich erst für allgemein hielt, fehlte in besonders kräftigen Gewebesaftsprossen, deren geteilte Zellen nur wenig Stärke verloren hatten.

Das Auftreten der Wände stand in enger Beziehung zu den Stellen, wo der Injektionsrückstand abgelagert wurde. Im Längsschnitt zeigten sich Interzellulargänge, die in ihrer ganzen Länge mit braunen Resten erfüllt waren, auch in ihrer ganzen Länge von Teilungswänden umrahmt; neben lokal verstopften Interzellularen dagegen waren Wände ausgebildet, deren Ansatzstellen genau den Grenzen der überschichteten Wandteile entsprachen. (Taf. III, Fig. 2.) In extremen Fällen findet man dann im infiltrierten Bereich ganz unregelmäßig verstreut kleinste Teilungsherde vor, bestehend aus nur 3—4 reagierenden Zellen, die rings um einen mit Resten erfüllten Interzellularabschnitt liegen.

2. *Saintpaulia ionantha*.

Mit *Saintpaulia* habe ich zu verschiedenen Zeiten stets dieselben, von den oben erwähnten wenig abweichenden Resultate erzielt.

Die Parenchymzellen des Blattstieles dieser Pflanze sind zartwandig, und nur wenig höher als breit. Die Interzellularen sind ein wenig weiter als diejenigen von *Solanum*: die Höhen der dreieckigen Querschnittsflächen betragen 20—34 μ .

Der Verschuß größerer und kleinerer Wunden der Blattstiele wird durch lebhaftere Zellteilungen bewerkstelligt, wobei 1—2 Zellschichten sich betätigen und die Wände sehr regelmäßig parallel zur Wundfläche angelegt werden.

Bei den Versuchen mit *Saintpaulia*, die im März—April und im Oktober—November 1922 ausgeführt wurden, habe ich zunächst wieder den Stiel abgeschnittener Blätter mittels der Wasserstrahlluftpumpe von der Schnittfläche her infiltriert. Kräftige Blätter ließen sich gut nach Abtrennung von der Pflanze kultivieren. — Als zweckmäßiger aber erwies sich die

Injektion von Topfpflanzen mit der Spritze, wobei der Einstich in den Blattstiel in der Regel von oben her, dicht unter dem Ansatz der Lamina, mit abwärts gerichteter Kanüle erfolgte. Auf diese Weise gelang es unter Umständen, die Injektionsflüssigkeit bis in die Stielbasis zu spritzen. Der Gewebesaft wurde aus Blättern (Stiel nebst Spreite) hergestellt. Die Versuchspflanzen wurden nach der Injektion an ihrem gewohnten Platz im Gewächshaus weiter kultiviert und nach 3—14 Tagen, ferner nach einem Monat untersucht.

Ein Beispiel aus den Protokollen: 1. 4.—28. 4.

a) Blattstiele, mit trockener Kanüle angestochen: An der Injektionswunde in der 1. und 2. Schicht zahlreiche Wände parallel zur Wundfläche. (Manchmal an der tiefsten Stelle des Einstichs, die am wenigsten der Austrocknung ausgesetzt ist, schwacher Ansatz zu kallöser Wucherung.) Sehr selten in den parallel gefächerten Zellen oder in benachbarten, sonst ungeteilten Zellen eine uhrglasförmig gewölbte Teilungswand in der Nähe eines Interzellularraums, dessen Wandflächen braun tingiert sind.

b) Blattstiele, mit Leitungswasser injiziert: Verhältnisse an der Injektionswunde wie in a); nur sind etwas häufiger mit braunkörniger Substanz erfüllte Interzellularen und Teilungen in den an sie grenzenden Zellen zu beobachten. Im injizierten Bereich höchstens in der Nähe der Wunde Teilungen neben Interzellularen, die stets zum mindesten an braun tingierte Wände grenzen.

c) Blattstiele, mit filtriertem Gewebesaft injiziert: Injektionswunde wie in b). Im injizierten Bereich auf jedem Querschnitt mehr oder minder zahlreiche Teilungsherde, deren Zentrum ein mit braunen Resten erfüllter Interzellularraum bildet.

Im allgemeinen waren die ersten Wände nach 7—10 Tagen zu beobachten und zwar reagierten häufig die an injizierte Interzellularen angrenzenden Zellen vor den an der Injektionswunde liegenden. Die Gewebesaftreste blieben bei *Saintpaulia* unregelmäßiger verteilt zurück als bei *Solanum*, so daß ich auffallend häufig auf einem Querschnitt nur einen einzigen mit brauner Substanz erfüllten Interzellularraum fand. Die um solche Interzellularen in völlig normalem teilungsfreiem Gewebe

angelegten Wände stellen außer Zweifel, daß ihr Auftreten durch die Gewebesaftreste und nicht etwa durch Beschädigungen bei der Injektion bedingt ist. Auch bei *Saintpaulia* zeigen diese besonders deutlich die Abhängigkeit der Wandrichtung von der Diffusionsrichtung der Reizstoffe. Lokale Reizung ruft stets die Anlage bogig gekrümmter Wände in der Nähe des betreffenden Interzellularraumes hervor, während die Zellen ausgiebig infiltrierter Bereiche mit Teilung durch gerade, in der Zellmitte angelegte Wände reagieren.

Da die Blattspreiten von *Saintpaulia* lebhaftere Teilungsfähigkeit der Mesophyllzellen nach Verwundung gezeigt hatten, wurden auch sie injiziert. Bei einiger Vorsicht beim Einstich breitet sich die Injektionsflüssigkeit in den Interzellularen des Mesophylls bedeutend leichter aus als in denen des Blattstiels. Seltsamerweise blieb aber derselbe (filtrierte) Gewebesaft, der in Blattstielen Teilungen auslöste, hier stets ohne Wirkung. Da die Mesophyllzellen nur durch schmale, kurze Ausstülpungen in Verbindung stehen, ist der Flächeninhalt ihrer freien Wandteile im Verhältnis zum Interzellularvolumen (trotz größerer Weite dieser Interzellularen) bedeutend größer als bei den Blattstielzellen. Infolgedessen erschienen nach dem Verschwinden der Injektionsflüssigkeit die freien Zellflächen des Mesophylls zwar stark tingiert, doch nirgends mit dickerer Schicht des Injektionsrückstandes bedeckt. Es lag nahe, darin den Grund für das Ausbleiben der Reaktion zu suchen.

Dann mußte durch Einspritzen relativ grober Zelltrümmer auch dieses Gewebe zur Zellteilung zu bringen sein. In der Tat gelang dies mit »trübem« Gewebesaft, dessen Partikel nicht so gleichmäßig fein verteilt auf den großen Membranflächen abgelagert werden können. Dabei wird allerdings häufig die injizierte Zone geschädigt und reaktionsunfähig gemacht; besonders leicht geht die Palisadenschicht zugrunde. Am günstigsten wirkt sehr zerstreute Ablagerung der groben Partikel, die sich durch Wasserzusatz zu trübem Gewebesaft leicht erreichen läßt. Die Teilungen in Blattspreiten sind frühestens nach 14 Tagen, oft erst nach 17 Tagen zu erwarten.

Auch in den Blattstielen von *Saintpaulia* trat häufig eine Schädigung der injizierten Zone ein, wenn trüber Gewebesaft

eingespritzt wurde. Wenn aber einzelne Zellen des injizierten Bereiches abstarben, traten in den übrigen nur spärliche Teilungen auf; während in weniger empfindlichen Blattstielen gerade nach Injektion trüben Gewebesaftes alle an verstopfte Interzellularen grenzenden Zellen durch zahlreiche Teilungswände gefächert wurden. (Taf. III, Fig. 5.)

3. Crassulaceen.

Die an Blattspreiten von *Saintpaulia* gemachten Erfahrungen erklärten den negativen Ausfall von Injektionsversuchen, die ich zu Beginn meiner Untersuchung mit Crassulaceenblättern angestellt hatte. Es handelte sich dabei um Pflanzen wie *Echeveria secunda* und *Sempervivum tectorum*, mit denen Haberlandt (9 und 10) Reißversuche angestellt hatte, für die also die Wirksamkeit von teilungsauslösenden Reizstoffen schon nachgewiesen war. Derselbe filtrierte Gewebesaft aber, der in meinen Versuchen auf Reißflächen gepinselt die erste Zellschicht zu lebhafter Teilung anregte, übte bei Injektion in die Blätter ganzer Freiland- oder Topfpflanzen keinen derartigen Reiz aus. Niemals fanden sich Teilungen im injiziert gewesenen Bereiche, obgleich zahlreiche neue Wände an der Injektionswunde deutlich genug die Reaktionsfähigkeit des Objekts erkennen ließen. Wurden die Pflanzen nach der Injektion reichlich begossen oder im feuchten Raum kultiviert, so setzte starke Hypertrophie der von der Injektionsflüssigkeit umspülten Zellen ein. Dieses Verhalten, das schließlich pustelartige Auftreibungen der Blätter zustande brachte, ist aber nicht als spezifische Wirkung des Gewebesaftes aufzufassen. Solche Bildungen wurden vielmehr in gleichem Maße durch Leitungswasser oder hypotonische Zuckerlösungen angeregt, sind also als Intumescenzen zu bezeichnen. Bei *Echeveria secunda*, die besonders zu Intumescenzen neigte, fanden sich in der Regel nach 6 Tagen auch zahlreiche Teilungen in diesem Bereich, die aber bei näherer Untersuchung stets auf das Absterben einzelner Zellen zurückzuführen waren.

Spritzt man nun Blättern von *Echeveria*- oder *Sempervivum*-Arten Gewebesaft ein, der feine Zellpartikel enthält, so werden diese allerdings zum großen Teil durch Filtration an der In-

jektionswunde zurückgehalten. Geringe Partikelmengen werden aber doch in der Injektionsbahn in weiterer Entfernung abgelagert und bilden den Ausgangspunkt für lokal beschränkte Zellteilungen.

Auch bei Crassulaceen können also durch die Zersetzungstoffe injizierter Gewebepartikelchen Zellteilungen ausgelöst werden. Daß filtrierter Gewebesaft bei ihnen unwirksam ist, hängt augenscheinlich damit zusammen, daß von diesem überhaupt kein merklicher Injektionsrückstand in den Interzellularen zurückbleibt. Nur eine äußerst schwache Tinktion der Membranen verrät hier und da den Injektionsbereich. Daß der so substanzarme filtrierte Gewebesaft teilungsauslösend wirkt, wenn er auf Rißflächen gepinselt wird, ist trotzdem verständlich. Die Zellen der Rißflächen werden bei diesem Verfahren mit einer Flüssigkeitsschicht von ansehnlicher Dicke bedeckt, und die Aufnahme der wirksamen Stoffe wird durch die in den Mittellamellen gespaltenen Scheidewände erleichtert. Außerdem wäre es möglich, daß die den Zellen durch Zerreißung von Plasmodesmen zugefügte Schädigung ihre Empfindlichkeit erhöht. Dagegen sind die Gewebesaftmengen, die nach der Injektion von den Interzellularen her auf die Zellen einwirken, weitaus geringer; auch sind die Diffusionsverhältnisse in diesem Falle andere, da weder gespaltene Scheidewände, noch freigelegte Plasmodesmen an die Injektionsflüssigkeit grenzen. Es ist ferner mit der Möglichkeit zu rechnen, daß eine chemische Verschiedenheit der an Interzellularen grenzenden Zellwände einerseits und der an die Mittellamellen angrenzenden Membranteile andererseits ausschlaggebend ist. Bei *Echeveria secunda* ließ sich durch Färbungs- und Lösungsversuche feststellen, daß in der Blattspreite die an Interzellularen grenzenden Zellwände mit einer äußerst dünnen Lamelle von kutikularer Beschaffenheit versehen sind.

Die Erfahrung, daß filtrierter Gewebesaft bei Injektion in reaktionsfähige Organe ohne jede Wirkung blieb, machte ich noch bei verschiedenen anderen Pflanzen. Hierher gehören die Crassulaceen *Sedum spectabile*, *S. Sieboldii*, *Urbinia Purpusii* und *Bryophyllum crenatum*, ferner *Sansevieria guineensis* und *Peperomia amplexicaulis*. Bei allen diesen verschwand die ein-

gespritzte Flüssigkeit aus den Interzellularen der Laubblätter, ohne merkliche Reste darin zurückzulassen.

Obgleich nun bei *Saintpaulia* und *Crassulaceen* die Reizschwelle mit einer für das Auge unter dem Mikroskop noch erkennbaren Dicke der Ablagerungsschicht in Zusammenhang gebracht wurde, soll diese Annahme keineswegs verallgemeinert werden. Es ist sehr wohl denkbar, daß bei gewissen Objekten unter überhaupt nicht nachweisbaren Spuren von Gewebesafresten Zellteilungen sich einstellen.

4. *Begonia*-Arten.

Den besten Beweis für die Notwendigkeit dieser Einschränkung liefert das Verhalten von *Begonia*-Arten, die auf Verletzung mit starker Wundkorkbildung reagieren: Blattstiele von *Begonia sanguinea* und *Begonia manicata* zeigten beim Grundversuch auch bei Leitungswasserinjektion im gesamten injizierten Bereich stark gebräunte Interzellularen und lebhaftere Teilung der an sie grenzenden Zellen. Hier genügen also schon die geringen Mengen von Zellinhalt, die beim Einstich austreten und durch das Wasser mitgerissen werden, um weite Gewebestrecken (von einer Längenausdehnung bis zu 8 cm!) zur Reaktion zu veranlassen. Es ergibt sich daraus, daß bei verschiedenen Pflanzen der Gehalt des zerstörten Gewebes an teilungsauslösenden Stoffen sehr verschieden sein muß — oder auch, daß (bei gleicher Konzentration der Reizstoffe) die Empfindlichkeit ihrer lebenden Zellen diesen Stoffen gegenüber sehr ungleich ist.

Objekte mit weiten Interzellularen.

Da besonders bei der Injektion trüben Gewebesaftes der Reibungswiderstand in den engen Interzellularen bei den meisten der vorher erwähnten Objekte beträchtlich war, wurde es nötig, Versuchspflanzen mit weiten Luftkanälen zu wählen, die sich in dieser Hinsicht günstiger verhielten. Bei allen diesen wurde zum Primärversuch stets trüber Gewebesaft benutzt, da filtrierter Saft in den angegebenen Fällen sich als wirkungslos erwiesen hatte.

1. *Gratiola officinalis*.

Der Stengel von *Gratiola officinalis* ist sowohl im Mark als auch in der Rinde von mehr oder minder weiten Luftkanälen durchsetzt, die nur durch einschichtige Gewebslamellen voneinander getrennt, das ganze Internodium längs durchziehen. Die Zellen ragen mit schwacher Wölbung in das Innere der Hohlräume vor, so daß den Grenzen zwischen zwei Zellen jeweils Rinnen in der Kanalwand entsprechen. Die zwischen drei oder vier Kanälen verlaufenden Grenzpfleiler bestehen in der Regel aus drei oder mehr Zellreihen, welche durch engere Interzellularspalten voneinander getrennt sind. Außerdem treten enge Interzellularen im peripheren Teile des Markes auf, das erst nach innen zu aus einem normalen Parenchym in den eben geschilderten lakunösen Bau übergeht. Die Diaphragmen der Knoten weisen sowohl im Mark als auch in der Rinde verschiedene Lücken auf, welche der Injektionsflüssigkeit den Durchtritt in benachbarte Internodien gestatten.

Die Versuche mit *Gratiola* (hauptsächlich Injektionsversuche mittels der Injektionspritze) wurden von Anfang Juni bis Ende August 1922 an Freilandpflanzen im Garten des Institutes angestellt. Der Gewebesaft wurde nach Entfernung der Blüten und Knospen aus den gesamten Sproßteilen hergestellt. Der Einstich erfolgte an jüngeren, eben erst ausgewachsenen Internodien (in $\frac{2}{3}$ Sproßhöhe), und zwar dicht unter dem oberen Knoten mit abwärts gerichteter Kanüle. Dabei drang (wie schon beim Injizieren erkennbar) die Flüssigkeit in mehrere Internodien unterhalb, besonders aber oberhalb der Injektionswunde vor, oder stieg auch, am Knoten angelangt, in benachbarten nicht angestochenen Luftkanälen rückläufig auf- bzw. abwärts.

Nach Injektion von Leitungswasser ist (besonders deutlich an Längsschnitten) die Ausbildung eines verhältnismäßig scharf abgegrenzten Narbengewebes zu sehen, das an der Einstichstelle in nächster Nachbarschaft der Wunde entsteht. Dasselbe läuft in eine mehr oder minder große Zone kallöser Wucherungen aus, deren Teilungswände, wenn überhaupt regelmäßig gerichtet, zur Oberfläche der Kanalwände parallel verlaufen. Von der Mitte des Injektionsinternodiums ab nach unten

ist das Gewebe unter allen Umständen völlig normal und teilungsfrei; über diese Grenze werden Wundsaft und Plasmareste nicht mitgerissen. Nur ausnahmsweise findet man im Knoten am Ende des Injektionsinternodiums wieder Spuren einer Reaktion (vereinzelte, selten geteilte Kallusblasen), verursacht durch winzige verschleppte Zellpartikel.

In Gewebesaftprossen sind dagegen auf weite Strecken hin (im Maximum hatte der injizierte Bereich eine Ausdehnung von 6–7 cm) ausgiebige Reaktionen zu beobachten: kleine Interzellularen, mit Gewebesaftresten verstopft, werden in fast schematischer Weise von Wänden umrahmt, die senkrecht zur Richtung des Reizes stehen. Die dem Interzellularraum zunächst liegenden Tochterzellen sind auffallend klein. Auch in der Umgebung größerer Kanäle, deren Wandung gleichmäßig mit der Restschicht bedeckt ist, wird der Umriß des betreffenden Hohlraums von den neu angelegten Teilungswänden genau wiederholt. (Taf. III, Fig. 7 und 10.)

Besonders bemerkenswert ist das Verhalten der Zellen, welche die erwähnten Grenzpfiler bilden. Diese werden häufig von mehreren (meist zwei) Seiten zugleich gereizt, da ihre freien Wände verschiedenen injizierten Kanälen angehören. Sind zwei Reizrichtungen einander genau entgegengesetzt, so wird die Teilungswand in der Zellmitte¹, und zwar in dem auf beiden Richtungen senkrecht stehenden Durchmesser angelegt. Wenn aber die Tangentialebenen, die man sich an die überschichteten Oberflächen angelegt denken kann, nicht parallel sind, sondern sich unter einem beliebigen Winkel schneiden, so bildet die betreffende Zelle meist zwei Wände aus, die miteinander den entsprechenden Winkel bilden. (Taf. III, Fig. 8.) Klar treten diese Verhältnisse jedoch nur an frühen Stadien, bei gleichmäßiger Ablagerung der Injektionsreste, hervor.

Die jungen Wände entstehen nach 4, spätestens nach 6 Tagen (die im Sommer 1922 so häufigen kalten Regentage ließen deutlich eine Verzögerung der Reaktion bemerken). Gleichzeitig fangen die im Injektionsbereich liegenden Zellen an, reichlich zu hypertrophieren. (Taf. III, Fig. 6.) Sie wachsen,

¹) In den übrigen, einseitig gereizten Zellen liegt die junge Wand stets der überschichteten Zelloberfläche genähert.

mehrfach sich teilend, oft nach oben oder unten sich krümmend, in das Lumen der Kanäle hinein, um es schließlich vollkommen auszufüllen. Nach 14 Tagen etwa befindet sich an der Stelle des ehemaligen Interzellularkanals ein parenchymatisches Gewebe, in dem man zwischen fest verwachsenen, etwas ungleich großen Zellen nur hier und dort noch vielgestaltige Interzellularräume erblickt, welche Injektionsreste enthalten. Über die Herkunft der einzelnen Elemente, die das pathologische Gewebe zusammensetzen, ist in diesem Stadium — nach Erstarbung der Teilungswände — natürlich nichts Sicheres mehr auszusagen. Wenn man aber bei der Untersuchung nach 6—8 Tagen sein Augenmerk besonders auf Stellen ungleichmäßiger Restablagerung richtet und einzelne Zellgruppen in ihrer Beziehung zu den lokal wirkenden Gewebesaftresten studiert, findet man überall dieselben Vorgänge:

Die hypertrophierenden Zellen neigen sich über die Gewebesaftreste und legen sich ihnen eng an; ihre Membranen verwachsen miteinander, wenn sie sich berühren. Man findet dann in demselben optischen Querschnitt oft Zellen, die aus ganz verschiedenen Höhen stammen. Während nämlich eine sehr dick überschichtete Zelle überhaupt nicht auswächst, sondern sich nur teilt, wuchern von allen Seiten her ihre Nachbarzellen über ihr zusammen. So findet man die verschiedensten Gruppen, bei denen stets die Gewebesaftreste zwischen der ehemaligen Kanalbegrenzung und den abgeplatteten Membranteilen der wuchernden Zellen fest eingeschlossen sind. (Taf. III, Fig. 9.) Wachsen dagegen benachbarte Zellen infolge gleichmäßigen Reizes gleichmäßig aus, so bleiben die Reste an den ohnehin stets vertieften Stellen der Kanalwand, die den Zellgrenzen entsprechen, zurück. Da aber nun jede der wuchernden Zellen die Partikel zu umwachsen strebt, schließen sich ihre Membranen unmittelbar darüber zusammen. So bleiben die Gewebesaftreste in sekundär gebildeten Interzellularen zurück, die auf Querschnitten als winzige mit brauner Substanz erfüllte Spalten erscheinen. Die die Teilungsrichtung der Zelle beherrschende Regel gilt aber nicht für die zuerst angelegten Wände: Auch nach solchen »sekundären« Interzellularen werden überaus häufig noch Wände orientiert.

Die übrigen Versuchspflanzen waren durchweg Wasserpflanzen. Über Wundheilung bei denselben liegen bereits verschiedene Angaben vor. Beschrieben wurden Wunden unbekanntes Alters und unbekannter Herkunft an *Nymphaea alba* von Mellink 1886 (13, S. 745), an *Nuphar luteum* von v. Alten 1910 (1, S. 89ff.). Beiden Autoren waren besonders die schlauchförmigen, selten geteilten Wucherungen aufgefallen, welche die Luftgänge der betreffenden Blattstiele durchwachsen hatten. Wächter (21, S. 450), der die Wundheilung bei *Hippuris vulgaris* untersuchte, berichtet von Hypertrophien ohne jede Zellteilung; seine Angaben darüber sind aber unsicher.

Sowohl v. Alten (1, S. 90) als auch Wächter (21, S. 451) erwähnen das Vorkommen einer braunen Masse in den pathologisch veränderten Luftgängen, wodurch erst ein vollständiger Verschluß erreicht werde. Gürtler (7) hat 1905 durch absichtliche Verwundung Hypertrophien in den Luftkanälen von *Nymphaeoiden* (*Nymphaea*, *Cabomba*, *Myriophyllum*, *Limnanthemum* und *Brasenia*) bewirkt und berichtet von einer »Schleimsubstanz«, welche sich zwischen den hypertrophierenden Zellen finde. Eine Neubildung von Schleimsubstanz seitens der bereits hypertrophierten Zellen habe aber nicht stattgefunden. Alle seine Angaben (7, S. 57, 60 und 66) deuten darauf hin, daß diese »Schleimsubstanz« nichts anders darstellt als die verschleppten Reste desorganisierter Zellen, die zuletzt als braun gefärbte Massen in engen Zwischenräumen eingeschlossen werden. Bei der Untersuchung zahlreicher Wunden der erwähnten Pflanzen habe ich niemals irgendeine andere auffällige Substanz in den Luftgängen beobachtet. Gürtler erkennt den wahren Kausalzusammenhang, wenn er die »wesentliche Bedeutung einer vermehrten Wasseraufnahme« für das Zustandekommen dieser interzellularen Hypertrophien betont. Lohse dagegen meint in einer Arbeit, welche erst nach dem Abschluß meiner Versuche veröffentlicht wurde, daß die Hypertrophie von Kanalwandzellen nicht durch Einwirkung eines bestimmten äußeren Faktors (physikalischer oder chemischer Natur) auf das wundnahe Gebiet ausgelöst wird (12, S. 360 und 366). Nach seiner Ansicht verdanken die thyllenartigen Bil-

dungen ihr Dasein »korrelativen Spannungsunterschieden« (Gleichgewichtsstörungen), welche vor allem durch das Absterben von Zellen oder Gewebekomplexen hervorgerufen werden. Die »experimentelle Erzeugung von Thyllen in vorgebildete Hohlräume«, deren Möglichkeit Lohse erörtert, gelingt auf dem Wege der Gewebesafteinjektion, und damit ist der Beweis geliefert, daß auch das Auftreten von Hypertrophien nach Verwundung auf den Einfluß von Wundstoffen zurückzuführen ist. Sieht man sich die Ergebnisse der Gewebesafteinjektion bei Wasserpflanzen näher an, so findet man im Grunde ganz die für *Gratiola* geschilderten Verhältnisse wieder.

2. *Myriophyllum brasiliense*.

Bei *Myriophyllum brasiliense* und *Bacopa amplexicaulis*¹ zwei über das Wasser emporragenden Wasserpflanzen, sind die für uns in Frage kommenden anatomischen Verhältnisse so ähnlich, daß ich sie für beide gemeinsam besprechen möchte. Ein parenchymatisches Rindengewebe wird von großen, radiär angeordneten Luftkanälen durchzogen, deren radiale Trennungswände einschichtige Gewebelamellen darstellen. Die Knotendiaphragmen, welche allein den Längsverlauf der Kanäle unterbrechen, gestatten bei der Injektion nur ganz geringen Flüssigkeitsmengen den Durchtritt. Infolgedessen werden bei Verwendung trüben Gewebesaftes am Grunde des Injektionsinternodiums große Massen von Partikeln gestaut. (Taf. III, Fig. 15.) Der periphere Teil der Rinde weist nur winzige Interstitien auf; der innere Teil aber, d. h. der zwischen den Luftkanälen und der Stärkescheide gelegene, wird von kleinen längsverlaufenden Interzellulargängen durchsetzt, die bei *Bacopa* in radialen Reihen liegen, und deren Querschnitt rhombisch, seltener fünf- oder sechseckig ist. Auf den Kanalwänden von *Myriophyllum* sitzen morgensternförmige Drusen aus Calciumoxalat, die in kleinen rundlichen Zellen entstehen, welche papillenartig ins Innere des Hohlraumes vorspringen. Später legt sich die beim Heranwachsen der Druse stark gedehnte Zellmembran dem Kristall so eng an, daß er frei in den Kanal

¹) *B. amplexicaulis*: eine *Gratiola* sehr nahestehende, in Nordamerika heimische Scrophulariacee.

zu ragen scheint. Erst nach Lösung des Kristalls läßt sich in allen Fällen die außerordentlich zarte Membran nachweisen.

Der Injektionseinstich wurde bei *Myriophyllum* und *Bacopa* in der für *Gratiola* angegebenen Weise vorgenommen.

Der Grundversuch bei *Myriophyllum* (die Versuche liefen von Mitte August bis Mitte September 1922) ergab folgendes Verhalten der Injektionssprosse:

Leitungswassersprosse: An der Injektionswunde sind zahlreiche Teilungen parallel zur Wundfläche eingetreten, aber auch parallel zur Begrenzung der zunächst gelegenen Kanäle, die stets Spuren von Plasmaresten bzw. Bräunung zeigen. Die Teilungen im Rindenparenchym liefern ein Vernarbungsgewebe, das streng auf die eigentliche Wunde begrenzt ist, während in den betreffenden Kanälen — deren Wandzellen geteilt, aber auch kallusartig hypertrophiert sind — die Reaktion sich noch auf eine kurze Strecke hin fortsetzt. Diese Verschleppungszone dehnt sich in der Regel nicht weiter als auf 10 Zellenlängen aus. Auf Längsschnitten sieht man, daß meist am Diaphragma im Grunde des Injektionsinternodiums, selten auch an Kristalldrüsen etwas oberhalb davon, spärliche Teilungen eingetreten sind, deren Ursache sich stets in lokaler Bräunung oder in braunen Partikelchen verrät. Der übrige Teil des Injektionsinternodiums aber ist ganz normal und zeigt keinerlei Verschleppungsspuren.

Gewebesäftersprosse zeigen nach Injektion trüben Gewebesafte (der durch Zerreiben ganzer beblätterter Sprosse hergestellt wurde) im ganzen Injektionsinternodium lebhaft Zellteilungen. Nach einer Woche schon sind die Zellen, welche injizierte Kanäle begrenzen, mehrfach geteilt und oft sehr lang ausgewachsen, so daß der betreffende Kanal fast ausgefüllt erscheint. Am Grunde des Injektionsinternodiums hat sich um die hier abgelagerten Rückstandsmengen ein richtiger »Wundkork«-Mantel gebildet, ohne daß vorher Zellen abgestorben wären. Niemals werden die Partikelmengen am Grunde eines stark injizierten Internodiums von Kalluswucherungen durchwachsen. Diese finden sich nur an der Grenze der stark überschichteten Teilungszonen und weiter oben, wo die Reste spärlich und ungleichmäßig abgelagert wurden, sowohl an den tan-

gentialen wie an den radialen Kanalwänden. Hier werden die Reste von den wuchernden Zellen durch Krümmung überwachsen und eingeschlossen, und es kommt zur Bildung »sekundärer« Interzellularen. Hier zieht sich ferner der Injektionsrückstand oft nur an den Kristalldrüsen der Kanalwände zusammen, dann bewirken die winzigen Ablagerungen eine streng begrenzte Reaktion. Während darunter liegende Zellen sich teilen, wachsen die benachbarten aus, legen sich aneinander, und die braun überschichtete Druse wird schließlich von kallusartigen Zellblasen gänzlich umschlossen. (Taf. III, Fig. 17.) Bei der Flächenaufsicht auf frühe Stadien solcher Zellwucherungen bemerkt man häufig, daß winzige, lokal verteilte braune Klümpchen die einzelnen Zellen sogar zu mehreren Ausstülpungen veranlaßt haben.

3. *Bacopa amplexicaulis*.

Für *Bacopa* ist in bezug auf ihre Reaktion bei dem Grundversuch vieles für *Myriophyllum* Gesagte zu wiederholen. Ich will mich daher kurz fassen und nur Abweichungen betonen.

Leitungswassersprosse: Am Grunde der injizierten Kanäle wurden niemals, abgesehen von einem einzigen Fall, die geringsten Spuren einer Reaktion infolge Verschleppung von Zellpartikelchen beobachtet. Die Injektionswunden verhalten sich wie bei *Myriophyllum*. Doch setzen die Teilungen bei *Bacopa* später (nach 5—6 Tagen) und mit milderer Lebhaftigkeit ein. Bei reichlichem Wasserzutritt während der Vernarbung, wenn z. B. die Wunde sich unter Wasser befindet, können die Zellen stark hypertrophieren und unter Teilung zu langen Schläuchen auswachsen, bis vollkommene Ausfüllung des ehemaligen Kanalraumes erfolgt ist.

Gewebesaftsprosse: Auch diese zeigen (nach Injektion trüben Gewebesafte) deutlich, daß bei *Bacopa* das blasige Auswachsen der Kanalwandzellen vor Anlage der ersten Wände einzusetzen pflegt (nach 3—4 Tagen). In diesem Anfangsstadium zeigt das Kanalinnere in der Flächenansicht besonders deutlich die Beziehung zwischen Restablagerung und Reaktion: Auf den grünen Parenchymlamellen sind inselartige Flächen braunflockig überdeckt, und nur auf diesen Inseln erscheinen

helle Kallusblasen. Die Interzellularen der Innenrinde sind bei *Bacopa* etwas weiter als bei *Myriophyllum* und deshalb nicht in der ganzen Länge des Injektionsinternodiums mit Gewebesafresten ausgekleidet. Sobald überhaupt Teilung einsetzt, sind die an diese Interzellularen grenzenden Zellen viel kleiner als ihre Schwesterzellen. (Taf. III, Fig. 13, 14.) Im Knoten am Grunde des Injektionsinternodiums werden wieder reichlich Gewebspartikel gestaut. Die an sie angrenzenden Kanalwände weisen reichliche Zellteilungen auf. Da die Diaphragmen Lücken aufweisen, werden geringe Partikelmengen auch hindurchgepreßt; dann entstehen jenseits des Diaphragmas, wo immer sie sich abgelagert haben mögen, lokale Kalluswucherungen. (Taf. III, Fig. 15.) In allen Kanälen, wo es zu einseitiger oder nur zu streng lokaler Restablagerung kommt, neigen die seitlich von der Ablagerungsschicht gelegenen Zellen zu hypertrophischem Wachstum. Sie wachsen dann stets, während die überschichteten Zellen sich teilen, unter starker Krümmung auf die Reste zu und legen sich ihnen eng an. (Taf. III, Fig. 16.) Es kann nach allem keinem Zweifel unterliegen, daß es sich hierbei wie in früheren Fällen dieser Art um eine chemotropische Reaktion handelt.

4. *Nymphaea Leydeckeri*.

Von *Nymphaea*-Arten wurde genauer besonders die Gartenform *Nymphaea Leydeckeri* untersucht und an ihrem Standort in einem Teichbecken des botanischen Gartens injiziert (Beginn der 1. Versuchsreihe 11. 7., der 2. Versuchsreihe 12. 8. 22).

Das mannigfaltige Durchlüftungssystem der *Nymphaea*-Arten, deren Blattstiele außer engen Interzellularen längsverlaufende Kanäle der verschiedensten Weite führen, macht sie zu überaus günstigen Versuchsobjekten. Die vier größten Kanäle des Blattstiels (Durchmesser etwa 1—1,3 mm) liegen bei *N. Leydeckeri* um ein zentrales Leitbündel symmetrisch gruppiert, je zwei auf der morphologischen Ober- und Unterseite des Blattstiels. Auf dem Querschnitt bilden also die mehrschichtigen Gewebelamellen, welche sie voneinander trennen, ein Kreuz, dessen Mittelpunkt das Leitbündel darstellt. Je ein kleinerer Kanal (Durchmesser 0,6—0,7 mm) durchzieht ferner die linke und rechte Hälfte des Blattstiels. Außer diesen weiten Kanälen sind engere Kanäle

von verschiedenem Durchmesser so dicht im Gewebe verteilt, daß selten mehr als eine Zellschicht sie voneinander trennt. Sämtliche Luftgänge — auch die engsten Interstitien, welche überall Anastomosen zwischen den weiten Gängen bilden — sind von einem zarten kutinisierten¹ Häutchen ausgekleidet, das für Wasser benetzbar ist. Dieser Umstand ist für die später zu erörternde natürliche Ausbreitung von Wundstoffen wichtig.

In allen größeren Gängen kommen sternförmig verzweigte sklerenchymatische Elemente vor, »Trichoblasten«, in deren Wände prismatische Kalziumoxalatkristalle eingelagert sind. Ihre Entstehung aus Kanalwandzellen wurde von Gürtler (7) an verschiedenen *Nymphaea*-Arten untersucht. Bei *Nymphaea* L. sind sie äußerst zahlreich, und ihre längsten Arme ragen in den großen Blattstielkanälen meist senkrecht zur Wand in den Hohlraum hinein. Als weitere Differenzierung der Wandzellen dieser großen Kanäle wären noch eigenartige Drüsenschuppen zu nennen, die ich bei keiner anderen *Nymphaea*-Art beobachtet habe. Sowohl die freien Trichoblastenarme, wie diese vielzelligen, von farblosen Sekretmassen umhüllten Drüsenschuppen bildeten besondere Ablagerungsstätten für Gewebesaftpartikel. — Der Längsverlauf der Lufträume im Blattstiel ist nirgends durch Diaphragmen unterbrochen, während in der Spreite ununterbrochene Gänge nur zu beiden Seiten der größeren Nerven sich hinziehen, wodurch der Injektionsflüssigkeit ein ganz bestimmter Weg aufgezwungen wird.

Der Injektionseinstich wurde in der Regel an der Unterseite des Blattstieles und zwar direkt am Spreitenansatz vorgenommen. Dabei durchströmt die Flüssigkeit gleichzeitig mit Leichtigkeit den Blattstiel in seiner ganzen Länge und einen mehr oder minder großen Teil der Spreite, wenn man die an ihrer Basis ausgespannten Diaphragmen durchsticht. — Wird bei *Nymphaea* trüber Gewebesaft in der oben angegebenen Weise hergestellt, so erhält man eine schleimige Flüssigkeit, die bei der Injektion einige Schwierigkeiten bereitet. Ich habe deshalb bei der zweiten Versuchsreihe eine Aufschwemmung

¹) Diese »Kutikula« färbt sich bei Behandlung mit Jodjodkalium und verdünnter Schwefelsäure gelb, ist in konzentrierter Schwefelsäure ziemlich schwer, aber nicht unlöslich.

des zu Pulver zerriebenen getrockneten Materiales benutzt. Diese ist auch mit einer feinen Kanüle leicht zu injizieren, wenn man den aufgeschwemmten Partikeln nicht zu erheblicher Quellung Zeit läßt.

a) Blattstiele, mit Leitungswasser injiziert, unterschieden sich bei *Nymphaea* nicht erheblich von solchen, die nur angestochen wurden. — Die Reaktion griff in der Längsrichtung der verwundeten Organe nach beiden Richtungen in der Regel 3—5 mm weit (im Höchsthalle einmal 1 cm weit) um sich und bestand in dieser Zone in hypertrophischem Wachstum der Kanalwandzellen. Diese treiben lange schlauchförmige Ausstülpungen in das Lumen der Kanäle hinein, in welchen Querteilung zwar vorkommt, aber nicht besonders häufig und ohne Gesetzmäßigkeit¹. An der eigentlichen Wunde dagegen werden durchgehende Zellwandreihen ausgebildet, nicht nur parallel zur Wundfläche, sondern auch parallel zum Umriß der Kanäle und Kanälchen sowie ganz enger Interzellularen.

b) In Blattstielen, die mit suspendierten Gewebepartikelchen injiziert sind, werden beide Arten der Reaktion, Teilung und Hypertrophie, ausgelöst. Zunächst war bei *Nymphaea* L. nur das Auswachsen von Zellen, die an Lufträume des injizierten Bereiches grenzten, zu bemerken. In den großen Kanälen wird die derbe Zellulosemembran der Wandzellen meist lokal verändert; schon ehe eine schwache Vorwölbung zu bemerken ist, wird die betreffende Stelle ganz zart und dünn. Allmählich wachsen Papillen in das Lumen hinein, breiter oder schmaler und sehr vielgestaltig. Die Teilungswände treten spät auf. Noch nach 7 Tagen fand ich in injizierten Bereichen (sowohl der Blattstiele wie Blattspreiten) erst verhältnismäßig kurze Papillen ohne bestimmte Krümmungstendenz und keine Teilungen. Nach 14 Tagen sind aber bereits durchgehende Wandreihen ausgebildet, und jetzt erst läßt die Verteilung der beiden Reaktionsarten eine bestimmte Gesetzmäßigkeit erkennen.

¹) Die an den Membranen dieser pathologischen Zellen entstehenden Pro tuberanzen, die den Vöchtingschen (20, 32) Pektinwarzen entsprechen, wurden nicht näher untersucht. Auch bei *Gratiola* treten an den freien Membranteilen der Zellwucherungen ähnliche Bildungen auf.

Enge Interzellularspalten sind, wenn überhaupt injiziert und mit Partikeln verstopft, streng parallel von Wänden umrahmt wie bei anderen Objekten.

Schon an den kleineren Kanälen aber findet man außer Teilungen auch reichliche Hypertrophie der Wandungszellen. Sind dabei einige in ihrem Wachstum den benachbarten stark vorausgeeilt, liegt ausnahmslos der Stelle, der sie zustreben, eine dickere Restschicht an. So ergeben sich Bilder, die den von Gratiola beschriebenen gleichen, nur daß bei der stärkeren Neigung der Nymphaeazellen zu hypertrophischem Wachstum schließlich der gesamte zur Verfügung stehende Raum ausgefüllt werden kann. (Taf. III, Fig. 18.) — Die Fähigkeit, mit Hypertrophie auf die Injektion zu reagieren, kommt sämtlichen Zellen des Blattstielgewebes zu. Auch Wandzellen der Interzellulargänge der Leitbündel wuchern nach lokaler Verdünnung ihrer stark verdickten freien Membran in die Gänge hinein. An den oben erwähnten, von Sekretmassen umhüllten Drüenschuppen findet man zwar selten ausgewachsene Zellen, diese aber gerade dann, wenn auf ganz dünner Sekretschicht die Gewebsreste abgelagert wurden. Daß auch bei Nymphaea das Auftreten von Hypertrophie oder Teilung, bzw. einer Kombination beider Vorgänge von der Art und Weise abhängt, in der sich die Partikel des Gewebesaftes auf der Wandung ablagern, tritt am besten an den großen Kanälen zutage, deren Lumen den auswachsenden Zellen keinerlei Beschränkung auferlegt:

1. Kanäle, deren Wandung gleichmäßig und zwar mit dicker Restschicht bedeckt ist, können — wie die Wunde im engeren Sinne — von Wänden parallel umrahmt sein, ohne daß bedeutende Streckung der geteilten Wandzellen eingetreten wäre. Die Teilung greift hier und da auch auf die zweite Zellschicht hinüber.

2. Wird in großen Kanälen der Injektionsrückstand zerstreut abgelagert, d. h. als Schicht nur auf lokal begrenzten Flächen, so bleibt auch die Reaktion auf jene Ablagerungszentren beschränkt. Dann tritt besonders an späten Stadien ein eigentümliches Verhalten der Wandzellen zutage, das sich nur unter der Annahme einer chemotropischen Empfindlichkeit

erklären läßt. Während wieder alle überschichteten Zellen sich ein- oder mehrmals teilen, hypertrophiert ihre engere und weitere Nachbarschaft in sehr charakteristischer Weise: Die an der Grenze der Schicht auswachsenden Schläuche biegen unmittelbar an ihrer Basis um, und kriechen auf den Geweberesten entlang; sie breiten sich nach allen Seiten hin darüber aus, wobei ihre Membranen miteinander verwachsen. (Taf. III, Fig. 24.) Entferntere Zellen aber krümmen sich — je weiter entfernt in desto höherem Bogen — über ihre Nachbarzellen hinweg und neigen sich gleichfalls über die Reste. (Taf. III, Fig. 21.) Über das Zustandekommen des richtenden Diffusionsgefälles kann man sich allerdings keine Gewißheit verschaffen. Es ist möglich, daß eine intrazelluläre Ausbreitung vom Ort der Ablagerung ausgeht; mindestens ebenso wahrscheinlich ist aber auch eine Diffusion in der wasserdurchtränkten Membran oder in der adhärierenden Flüssigkeitsschicht des Interzellularraumes — und schließlich ist auch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß von den Gewebsresten Dämpfe ausgehen, die aërotropische Reaktionen veranlassen.

Die seltsamsten Bilder entstehen, wenn Partikel der Injektionsflüssigkeit auf besonders langen, in das Kanallumen ragenden Armen der Trichoblasten abgelagert werden. An solchen Armen klettern einzelne Schlauchzellen in dem Bestreben, stets eng den Gewebsresten sich anzulegen, vom Grunde bis zur Spitze empor. (Taf. III, Fig. 23.) Oder ein einziger braun überschichteter Trichoblast bildet einen Anziehungspunkt für die verschiedensten Zellen der Nachbarschaft, die gemeinsam auf ihn zustreben und an ihm entlang wachsen. Unter Umständen findet man in einem Querschnitt keine einzige ausgewachsene Zelle außer einer solchen bizarren Gruppe, die sich um einen Trichoblasten in wirrem Durcheinander verschlingt. Ist aber die betreffende Kanalwand in ihrer ganzen Ausdehnung hypertrophiert, so fallen die Ablagerungszentren dadurch auf, daß sie besonders zahlreiche Schlauchzellen angelockt und zu stärkerem Längenwachstum angeregt haben. (Taf. III, Fig. 22.)

Bei *Nymphaea Leydeckeri* waren die mit Leitungswasser injizierten Blattspreiten von den mit Gewebspartikeln injizierten

schon äußerlich leicht zu unterscheiden, weil nur in letzteren die obere Epidermis des injizierten Bereiches (oft auch sämtliche Palisadenschichten) Anthocyan zu bilden pflegt. Auf diese Weise wird der Weg, den der Gewebesaft bei der Injektion genommen, von der Pflanze selbst markiert und — dem oben geschilderten Zusammenhang der Luftgänge entsprechend — ein tiefrotes Nervennetz auf der grünen Blattfläche eingezeichnet¹. Auch Anthocyanbildung nach Verwundung ist also ein Vorgang, der durch Wundstoffe ausgelöst wird und mit ihrer Fortleitung an Ausdehnung gewinnt. Wenn man bei derartig rotgeäderten Blättern von *N. Leydeckeri* dicht unter der Epidermis geführte Flächenschnitte von unten betrachtet, finden sich reichlich Injektionsreste in den Atemhöhlen und in den Spalten selbst abgelagert; gleichzeitig beobachtet man den stärksten Anthocyangehalt² in der Regel in der Nachbarschaft von Spaltöffnungen bzw. in der Umgebung von Atemhöhlen.

Nymphaea-Arten (*N. lotus*, *N. dentata*, *N. coerulea*, *N. rubra* × *lotus*), die im Victoria Regia-Haus des botanischen Gartens in Wasser von 25—27° C. wuchsen, zeigten dieselben Reaktionserscheinungen, nur nach viel kürzerer Zeit. Nach 4 Tagen waren hier schon 1—3 Wände in den geteilten Zellen zu beobachten, ferner sehr lange, energisch gekrümmte Schlauchzellen. Bei *N. lotus* und *N. rubra* × *lotus* fand ich bereits nach 18 Stunden intensive Anthocyanfärbung über injizierten Bereichen der Lamina.

IV. Injektion der Gefäße und mechanischen Fasern.

Abgesehen von den Interzellularen kann eine Fortleitung von Wundstoffen auch im Lumen langgestreckter toter Elemente der Pflanze stattfinden. Daß auch von Gefäßen oder Libri-formfasern, die mit Wundsaft erfüllt sind, ein Reiz ausgehen kann, der die angrenzenden Zellen zu einer »Wundreaktion«

¹) Dieses Verhalten erinnert an eine Angabe Küsters, nach der bei *Saxifraga ligulata* bei Verwundung nur das Gewebe an den Rippen Anthocyan ausbildet, »unmittelbar an der Wundstelle am intensivsten, deutlich erkennbar aber selbst noch in einer Entfernung von 1—½ cm von der Wunde«. (Path. Pflanzenanat., 1. Aufl., 1903, S. 58.) — Starke Anthocyanbildung im Injektionsbereich war übrigens auch bei den Begoniablattstielen zu beobachten.

²) Mit Auswachsen reagieren die Palisadenzellen nur in den seltensten Fällen.

veranlaßt, zeigten in der Tat verschiedene Beobachtungen bei Injektionsversuchen.

In den vermittels Luftdruck injizierten Solanumsprossen, in geringerer Höhe aber auch über der Schnittfläche von nur abgeschnittenen Sprossen, zeigte sich die Wandung vieler Gefäße braun tingiert oder ihr Lumen mit braunen Massen angefüllt. In der Nachbarschaft solcher Gefäße treten allmählich bedeutende Größen- und Lagenveränderungen der einzelnen Elemente ein, so daß sich nach 6—8 Tagen schon ein ganz anormales Bild des Gefäßbündelbaues ergibt. Die an die Gefäße angrenzenden Parenchymzellen fangen nämlich von neuem an zu wachsen und strecken sich sämtlich in radialer Richtung. Meist treten auch mehr oder minder zahlreiche Teilungen in ihnen auf; das Lumen des Gefäßes wird schließlich spaltenförmig zusammengedrückt.

Bei *Gratiola* nahmen, wenn der Einstich den Gefäßbündelbereich getroffen hatte, die angestochenen Gefäße stets reichlich die betreffende Injektionsflüssigkeit auf. Selbst aufgeschwemmte Stärkekörnchen wurden auf diese Weise durch zwei ganze Internodien oberhalb bzw. unterhalb der Injektionswunde transportiert; die braune Gewebesaffärbung war oft noch im 4. Internodium zu bemerken. Da bei der Injektion nur einige wenige Gefäße (oft 2 oder 3) mit Wundsaft erfüllt werden, machte sich bei diesem Objekt das Wachstum der umgebenden Zellen stark bemerkbar: Aus dem sonst fest geschlossenen Holzzylinder wölbte sich nur die pathologisch veränderte Stelle in das Mark und gegen die Rinde vor. Außerdem trat bei *Gratiola* die Reaktion besonders deutlich zutage, weil hier die Gefäße zwischen stark verdickten Holzparenchymzellen liegen. Diese erweitern, wenn das an sie grenzende Gefäß sich mit Wundsaft füllt, ihre Lumina ganz beträchtlich, und ihre sehr dünn werdenden Wände zeigen nicht mehr die Holzreaktionen. (Taf. III, Fig. 27.) Die Zellen sind von neuem wachstumsfähig. Wir haben hier also einen Fall vor uns, der dem Goebelschen Bild entspricht: Die Rückkehr dieser somatischen Zellen in den embryonalen Zustand ist verbunden mit der Auflösung einer »Inkrustation«, die direkt nachweisbar ist. Goebel (6, S. 486) rechtfertigt seinen bildlichen Ausdruck mit einer Angabe von Crüger

(3, S. 370), der schon 1860 beobachtet hatte, daß Zellen mit bereits verdickter Zellwand nach Verwundung die Verdickungsschichten wieder auflösen¹.

Auch bei *Bacopa* und *Myriophyllum* ließ sich die radiale Streckung und Teilung der an Gefäße grenzenden Zellen sehr gut beobachten. In weiter Entfernung von der Injektionswunde, auf sonst völlig normalen Querschnitten, kann die Umgebung braun verstopfter Gefäße Wundreaktion zeigen: Das Gefäßlumen sinkt etwas zusammen und wird manchmal ringsum von Wänden, die in den Nachbarzellen auftreten, eingerahmt. (Taf. III, Fig. 25 und 26.) Wenn man den Verlauf solcher angestochenen Gefäße auf Längsschnitten verfolgt, sieht man deutlich, daß oft die Gewebesafreste nur lokal zusammengeballt darin zurückbleiben. In weiten Abständen findet man Stellen, wo sie mehr oder minder reichlich abgelagert sind. Gerade an diesen Stellen sind die zartwandigen Hadromparenchymzellen stark verbreitert und haben benachbarte Spiral- oder Ringgefäße zum Ausbiegen gezwungen. An der Wundfläche selbst bilden mit Wundsaft erfüllte Gefäßgruppen oft gesonderte Reizzentren und führen dadurch zu scheinbaren Ausnahmen von der für die Teilungen an Wundflächen gültigen Parallelitätsregel.

V. Analoge Erscheinungen bei einfachen Wunden.

Die in den vorangegangenen Abschnitten beschriebenen Reaktionen geben ein Mittel in die Hand, scheinbar anormales Verhalten nach einfacher Verwundung zu deuten. Es ist leicht einzusehen, daß — etwa bei Stich- oder Schnittwunden — Zellsaft und Trümmer der verletzten Zellen sowohl in Interzellularen, als auch in Librifasern oder Hadromelementen kapillar, z. T. durch die Transpirationssaugung beschleunigt, eingesogen werden. Hier sind sie meist durch die braune Farbe des an den Wänden abgelagerten Rückstandes deutlich zu er-

¹) Seither liegen namentlich von Schenck (17, II. Teil, S. 22 [IV] und S. 34) ähnliche Beobachtungen vor, denen zufolge in Lianenstämmen die an Gefäße grenzenden Holzparenchymzellen, ferner auch Markstrahlzellen und Markzellen, wieder auswachsen können und das sogenannte Dilatationsparenchym bilden. In jüngster Zeit hat auch Schilling (18, S. 532 ff.) in den Anschwellungen geknickter Flachs- und Hanfstengel das Auswachsen und die häufige Teilung verholzter Zellen festgestellt, wobei die Verholzung der Wände allmählich verlorengeht.

kennen. Bei genügend empfindlichen Objekten treten dann lokale Teilungsherde oder Hypertrophien um Interzellularen in weiter Entfernung von der Wunde auf — kurz alle die auch durch absichtliche Injektion erzielten Reaktionen¹. In der Nähe der Wunde selbst treten die von den Interzellularen bzw. Hadromelementen aus wirkenden Reizstoffe in Wettbewerb mit den direkt von der Wundfläche aus in die Nachbarzellen hineindiffundierenden Wundhormonen, und es ergeben sich je nach der Weite der Interzellularen und der Empfindlichkeit der Pflanzen bereits in der ersten oder erst in den folgenden Zellschichten Abweichungen von der Regel, daß die Wände parallel der Wundfläche verlaufen.

Reichliche Teilungen dieser Art zeigten sich z. B. bei Sprossen von *Solanum*, Blattstielen von *Saintpaulia*, Laubblättern von *Urbinia Purpusii* und besonders an Blattstielen und -spreiten von *Begonia*-Arten, sowie an dem Interzellularsystem der verschiedensten Wasserpflanzen (vgl. z. B. Taf. III, Fig. 20). Das für *Nymphaea* eingehend beschriebene schlauchartige Auswachsen gereizter Zellen findet sich ebenfalls in der Nähe von verschleppten Geweberesten, vor allem aber in der Nachbarschaft der Wunde selbst und führt infolge des chemotropischen Zusammenneigens zu einem Verschuß der Wunde durch ein lockeres Zellgeflecht. (Taf. III, Fig. 19.)

VI. Über die Art und Weise der Gewebesaftwirkung.

Die mehrfach, besonders bei Objekten mit weiten Interzellularen gemachte Beobachtung, daß nur solcher Gewebesaft wirksam ist, der mikroskopisch sichtbare Partikel enthält, führt zu der Frage, ob an dem Zustandekommen der Reaktionen in diesen Fällen rein physikalische Faktoren — z. B. Berührungsreize — beteiligt seien. Es wurde versucht, die Beziehung zwischen positiver Reaktion und dem Plasma- bzw. Zelltrümmergehalt des Gewebesaftes durch Versuche mit *Gratiola officinalis* zu klären. Durch Zentrifugieren der Preßsäfte und durch mehr oder minder reichlichen Wasserzusatz wurde die

¹) Derartige Beobachtungen wurden bereits mehrfach, zuerst wohl von Crüger (3, S. 372), weiter von Frank (4, S. 104) und Mellink (13, S. 751) beschrieben, freilich nicht zutreffend gedeutet.

Größe und Dichte der aufgeschwemmten Partikel in verschiedenster Weise variiert. Dabei fand ich, daß stets nur dort, wo der goldbraune Injektionsrückstand mikroskopisch noch nachträglich an den Zellwänden haftend zu erkennen war, Reaktion eintrat. Am Diaphragma des ersten im Wege stehenden Knotens unterliegt die Injektionsflüssigkeit beim Hindurchtreten einer unvollständigen Filtration, die sich in den nächstfolgenden Knoten noch wiederholen kann. Auf diese Weise entstehen in den oberhalb und unterhalb der Injektionswunde gelegenen Knoten stets Restanhäufungen an der Unter- bzw. Oberseite der Diaphragmen. Bei geringer Größe und Dichte der Partikel wurden dieselben fast sämtlich über den Diaphragmen niedergeschlagen, am dichtesten am Grunde des Injektionsinternodiums. Dann war nur hier eine Reaktion zu verzeichnen und zwar äußerst lebhaft Hypertrophie und Teilung, während das ganze Internodium — abgesehen von der Injektionswunde — wuchrungs- und teilungsfrei erschien. Wurden jedoch große Partikel mit viel Wasser aufgeschwemmt, so war das Ergebnis besonders instruktiv. Diese blieben nämlich ganz vereinzelt auch im Internodium hängen und veranlaßten dann hier eine streng lokal begrenzte Reaktion. (Taf. III, Fig. 11.) — Wird eine stark verdünnte Aufschwemmung grober Partikel in die Laubblätter eingespritzt, was mit einiger Vorsicht gut gelingt, so ergeben sich weitläufig im Injektionsbereich verstreut die seltsamsten Bilder: Nur die mit Partikeln behafteten Assimilations- bzw. Schwammparenchymzellen wachsen zu enorm großen Blasen heran (Taf. III, Fig. 12) und können sich auch teilen.

Nur unter einer deutlich erkennbaren Auflagerung fester Partikel wurden also die Gratiolazellen zu Auswachsen und Teilung angeregt. Hiernach schien es nicht ausgeschlossen, daß ein rein physikalischer Reiz oder die lokale Aufhebung des Gasaustausches der überschichteten Zellen bei der Auslösung der Reaktion beteiligt sei. Es mußten also chemisch neutrale, physikalisch aber genau wie die Gewebesaftrreste sich verhaltende Körper injiziert werden, eine Aufgabe, die nicht restlos zu lösen ist. Aufschwemmungen von feinsten Quarzsandteilchen (durch Zentrifugieren wurden aus feingestoßenem Sand die gröberen Partikel entfernt), von Schlämmkreide oder Reis-

stärkekörnchen drangen zwar leicht im Gewebe vor, unterschieden sich aber doch wesentlich in der Art ihrer Ablagerung von den Gewebesäftresten. Es fielen beim Schneiden der Injektionssprosse nicht nur aus gänzlich vollgestopften Kanälen die in der Mitte befindlichen Teilchen heraus, auch in nicht so reichlich erfüllten Kanälen war diese Art von Partikeln nur lose flockig in der Nähe der Wandungen angehäuft. Luftdichter Abschluß ist damit sicher nicht zu erzielen. Sehr ähnlich wie bei der Gewebesäftinjektion gestalten sich die physikalischen Verhältnisse dagegen bei der Injektion von Gelatinelösungen oder von dünnflüssigem Stärkekleister, wobei die erstarrende Schicht ganz analog der Restschicht des Gewebesaftes klebrig festhaftend die Membranen überzieht. Alle diese Versuche ergaben nun bei weitem nicht so gleichmäßige, eindeutige Resultate wie die bisher erwähnten.

Reine Gelatinelösung bewirkt im allgemeinen keine Teilungen, obgleich sie bei einer Konzentration von 1,5% die Wand der injizierten Kanäle relativ gleichmäßig mit dicker Schicht bekleidet. Auffallend war aber, daß man bei den Serienschnitten plötzlich unvermittelt auf einige Stellen stieß, wo unter Schichten von verdächtig gelber Färbung Teilung eingetreten war. (Besonders häufig im Knoten am Grunde des Injektionsinternodiums.) Es war dies augenscheinlich dieselbe Tinktion, welche die Gelatineauflagerung stets in der Nähe der Injektionswunde aufweist, wo sie ausnahmslos von Teilung begleitet ist. — Auch die bei Injektion von Reis- und Weizenstärkekleister (2%) unter der Ablagerung zerstreut vorkommenden Teilungen auf eine Verschleppung von Zellpartikelchen zurückzuführen, trage ich kein Bedenken. Es kommt nämlich vor, daß gerade Zellen, die nur von ganz dünnen Resten bedeckt sind, sich teilen, während andererseits mit dicker, gleichmäßiger Schicht bedeckte Kanäle reaktionsfrei sind. Soll dieses ungleiche Verhalten überhaupt eine Erklärung finden, ist jene die einzig mögliche. — Unter Sandauflagerung habe ich niemals Teilungen gefunden. — Stärkekörnernaufschwemmung ergab dieselben schwankenden Resultate wie Stärkekleister. — Schwer erklärlich ist jedoch das Verhalten der Zellen bei Kreideinjektion, wobei etwa 25% mit Teilung reagierten.

Es handelt sich hier meist um gänzlich vollgestopfte Kanäle, bei denen streckenweise sämtliche Wandzellen sich parallel zu ihren freien Membranflächen fächerten, ohne die Partikel einzuschließen. Ein Auswachsen und Überkrümmen der Zellen fand in keinem Falle statt. Es traten aber in den Serienschnitten durch solche Kanäle immer wieder unvermittelt Stellen auf, wo die Wandzellen ungeteilt waren. In anderen Sprossen fand ich an ebenso stark erfüllten Kanälen nicht eine einzige geteilte Zelle. Vielleicht besteht der Einfluß der Kreideteilchen in einer durch mechanischen Reiz bewirkten Schädigung der Zellen, die nicht überall eintritt, und die niemals zum Absterben führt. In mechanisch beschädigten, nicht getöteten Zellen kann ja — wie oben erwähnt — auch Teilung ausgelöst werden.

Jedenfalls beweisen diese Versuche mit *Gratiola*, daß die Teilungen unter Gewebesaftresten, bei denen die winzigsten Partikelmengen unfehlbar die Reaktion auslösen, sicher nicht auf einen rein physikalischen Reiz zurückzuführen sind, sondern daß eine chemische Beeinflussung vorliegt, die von der mehr oder minder konzentrierten Lösung von Reizstoffen ausgeht, womit die Gewebepartikel imbibierte sind. Nur auf Grund dieser Annahme wird es auch verständlich, daß neben der Restschicht befindliche Zellen auswachsen und sich über diese hinwegkrümmen und eng daran anlegen, ein Verhalten, das bei anderen Objekten noch in viel auffallenderer Weise zutage trat. —

Über die chemische Qualität der wirksamen Stoffe im Gewebesaft läßt sich ebenso wie über die Vorgänge, die sich im Gewebesaft vom Augenblick der Herstellung an bis zur Ablagerung des verhältnismäßig homogen erscheinenden Injektionsrückstandes vollziehen, kaum etwas Sicheres aussagen. Einige orientierende Versuche, der Natur dieser Reizstoffe näher zu kommen, wurden wiederum an *Gratiola* angestellt.

Eine erste Versuchsreihe stellte die positive Wirkung von gekochtem, nicht filtriertem Gewebesaft sicher. Die Reaktion tritt auch dann ein, wenn man die Pflanzen vor dem Zerreiben durch Abkochen tötet (durch $\frac{1}{2}$ stündiges Kochen im Dampftopf). Aber nur trübe, d. h. mit plasmatischen bzw. Membranresten versehene Gewebesäfte wirkten teilungsauslösend; filtrierte Säfte ergaben überhaupt keine Reaktion. Zu bemerken ist

hierzu, daß bei *Gratiola* (wie bei *Crassulaceen*) filtrierter Gewebesaft nirgends mehr als eine schwache Tinktion der Membranen, keine einigermaßen erkennbare Rückstandsschicht, hinterläßt. Beim Abkochen filtrierten Saftes tritt keine Koagulation von Eiweißstoffen auf wie bei *Solanum* und *Saintpaulia*.

Bei *Saintpaulia* wurde gelegentlich festgestellt, daß gekochter Gewebesaft dieselben Erscheinungen hervorruft wie nicht abgekochter, aber nur, wenn die koagulierten Eiweißteilchen nicht durch Filtration entfernt, sondern fein zerrieben mit eingespritzt werden.

Auch in der Wärme getrocknetes und dann pulverisiertes Material behält seine Wirksamkeit, wie aus den oben beschriebenen Versuchen mit *Nymphaea Leydeckeri* hervorgeht und sich in gleicher Weise bei Versuchen mit *Gratiola* ergab.

Weitere Versuche mit *Gratiola*, welche bezweckten, die Reizwirkung des Gewebebreies durch Extraktion der fein zerriebenen frischen Pflanzensubstanz mit verschiedenen Lösungsmitteln — wie Wasser, Alkohol, Äther, Toluol, verdünnte Salzsäure oder Kalilauge — aufzuheben, waren ohne Erfolg. Stets ergab sich eine positive Wirkung des nach 48 Stunden ausgewaschenen, mit Wasser wieder aufgeschwemmten Extraktionsrückstandes. — Der mit Wasser aufgenommene, durch Destillation vom Lösungsmittel befreite Alkohol-, Äther-, Toluolextrakt, sowie wässrige Extrakte waren wirkungslos.

Aus den geschilderten Erfahrungen läßt sich lediglich entnehmen, daß wenigstens ein Teil der Reizstoffe recht widerstandsfähig, zum mindesten thermostabil und nicht flüchtig ist. Autolytische Vorgänge, an die *Haberlandt* (10, S. 41, 42) denkt, scheinen für das Eintreten der Reaktion nicht notwendig zu sein. — Wieweit an dem Abbau, der sich tatsächlich vollzieht, Mikroorganismen beteiligt sind, lasse ich dahingestellt. *v. Alten* (1, S. 90) fand in Wunden von *Nuphar luteum* braune Schleimmassen, d. h. also die natürlichen Wundstoffe (Zeretzungsstoffe), von zahllosen Pilzhyphen durchzogen, während ich in meinen Injektionsresten dergleichen nie beobachtet habe.

Bei *Gratiola* anderseits nahm bei Luftdruckinjektion abgeschnittener Sprosse und nachfolgender Wasserkultur der Injektionsrückstand in verschiedenen Kanälen ganz verschiedene

Färbung an (schmutzig gelbbraun, rotbraun, schwarz) und zeigte Anhäufungen von Bakterien. Gerade in diesen Sprossen aber blieb, obgleich sie sich reichlich bewurzelten, jede Reaktion auf die Reste aus, während in den Freilandpflanzen stets gleichmäßig goldbraun aussehende Reste abgelagert wurden und unfehlbar Zellteilungen auslösten¹.

VII. Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

Durch die Injektion arteigener Gewebesäfte und Zellpartikel in das Interzellularsystem von Stengeln und Blattstielen verschiedener Pflanzen werden noch in weiter Entfernung von der Injektionsstelle Dauerzellen, die an die Interzellularen grenzen, zu erneutem Wachstum und zur Teilung angeregt. Daraus ist zu schließen, daß auch bei einer gewöhnlichen Verwundung in den Zersetzungsprodukten der getöteten Zellen die Ursache zu suchen ist, welche die Teilungen der angrenzenden unversehrten Zellen auslöst.

¹) Anmerkung. Schilling hat in seiner letzten Arbeit »Ein Beitrag zur Physiologie der Verholzung und des Wundreizes« durch Knickung von Hanf- und Flachsstengeln umfangreiche hypertrophische und hyperplastische Gewebewucherungen erzielt, an denen außer dem Holzkörper auch Rinde und Mark beteiligt waren. Nach einer eingehenden Diskussion der möglichen Faktoren des Wundreizes vertritt er die Ansicht, »daß nicht spezifische ‚Wundhormone‘ im Sinne Haberlands, sondern Korrelationsstörungen Wachstumsreize auslösen«. Darauf ist zu erwidern, daß Haberlandt die Existenz von Wundreizstoffen, die Zellteilungen bewirken, experimentell bewiesen hat und daß auch die Ergebnisse meiner Versuche auf das bestimmteste die Existenz solcher Wundhormone dartun. Unter den Einwänden, die Schilling erhebt, ist zunächst der zu erwähnen, daß seine Versuche mit »korrelativ stark beeinflussten Gewebeanteilen«, nämlich mit »Sproßachsengewebe« angestellt wurden, während Haberlandt mit Scheiben aus Knollen, mit Blättern und Haaren experimentiert hat. Es ist aber nicht einzusehen, weshalb Kohlrabi- und Kartoffelknollen, die ja doch auch aus »Sproßachsengewebe« bestehen, sowie auch Blätter korrelativ weniger stark beeinflusst sein sollen. Übrigens habe ich selbst auch mit Laubspossen experimentiert und auch für diese die Wirksamkeit von Wundreizstoffen festgestellt. Schilling rechnet ferner mit der Möglichkeit, daß die Zellen unter den anormalen Kulturbedingungen Haberlands für Wundhormone empfänglich sein können, »brauchten dies aber nicht dann, wenn sie innerhalb des Organs unter dem korrelativen Einfluß ihrer Nachbarzellen stünden«. Auch dieser Einwand wird durch meine Versuchsergebnisse hinfällig, wie ich nicht näher auszuführen brauche. Schilling erblickt in »Korrelationsstörungen« das Wesen des die Zellteilungen auslösenden Wundreizes, ohne angeben zu können, worin diese Korrelationsstörungen bestehen. Er kommt in dieser Hinsicht über bloße Mutmaßungen nicht hinaus.

In den injizierten Bereichen wird eine typische »Wundreaktion«, einerseits Teilung (meist verbunden mit Streckungswachstum der betreffenden Zellen), anderseits kallöse Wucherung ausgelöst. Beide Teilvorgänge der Reaktion zeigen in ihrem Auftreten eine deutliche Beziehung zum Injektionsrückstand. Sie sind jeweils beschränkt auf den Ort, an welchem beim Eintrocknen der Injektionsflüssigkeit Zellpartikel, bzw. die Ausfällungen des Gewebesaftes abgelagert werden.

Regelmäßige Teilung tritt nur unmittelbar unter einer Ablagerungsschicht ein. Die neu auftretenden Zellwände stehen hier stets senkrecht zur Diffusionsrichtung der von den Interzellularen her in die Zellen eintretenden Reizstoffe. Bei einseitiger Reizung wandert der Zellkern zunächst chemotaktisch gegen den betreffenden Interzellularraum zu, und die bei der darauffolgenden Teilung entstehenden Tochterzellen sind von sehr ungleicher Größe.

Kallöse Wucherung setzt mehr oder minder ausgiebig an den weiteren Luftgängen aller untersuchten Objekte ein, falls die Wandzellen nicht zu stark überschichtet wurden. Sie führt zu einem vollkommenen Umwachsen der Injektionsreste, da sämtliche den Resten benachbarte Zellen zu Blasen oder Schläuchen auswachsen, welche sich gegen das Reizzentrum hin krümmen. In den weiten Luftkanälen von *Nymphaea*-Arten wachsen nicht nur die unmittelbar an der Grenze der Injektionsreste liegenden Zellen zu Schläuchen aus, sondern auch solche in mehr oder minder weiter Entfernung. Dann fällt die chemotropische Krümmung der Kallusschläuche gegen die Injektionsreste besonders auf. Wenn sich solche Reste, was häufig geschieht, auf den in die Luftkanäle hineinragenden Armen der Trichoblasten abgelagern, wachsen die Kallusschläuche an diesen oft bis zur Spitze empor.

Die bei Verletzungen pflanzlicher Organe entstehenden Wundreizstoffe können außer durch Diffusion in lebenden Zellen auch interzellulär oder im Lumen von Gefäßen und mechanischen Fasern durch Kapillaritätskräfte fortgeleitet werden. So erklären sich die nicht seltenen Fälle einer Wundreaktion in weiterer Entfernung von der eigentlichen Wunde, sowie alle Ausnahmen von der Regel, daß die nach Verwundung auftretenden Zell-

wände parallel zur Wundfläche orientiert sind. Die Ausnahmen sowohl wie die Regel finden ihre gemeinsame Erklärung durch den Umstand, daß die Wandorientierung von der Diffusionsrichtung der Wundreizstoffe abhängig ist.

Die vorliegende Arbeit wurde (vom Herbst 1921 bis Ende des Jahres 1922) im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Berlin unter Leitung von Herrn Geh. Regierungsrat Prof. Dr. G. Haberlandt ausgeführt. Ich danke meinem hochverehrten Lehrer für die Anregung zu dieser Arbeit und das wohlwollende Interesse, das er ihrem Fortgang stets entgegenbrachte.

Figurenerklärung.

Tafel III.

Fig. 1—4. *Solanum tuberosum*, etiolierte Sprosse mit filtriertem Gewebesaft infiltrierte.

Fig. 1. Mit Injektionsrückstand erfüllter Interzellularraum. Ungleiche Tochterzellen. Querschnitt 1,5 cm über Schnittfläche nach 6 Tagen¹.

Fig. 2. Lokal verstopfte Interzellularspalte. Längsschnitt 2 cm über Schnittfläche nach 6 Tagen.

Fig. 3. Reaktion bei lokaler Infiltration. Querschnitt nach 8 Tagen. Nur infiltrierte Interzellularen eingezeichnet.

Fig. 4. Reaktion bei fast totaler Infiltration. Querschnitt nach 8 Tagen. Nur infiltrierte Interzellularen eingezeichnet.

Fig. 5. *Saintpaulia ionantha*, Teilungen im Blattstiel nach Injektion von trübem Gewebesaft. Querschnitt 2,5 cm über Injektionswunde nach 32 Tagen.

Fig. 6—11. *Gratiola officinalis*, Sprosse mit trübem Gewebesaft injiziert.

Fig. 6. Injizierter Luftkanal des Rindengewebes. Querschnitt nach 11 Tagen.

Fig. 7. Injizierter Luftkanal des Markes. Querschnitt nach 6 Tagen.

Fig. 8. Doppelseitig gereizte Markzelle. Querschnitt nach 5 Tagen.

Fig. 9. Übersichtete Zellen geteilt, Nachbarzellen hypertrophiert und über die Gewebesaftriste hinweggekrümmt. Querschnitt nach 14 Tagen.

Fig. 10. Mark eines stark injizierten Sprosses. Querschnitt 4 cm über Injektionswunde nach 5 Tagen.

Fig. 11. Streng lokal begrenzte Reaktion bei lokaler Restablagerung. Querschnitt 1,2 cm über Injektionswunde nach 6 Tagen.

¹) Die Zeitangaben beziehen sich auf die zwischen Infiltration bzw. Injektion und mikroskopischer Untersuchung verfllossene Zeit.

Fig. 12. *Gratiola officinalis*, Blattquerschnitte. Oben: normale Umgebung einer Spaltöffnung. Unten: nach Injektion von trübem Gewebesaft sind die mit Partikeln behafteten Zellen hypertrophiert. Nach 7 Tagen.

Fig. 13—16. *Bacopa amplexicaulis*, Sprosse mit trübem Gewebesaft injiziert.

Fig. 13. Großer Luftkanal der Rinde. Teilung und Hypertrophie der Wandzellen nach reichlicher Restablagerung. Querschnitt nach 14 Tagen.

Fig. 14. Interzellularraum der inneren Rinde, mit Gewebesafresten erfüllt und von Wänden umrahmt. Querschnitt nach 8 Tagen.

Fig. 15. Längsschnitt durch den Knoten an der Basis eines beim Injizieren oben angestochenen Internodiums. Nach 17 Tagen. In den Diaphragmen nur reagierende Zellen gezeichnet.

Fig. 16. Luftkanäle der Rinde mit einseitig abgelagerter Restschicht: Hypertrophierte Zellen unter Krümmung auf die Restschicht zuwachsend. Querschnitt nach 16 Tagen.

Fig. 17. *Myriophyllum brasiliense*, Luftkanäle der Rinde nach Injektion von trübem Gewebesaft. Vorgeschrittene Reaktion auf zerstreute Restablagerung: Übersichtete Kristalle gänzlich umschlossen. Querschnitt nach 25 Tagen.

Fig. 18. *Nymphaea Leydeckeri*, Luftgang der Blattspreite nach Injektion von trübem Gewebesaft. Querschnitt in 7 cm Entfernung von Injektionswunde nach 14 Tagen.

Fig. 19. *Nymphaea dentata*, Querschnitt durch Stichwunde im Blattstiel. Nach 16 Tagen.

Fig. 20. *Nymphaea dentata*, Blattstielquerschnitt in 0,5 cm Entfernung von einfacher Stichverletzung. Nach 16 Tagen.

Fig. 21—24. *Nymphaea Leydeckeri*, großer zentraler Blattstielkanal nach Injektion von trübem Gewebesaft.

Fig. 21. Teilungen und chemotropisch gekrümmte hypertrophierende Zellen. Querschnitt nach 12 Tagen.

Fig. 22. Ein mit Ablagerungsschicht bedeckter Trichoblast als Reizzentrum. Querschnitt nach 9 Tagen.

Fig. 23. Einzelne Schlauchzelle am Trichoblasten entlang wachsend. Querschnitt nach 9 Tagen.

Fig. 24. Das Verwachsen der Schlauchzellen nach Berührung der Ablagerungsschicht. Querschnitt nach 12 Tagen.

Fig. 25. *Bacopa amplexicaulis*, lokale Teilung an verstopftem Gefäß. Querschnitt 1,5 cm über Injektionswunde nach 13 Tagen.

Fig. 26. *Myriophyllum brasiliense*, lokale Teilungen neben injizierten Gefäßen. Querschnitt 1,2 cm unter Injektionswunde nach 6 Tagen.

Fig. 27. *Gratiola officinalis*, Reaktion der an injizierte Gefäße grenzenden Zellen. Querschnitt 2,3 cm über Injektionswunde nach 10 Tagen.

Literaturverzeichnis.

1. v. Alten, Zur Thyllenfrage. Bot. Zeitg. 1910. 68, II, S. 89.
2. v. Bretfeld, Über Vernarbung und Blattfall. Pringsh. Jahrb. 1880. XII, S. 133.
3. Crüger, Einiges über Gewebeveränderungen bei der Fortpflanzung durch Stecklinge. Bot. Zeitg. 1860. 18, 369.

4. Frank, Die Krankheiten der Pflanzen. Breslau. 1. Aufl. 1880.
5. —, Über Veränderung der Lage der Chlorophyllkörner und des Protoplasmas in der Zelle usw. Pringsh. Jahrb. 1872. VIII, S. 216.
6. Goebel, Über Regeneration im Pflanzenreiche. Biol. Centralbl. 1902. **22**, 385.
7. Gürtler, Über interzellulare Haarbildungen. Diss. Berlin. 1905.
8. Haberlandt, Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. Sitzgsber. Ak. Wiss. Wien. math.-naturw. Kl. 1902. **111**, 1.
9. —, Über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone. Sitzgsber. d. Preuß. Ak. d. Wiss. 1921. VIII, S. 221.
10. —, Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. z. allg. Bot. 1921. **2**, Heft 1.
11. Küster, Pathologische Pflanzenanatomie. Jena. 2. Aufl. 1916.
12. Lohse, Entwurf einer Kritik der Thyllenfrage mit Ergebnissen eigener Versuche. Bot. Archiv. 1924. **5**, Heft 5—6. S. 345.
13. Mellink, Zur Thyllenfrage. Bot. Zeitg. 1886. **44**, 745.
14. Mohl, Über den Vernarbungsprozeß bei der Pflanze. Ebenda. 1849. **7**, 641.
15. Schacht, Anatomie und Physiologie der Gewächse. I. Teil. Berlin. 1856.
16. Schenck, Beitr. zur Biologie und Anatomie der Lianen. Jena. 1892.
17. Schilling, Ein Beitrag zur Physiologie der Verholzung und des Wundreizes. Pringsh. Jahrb. 1923. **62**, 528.
18. —, Über hypertrophische und hyperplastische Gewebewucherungen an Sproßachsen, verursacht durch Paraffine. Ebenda. 1915. **55**, 177.
19. Vöchting, Unters. zur experimentellen Anatomie und Pathologie des Pflanzenkörpers. Tübingen. 1908.
20. Wächter, Wundverschluß bei *Hippuris vulgaris*. Beih. bot. Centralbl. 1905. **18**, 1, S. 447.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [16](#)

Autor(en)/Author(s): Reiche Hildegard

Artikel/Article: [Über Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebesäften und Zelltrümmern. 241-278](#)