

Biologiske Meddelelser
udgivet af
Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab
Bind **23**, nr. 10

Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. **23**, no. 10 (1959)

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DETERMINATION UND
DIFFERENZIERUNG

6. ÜBER DEN AUFBAU
DES ZELLWANDMUSTERS DES BLATTES
VON *HELODEA DENSA*

VON

P. BOYSEN JENSEN

With an English Summary



København 1959
i kommission hos Ejnar Munksgaard

DET KONGELIGE DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB udgiver følgende publikationsrækker:

THE ROYAL DANISH ACADEMY OF SCIENCES AND LETTERS issues the following series of publications:

	<i>Bibliographical Abbreviation</i>
Oversigt over Selskabets Virksomhed (8°) (<i>Annual in Danish</i>)	Overs. Dan. Vid. Selsk.
Historisk-filosofiske Meddelelser (8°)	Hist. Filos. Medd. Dan. Vid. Selsk.
Historisk-filosofiske Skrifter (4°) (<i>History, Philology, Philosophy, Archeology, Art History</i>)	Hist. Filos. Skr. Dan. Vid. Selsk.
Matematisk-fysiske Meddelelser (8°)	Mat. Fys. Medd. Dan. Vid. Selsk.
Matematisk-fysiske Skrifter (4°) (<i>Mathematics, Physics, Chemistry, Astronomy, Geology</i>)	Mat. Fys. Skr. Dan. Vid. Selsk.
Biologiske Meddelelser (8°)	Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk.
Biologiske Skrifter (4°) (<i>Botany, Zoology, General Biology</i>)	Biol. Skr. Dan. Vid. Selsk.

Selskabets sekretariat og postadresse: Dantes Plads 5, København V.

The address of the secretariate of the Academy is:

*Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab,
Dantes Plads 5, København V, Denmark.*

Selskabets kommissionær: EJNAR MUNKSGAARD's Forlag, Nørregade 6, København K.

The publications are sold by the agent of the Academy:

*EJNAR MUNKSGAARD, Publishers,
6 Nørregade, København K, Denmark.*

Biologiske Meddelelser
udgivet af
Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab
Bind **23**, nr. 10

Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. **23**, no. 10 (1959)

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DETERMINATION UND
DIFFERENZIERUNG

6. ÜBER DEN AUFBAU
DES ZELLWANDMUSTERS DES BLATTES
VON *HELODEA DENSA*

VON

P. BOYSEN JENSEN

With an English Summary



København 1959
i kommission hos Ejnar Munksgaard

Synopsis.

Der Bau des *Helodeablattes* ist sehr einfach. Es besteht mit Ausnahme des Mittelnervs nur aus zwei Schichten von kistenförmigen Zellen.

Die Initialzellen der Blattanlagen treten auf dem Vegetationskegel als horizontale erhabene Wülste hervor. Ein Längsschnitt durch den Vegetationskegel zeigt, dass ein solcher Wulst aus zwei Zellreihen besteht, die sich je zu der oberen und unteren Zellschicht des Blattes entwickeln.

Die Initialzellen entstehen aus den Epidermiszellen durch Änderung der Wachstumsrichtung der Zellwände und zwar in folgender Weise:

Epidermiszellen		Blattzellen	
Tangentiale Zellwände	Diffuses Wachstum (Longit. + tangent. W.)	Transversale Antikline	Orientiertes, transversales Wachstum
Radiale Zellwände	Orientiertes longitudinales Wachstum	Longitudinale Antikline	Orientiertes, longitudin. Wachstum
Transvers. Zellwände	Orientiertes tangential. Wachstum	Obere, mittlere und untere Zellwände	Diffuses Wachstum (Longit. + transvers. Wachstum).

Die Veränderungen der Wachstumsrichtung entstehen wahrscheinlich durch eine Umlagerung der Zellulosenbildner an der Oberfläche der Papillen, die in die Zellwände hineinragen.

Die Blattanlagen bilden ein bestimmtes Muster, so dass schliesslich 4-gliedrige Quirle hervorgehen.

Die Entwicklung der einzelnen Zellen während der Blattbildung am Vegetationskegel kann nicht durch die Einwirkung des schon vorhandenen Musters in Verbindung mit der Reaktionsfähigkeit der Zellen erklärt werden. Man wird zu der Annahme gedrängt, dass ein ganzheitschaffender Faktor von nicht physikalischer Natur bei den Differenzierungsvorgängen im Vegetationskegel beteiligt ist.

1. Einleitung.

Wenn man wünscht zu verstehen, was Leben ist, muss man versuchen, sich den eigentlichen Lebensäusserungen so viel wie möglich zu nähern. Als eigentliche Lebensäusserungen betrachten wir solche, die mit dem Organismus an sich, d. h. mit der Struktur desselben, verknüpft sind, und die nicht *in vitro* verlaufen können.

Die Lebenserscheinungen sind natürlich an das Plasma geknüpft. Damit aber dieselben in planmässiger Weise verlaufen können, muss bei den Pflanzen das Plasma in einem zweckdienlichen¹ Zellwandgerüst untergebracht sein. Dieses Gerüst wird von dem Plasma gebildet. Der Aufbau des Zellwandmusters gehört zu den eigentlichen Lebensäusserungen in dem oben erwähnten Sinne. Zwar ist es möglich, dass der Aufbau von Zellulose *in vitro* verlaufen können, es ist aber ausgeschlossen, dass der Aufbau des Zellwandmusters in einem leblosen Medium stattfinden kann. Die Erforschung dieses Aufbaues ist daher sehr wohl geeignet, uns zu einem näheren Verständnis der Arbeitsweise des Plasmas zu verhelfen.

Tatsächlich sind die Differenzierungsvorgänge in den Pflanzen hauptsächlich mit dem Aufbau des Zellwandmusters verknüpft. Die Inhaltsstoffe und die Organellen sind im grossen und ganzen dieselben in allen lebenden Zellen. Sowohl über- als unterirdische Organe können Chlorophyll, Carotin, Stärke u.s.w. bilden. Der

¹ Eine jede Pflanze ist in eine bestimmte Umwelt eingebaut. Damit eine Pflanze sich soll behaupten können, muss ihr Zellwandmuster so gebaut sein, dass sie die notwendigen Nährstoffe und die notwendige Energie von der Umgebung aufnehmen kann, dass sie ferner diese und andere von ihr selbst erzeugten Stoffe in den Körper herumtransportieren kann, und schliesslich dass sie sich gegen zu starken Wasserverlust schützen kann. Um sich fortpflanzen zu können, muss eine Pflanze häufig durch sehr komplizierte Vorgänge Spermazellen von einer anderen Pflanze derselben Art zugeführt bekommen. Auch diese Vorgänge werden durch Ausbildung besonderer Organe, der Blüten, mit sehr komplizierten Zellwandmustern ermöglicht (vgl. BOYSEN JENSEN 1939).

wichtigste Unterschied zwischen den verschiedenen Plasmasorten ist, dass das Wurzelplasma ein Wurzelzellwandmuster, das Sprossplasma ein Sprosszellwandmuster und das Blütenplasma ein Blütenzellwandmuster aufbaut. Diese Differenzierungen sind nicht mit Änderungen des Gengehaltes in den Zellen verknüpft, was daraus hervorgeht, dass sie in gewissen Fällen reversibel sind. Es können z. B. bei gewissen Pflanzen Sprosse an Wurzeln gebildet werden.

Die spezifische Gestalt einer Pflanze ist somit vornehmlich durch den Aufbau des Zellwandmusters ihrer Organe bestimmt. Es sind ferner die Unterschiede zwischen den spezifischen Gestalten der 150.000 verschiedenen Arten von Samenpflanzen letzten Endes durch den verschiedenartigen Aufbau ihrer Zellwandmuster verursacht. Es geht wohl hieraus zur Genüge hervor, dass Untersuchungen über den Aufbau des Zellwandmusters für das Verständnis der Gestaltungsprobleme innerhalb der Pflanzenwelt von fundamentaler Bedeutung sind.

2. Der Aufbau des Zellwandmusters bei *Helodea densa*.

Als Beispiel des Aufbaues eines Zellwandmusters, soll die Entwicklung einer sehr einfach gebauten Blütenpflanze, nämlich *Helodea densa*, in Kürze beschrieben werden (vgl. Abb. 1).

Die Sprossachse. Der Vegetationskegel oberhalb der Blattanlagen besteht, wie es aus Abb. 2,1 hervorgeht, aus einer zweischichtigen Tunica und dem Korpus.

Die Epidermis, die den Scheitel des Kegels bedeckt, ist in Abb. 2,2 dargestellt. In dem unteren Teil befindet sich eine grössere Zelle, die sich soeben geteilt hat, übrigens sind die Zellen ungefähr gleich, eine bestimmte Anordnung derselben ist nicht zu beobachten; es besteht doch vielleicht eine Neigung zur Bildung von longitudinalen Zellreihen.

In den Abb. 2,3,1, 3,2 finden sich Flächen-, Längs- und Querschnitte der Epidermis, die den übrigen Teil des Vegetationskegels bedeckt. Es geht aus diesen Abbildungen hervor, dass die Epidermis aus Zellen besteht, die unmittelbar vor der Zellteilung ungefähr kubisch, nach der Zellteilung prismatisch sind. Die Zellen sind im grossen und ganzen in longitudinalen Reihen angeordnet, doch kaum so regelmässig wie in der Wurzelepidermis.



Abb. 1. Medianer Längsschnitt durch die Sprossachse von *Helodea densa*. Zwischen den Blättern sind Schleimsschuppen (S). Die eckigen Figuren im Stengel sind Interzellularräume. Zeichenapparat 36/1.

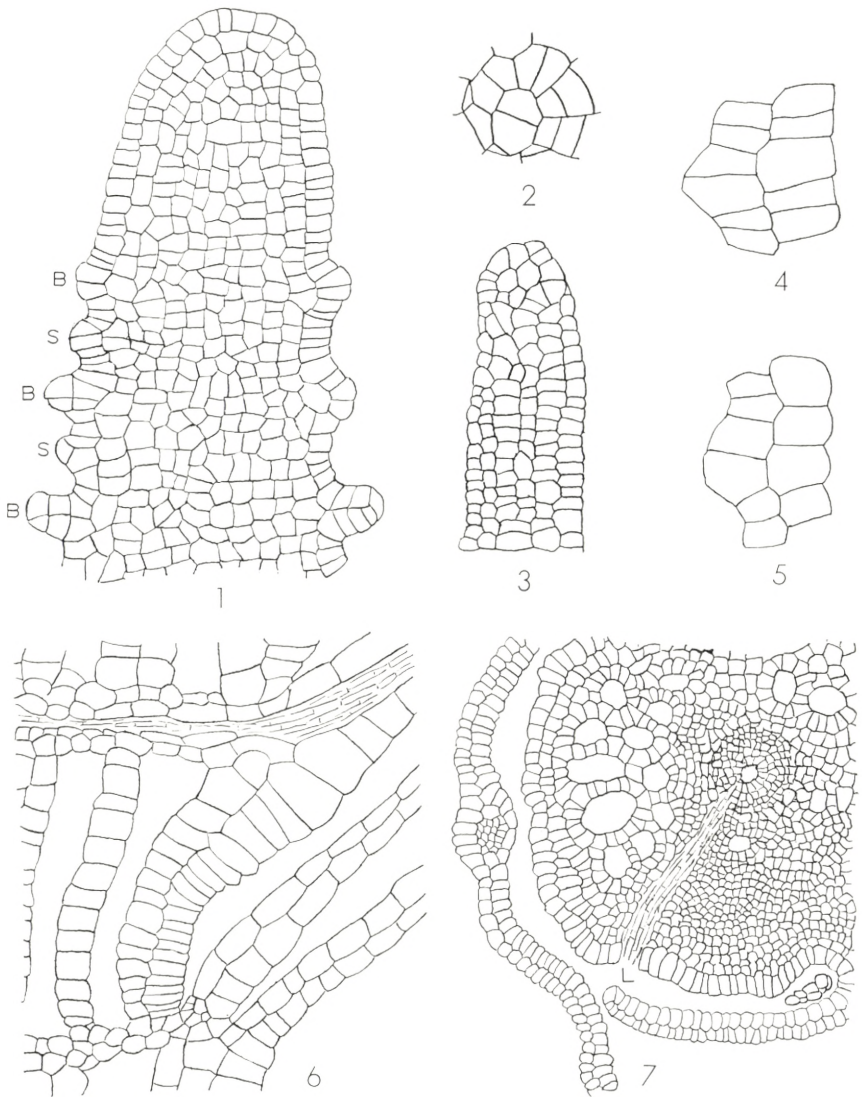


Abb. 2. 1 Medianer Längsschnitt durch den Vegetationskegel. B Blattanlagen. S Schleimschuppen. 2 Scheitel des Kegels. 3 Epidermis des Kegels. 4, 5 Junge Blattanlagen. 6 Längsschnitt der Sprossachse, weiter unten. 7 Querschnitt der Sprossachse. Der Schnitt geht oben rechts durch ein Internodium, unten links durch eine Querscheibe. L Leitbündel.

Zeichenapparat 1, 2, 3 235/1; 4, 5 500/1; 6 98/1; 7 36/1.

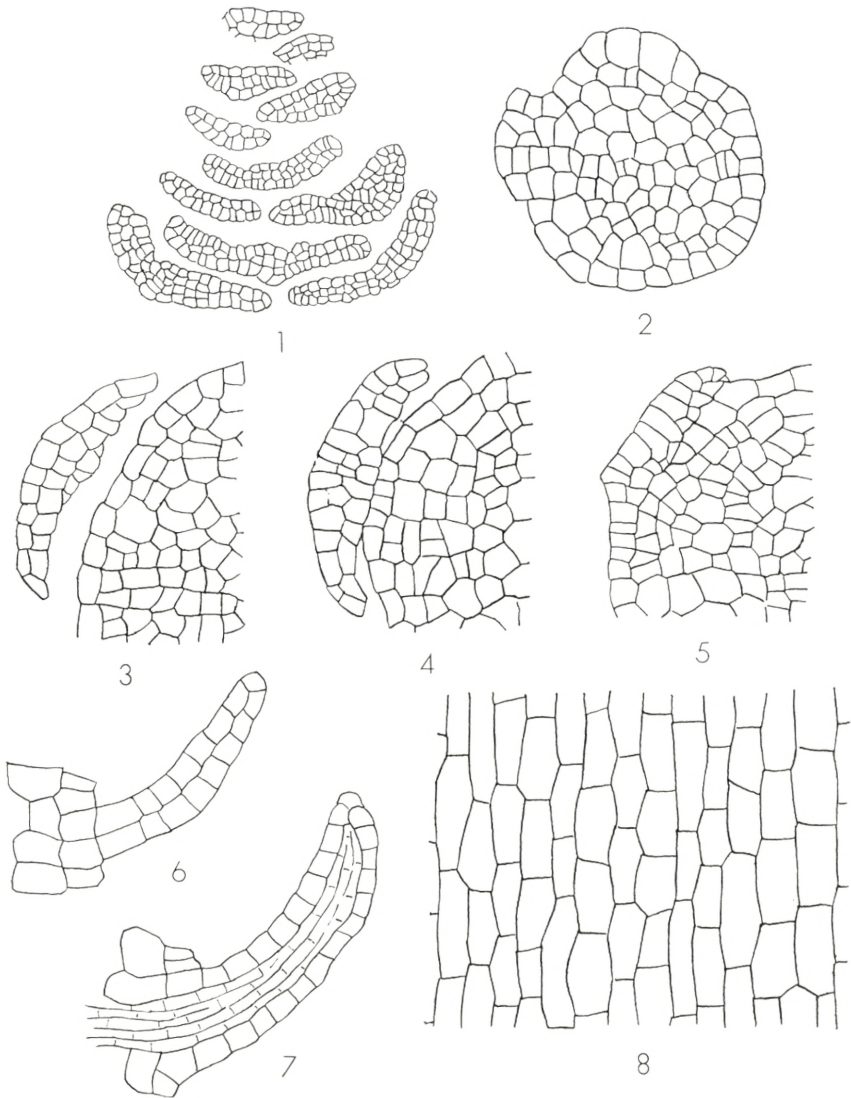


Abb. 3. 1 Flächenschnitt des Vegetationskegels mit Blattanlagen. 2 Querschnitt des Kegels mit Blattanlagen. 3, 4, 5 Dasselbe, weiter unten. 6 Junges Blatt, seitlicher Längsschnitt. 7 Junges Blatt, medianer Längsschnitt. 8 Obere Zellschicht eines fertigen Blattes.

Zeichenapparat 1 98/1; 2, 3, 4, 5, 6, 7 235/1; 8 98/1.

Für das Verständnis der Blätterbildung ist es von Wichtigkeit, über das Wachstum der verschiedenen Zellwände der Epidermiszellen klar zu sein. Die tangentialen Zellwände (die senkrecht auf den Radien des Kegels stehen) wachsen sowohl longitudinal als tangential (weil das Durchschnittsareal des Kegels fortwährend zunimmt). Die radialen Zellwände wachsen in longitudinale, aber nicht in radiale Richtung. Die transversalen Zellwände wachsen in tangentiale, aber nicht in radiale Richtung (vgl. Abb. 7a). Bei den Zellteilungen werden neue radiale und transversale, aber keine tangentialen (periklinen) Zellwände gebildet.

Die Zellen der subepidermalen Zellschicht wachsen und teilen sich in ähnlicher Weise wie die Epidermiszellen.

Der Korpus besteht aus kubischen oder prismatischen Zellen, die mehr oder weniger regelmässig in Längsreihen angeordnet sind. Sie teilen sich durch tangentiale, radiale und transversale Zellwände.

In einem Abstände von 0,2 mm vor der Spitze des Kegels beginnen die Blattanlagen, deren Entwicklung später besprochen werden soll. Die Anordnung und Grösse der Zellen in dem Korpus werden nun nach und nach unregelmässiger. Einige Zellen teilen sich in derselben Weise wie in dem Vegetationskegel, andere Zellen wachsen ohne sich zu teilen, behalten aber ihre isodiametrische Form, und wieder andere Zellen strecken sich, häufig in transversale Richtung. Ferner entstehen durch wiederholte Teilungen innerhalb einer grösseren Zelle Leitbündelelemente, die sich zu Leitbündeln zusammenfügen. Auffallend ist es, dass das Querschnittsareal der Sprossachse trotz der Ungleichartigkeit der Zellen regelmässig zunimmt.

Weiter unten, etwa 0,9 mm von der Spitze der Kegels, treten in der Rinde der künftigen Internodien kleine, schizogene, isodiametrische Interzellularen auf. Bald beginnen die Zellen der Internodien in longitudinale Richtung zu wachsen, indem sie sich gleichzeitig durch transversale Wände teilen. Die Interzellularen werden dadurch zu Zylindern, die durch ein- oder mehrschichtige Wände, die aus isodiametrischen Zellen gebildet werden, voneinander getrennt sind (Abb. 2, 6, 7). Zwischen den Internodien liegen dünne, transversale Scheiben, die von Parenchymzellen gebildet werden (Abb. 2, 6 und 2, 7 links unten).

Der zentrale Teil der Sprossachse besteht aus Parenchymgewebe. In der Mitte desselben liegt ein stark reduzierter Leitbündel, der aus kurzen, dünnen, ungefähr zylindrischen, plasmagefüllten Zellen gebildet wird. Zwischen diesen kommen dünne Tracheiden mit spiralförmigen Verdickungen vor. Man kann das Leitbündel nach oben bis zu 0,8 mm von der Spitze verfolgen. In den dünnen Scheiben von parenchymatischem Gewebe, die die Internodien voneinander trennen, gehen Verzweigungen des Leitbündels zu den Blättern aus (Abb. 2,7 links unten).

Die Bildung der Blätter. Auf einem Flächenschnitt des Vegetationskegels (Abb. 3,1) findet man in verschiedener Höhe horizontale, nach oben schwach konkave, erhabene Wülste, die je aus zwei horizontalen Zellreihen gebildet sind. Weil der äusserste Teil der Wülste nach oben gebogen ist, sind jedoch in einigen derselben mehr als zwei Zellreihen von dem Schnitt getroffen worden. Die Zellen dieser Wülste sind die Initialzellen der Blätter, die mit Ausnahme des Mittelnervs nur zwei Zellschichten enthalten. Die Blätter stehen in Quirlen von vier (oder drei), die in ungefähr derselben Höhe sitzen. Von jedem Quirl sieht man doch in dem Flächenschnitte nur ein oder zwei Blattanlagen, die übrigen stehen an den Flanken oder an der Rückseite des Kegels. Die einzelnen Blattanlagen liegen wie Inseln auf dem Vegetationskegel, sie sind durch Epidermiszellen, die nicht zur Entwicklung kommen, voneinander getrennt. Die Blätter der Quirle und somit auch die Gruppen von Initialzellen alternieren miteinander.

Einen näheren Einblick in die Entwicklung des Blattes erhält man aus Längs- und Querschnitten des Vegetationskegels. Am Längsschnitte (Abb. 2,1,4,5)¹ sieht man in einem Abstände von etwa 0,2 mm von der Spitze zwei Zellen, die etwas grösser als die Nachbarzellen nach oben und unten sind, und deren Spitze über die Oberfläche des Kegels hervorragen. Diese Zellen sind zwei Zellen des kleinsten Wulstes in Abb. 3,1. Wie es aus dem Längsschnitt hervorgeht, entstehen die Wülste dadurch, dass die drei transversalen Wände der künftigen Initialzellen in zentrifugale Richtung wachsen; sie werden später zu der oberen, der mittleren und der unteren Zellwandfläche des Blattes. Die Zellen des

¹ Vgl. die Abbildungen von HERRIG 1914—15. Es fehlen in seiner Zeichnung die Schleimschuppen. Wahrscheinlich sind sie weiter unten am Vegetationskegel entwickelt.

Vegetationskegels, die in derselben Höhe wie die Initialzellen liegen, entwickeln sich ferner zu den Scheiben, die die Internodien voneinander trennen (vgl. S. 8). Wie es aus Abb. 2,6 hervorgeht, bestehen sie bisweilen wie die Wülste nur aus zwei Zellschichten.

Ein Querschnitt durch eine ganz junge Blattanlage gibt ein entsprechendes Bild (Abb. 3,2). Oben sieht man den ersten Anfang einer Blattanlage. Es haben sich nur die radialen Wände gestreckt, Zellteilungen sind noch nicht entstanden. In der Blattanlage links ist die Entwicklung weiter fortgeschritten. Die Zellen haben sich geteilt, aber man kann noch sehen, dass die radialen Zellwände der Epidermiszellen des Kegels sich in die Blattanlagen hinein fortsetzen; sie entwickeln sich später zu einigen der longitudinalen Antikline in dem Blatte. An Querschnitten, die weiter unten liegen, erhält man, weil die jungen Blätter nach oben gebogen sind, Querschnitte sowohl des Vegetationskegels als der Blätter. An Schnitten, die aufeinander folgen, kann man feststellen, dass die jungen Blattanlagen ungefähr herzförmig sind. Sie beginnen oben mit einer Spitze, dann breitet die Blattfläche sich aus, und schliesslich geht sie in die Epidermis der Sprossachse über (Abb. 3,3,4,5).

In der subepidermalen Zellschicht kann eine Zellreihe, die unmittelbar unter den Initialzellen liegt, anfangen zu wachsen, und sich bisweilen durch Zellwände zu teilen, so dass die junge Blattanlage schwach hervorgewölbt wird. Die Blattbildung verläuft am häufigsten in dieser Weise (Abb. 2,1, die Blattanlage rechts unten). Es kann jedoch auch ein Blatt entstehen ohne jegliche Veränderung in der subepidermalen Zellschicht (Abb. 3,6). Wenn Wachstum und Zellteilungen in der subepidermalen Zellschicht entstehen, so treten die neugebildeten Zellen jedoch normalerweise nicht in das Blatt ein, das wie oben bemerkt nur zwei Zellschichten enthält und somit ausschliesslich aus Epidermiszellen gebildet ist. Nur in der Mitte des Blattes läuft ein Nerv in das Blatt hinein, und es wird dadurch an diesen Stellen mehrschichtig.

Die weitere Entwicklung der Blattanlage geschieht nun in folgender Weise (Abb. 3,6). Von den zwei Zellreihen von Initialzellen teilt die eine sich häufig durch eine schiefe Querwand, so dass eine Scheitelzelle gebildet wird. Das Blatt wächst jedoch nicht, oder jedenfalls nicht ausschliesslich, in der Spitze. Man kann in

dem basalen Teil des sich entwickelnden Blattes Mitosen finden. Während der Entwicklung des Blattes werden sowohl longitudinale als transversale Antikline gebildet.

Schon wenn die Blattanlage eine Länge von 1—2 mm erreicht hat, sind die meisten Zellen des Blattes angelegt, und die Zellen fangen an sich zu strecken. Die Streckung beginnt in der Spitze der Blätter und schreitet allmählich gegen die Basis fort. Gleichzeitig entsteht eine Differenzierung, indem die antiklinen Zellwände in die Höhe wachsen, an der Oberseite etwas mehr als an der Unterseite.

Wie es aus dem Querschnitt eines Blattes in Abb. 2,7 hervorgeht, findet sich in der Mitte des Blattes ein Leitbündel. In dem medianen Längsschnitt eines jungen Blattes in Abb. 3,7 (2,6) sieht man, wie die Leitbündelzellen sich in das Blatt hineinstrecken.

Das fertige Blatt ist sehr einfach gebaut. In der Spitze und an einigen Stellen an den Flanken finden sich dornähnliche Haare die durch Ausstülpung aus den Randzellen und durch Verdickung der Zellwände entstanden sind. In der Spitze des Blattes sind die Zellen polyedrisch und liegen etwas unregelmässig in 5—7 Zellreihen. Bald aber nimmt die Anzahl der Zellreihen stark zu, und das Blatt erreicht eine konstante Breite. Die Zellen werden kistenförmig und liegen in regelmässigen Längsreihen (Abb. 3,8). Die Zellen der Unterseite sind kleiner als diejenigen der Oberseite, sind aber in ähnlicher Weise angeordnet.

Wenn die Internodien anfangen zu wachsen, strecken die Epidermiszellen derselben und die Zellen auf der Unterseite des basalen Teiles der Blätter sich senkrecht zur Oberfläche. Es wird dadurch ein Kissen gebildet, das dazu dient, die Ansatzstelle des Blattes zu unterstützen (Abb. 2,6).

Zwischen den Blättern entstehen die Schleimschuppen. Wenn man die Blätter in der Spitze eines Sprosses mit einer Augenpinzette entfernt, bleiben sie zurück, und man kann sie dann mit einer schwachen Vergrösserung *in situ* beobachten, wenn man den Stengel unter das Mikroskop legt. Längsschnitte der Schleimschuppen finden sich in Abb. 1, 2,1. Die Schleimschuppen werden in ähnlicher Weise wie die Blätter als zwei Initialzellen im Epidermis angelegt, der Entwicklungsverlauf ist aber ein ganz anderer. Die fertigen Schuppen sind ziemlich kleine, kreis- oder eiförmige,

zweischichtige Gebilde. Die Determination derselben muss somit eine ganz andere sein als diejenige der Blätter. Der Name Schleimschuppe, den ich in der Literatur gefunden habe (RAUNKJÆR 1895—99) gibt ihre Funktion an. In einem Längsschnitt durch die Sprossachse, der auf Gefriermikrotom hergestellt war, konnte ich sehen, dass die Spitze des Vegetationskegels mit einer dünnen Schleimschicht bedeckt war. Dieser Schleim ist wahrscheinlich von den Schleimschuppen gebildet.

Die Schleimschuppen werden ungefähr in der Mitte zwischen zwei Blättern angelegt. Die Internodien entstehen zwischen den Schleimschuppen und den obenstehenden Blättern. Die Schuppen enthalten daher ihren Platz in den Blattachsen der untenstehenden Blätter.

Ausser den erwähnten Organen kann die *Helodea*-pflanze auch Wurzeln und Blüten bilden. Die Entwicklung dieser Organe soll nicht besprochen werden.

Es geht aus dieser kurzen Darstellung der Entwicklung der *Helodea*-pflanze hervor, dass selbst bei dieser sehr einfach gebauten Pflanze eine sehr grosse Anzahl von Gestaltungsproblemen mit dem Aufbau des Zellwandmusters verknüpft ist. Von diesen Problemen soll nur eines heraus gegriffen werden, nämlich die Bildung der Blätter.

Um dieses Problem zu erhellen, soll zunächst untersucht werden, in welcher Weise die Blattbildung durch Indolylessigsäure beeinflusst wird.

3. Die Einwirkung von Indolylessigsäure auf die Entwicklung des *Helodea*-ablattes.

Die *Helodea*-sprossen wurden von einer Gärtnerei, die Aquariumpflanzen kultiviert, bezogen. Sprossspitzen mit einer Länge von 6—10 cm wurden in Krystallisierschalen mit einem Durchmesser von 12,5 cm gezüchtet. In jede Schale kamen 3 Sprossen. Die Spitzen der Sprossen 2 und 3 wurden über die Basis des vorhergehenden Sprosses in der in Abb. 4 dargestellten Weise gelegt, so dass man das Wachstum jedes einzelnen Sprosses verfolgen konnte. Um die Sprossen reichlich mit Kohlensäure zu versorgen, wurde die Schale nur mit so viel Flüssigkeit beschickt, dass die Spitze der Sprosse

eben in der Wasseroberfläche lag. Die Sprossen wuchsen in horizontaler Richtung, geotropische Krümmungen traten nicht ein, doch konnte bisweilen eine schwache Krümmung des Vegetationskegels beobachtet werden. Die Schalen standen in dem Fenster eines Nordzimmers. Die Versuche wurden im Sommer und Herbst ausgeführt.

Eine jede Versuchsserie durchlief 3 Perioden von etwa 10 Tagen, eine a-Periode in reiner Nährlösung, eine b-Periode mit Nährlösung, zu welcher Indolylessigsäure zugefügt wurde, und drittens eine c-Periode wieder mit reiner Nährlösung. Die letztere bestand aus 1 l Leitungswasser + 10 ccm A + 5 ccm B + 10 ccm C. A enthielt in 1 l Leitungswasser 100 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 25 g KCl, 25 g MgSO_4 und 5 g KH_2PO_4 ; B enthielt pro l 8 g Ferrizitrat und C 0,1 g Borsäure, 0,1 g MnSO_4 , 0,01 g CuSO_4 und 0,01 g ZnSO_4 , gleichfalls pro l. Auf der Oberfläche der Nährlösung wurde häufig eine dünne Schicht von nicht gelösten Salzen ausgeschieden. Diese wurde mit Filtrierpapier entfernt.

Es wurde in einigen Fällen sowohl der Zuwachs der ganzen Sprosse als auch derjenige der äussersten Spitzen gemessen. Um diese letztere Messung ausführen zu können, wurde am Schlusse der a-Periode ein dünner Zwirn um die Sprossachse so nahe der Spitze wie möglich gewickelt.

Der Zuwachs in der a-Periode beträgt etwa 1,6 mm pro Tag. Bei dem Vergleich des Zuwachses in den verschiedenen Perioden, muss man vielleicht berücksichtigen, dass die Länge der Sprosse sich ändert, und dass diese Änderungen möglicherweise die Grösse des Zuwachses beeinflussen können.

Nach dem Abschluss der verschiedenen Perioden wurden die Sprosse mit CRAF (eine von RANDOLPH modifizierte NAVASHIN Lösung) fixiert, in Paraffin eingebettet, und in Serienschnitte mit einer Dicke von 13μ zerlegt. Die Schnitte wurden mit Methylviolett 6 B gefärbt.

Es ist leider nicht möglich, die Wachstumsvorgänge der Zellwände direkt im Mikroskope zu verfolgen. Es ist zwar leicht mit

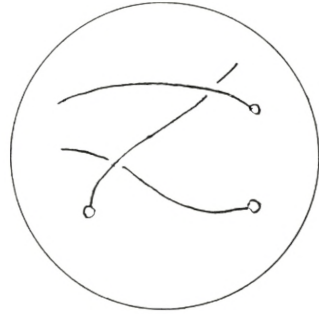


Abb. 4. Krysallisationschale mit *Helodeapflanzen*.

TABELLE 1. Wirkung von Indolylessigsäure.
Zuwachs pro Tag in mm.

IES pct.	Total			Spitze		
	a	b	c	a	b	c
0,001	1,4	5,6	2,6			1,8
0,0003	1,7	4,8	3,1			1,0
—	1,6	2,8	2,5		1,8	2,0
0,0001	1,8	5,1	3,2			1,7

einer Augenpinzette den Vegetationskegel freizulegen. Derselbe ist aber so dick, dass man nur die Wülste der Initialzellen, aber nicht die einzelnen Zellen beobachten kann.

Die Wirkung von IES auf das Wachstum der Sprosse ist in Tab. 1 dargestellt. Es geht aus der Tabelle hervor, dass der Zuwachs in IES-Lösungen (in der b-Periode), selbst in starken Konzentrationen vergrößert wird. Nach Überführung in normaler Nährlösung sinkt die Wachstumsgeschwindigkeit ungefähr zu dem normalen Wert. Die Sprosse sind somit durch die Behandlung mit IES nicht geschädigt worden.

Eine mikroskopische Untersuchung zeigt, dass die Differenzierung im Vegetationskegel, wie es aus der Zuwachsgeschwindigkeit zu erwarten ist, normal verläuft. Es sind doch gewisse kleinere Unterschiede zwischen den normalen und den mit IES behandelten Sprossen vorhanden. In den letzteren ist die Entwicklung der Blätter etwas verzögert, während die Streckung der Internodien bisweilen, aber nicht immer, früher eintreten kann als bei normalen Pflanzen (vgl. Abb, 5).

Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen ist jedoch, dass die Differenzierungsvorgänge, die mit der Bildung der Blätter verknüpft sind, durch die Wuchsstoffkonzentration gar nicht beeinflusst werden.

4. Schlussfolgerungen.

- a. Die Faktoren, die das Wachstum der Zellwände beeinflussen.

Ehe wir auf die Bildung der Initialzellen des *Helodeablattes* näher eingehen, ist es notwendig zu untersuchen, in welcher Weise das Wachstum der Zellwände zustandekommt. Dieser Vorgang

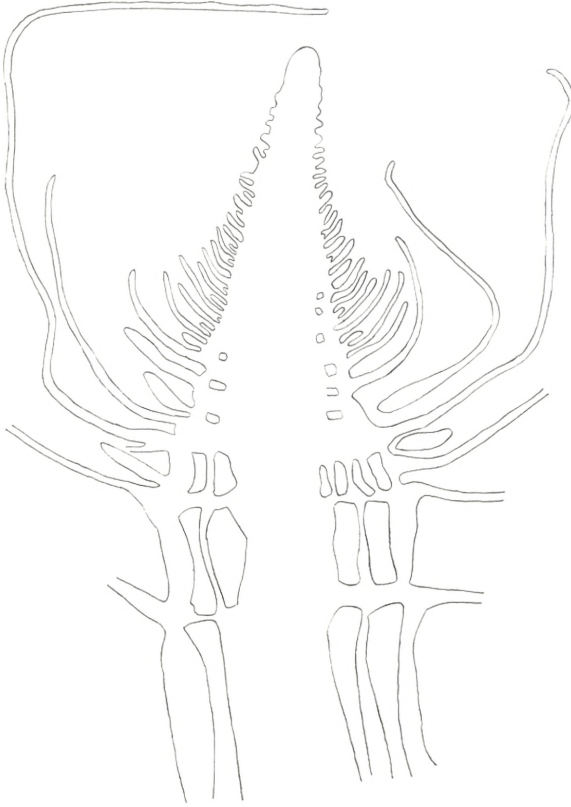


Abb. 5. Medianer Längsschnitt durch eine mit IES behandelte *Helodea*-pflanze.
Zeichenapparat 36/1.

besteht vornehmlich in der Bildung neuer Zellwandstoffe. Der Aufbau derselben dürfte von den folgenden Komponenten bedingt sein: 1) Rohstoffe, aus denen die Zellwandstoffe gebildet werden, wahrscheinlich entweder Glykose-1-phosphat oder Uridin-diphosphat-glykose. 2) Enzyme, die diese Rohstoffe in Zellwandstoffe umbilden können. Ich habe diese Enzyme Zellulosenbildner genannt. 3) Wuchsstoffe (IES), die die Verteilung und die Anordnung der Zellulosenbildner ändern und dadurch die Wachstumsweise und Wachstumsgeschwindigkeit der Zellwände beeinflussen können (BOYSEN JENSEN 1958).

Ausserdem ist für das Wachstum der Zellwände ein Turgordruck notwendig. Dieser wird dadurch aufrechterhalten, dass osmotisch wirksame Stoffe in die Vakuole hineingepresst werden.

Hinsichtlich der Anordnung der Zellulosenbildner habe ich in einer früheren Abhandlung (BOYSEN JENSEN 1958) dargelegt, dass man annehmen muss, dass dieselben auf den Ektodesmen oder Plasmodesmen, d. h. auf den Plasmapipillen, die in die Zellwände hineinragen oder dieselben durchsetzen, liegen, so dass die neugebildeten Zellulosefibrillen zwischen den schon vorhandenen eingeschoben werden.

Es ist nun von Wichtigkeit zu wissen, welcher von den oben genannten Faktoren das Wachstum der Zellwände in dem Vegetationskegel begrenzt. Man darf vermuten, dass es entweder die Menge der Zellulosenbildner oder die Wuchsstoffkonzentration ist. Aus den oben angeführten Versuchen geht hervor, dass die Differenzierung in dem Vegetationskegel von IES gar nicht beeinflusst wird. Man kann hieraus schliessen, dass in dem Meristem Wuchsstoff in genügender Menge vorhanden ist. Es müssen somit die Differenzierungsvorgänge in dem Vegetationskegel in der einen oder anderen Weise mit den Zellulosenbildnern verknüpft sein¹.

b. Die Wachstumsweise der Zellwand.

Ich habe früher geglaubt (BOYSEN JENSEN 1958), dass eine Vermehrung der Menge der Zellulosenbildner genügen könnte, um eine Organbildung, z. B. die Entwicklung eines *Helodeablatte*, hervorzurufen. Eine nähere Überlegung zeigt jedoch, dass der Verlauf dieses Vorgangs weit mehr kompliziert ist.

Um dieses zu erhellen, muss man die Wachstumsweise der Zellwände betrachten. Wir wählen als Beispiel ein Prothallium von *Pteris*, das, wie bekannt, einschichtig ist. Das Zellwandsystem besteht aus einer oberen und einer unteren, horizontalen Zellwandfläche, die mit vertikalen periklinen und antiklinen Zellwänden verbunden sind. Während die oberen und unteren Zellwände in allen Richtungen wachsen, so wachsen die periklinen und antiklinen Zellwände in die Länge, dagegen nicht in die Höhe. Wir können somit zwei Haupttypen der Wachstumsweise der Zellwände unterscheiden: die diffuse Wachstumsweise, die in allen Richtungen vorgeht, und die orientierte Wachstumsweise,

¹ Es hätte vielleicht auch die Wirkung des Kinetins untersucht werden sollen (vgl. SKOOG and MILLER 1957). Es steht jedoch fest, dass lokale Veränderungen des Wachstums der Zellwände kaum durch lösliche Stoffe, sondern nur durch verschiebbare, unlösliche Verbindungen hervorgerufen werden können.

die nur in einer oder zwei Richtungen verläuft. Wenn nun eine Zelle, z. B. eine Epidermiszelle in dem Vegetationskegel von *Helodea*, von tangentialen, radialen und transversalen Zellwänden umgeben ist, wachsen diese häufig in drei verschiedenen Weisen.

c. Die Entstehung und Entwicklung des
Helodeablattes.

1. *Die Entstehung der Initialzellen.* Wir wenden uns nun zu den Vorgängen, die zur Entwicklung der Initialzellen des *Helodea*-blattes führen.

Eine schematische Darstellung der Entstehung der Initialzellen findet sich in Abb. 6 (vgl. den Abb. 2,1,4,5, 3,1,2). 1 und 2 sind zwei Epidermiszellen des Vegetationskegels. Wenn die beiden Zellen in longitudinale Richtung wachsen und sich teilen,

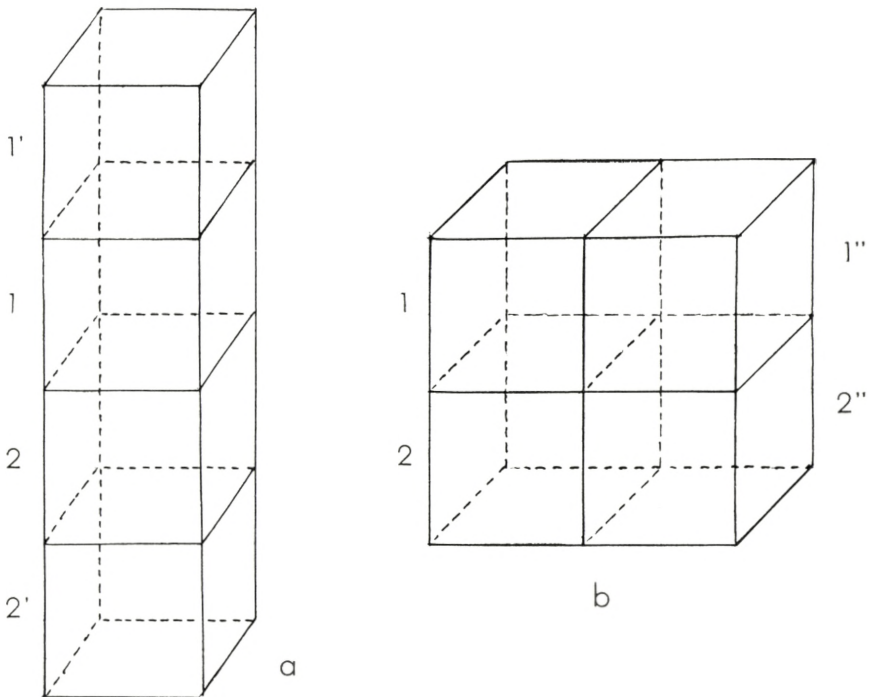


Abb. 6. Schematische Darstellung des Wachstums der Epidermiszellen bei normalem Längenwachstum (a) und bei der Bildung der Initialzellen eines Blattes (b).

TABELLE 2.

Epidermiszellen		Blattzellen	
Tangentiale Zellwände	Diffuses Wachstum (Longit. + tangential. W.)	Transversale Antikline	Orientiertes, transversales Wachstum
Radiale Zellwände	Orientiertes longitudinales Wachstum	Longitudinale Antikline	Orientiertes longitudin. Wachstum
Transvers. Zellwände	Orientiertes, tangential. Wachstum	obere, mittlere und untere Zellw.	Diffuses Wachstum (Longit. + transv. Wachstum)

entstehen zwei neue Epidermiszellen 1' und 2'. Sie können aber auch in zentrifugale Richtung wachsen, und es entstehen dann die Initialzellen eines Blattes 1'' und 2''. Es geht aus der Abb. hervor, dass die Initialzellen durch Änderungen der Wachstumsrichtungen der Zellwände der Epidermiszellen entstehen.

In der schematischen Abb. 6 sind die Wachstumsänderungen der Zellwände bei der Bildung der Initialzellen dargestellt, wie sie aus einem Längsschnitt hervorgehen. In den Epidermiszellen findet doch neben dem longitudinalen Wachstum auch ein tangentiales Wachstum statt, und in dem sich entwickelnden Blatte ist neben einem longitudinalen Wachstum auch ein transversales Wachstum vorhanden. Alle diese Wachstumsvorgänge sind in Tab. 2 zusammengefasst.

In der Abb. 7 ist eine Zelle der Epidermis und eine Zelle der unteren Zellschicht des Blattes gezeichnet. Die Pfeile stellen die Wachstumsrichtungen dar.

Gleichzeitig mit der Änderung der Wachstumsrichtung der Zellwände muss wahrscheinlich auch eine Änderung der Orientierung der Zellulosefibrillen eintreten. Namentlich in den radialen Zellwänden, wo die Orientierungsrichtung vollkommen umschlägt, sollte die Möglichkeit vorhanden sein, diese Änderungen polarisationsmikroskopisch nachzuweisen. Weil aber die Doppelbrechung in den embryonalen Zellwänden sehr schwach ist, sind die Untersuchungen mit grossen Schwierigkeiten verknüpft, und es ist noch nicht gelungen, entscheidende Ergebnisse zu erhalten. Wenn ich aber bessere Instrumente bekommen habe, hoffe ich, dass ich auf diese Untersuchungen zurückkommen kann.

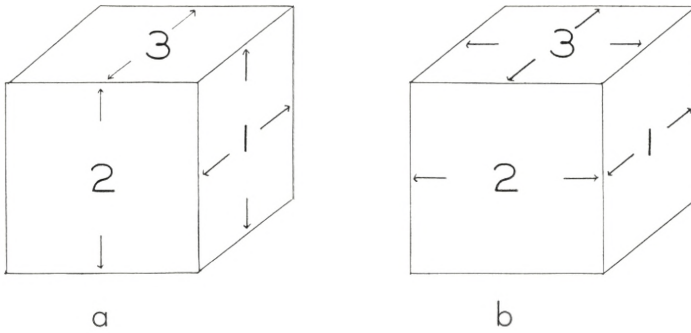


Abb. 7. Die Wachstumsrichtungen der Zellwände in einer normalen Epidermiszelle (a) und in einer Blattzelle (b). (a) 1) tangentiale, 2) radiale, 3) transversale Zellwand. (b) 1) transversale Antikline, 2) longitudinale Antikline, 3) mittlere Zellwand.

Es ist wohl auch möglich, dass diese Probleme nur durch elektronenmikroskopische Untersuchungen gelöst werden können.

Dass aber eine Umschaltung der Wachstumsrichtung der Zellwände stattfindet, ist sicher. Es erhebt sich daher die Frage, wie eine solche Umschaltung stattfinden kann. Wie oben erwähnt, müssen die Differenzierungsvorgänge im Vegetationskegel, d.h. die Umschaltung der Wachstumsrichtung der Zellwände, in der einen oder anderen Weise mit den Zellulosenbildnern verknüpft sein. Soll nun in einer Zellwand mit einer bestimmten Wachstumsrichtung dieselbe verändert werden, ist es wahrscheinlich, dass diese Änderung durch eine Verlagerung der Zellulosenbildner an den Plasmapapillen erzeugt wird. Man darf vermuten, dass die Zellulosenbildner in Zellwänden, die in allen Richtungen wachsen, gleichmässig rings um die Papillen verteilt sind. Soll nun ein solches diffuses Wachstum in ein orientiertes Wachstum verändert werden, muss wahrscheinlich eine Verschiebung der Zellulosenbildner stattfinden, so dass sie vorzugsweise an den Flanken der Papillen zu liegen kommen.

Dass eine Verlagerung von Zellulosenbildnern stattfinden kann, geht aus Versuchen mit Wurzeln hervor. Man kann nachweisen, dass die Zellulosenbildner sich an dem apikalen Ende der Trichoblasten ansammeln, bevor ein Wurzelhaar gebildet wird (BOYSEN JENSEN 1950). In Wurzelhaaren kann man Verschiebungen der Zellulosenbildner durch Colchicin, IES und andere Stoffe hervorrufen (BOYSEN JENSEN 1955). Man kann

sogar beobachten, dass das System der Zellulosenbildner hin und her pendeln kann (BOYSEN JENSEN 1957).

Aus Versuchen über die Wirkungsweise des Wuchsstoffes in *Phaseolusepikotylen* (BOYSEN JENSEN 1958) geht hervor, dass das System der Zellulosenbildner sich ausdehnen und kontrahieren kann, je nachdem Wuchsstoff fehlt oder vorhanden ist. Das System der Zellulosenbildner ist daher kontraktibel, und man kann daher vermuten, dass die Verlagerung der Zellulosenbildner in den Trichoblasten und vielleicht auch an den Papillen bei der Bildung der Initialzellen durch Kontraktion der Zellulosenbildner zustande kommt. Es ist doch von Wichtigkeit hervorzuheben, dass die Verlagerungen der Zellulosenbildner bei der Bildung der Initialzellen des *Helodeablattes* weit mehr kompliziert sind als in den Trichoblasten und in den Zellen des *Phaseolusepikotyls*. In den Zellen des Vegetationskegels von *Helodea* muss die Verlagerung in den verschiedenen Gruppen von Zellwänden ungleichartig verlaufen, und in jeder Gruppe muss sie gleichzeitig in gleicher Weise an allen Papillen der Zellwände eintreten.

Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, dass man in Prothallen von *Pteris longifolia* eine »Drehung« der Wachstumsrichtung der Zellwände hervorrufen kann. Die anti- und periklinen Zellwände wachsen normalerweise nur in die Länge und nicht in die Höhe, durch Colchicin kann man bewirken, dass sie in die Höhe wachsen, so dass senkrechte Prothalliumteile gebildet werden.

2. *Der weitere Verlauf der Entwicklung des Helodeablattes.* Damit nun aus den Initialzellen ein Blatt entstehen können soll, muss doch nicht nur eine qualitative Umschaltung der Wachstumsrichtungen der Zellwände stattfinden, sondern es müssen auch die Wachstumsgeschwindigkeiten der verschiedenen Zellwände quantitativ aufeinander abgestimmt sein, so dass das Wachstum des Zellverbandes harmonisch verläuft. Da die Wachstumsgeschwindigkeit durch die Menge der Zellulosenbildner begrenzt wird, darf man vermuten, dass die Steuerung derselben durch eine Regelung der Neubildung und Anordnung von Zellulosenbildnern zustandekommt. Erst wenn die Blätter eine gewisse Grösse erreicht haben, wird eine grössere Menge von Zellulosenbildnern erzeugt, es tritt nun eine Streckung der Blattzellen ein, wobei der Wuchsstoff als begrenzender Faktor wirkt.

3. *Die Musterbildung.* Die Musterbildung entsteht einmal da-

durch, dass nur bestimmte Bezirke sich zu Initialzellen und ferner zu Blättern entwickeln, während die Entwicklung in den umgebenden, anscheinend vollkommen gleichartigen Zellen ausbleibt. Die Blattanlagen entstehen ferner an bestimmten Orten, sie fügen sich zu einem Muster zusammen, so dass schliesslich 4-gliedrige alternierende Blattquirle gebildet werden.

d. Ausblick.

Die Blattbildung bei *Helodea* findet in einem embryonalen Gewebe statt, und man darf es daher für wahrscheinlich halten, dass auch andere Seitenorgane, die in embryonalem Gewebe entstehen, in ähnlicher Weise wie die *Helodeablätter* gebildet werden.

Wir untersuchen zunächst die Bildung exogener Seitenorgane. Diese können entweder aus der Epidermis oder den subepidermalen Zellschichten hervorgehen.

Die Blätter von *Helodea* sind mit Ausnahme des Mittelnervs reine Epidermisbildungen. In ähnlicher Weise entstehen auch Sporangien (WILSON 1958) und Haare (vgl. Abb. 7, 11 in ESAU 1953) durch Umschaltung der Wachstumsrichtung antikliner Wände in den Epidermiszellen.

Die Bildung der Blätter bei der Hauptmenge der Blütenpflanzen verläuft prinzipiell in derselben Weise wie bei *Helodea*. Der Unterschied besteht darin, dass die Entwicklung in einer oder mehreren der subepidermalen Zellschichten beginnt, indem die transversalen und radialen Wände derselben in zentrifugale Richtung wachsen. Die Zellen werden dadurch senkrecht zur Oberfläche des Stengels gestreckt und teilen sich durch perikline Zellwände. Es entsteht in dieser Weise ein kleiner Höcker. Die Rolle der Epidermis ist in diesem Falle mehr passiv; durch Flächenwachstum folgt sie dem Wachstum des Höckers nach, so dass derselbe fortwährend von der Epidermis überzogen wird (vgl. die Abb. 5.5 in ESAU 1953). Wie es aus der Form des Blattes von *S. Tübingense* hervorgeht, ist die Epidermis doch nicht ein rein passiver Überzug der inneren Gewebe, sondern sie ist bei der Gestaltung der Blätter — wenn auch in beschränktem Umfang — aktiv beteiligt.

Wahrscheinlich werden auch Knospen und Blütenteile in ähnlicher Weise wie die Blätter gebildet.

Endogene Organe, z. B. Seitenwurzeln, entstehen in ähnlicher Weise durch Umschaltung der Wachstumsrichtung der transversalen und radialen Zellwände in dem Pericykel (vgl. Abb. 17.11 in ESAU 1953).

e. Zusammenfassung.

Hinsichtlich der Differenzierungsvorgänge in dem Vegetationskegel von *Helodea densa* und wohl auch in anderen embryonalen Geweben sind wir somit zu den folgenden Ergebnissen gelangt.

1. Die Differenzierung in embryonalem Gewebe ist mit den Wachstumsvorgängen der Zellwände verknüpft.

2. Die Wachstumsvorgänge der Zellwände in embryonalem Gewebe wird durch die Menge und die Anordnung der Zellulosebildner geregelt.

3. Die Entstehung der Initialzellen der Blätter von *Helodea* geschieht durch eine Umschaltung der Wachstumsrichtung der Zellwände in horizontalen, scharf begrenzten Bezirken, die durch Zellen, die sich nicht entwickeln, voneinander getrennt sind.

4. Die Umschaltung der Wachstumsrichtung der Zellwände entsteht wahrscheinlich durch eine Umlagerung der Zellulosebildner an den Plasmapiillen.

5. Die weitere Entwicklung des Blattes geschieht dadurch, dass das Wachstum der Zellwände der einzelnen Zellen qualitativ und quantitativ geregelt wird, so dass sie sich zu dem fertigen Blatt zusammenfügen.

6. Die Bezirke, die sich zu Blätter entwickeln, fügen sich zu einem bestimmten Muster zusammen, so dass die Blätter in viergliedrigen Quirlen, die durch Internodien voneinander getrennt sind, zu stehen kommen.

Das entscheidende bei der Blattbildung von *Helodea* ist somit nicht — oder jedenfalls nicht ausschliesslich — eine ungleiche Verteilung der Menge der Zellulosebildner in den verschiedenen Zellen, sondern eine Umlagerung der Zellulosebildner in den verschiedenen Zellwänden der einzelnen Zellen, wodurch ihre Wachstumsrichtung verändert wird.

Für den Aufbau des Zellwandmusters sind jedoch nicht allein das Wachstum der Zellwände, sondern auch Zellteilungen und Bildung neuer Zellwände von grosser Bedeutung. Bei den Differenzierungsvorgängen in *Helodea* und den S. 21 besprochenen Pflanzen ist jedoch das Wachstum der Zellwände der primäre Vorgang. Die Lage der neuen Zellwand ist vornehmlich durch die Wachstumsrichtung der sich teilenden Zelle bestimmt.

Die mit dem Aufbau des Zellwandmusters verknüpften Gestaltungsvorgänge dürften die einzigen sein, bei denen es möglich sein wird, die Analyse bis auf lokalisierte und orientierte enzymatische Vorgänge zurückzuführen.

f. Der determinierende Faktor.

Die Vorgänge, die zu einer Blattbildung bei *Helodea* führen, sind anscheinend von überraschender Einfachheit. Die Schwierigkeiten fangen aber sofort an, wenn man zu untersuchen beginnt, warum diese Vorgänge eintreten, und in welcher Weise sie geregelt werden.

Man nimmt im allgemeinen an, dass die Entwicklung einer Zelle einmal durch die Reaktionsfähigkeit die Zelle und ferner durch die Einwirkung der umgebenden Zellen bestimmt ist. Im Einklang mit dieser Auffassung könnte man sich vorstellen, dass die Entstehung der Initialzellengruppen an dem Vegetationskegel von *Helodea* durch die Einwirkung der älteren Blattanlagen hervorgerufen (induziert) würde. Der induzierende Faktor müsste wohl dann chemischer Natur sein.

Ist es nun möglich, dass chemische Stoffe eine derartige Umschaltung der Wachstumsrichtungen der Zellwände hervorrufen können?

Hierauf muss man wohl antworten, dass es nur möglich ist, wenn die Umschaltung der Wachstumsrichtungen als ein Bereitschaftskomplex in den Initialzellen vorhanden ist, so dass sie als Folge einer chemischen Einwirkung zwangsläufig eintreten muss.

Als Beispiel eines solchen Bereitschaftskomplexes kann die Kernteilung dienen. Diese besteht aus einer Reihe von Vorgängen, die zwangsläufig aufeinander folgen. Dieser Komplex liegt im Protoplasma bereit, und kann entweder autonom eintreten oder durch verschiedene Stoffe in Gang gesetzt werden. Man könnte sich vorstellen, dass die Möglichkeit einer Umschaltung des Wachstums der Zellwände in ähnlicher Weise in den Epidermiszellen des Vegetationskegels der *Helodea*-pflanzen vorhanden sein könnte, und dass sie durch einen spezifischen Stoff, der von den älteren Blattanlagen abgegeben würde, ausgelöst würde.

Mit dieser Hypothese würde man doch nur das Problem verschieben, aber nicht lösen. Weil man sich schwierig vorstellen kann, dass dieser Bereitschaftskomplex, wie es mit der Fähigkeit zur Kernteilung der Fall ist, in allen jungen Zellen der *Helodea*-pflanze vorhanden ist, wird man sich sofort fragen müssen, wie er in den Epidermiszellen des Vegetationskegels entstanden ist.

Aber selbst wenn man diese Frage vernachlässigen wollte, bleiben andere, grosse Schwierigkeiten übrig.

Die einzelne Initialzelle ist nur ein kleiner Teil des sich entwickelnden Blattes. Selbst wenn dieses, wie oben erwähnt, ziemlich einfach gebaut ist, sind doch gewisse Differenzierungen vorhanden. Die Zellen an der Ober- und Unterseite, an der Spitze und am Blattrande sind verschieden gebaut. Es genügt daher nicht, dass die Wachstumsrichtungen der Zellwände in den Initialzellen umgeschaltet werden, sondern es muss die Entwicklung jeder einzelnen Zelle während des Wachstums des Blattes qualitativ und quantitativ gesteuert werden, so dass die Zellen sich schliesslich zu dem Zellwandmuster des fertigen Blattes zusammenfügen. Diese Steuerung ist während der ganzen Entwicklung des Blattes tätig, ihr Verlauf kann nicht »vorausgesehen« werden, sie kann nicht als ein Bereitschaftskomplex vorhanden sein.

Aber noch andere Schwierigkeiten sind vorhanden. Wie oben erwähnt, werden zwischen den Blättern Schleimschuppen gebildet. Diese werden in derselben Weise wie die Blätter angelegt, aber die Entwicklungsfolge ist ganz verschieden von derjenigen der Blätter. Es gibt somit verschiedene Formen von Steuerungen, die Steuerung bei der Entwicklung der Schleimschuppen ist eine andere als diejenige bei der Entwicklung der Blätter.

Und schliesslich haben wir dann das Problem der Musterbildung. Die Blattanlagen entstehen dadurch, dass bestimmte Bezirke von Epidermiszellen sich zu Initialzellen entwickeln. Wenn nun die älteren Blätter Stoffe erzeugen, die diese Umwandlung der Epidermiszellen hervorrufen können, warum reagieren dann nicht alle Epidermiszellen auf diesen Reiz, und werden zu Initialzellen umgebildet, und warum ordnen sich die Blattanlagen in ein bestimmtes Muster, so dass schliesslich Blattquirle entstehen?

Noch schwieriger ist es die Entwicklung der Seitenknospen zu verstehen. Diese entstehen entweder endogen oder exogen. In beiden Fällen bestehen sie ursprünglich aus gleichartigen Zellen. An diesen entstehen dann gleichzeitig zwei Gruppen von Initialzellen, die sich zu Blättern entwickeln. Es kann weder das eine dieser Blätter das andere induzieren, noch können sie von anderen Organen induziert sein. Das Muster muss somit autonom geschaffen oder zu Entfaltung gebracht werden.

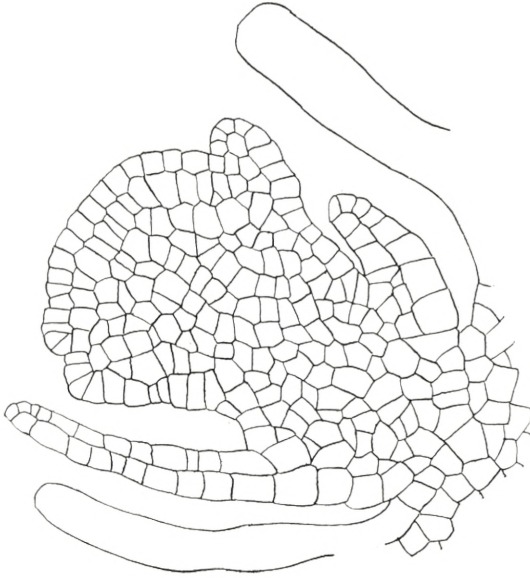


Abb. 8. Bildung einer Seitenknospe. Zeichenapparat 235/1.

Der Ausgangspunkt unserer Überlegungen war die Annahme, dass die Anlage und Entwicklung der Blätter durch die älteren an dem Vegetationskegel vorhandenen Blätter hervorgerufen sein könnten. Es war doch nicht möglich, diese Auffassung durchzuführen. Um nun dem Gestaltungsproblem etwas näher zu kommen, wollen wir die Blattbildung bei *Helodea* vorläufig verlassen und uns zu Differenzierungsvorgängen in Zellkomplexen, wo überhaupt kein Muster vorhanden ist, wenden.

Man kann in verschiedener Weise Zellkonglomerate herstellen oder in der Natur finden, bei denen das Wachstum der Zellwände der verschiedenen Zellen vollkommen unabhängig von demjenigen der Nachbarzellen ist. Es sollen hier drei Beispiele genannt werden: 1) Gewebekulturen, 2) Kallusprothallien von *Pteris*, das bei Behandlung mit 2,4 D entstanden ist, 3) Kallusgewebe in *Coleus*stengeln, das durch Behandlung mit IES erzeugt worden ist. Es ist von Bedeutung, darüber klar zu sein, dass die Zellen wirklich autonom, d. h. unabhängig voneinander, in gleicher Weise wie bei Einzelligen wachsen (STEWART 1958).

In diesen Zellkonglomeraten können, gleichfalls autonom, Differenzierungen eintreten, es können in den obengenannten

drei Fällen beziehungsweise Leitbündel, Wurzeln und Sprosse (GAUTHERET 1957, STEWARD et al. 1958 II), normale Farnprothallien (BOYSEN JENSEN 1957) und Wurzeln (MOUREAU 1940) gebildet werden. Die Differenzierung äussert sich dadurch, dass die einzelnen Zellen sich ungleichartig entwickeln, und zwar so, dass eine Gruppe von Zellen in Gemeinschaft ein ganzheitsgeprägtes Gebilde (d. h. ein Gebilde mit einer festen, artsgeprägten Struktur, ein Prothallium, eine Wurzel u.s.w.) hervorbringt. Die Entwicklung der einzelnen Zellen ist somit dieser Ganzheit untergeordnet, d. h. jede Zelle entwickelt sich so, wie sie sich entwickeln muss, wenn die Ganzheit, das fertige Organ, entstehen soll.

Damit dieses möglich sein soll, muss die Entwicklung der einzelnen Zellen durch einen überzellulären, ganzheitschaffenden Faktor, den determinierenden Faktor, gesteuert werden.

Wenn nun dieser ein physikalischer Faktor ist, muss er irgendwo lokalisiert werden können.

Der Faktor kann nicht in den Genen oder in der Struktur der sich entwickelnden Zelle liegen, denn diese sind ja nur ein kleiner Teil der Ganzheit, die erzeugt wird. Ebenso wenig kann der Faktor in den Nachbarzellen liegen, denn auch diese sind wieder nur Teile, die in Gemeinschaft mit anderen Zellen bei der Bildung der Ganzheit beteiligt sind. Der ganzheitschaffende Faktor kann somit nicht mit einem Teil des Zellkomplexes identifiziert werden. Er liegt so zu sagen ausserhalb des Organismus, er kann aber die Vorgänge im Organismus steuern, so dass Ganzheiten hervorgehen.

Die hier angestellten Überlegungen gelten gleichfalls für die Differenzierungsvorgänge im Vegetationskegel von *Helodea*. Auch in diesem Falle ist es nicht möglich den Faktor, der die Wachstumsvorgänge der Zellwände steuert, so dass ein Blatt hervorgeht, zu lokalisieren.

Es dürfte wohl möglich sein, dass man die Vorgänge in dem anorganischen Bereich durch Kausalitäts- und Wahrscheinlichkeitsgesetze erschöpfend beschreiben kann. Diese Gesetze machen sich auch in den lebenden Organismen geltend, die Wahrscheinlichkeitsgesetze z. B. bei der Verteilung der Chromosomen während der Meiose. Aber diese Gesetze reichen nicht aus zur Beschreibung der Lebenserscheinungen. Man muss schliessen, dass der Verlauf der Einzelvorgänge während der Ontogenese nicht

allein durch die Eigenschaften der Zelle und die Umweltbedingungen bestimmt ist, sondern dass er durch einen nicht physikalischen Faktor, der nur in dem lebenden Organismus tätig ist, der aber nicht an einem bestimmten Ort in demselben lokalisiert werden kann, gesteuert wird. Es ist überhaupt das Leben ein Geschehen einer ganz anderen Art, als man sich im allgemeinen vorstellt.

Obwohl der determinierende Faktor nicht physikalischer Natur ist, kann man sich doch gewisse Vorstellungen über seine Wirkungsweise und Eigenschaften bilden.

Ein lebender Organismus ist eine dynamische Ganzheit, die durch ein harmonisches Zusammenspiel zwischen einer ungeheuer grossen Anzahl von Einzelvorgängen entsteht und aufrechterhalten wird. Z. B. muss bei dem Aufbau des Zellwandgerüsts in jeder einzelnen der Millionen von Zellen, die während der Entwicklung einer höheren Pflanze gebildet werden, die Verteilung der Zellulosenbildner so gesteuert werden, dass schliesslich eine Pflanze mit einem bestimmten Zellwandmuster gebildet wird. Wenn der Same gesund ist, schlägt die Entwicklung selbst unter sehr verschiedenen äusseren Bedingungen niemals fehl. Die Ontogenese der Organismen ist durch eine Determination und Planmässigkeit gekennzeichnet, die wir in dem anorganischen Bereich nicht antreffen. Es ist die Aufgabe des determinierenden Faktors alle die Vorgänge, die zusammen die Ortogenese ausmachen, z. B. die Anordnung der Zellulosenbildner an den Papillen in den Zellwänden, so zu steuern, dass schliesslich eine Ganzheit, ein Organismus mit einer spezifischen, artsgeprägten Struktur, hervorgeht. Das Muster, das entsteht, ist von Ort zu Ort qualitativ verschieden, die Wirkungsweise des determinierenden Faktors ist daher mehr qualitativer als quantitativer Art.

Von den Eigenschaften des determinierenden Faktors fallen zwei besonders in die Augen.

Weil die Gestaltung der Individuen einer Art in der Natur von Generation zu Generation hinsichtlich aller wesentlichen Eigenschaften unveränderlich ist, muss auch der Faktor, der die Gestaltung hervorruft, d. h. der determinierende Faktor, unveränderlich sein. Wir verfügen überhaupt nicht über Mittel diesen Faktor für dauernd zu ändern, was daraus hervorgeht, dass wir

nicht imstande sind, eine Art in eine andere umzuwandeln (BOYSEN JENSEN 1957).

Der determinierende Faktor ist wie oben bemerkt ganzheit-schaffend, er vermag auch, wenn die Ganzheit eines Organismus vernichtet ist, innerhalb gewisser Grenzen die Ganzheit wieder herzustellen. Die Wege, auf welchen dieses Ziel erreicht wird, können aber, selbst wenn die Organismen anscheinend gleich-artig sind, verschieden sein. Z. B. bilden Sporen von *Pteris longi-folia*, wenn sie auf Lösungen von 2,4D keimen, Konglomerate von gleichartigen Zellen. Werden solche Kallusprothallien in Nährlösung übergeführt, so tritt im Laufe von einigen Tagen Bildung normaler Prothallien ein. Aus jedem Kallusprothallium entsteht normalerweise nur ein normales Prothallium. Dasselbe kann entweder von einer grösseren Menge von Zellen ausgehen (BOYSEN JENSEN 1957, Abb. 5 b, 15) oder es kann aus einer ein-zelnen Zelle im Stiel oder an der Spitze entstehen (Abb. 5 b, 16 und 5 a, 12). Ob nun das normale Prothallium in der einen oder anderen Weise gebildet wird, so ist seine Gestalt doch immer dieselbe.

Es erhebt sich nun die Frage, was man eigentlich mit dem determinierenden Faktor in der biologischen Forschung anfangen soll. Wenn es richtig ist, dass ein nicht physikalischer Faktor in den lebenden Organismen tätig ist, so ist das einzige, was man nicht tun kann, denselben zu vernachlässigen. Man würde dann ein lückenhaftes, d. h. ein falsches, Bild von den Organismen er-halten. Im Gegenteil muss man versuchen festzustellen, wo der Faktor wirkt und wie er wirkt.

Wenn man die Wirkungsweise eines äusseren Faktors, z. B. der Temperatur, auf eine Lebenserscheinung, die quantitativ bestimmt werden kann, z. B. die Respiration, untersuchen will, geht man im allgemeinen in der Weise vor, dass man den äusse-ren Faktor variiert, und die Intensität der Lebenserscheinung bei verschiedenen Werten des äusseren Faktors untersucht. Man stellt somit die Lebensäusserung als eine Funktion des äusseren Faktors dar, im Einklang mit der Auffassung von MACH: »Die Naturgesetze sind Gleichungen zwischen den messbaren Elementen $\alpha, \beta, \gamma \dots \lambda, \mu, \nu \dots$ der Erscheinungen«.

Der determinierende Faktor ist von ganz anderer Art als die physikalischen Faktoren. Er wirkt nicht auf einzelne Lebens-

erscheinungen ein, sondern er vermittelt die Koordination derselben, so dass ein Muster hervorgeht. Er ist ferner nicht messbar. Es ist daher nicht möglich das Verfahren, das man bei Untersuchungen über die Wirkung der Temperatur benutzt, bei Untersuchungen über die Wirkung des determinierenden Faktors zu verwenden. Man kann aber einen anderen Weg einschlagen. Die lebenden Organismen sind stoffliche Systeme, und der determinierende Faktor greift somit in das stoffliche hinein. Das stoffliche im Organismus kann man aber in beschränktem Umfange verändern, ohne das Leben zu vernichten. Solche Änderungen kann man durch physische Faktoren (z. B. Lichtfarbe) und durch chemische Stoffe (IES, 2,4D, Colchicin etc.) hervorrufen, oder man kann die Ganzheit des Organismus durch Amputationen zerstören. In diesen Fällen kann man untersuchen, in welcher Weise der determinierende Faktor die Ganzheit wiederherstellt, d. h. man kann dem determinierenden Faktor Probleme vorlegen und untersuchen, in welcher Weise sie gelöst werden.

In dieser Weise kann man vielleicht zu dem Schnittpunkt vordringen, wo die physikalischen Faktoren nicht mehr ausreichen, und wo somit der determinierende Faktor eingreifen muss, um die Vorgänge (wahrscheinlich ohne Energiezufuhr) hervorzurufen oder zu regeln. Man wird dann — vielleicht — feststellen können, an welchem Orte der determinierende Faktor in das stoffliche System eingreift, und — vielleicht — in welcher Weise er wirkt.

Der determinierende Faktor ist wahrscheinlich bei vielen verschiedenen Vorgängen im Organismus betätigt; hier soll nur seine Wirkung bei der Bildung des Zellwandmusters berücksichtigt werden.

Für das Verständnis dieses Problems ist es von grosser Bedeutung, dass man die Wirkung des determinierenden Faktors transistorisch ausschalten kann, während das Wachstum der Zellwände (und die Zellteilungen) fortgesetzt werden. Es sollen hierfür einige Beispiele, die schon teilweise oben erwähnt sind, angeführt werden. Man kann von Pflanzen Gewebekulturen herstellen, die jahrelang wachsen können, ohne sich zu differenzieren. Durch bestimmte Einwirkungen (Kinetin, Auxin (SKOOG and MILLER 1957)) können sie Sprosse bilden. Wenn ferner Sporen von *Pteris longifolia* in rotem Licht kultiviert werden,

entwickeln sich Schläuche, die bei Zufuhr von weissem oder blauem Licht normale Prothallien bilden. Schliesslich entstehen aus *Pterissporen*, wenn sie in 2,4D-Lösung gezüchtet werden, Kallusprothallien, die, wenn sie in reine Nährlösung versetzt werden, normale Prothallien erzeugen können.

In allen drei Fällen kann somit der determinierende Faktor die Bildung eines normalen Zellwandmusters hervorrufen. Seine Wirkungsweise besteht in diesen Fällen darin, dass er die Wachstumsweise der Zellwände verändert, so dass ein gleichartiges Wachstum in ein ungleichartiges, differenziertes Wachstum umgewandelt wird.

Wie es in dieser Abhandlung gezeigt wurde, ist eine Umschaltung der Wachstumsweise der Zellwände wahrscheinlich mit einer Umlagerung der Zellulosenbildner an den Plasmapiillen verknüpft. Man darf wohl dann schliessen, dass der determinierende Faktor in der einen oder anderen Weise bei Verlagerungen der Zellulosenbildner beteiligt sein kann.

Weiter können wir in diesem Augenblick nicht kommen.

Diese Untersuchungen sind mit Hilfe von Unterstützungen von dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen und dem Carlsbergfond ausgeführt. Ich möchte diesen Institutionen meinen besten Dank für diese Unterstützungen aussprechen.

Ohne die getreue Hilfe meiner Tochter, Frau Margrete Ehlers, wäre es mir nicht möglich gewesen, diese Untersuchungen durchzuführen. Für ihre Hilfe möchte ich ihr auch an dieser Stelle herzlich danken.

Summary.

The structure of the leaves of *Helodea densa* is very simple: they consist of two layers of prismatic cells (fig. 3,8); only the vein contains a greater number of layers (fig. 3,7).

The initiating cells of the leaf develop on the apex of the shoot as horizontal protrusions, arranged in a pattern, so that whorls with four leaves arise (fig. 3,1). A median longitudinal section through the apex of the shoot demonstrates that the protrusions consist of two rows of cells, one developing to the upper, the other to the lower layer of cells in the leaf (fig. 2,1,4,5).

The initiating cells arise through changes in the direction of growth of the cell walls in the epidermis in the following way (figs. 6,7).

Epidermal cells		Leaf cells	
Tangential cell walls	Longitudinal + tangential growth	Transversal anticlines	Transversal growth
Radial cell walls	Longitudinal growth	Longitudinal anticlines	Longitudinal growth
Transversal cell walls	Tangential growth	Upper, middle, lower cell walls	Longitudinal + transversal growth

The changes in the direction of growth probably arise through a rearrangement of the cellulose-building enzymes on the surface of plasma papillae protruding in the cell wall.

During the development of the initiating cells into the leaf the growth of the individual cells must be regulated qualitatively and quantitatively, so that the fusion of the cells to an organized entity, the leaf, is secured.

The question now arises how the harmonious development of the leaves on the apex of the shoot can be explained.

It is often supposed that the development of a cell is determined by the reactivity of the cell and the influences of the sur-

rounding cells. In accordance with this view one might imagine that the building of the initiating cells and their further development was induced by the older leaf primordia on the shoot apex.

An analysis of this interpretation shows that it does not hold good. We must conclude that besides the laws of causality and probability also an entity-creating factor, that cannot be localized anywhere, is acting in the living organisms and in them alone. This factor cannot be derived from elements in the physical world.

For the understanding of the mode of action of this factor it is significant that growth of the cell walls can continue, whereas differentiation, e.g. the development of the normal cell-wall pattern, is discarded. As the differentiation according to this paper is connected with a rearrangement of the cellulose-building enzymes on the plasma papillae, it is probable that the determining factor is active in the said rearrangement.

*Pflanzenphysiologisches Laboratorium
der Universität, Kopenhagen.*

Skrifttum.

- BOYSEN JENSEN, P., Die Elemente der Pflanzenphysiologie, Jena 1939.
- Über den Nachweis der Zellulosenbildner u.s.w. Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. 18, no. 10, 1950.
- Über die Wirkungsweise des determinierenden Faktors u.s.w. Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. 22, no. 5, 1955.
- Über den Aufbau des Zellwandgerüsts der Pflanzen u.s.w. Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. 23, no. 5, 1957.
- Über die Wirkungsweise des Wuchsstoffes u.s.w. Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk. 23, no. 8, 1958.
- ESAU, KATHERINE, Plant Anatomy. New York, London 1953.
- GAUTHERET, R. J., Histogenesis in plant tissue cultures. Journ. Nat. Canc. Inst. 19, 555, 1957.
- HERRIG, F., Beiträge zur Kenntnis der Blattentwicklung einiger phanerogamen Pflanzen. Flora 107 N.F. 7, 327, 1914—15.
- MOUREAU, J., Rhizogenèse chez *Coleus* sous l'influence de l'hétéroauxin. Bull. Soc. Bot. Belg. 73, 142, 1940.
- RAUNKJÆR, C., De danske Blomsterplanters Naturhistorie I. Enkimbladede. Kbhvn. 1895—99.
- SKOOG, F., and CARLOS O. MILLER, Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. XI, 1957.
- STEWART, F. C., III Interpretations of growth from free cell to carrot plant. Americ. J. Bot. 45, 709, 1958.
- MARION O. MAPES and JOAN SMITH, I. Growth and division of freely suspended cells. Americ. J. Bot. 45, 693, 1958.
- MARION O. MAPES and KATHRYN MEARS, II. Organisation in cultures grown from freely suspended cells. Americ. J. Bot. 45, 705, 1958.
- WILSON, K. A., Ontogeny of the sporangium of *Phlebodium aureum*. Americ. J. Bot. 45, 483, 1958.

Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab

Biologiske Meddelelser
(Biol. Medd. Dan. Vid. Selsk.)

Bind 22 (kr. 65,00)

kr. ø.

1. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 2. Über die Wachstumsvorgänge in der Spitze der Wurzelhaare von *Phleum*. With an English Summary. 1954 3,50
2. BÖVING, ADAM G.: Mature Larvae of the Beetle-Family Anobiidae. 1954 35,00
3. GAMOW, G.: Possible Mathematical Relation between Deoxyribonucleic Acid and Proteins. 1954 2,00
4. BØRGESEN, F.: Some Marine Algae from Mauritius. Additions to the Parts Previously Published. VI. 1954 8,00
5. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 3. Über die Wirkungsweise des determinierenden Faktors, der bei der Bildung der Wurzelhaare von *Lepidium*, *Sinapis* und *Phleum* tätig ist. With an English Summary. 1955 4,50
6. SALOMONSEN, FINN: The Evolutionary Significance of Bird-Migration. 1955 6,00
7. MUNCH-PETERSEN, AGNETE, KALCKAR, HERMAN M., and SMITH, EVELYN E. B.: Uridyl Transferases, their Occurrence and Physiological Role. 1955 3,00
8. GAMOW, G.: On Information Transfer from Nucleic Acids to Proteins. 1955 1,00
9. HEVESY, G.: Conservation of Skeletal Calcium Atoms through Life. 1955 2,00

Bind 23

(uafsluttet/in preparation)

1. RASMUSSEN, ERIK: Faunistic and Biological Notes on Marine Invertebrates III. The Reproduction and Larval Development of some Polychaetes from the Isefjord, with some Faunistic Notes. 1956 11,00
2. PETERSEN, JOHS. BOYE, and HANSEN, J. BENTH: On the Scales of some *Synura* Species. 1956 7,00
3. BRØNDSTED, H. V.: Experiments on the Time-Graded Regeneration Field in Planarians. With a Discussion of its Morphogenetic Significance. 1956 7,00
4. BØRGESEN, F.: Some Marine Algae from Mauritius. Final Part. Edited by TYGÉ CHRISTENSEN. 1957 5,00

5. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 4. Über den Aufbau des Zellwandgerüsts der Pflanzen und die Determination desselben. With an English Summary. 1957.....	kr. ø. 6,00
6. LARSEN, KAI: Cytological and Experimental Studies on the Genus <i>Erodium</i> with Special References to the Collective Species <i>E. Cicutarium</i> (L.) L'Her. 1958.....	4,00
7. PETERSEN, JOHS. BOYE, and HANSEN, J. BENTH: On the Scales of some <i>Synura</i> Species. II. 1958.....	3,50
8. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 5. Über die Wirkungsweise des Wuchsstoffes in dem Epikotyl von <i>Phaseolus</i> (Die Brückentheorie der Wuchsstoffwirkung). With an English Summary. 1958.....	7,00
9. GOLOMB, S. W., WELCH, L. R., and DELBRÜCK, M.: Construction and Properties of Comma-Free Codes. 1958.....	5,00
10. JENSEN, P. BOYSEN: Untersuchungen über Determination und Differenzierung. 6. Über den Aufbau des Zellwandmusters des Blattes von <i>Helodea densa</i> . With an English Summary. 1959	5,00

On direct application to the agent of the Academy, EJNAR MUNKS-GAARD, Publishers, 6 Nørregade, København K., a subscription may be taken out for the series of *Biologiske Meddelelser*. This subscription automatically includes the *Biologiske Skrifter* in 4to as well, since the *Meddelelser* and the *Skrifter* differ only in size, not in subject matter. Papers with large formulae, tables, plates etc., will as a rule be published in the *Skrifter*, in 4to.

For subscribers or others who wish to receive only those publications which deal with a single group of subjects, a special arrangement may be made with the agent of the Academy to obtain the published papers included under one or more of the following heads: *Botany*, *Zoology*, *General Biology*.

In order to simplify library cataloguing and reference work, these publications will appear without any special designation as to subject. On the cover of each, however, there will appear a list of the most recent papers dealing with the same subject.

The last published numbers of *Biologiske Meddelelser* within the group of *Botany* are the following:

Vol. 23, nos. 2, 4—8, 10.