

# Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoiden der Pflanzen

von

Wl. Belajeff.

Hierzu Tafel I.

Bei den Forschungen über Anatomie der Pflanzen concentrirt sich in den letzten 20 Jahren das Interesse hauptsächlich auf die Eigenthümlichkeiten im Bau der Pflanzenzellen, und die Veränderungen, welche in ihnen stattfinden. Da die Zellen als Träger des Lebens und der Eigenschaften der Organismen anzusehen sind, indem sie histologische Einheiten darstellen, aus denen alle Organe lebender Wesen zusammengesetzt sind, so ist es kein Wunder, dass in letzter Zeit sowohl die Struktur der Zellen, als auch die Functionen einzelner Bestandtheile derselben zum Gegenstande einer langen Reihe von Untersuchungen geworden sind.

Die Eigenschaften der einzelnen Elemente, welche die Zelle ausmachen, können aus den Erscheinungen der in der Zelle statthabenden Veränderungen oder Metamorphose erkannt werden. Die merkwürdigste dieser Erscheinungen ist wohl der Process der Spermato-genese. Er bewirkt eine tiefgreifende Umwandlung des Zellenbaues und das Hervortreten solcher Eigenschaften, die in vegetativen Zellen verborgen bleiben.

Die in der Pflanzenzelle bei Bildung der Spermatozoiden sich vollziehenden Veränderungen betreffen sowohl die äussere Form und die innere Struktur der Zelle, als auch ihre physiologischen Eigenschaften. Aus einer abgerundeten oder polygonalen Zelle entsteht in einzelnen, besonders charakteristischen Fällen, ein fadenförmiger oder bandähnlicher, spiraler Körper, der auf seiner Oberfläche fadenförmige Gebilde, sogenannte Cilien, zeigt. Die Zellen, aus welchen die Spermatozoiden entstehen, enthalten abgerundete, von Plasma eingeschlossene Kerne. Nehmen die Spermatozoiden die Form eines spiralförmigen

Flora, Ergänzungsband z. Jahrg. 1894. 18. Bd.

1

Bandes oder Fadens an, so ziehen sich die Kerne ebenfalls spiralförmig aus, wie dies in zahlreichen neueren Untersuchungen nachgewiesen wird. Die Spermatozoidmutterzellen oder die sogenannten spermatogenen Zellen sind unbeweglich, die Spermatozoiden dagegen sind mit besonderen Bewegungsorganen, den Cilien, versehen, welche durch ihre Bewegungen die Ortsveränderung des ganzen Spermatozoiden bewirken. Die Spermatozoiden, diese so eigenartig umgestalteten Zellen, haben auch eine specielle Bestimmung: sie dienen zur Befruchtung. Indem die Spermatozoiden sich mit den Eizellen verbinden, übertragen sie denselben die Eigenschaften derjenigen Organismen, aus denen sie selbst entstanden sind; es wird auf diese Weise dem Embryo die Möglichkeit gewährt, bei seiner weiteren Entwicklung in gleichem Maasse den Eigenthümlichkeiten seiner weiblichen und seiner männlichen Vorfahren zu folgen. Die Spermatozoiden erscheinen demnach als Träger der erblichen Eigenschaften des Organismus.

Die überraschende Metamorphose, die sich bei der Spermatozoidenbildung in der Zelle vollzieht, hat schon längst die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt, und so kann auch diese Frage eine ziemlich umfangreiche, noch immer im Wachsen begriffene Litteratur aufweisen. In letzter Zeit wurde das Studium der Spermatogenese mit Vorliebe von denjenigen Forschern betrieben, welche dadurch die Frage über die Bestimmung gewisser Zellenbestandtheile ihrer Lösung näher zu bringen hofften. Wenn an dem Aufbau der Spermatozoiden sich nur einige der Zellelemente betheiligen, und sei es auch nur in einigen Fällen, so sind eben diese Elemente als die Träger der Eigenschaften der Zelle und somit derjenigen des ganzen Organismus zu betrachten.

Meistentheils unterscheiden sich die Spermatozoiden der Algen ihrem Bau nach nicht wesentlich von den geschlechtslosen Fortpflanzungsorganen, den Zoosporen. Es sind ebensolche abgerundete, sich frei bewegende, nackte Zellen, die mit einem Kern und fadenförmigen Fortsätzen versehen sind. Aber selbst bei manchen Algen nehmen die Spermatozoiden zuweilen eine längliche, etwas spiralförmig gewundene Gestalt an. Bei den Characeen, den Moosen und den Gefässkryptogamen haben die Spermatozoiden die eigenartige Gestalt eines spiralförmig gewundenen, faden- oder bandartigen Körpers, der 2 oder mehrere Cilien trägt. Oft befestigt sich am Hintertheile des Spermatozoiden ein mehr oder weniger abgerundeter Anhang, das sogenannte Bläschen.

Die Bewegung der Spermatozoiden wurde bereits im vorigen Jahrhundert von Schmidel<sup>1)</sup> beobachtet. Ferner sah Nees von Esenbeck im Jahre 1822 die Spermatozoiden der Torfmoose, im Jahre 1828 constatirte Bischoff die Spermatozoiden der Characeen<sup>2)</sup>; im Jahre 1844 beschrieb Nägeli „bewegliche Spiralfäden an Farren.“ Seit dieser Zeit wurden nach und nach die Spermatozoiden aller Gefässkryptogamen, wie auch der Laub- und Lebermoose beschrieben. Wir beabsichtigen hier nicht, die umfangreiche Litteratur, die der Beschreibung verschiedener Spermatozoiden gewidmet ist, zu besprechen, sondern wollen uns lediglich auf diejenigen Untersuchungen beschränken, in denen über die Entstehungsweise der Spermatozoiden berichtet wird.

Den ersten Versuch, eine Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden bei den Characeen darzustellen, finden wir bei Meyen in seinem „Neuen System der Pflanzen-Physiologie.“<sup>3)</sup> Meyen behauptet, dass die Pollenfäden (die Fäden der spermatogenen Zellen) bei den Characeen gegliedert sind; in jedem Gliede soll je eine kugelförmige Schleimzelle sich entwickeln; in jeder Schleimzelle bildet sich ein „Samenthierchen“. Nach den Abbildungen (Fig. 20 u. 18) zu urtheilen, bezeichnet Meyen die Kerne der spermatogenen Zellen als Schleimzellen. Folglich macht schon Meyen die Beobachtung, dass der Kern (die Schleimzelle) der spermatogenen Zellen an der Bildung der Spermatozoiden theilnimmt.

Viel ausführlicher und, wie wir später sehen werden, der Wahrheit mehr entsprechend, beschreibt im Jahre 1845 Mettenius<sup>4)</sup> die Bildung der Spermatozoiden bei den Characeen. Dieser Forscher unterscheidet bereits in den spermatogenen Zellen Kerne und in denselben Kernkörperchen (Nucleolen). Als erste Andeutung der Spermatozoiden betrachtet Mettenius zwei glänzende Punkte (scheinbare Bläschen), „die zuerst an der einen, dann an den beiden Seiten des Randes der Kerne, innerhalb derselben, sichtbar werden, dann durch einen schwarzen feinen Querstrich verbunden sind, der einem

1) Schmidel, *Icones plantarum et analyses partium*, 1747. (Nach Thuret „Recherches sur les anthéridies des cryptogames. *Ann. d. sc. nat. Botanique*, 3ième série t. XVI 1851, pag. 23.)

2) Nach Sachs. (*J. Sachs, Geschichte der Botanik* 1875, pag. 473.)

3) Fr. J. F. Meyen, *Neues System der Pflanzenphysiologie* III. B., Berlin 1839, pag. 221.

4) G. Mettenius, *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der beweglichen Spiralfasern von Chara hispida L.* *Botanische Zeitung* 1845, 2 St. S. 20.

Theil einer Windung des zukünftigen Spiralfadens angehört.“ Nach Mettenius folgt daraus, dass das Spermatozoid sich im Innern des Kernes der spermatogenen Zelle bildet. Aber Mettenius setzt noch hinzu, dass es zuweilen scheine, als ob die glänzenden Punkte ausserhalb des Kernes liegen. Solche Fälle erklärt Mettenius dadurch, dass der Kern bereits zum Theil aufgelöst ist, oder von dem sich in ihm bildenden Spiralfaden an den Rändern ausgedehnt wird. Allein auf den Abbildungen (Fig. 76, die erste Zelle von unten) ist bei Mettenius der Kern in scharfen Umrissen dargestellt; daneben aber erblickt man ausserhalb des Kernes zwei helle Körperchen. Wäre es nicht richtiger anzunehmen, dass in den Fällen, wo die hellen Pünktchen im Innern des Kernes zu liegen schienen, sie oberhalb oder unterhalb desselben placirt waren, so dass die Umrisse der Körperchen von den Conturen des Kernes eingeschlossen wurden.

Ganz anders wird die Bildung der Spermatozoiden bei den Farren von Nägeli<sup>1)</sup> geschildert, dessen Arbeit etwas früher als die von Mettenius veröffentlicht wurde. Nach Nägeli enthält jede spermatogene Zelle einen Kern und homogenen Schleim. „Der Schleim körnt sich und bildet kleine Chlorophyllkügelchen, die um den Kern gruppirt sind. Dann erfolgt die Auflösung des Kernes, der Chlorophyll- und Schleimkörnchen. Das Zellchen ist bloss mit farblosem homogenen Schleim erfüllt. In demselben tritt die Bildung des Spiralfadens auf.“

Hofmeister<sup>2)</sup> weist in seinen „Vergleichenden Untersuchungen“ in Uebereinstimmung mit Mettenius auf den Zusammenhang zwischen dem Spermatozoiden und dem Kern der Mutterzelle hin. Seiner Ansicht nach „enthält jede der kleinen tesserale Zellen des Antheridiums bei *Pellia* ein linsenförmiges Bläschen (Zellenkern), in welchem ein spiralig aufgerollter Faden aus durchsichtig schleimiger Substanz sich bildet.“ (S. 15.) Dasselbe beobachtete er auch bei *Fossombronia* und *Frullania* (S. 35), bei *Riccia* (S. 46), *Anthoceros* (S. 4), den Laubmoosen (*Phascum*) S. 67 u. s. w. In gleicher Weise beschreibt er auch die Bildung der Spermatozoiden bei den Farnen: „in jeder der kleinen tesserale Zellen des Innern der Antheridien entsteht innerhalb eines linsenförmigen oder kugeligen

1) Nägeli, „Bewegliche Spiralfäden an Farren“. Zeitschrift für wissenschaftliche Botanik von Schleiden und Nägeli B. I, H. I, 1844, S. 674.

2) W. Hofmeister, Vergleichende Untersuchungen der Keimung etc. höherer Kryptogamen. Leipzig 1850.

Bläschens (wie es scheint, des primären Kerns der kleinen Zelle) ein in wenigen Windungen spiralig aufgerollter, platter Samenfadens“ (S. 79). Bei den Isoëtes entstehen nach Hofmeister in den Zellchen, die sich im Innern der Mikrospore bilden, ebenfalls je ein oder zwei Bläschen und in jedem Bläschen je ein in rechtsläufiger Spirale aufgerollter Samenfaden.<sup>1)</sup> Die Beschreibung der Spermatozoidenbildung bei den Schachtelhalmen stimmt bei Hofmeister mit seinen Beobachtungen hinsichtlich der Moose, der Farne und der Lycopodineen nicht überein. In jeder der kleinen tesseraleen Zellen des Antheridiums der Schachtelhalme kommt es zur Bildung je eines abgeplattellipsoidischen Zellchens, „welches mitunter in seinem Inneren ein kleines Bläschen mit der Licht minderbrechender Inhaltsflüssigkeit erkennen lässt.“ In den ellipsoidischen Zellen erscheint eine der Innenwand derselben anliegende gallertartige Masse und bildet einen unvollständigen Ring. Dies ist die erste Andeutung des im Entstehen begriffenen Samenfadens.<sup>2)</sup> Somit weisen schon die ersten Forscher, welche sich mit der Frage über Spermatozoidenentwicklung beschäftigten, auf den engen Zusammenhang zwischen dem Spermatozoiden und dem Kerne der Mutterzelle hin; nur Nägeli macht eine Ausnahme.

Noch ausführlicher schildert dieses Verhältniss Schacht. In seinem „Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Gewächse“<sup>3)</sup> beschreibt Schacht die Bildung der Spermatozoiden bei *Pellia epiphylla*. In den spermatogenen Zellen sieht er je einen runden Kern, in dem jedoch kein Nucleolus zu bemerken ist. In einem späteren Stadium ändert der Kern seine Gestalt, wird schmaler und bildet eine Verlängerung, welche der Wand der Zelle folgt. Auf Grund dieser Beobachtung vermuthet Schacht, dass aus dem Kern selbst der Schwärmfaden hervorgeht. Wenn der letztere vollkommen ausgebildet ist, fehlt der Zellkern gänzlich.

In seiner weiteren, speciell den Spermatozoiden gewidmeten Arbeit<sup>4)</sup> beschreibt er die Spermatozoidenbildung bei den Characeen.

---

1) W. Hofmeister, Beiträge zur Kenntniss der Gefässkryptogamen. Abhandl. d. K. Sächs. Gesellschaft d. Wiss. B. IV, S. 129.

2) Vergl. Unt. S. 100.

3) H. Schacht, Lehrbuch der Anatomie und Physiologie der Gewächse II. Theil, 1859, S. 246.

4) H. Schacht, Die Spermatozoiden der Pflanzen (Braunschweig 1864) S. 30.

In den Mutterzellen der Spermatozoiden beobachtete er einen umfangreichen Kern, der mindestens die halbe Zelle einnimmt. Ein Kernkörperchen ist in ihm nicht deutlich wahrzunehmen. „Die Umgrenzung des Zellkernes erscheint mit einer doppelten Contour, welche zuerst an einer Seite, dann ringsum und endlich so auftritt, dass sie statt einen geschlossenen Ring zu bilden, nach einwärts lenkt und als directe Windung des Spermatozoidens auftritt. Von nun an ist der Kern als solcher nicht mehr nachzuweisen.“ Die erste Spiralwindung des Spermatozoiden wächst und dehnt sich aus, wobei sie einen grösseren Raum als der frühere Zellkern innerhalb der Zelle einnimmt. Nach dem Austritt des Spermatozoiden aus der Zelle verbleibt in derselben kein sichtbarer Rückstand. Am Ende der letzten Spiralwindung bei *Nitella syncarpa* bemerkte Schacht eine schwach contourirte und etwas verdickte Partie, in der einige glänzende Körner liegen; dieses Gebilde entspricht seiner Meinung nach dem Bläschen bei den Farnkräutern und den Schachtelhalmen. Seinen Schluss über Entstehung der Spermatozoiden formulirt jedoch Schacht mit grösster Vorsicht: „Die Spermatozoiden der Kryptogamen“, sagt er, „entstehen aus dem festen und flüssigen Inhalt ihrer Mutterzellen im Innern des Antheridiums unter namentlicher Betheiligung des Zellkernes, welcher dabei in den meisten Fällen verschwindet.“ An einer anderen Stelle behauptet er, dass der Samenfaden aus dem ganzen Inhalte seiner Mutterzelle unter besonderer Betheiligung des Zellkerns desselben entstehe. Mit Bezugnahme auf die Resultate von Meyen's und Hofmeister's Arbeiten, findet Schacht, dass ihre Beobachtungen genügen, „um den Beweis zu führen, dass sich der Zellkern in sehr wesentlicher Weise bei der Bildung des Spermatozoiden betheiligt und gewissermaassen in dasselbe übergeht.“ Der Spermatozoidkörper entspricht nach Schacht einer Zelle, die mit einem plasmatischen Häutchen bedeckt ist. Sieht man von einigen Algen ab, so ist der Kern in diesem Körper nicht zu unterscheiden. Nach Schacht sind die Wimpern (Cilien) Fortsätze der Plasmahaut.<sup>1)</sup> Das Bläschen bei den Farnen und Schachtel-

1) Guignard (Développement et constitution des anthérozoïdes, Revue général de botanique, No. 1, 1889) hebt in seiner Uebersicht der Litteratur in Betreff der „Anatomie und Physiologie der Gewächse“ hervor, dass nach Schacht die Cilien sich aus dem Kern bilden. Ich konnte diesen Ausspruch bei Schacht nicht finden; auf der von Guignard angedeuteten Seite behauptet er nur, dass aus dem Kern selbst der Schwärmfaden (d. h. der Spermatozoidenkörper) hervorgeht.

halmen hält Schacht für eine Anschwellung der den Spermatozoidenkörper bedeckenden Membran.

In Strasburger's<sup>1)</sup> Arbeiten finden wir eine Rückkehr zu Nägeli's Ansichten. Nach Strasburger enthält jede Specialmutterzelle des Spermatozoiden bei den Farnkräutern einen deutlichen Kern. Bei der Entwicklung der Spermatozoiden gibt der Zellkern der Mutterzelle seine Grenzen gegen das umgebende Protoplasma auf (wird aufgelöst), während gleichzeitig das Kernkörperchen in kleine Körner zerfällt. Der Inhalt der Mutterzelle erscheint gleichmässig körnig. An der Oberfläche des Plasmakörpers entwickelt sich eine bandförmige Verdickung, welche einen schraubenförmigen Verlauf zeigt. Auf diese Weise entsteht der Spermatozoid, zu dessen Bildung der ganze Inhalt der Mutterzelle bis auf die Umhüllung des centralen Bläschens verbraucht wird. Der bandförmige homogene Spermatozoidenkörper der Schachtelhalme und der Farne entbehrt, nach Strasburger's Ansicht, jeder Struktur. Die Cilien werden von der vordersten Windung des Bandes getragen. Das Bläschen hielt Strasburger nicht „für den integrirenden Theil“ des Spermatozoiden, da dasselbe sich loslösen kann und keinesfalls bei der Befruchtung mit zur Verwendung kommt. Die Spermatozoidbildung bei den Characeen beschreibt Strasburger anders. Er bemerkte, dass bei der Spermatozoidbildung dieser Gewächse der Kern der Mutterzelle excentrisch der freien Aussenwandung der cylindrischen Zelle anliegt. Das Plasma der Zelle erhält die Gestalt eines Bandes, welches der freien Aussenwand der Zelle folgt. „Die Bildung desselben beginnt an der vom Kern abgelegenen Seite der Zelle, erreicht aber alsbald den Zellkern, der in dessen Bildung hineingezogen wird und aufgeht.“ Anfangs umschreibt das Band kaum mehr denn eine Windung, allmählich dehnt es sich jedoch aus und wird dünner. „Der ganze protoplasmatische Inhalt sammt Zellkern wird so zur Bildung des Spermatozoiden verwendet.“

Sachs<sup>2)</sup> ist hinsichtlich der Spermatogenese derselben Ansicht, wie Nägeli und Strasburger. In der spermatogenen Zelle der Characeen soll der Kern zunächst in deren Mitte liegen, später legt er sich an die Querwand, und sodann verschwindet er. Die Kernsubstanz mischt sich mit der des Protoplasma, welches einen

1) Ed. Strasburger, Jahrbücher f. wiss. Bot. Bd. VII, 1869—70, S. 394 und Zellbildung und Zelltheilung, III. Aufl., 1880, S. 94.

2) J. Sachs, Lehrbuch der Botanik, 4. Aufl., 1874, S. 303.

centralen, von einer hyalinen Flüssigkeit umgebenen Klumpen bildet. Aus dem centralen Klumpen entwickelt sich der Spermatozoid.

Ein besonderes Interesse haben für uns die kurzen Bemerkungen von Schmitz über den Bau und Entstehung der Spermatozoiden<sup>1)</sup>. Schmitz kehrt von neuem zu der fast in Vergessenheit gerathenen Anschauung von Schacht zurück und macht uns nochmals auf die innige Beziehung des Kernes zum Spermatozoidenkörper aufmerksam; nach seinem Dafürhalten entstehen aber nicht alle Körpertheile des Spermatozoiden aus dem Kern der Mutterzelle: „Ich finde, sagt Schmitz, bei Characeen und Laubmoosen, dass der Zellkern (der Mutterzelle des Spermatozoiden) keineswegs aufgelöst wird. Derselbe bildet vielmehr durch directe Umgestaltung den Körper des Spermatozoiden, indem seine peripherische Schicht sich verdichtet und zu einem ringförmigen resp. spiralig eingerollten Bande sich spaltet, während der mittlere Theil des Kernes sich auflockert und zu dem sogen. farblosen Bläschen sich ausbildet. Nur das vordere cilientragende Ende des Spermatozoiden geht (sicher mindestens bei den Characeen) aus dem umgebenden Protoplasma hervor; der grösste Theil des ganzen Spermatozoiden aber entsteht aus dem Zellkern selbst.“ Leider waren dem Referate Schmitz keine Abbildungen beigefügt, und in der Folge lieferte er auch keine ausführlichere Arbeit über diesen Gegenstand.

Nach Schmitz ist demnach der Spermatozoidenkörper doppelter Herkunft: ein Theil entsteht aus dem Kern, der andere aus dem Plasma. Mit Schmitz ziemlich übereinstimmend beschreibt auch Zacharias<sup>2)</sup> die Bildung der Spermatozoiden. Nach Zacharias begibt sich der Kern der Spermatozoidmutterzellen bei den Characeen vor der Spermatozoidenbildung zur Aussenwand der Zelle; das Plasma hingegen sammelt sich an der entgegengesetzten Seite an. Die peripherische Schicht des Kernes verdichtet sich, der mittlere Theil lockert sich auf. Auf der verdichteten peripherischen Schicht des Kernes entsteht das Schraubenband. Zacharias war nicht im Stande zu entscheiden, ob das Vorderende des Spermatozoiden mit den Cilien aus dem Plasma oder aus dem Kern hervorgeht. Hinsichtlich des Bläschens neigt Zacharias zur Annahme, dass dasselbe aus dem Zellprotoplasma und nicht, wie Schmitz angibt, aus dem Kerninnern entsteht. Besonders interessant erscheint

1) J. Schmitz, Sitzungsberichte der niederrheinischen Gesellschaft für Naturw. und Heilkunde zu Bonn, B. 11, Juli, 1880, S. 188.

2) E. Zacharias, Ueber die Spermatozoiden, Bot.-Zeit. 1881, S. 849.



der Versuch von Zacharias verschiedene Reagentien beim Studium des Spermatozoidenbaues anzuwenden. Die mikrochemischen Reactionen, sowie die Entwicklungsgeschichte, bringen Zacharias auf den Gedanken, dass eine gewisse Uebereinstimmung zwischen dem Spiralkörper des Spermatozoiden und dem Kern, und zwischen den Cilien und dem Plasma der Mutterzelle besteht. Die Spermatozoidspirale bei den Characeen wird unter Einwirkung von Pepsin nicht aufgelöst, sondern tritt im Gegentheil ungemein scharf hervor und wird sehr stark lichtbrechend, wobei sie entweder ihre Gestalt beibehält oder sich verkürzt und verdickt. Die einzelnen Windungen können dabei mit einander verschmelzen und auf diese Weise homogene Klumpen bilden. Die Cilien lösen sich fast vollständig auf. Das hintere Bläschen quillt an. In einer verdünnten Kochsalzlösung quillt der Spermatozoidkörper langsam auf, wobei eine peripherische dichtere Partie zu Tage tritt. Schliesslich wird das Innere des Schraubenbandes vollständig gelöst, und es bleibt nur der äusserste Theil desselben als zartes Häutchen zurück. Das Bläschen quillt zunächst an, um dann wieder zusammen zu sinken. Die Cilien quellen nicht, sondern treten im Gegentheil schärfer hervor. Gleich dem Kochsalze lässt auch concentrirte Salzsäure nur zarte, peripherische Theile vom Spermatozoidkörper übrig, wogegen das Bläschen und die Cilien, welche nur ein wenig zusammenschrumpfen, erhalten bleiben. Nach Behandlung der Spermatozoiden mit Pepsinlösung zeigen die unverdauten Theile folgende Reactionen: concentrirte Salzsäure verwandelt das Schraubenband in einen glänzenden Klumpen; die Hauptmasse des Schraubenbandes wird schliesslich vollständig aufgelöst und nur der äussere Theil desselben verbleibt in Form eines Häutchens. Die Reste der Cilien und des Bläschens bleiben unverändert. Gleiche Wirkung zeigt auch verdünnte Sodalösung. Nach 24stündiger Behandlung mit verdünnter Kochsalzlösung erscheint das Schraubenband sehr blass und gequollen. Die Reste der Cilien bleiben stark lichtbrechend; das Gleiche gilt auch für das hintere Bläschen.

Was die chemischen Eigenschaften der Mutterzellen der Spermatozoiden anbetrifft, so fand Zacharias, dass unter Einwirkung von Pepsin der Kern in diesen Zellen homogen wird und das Aussehen eines Oeltropfens annimmt. Hierauf quillt er an und geht in den scharf contourirten, stark lichtbrechenden Zustand über. Der ungelöste Plasmarest ist geringfügig und weniger lichtbrechend als der Kern. Nach 24stündiger Einwirkung von Pepsin ergibt der Rest des

Inhalts der Mutterzelle folgende Reactionen: concentrirte Salzsäure löst die Kerne langsam, die Plasmareste bleiben aber stark lichtbrechend. Schwache Sodalösung lässt den Kern verquellen, der Plasmarest bleibt jedoch erhalten. Verdünnte Kochsalzlösung bewirkt starke Quellung des Kernes, der nach 24 Stunden kaum noch wahrzunehmen ist. Der Plasmarest bleibt jedoch erhalten. Auf diese Weise „zeigt der in Pepsin unlösliche Theil der Kerne dieselben Reactionen, wie die Hauptmasse des Schraubenbandes reifer Spermatozoiden, während andererseits die nach Pepsinbehandlung zurückbleibenden Reste des Zellplasma der Mutterzelle sich verhalten wie die Reste des hinteren Bläschens, der Cilien und der Hülle des Schraubenbandes.“

Die Spermatozoiden der Moose ergeben eine ähnliche Reaction; die Spermatozoiden der Farne weisen jedoch in dieser Hinsicht einige Unterschiede auf. Das Schraubenband des Spermatozoiden bei *Marsilia* erwies sich den verschiedenen Reagentien gegenüber viel widerstandsfähiger. Weder 10 % Kochsalzlösung, noch Pepsin und concentrirte Salzsäure konnten es auflösen, ja bewirkten nicht einmal eine Quellung desselben. Das Schraubenband der Spermatozoiden bei den Farnen löst sich, wie voraus zu sehen war, in Pepsin nicht auf, erhält aber scharfe Umrisse. Nach vorhergehender Behandlung mit Pepsin bewirkt die Kalilauge eine Quellung des Spiralbandes, löst es jedoch nicht auf. In einer seiner späteren Arbeiten<sup>1)</sup> beschreibt Zacharias die Umwandlung, welche der Kern der spermatogenen Zelle bei *Pteris serrulata* während der Spermatozoidbildung erfährt: der Kern nimmt erst eine halbmondförmige Gestalt an, um sich dann unter Streckung und Verschmälerung in ein Band umzuwandeln, welches schraubenlinig aufgerollt, allseitig vom Protoplasma umgeben, in der Mutterzelle liegt. Bei weiterem Wachsthum des Spiralbandes werden die Maschen des Kerngerüstes enger. Schliesslich gewinnt das Band ein homogenes Aussehen. Im Magensaft erscheint es glänzend und scharf umschrieben. Das aus dem Kerne hervorgegangene Band ist vom Plasma umschlossen, was besonders deutlich bei der Untersuchung von frisch mit 10 % Kochsalzlösung behandeltem Materiale zu Tage tritt. Auch bei reifen Spermatozoiden ist das Band mit einer Plasmahülle umschlossen, welche durch Kochsalzlösung sichtbar gemacht werden kann. Bei Färbung des in Alkohol aufbewahrten Materials mit ammoniakalischer Carmin-

1) E. Zacharias, Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen. Bot. Zeit. 1887, No. 18—24.

lösung kann man ebenfalls die sich nicht färbende Hülle von der inneren hellroth gefärbten Partie unterscheiden. Am hinteren Ende des Spermatozoiden verlängert sich die Plasmahülle über das Kernband hinaus und bildet das hintere Bläschen, worin sich die Stärkekörner befinden. Nach Zacharias zeigen somit die Entwicklungsgeschichte und die mikrochemischen Reactionen, dass die Hauptmasse des spiraligen Spermatozoidkörpers aus dem Kern, das Häutchen aber der Spirale, sowie die Cilien und die Blase aus dem Plasma der Mutterzelle entstehen.

Schon 3 Jahre vor dem Erscheinen der letzten der hier genannten Arbeiten von Zacharias weist Goebel<sup>1)</sup> bei seiner Beschreibung der Entwicklung der Spermatozoiden bei den Characeen auf die hervorragende Rolle hin, welche der Kern bei der Bildung des Spermatozoidkörpers spielt. Der fadenförmige Spermatozoid der Characeen zeigt 3—4 Spiralwindungen und trägt an seinem vorderen Ende 2 lange Cilien. Das hintere Ende des Spermatozoiden bei den Characeen hat die Gestalt eines kugeligen oder ovalen Bläschens. Hinsichtlich der chemischen Eigenschaften, die den Bestandtheilen des Spermatozoiden zukommen, ist Goebel derselben Meinung, wie Zacharias. Nach Goebel besteht das Schraubenband seiner Hauptmasse nach aus einer Substanz, deren Reactionen mit denen der Nucleine übereinstimmen. Die dünne Hülle auf der Hauptmasse des Schraubenbandes und der grösste Theil des hinteren Bläschens bestehen wahrscheinlich aus Plastin, die Cilien ihrer Hauptmasse nach aus Eiweisskörpern. Die Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden hat Goebel an 2 Charaspecies verfolgt. Die erste Veränderung, welche in der Spermatozoidenmutterzelle bei der Spermatozoidenbildung vor sich geht, ist die, dass sich das Zellplasma in Form eines breiten Bandes an einer Seite des Zellkernes anlegt, der dabei entweder seine centrale Lage in der Zelle beibehält oder mehr nach einer Seite derselben rückt. „Ehe von dem Körper des Spermatozoiden irgend etwas zu sehen ist, sieht man feine Contouren über den Zellkern verlaufen.“ Dies sind die Cilien, welche also sicher aus dem Plasma hervorgehen, das zu ihrer Bildung verbraucht wird. „Die ersten Anfänge des Spermatozoidkörpers erscheinen in Form eines stark lichtbrechenden Knopfes an einer Seite des Zellkerns.“ In den späteren Entwicklungsstadien sieht man, dass der

1) K. Goebel, Entwicklungsgeschichte der Pflanzenorgane. Enc. d. N.-Wiss. Handbuch d. Botanik, her. von A. Schenk, III. Bd. S. 420—422.

Spermatozoidenkörper in Form eines ziemlich breiten Bandes als Verlängerung jenes Knopfes aus dem Kern hervorwächst. Daraus zieht Goebel folgende Schlussfolgerung: „Der Kern bildet zuerst auf einer Seite einen bandförmigen Auswuchs, der sich allmählich verlängert, wobei die übrige Substanz des Zellkerns mit Ausnahme des farblosen Bläschens zum Wachsthum dieses Bandes verwendet wird.“ In Uebereinstimmung mit Schmitz nimmt Goebel an, dass das hintere, bläschenförmige Ende des Spermatozoiden ebenfalls aus dem Zellkern entsteht. Goebel's Verdienst ist es, dass er zuerst das allmähliche Wachsthum des Spermatozoiden verfolgte, während seine Vorgänger entweder die Spermatozoidbildung in unklaren und unbestimmten Worten beschrieben haben, oder die Spermatozoiden durch eine plötzliche Umwandlung des Kerns zu einem Schraubenbande entstehen liessen.

In demselben Jahre, wo die Arbeit Goebel's erschien (1879), wurde auch „La biologie cellulaire“ von Carnoy<sup>1)</sup> veröffentlicht, in welcher wir die consecutiven Kernveränderungen bei der Spermatozoidenbildung des *Hymenophyllum* abgebildet finden. Der Kern nimmt erst die Form einer Bohne, dann die einer Sichel, weiter die des Buchstaben C und schliesslich die einer Spirale an. Auf diese Weise hat Carnoy zuerst die Metamorphose des Kerns beim Bildungsprocesse der Spermatozoiden der Gefässkryptogamen dargestellt. Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Spermatozoiden sind bei ihm in einem Antheridium vereinigt, was jedoch, wie Zacharias richtig bemerkte, bei den Farnen nie der Fall ist, da in den Antheridien dieser Gewächse immer nur Spermatozoiden des gleichen Reifestadiums enthalten sind. Nach Carnoy bestehen die reifen Spermatozoiden aus einem Spiralkörper, welcher sich aus dem Zellkern bildet und mit dem Kernhäutchen bedeckt ist. An dasselbe befestigen sich die Cilien, welche aus dem Zellplasma entstehen. Das Nuclein bildet im Spermatozoidkörper eine einförmige Masse („la nucleine fusionnée d'une manière uniforme dans la masse nucléaire“). Die Verschmelzung des Nucleins zu einer solchen homogenen Masse vollzieht sich während der Spiralbildung des Kerns.

Der chronologischen Reihenfolge nach ist die nächste die Bildung der Spermatozoiden betreffende Arbeit die meinige.<sup>2)</sup> Bei meinen

1) J. B. Carnoy, *La biologie cellulaire*, Lierre, 1884.

2) Wl. Belajéff, *Antheridien und Spermatozoiden der heterosporen Lycopodineen* (Moskau, 1885) und *Bot. Zeit.* 1885, No. 50 u. 51.

Untersuchungen des Baues und der Entwicklung der Antheridien bei den heterosporen Lycopodineen berührte ich auch die Frage über den Bau der Spermatozoiden dieser Gruppe und über die Entwicklung derselben bei dem Isoëtes. Ich wies darauf hin, dass der Spermatozoidenkörper bei den Isoëtes ausser dem stark lichtbrechenden Faden, welcher sich mit denselben Farbstoffen intensiv färbt, die den Kernen eine charakteristische Färbung verleihen, noch aus einem sich nicht färbenden, bandartigen Saum besteht. Zur Bildung des Farbstoff annehmenden Fadens geht das ganze Nuclein des Kerns der Mutterzelle auf. Was den Saum anbetrifft, so äusserte ich angesichts seiner centralen Lage in der spermatogenen Zelle die Meinung, dass derselbe aus der achromatischen Grundsubstanz des Kerns entstehe. Ich vermuthete gleichfalls, dass die beiden spongiösen Körperchen, welche bei dem Freiwerden der Spermatozoiden von denselben abfallen und die der Blase bei den anderen Spermatozoiden zu entsprechen scheinen, ebenfalls aus der Grundmasse des Kerns entstehen. Auf diesen Gedanken brachte mich die zwischen diesem Saum und den genannten Körperchen herrschende Aehnlichkeit hinsichtlich der Struktur und ihres Verhaltens gegen Reagentien.

In Berthold's<sup>1)</sup> „Studien über Protoplasmamechanik“ finden wir gleichfalls Angaben über die Entwicklung der Spermatozoiden. Nach Berthold bildet sich im Plasma der spermatogenen Zelle bei *Chara foetida* eine Vacuole, welche den Kern, der früher eine centrale Lage einnahm, zur Seite schiebt. An der Stelle, wo der Kern liegt, bildet das Plasma einen stark verdichteten Wandbeleg. Aus dem Kern stülpt sich ein schwanzartiger Anhang vor, der sich mehr und mehr verlängert und, dem Wandbeleg eingelagert, die Vacuole umkreist. Der Körper des Kernes wird nach und nach immer kleiner und verschwindet zuletzt vollständig. Der Kern hat so die Form eines dünnen Spiralbandes angenommen, das mehr als 3 volle Windungen beschreibt. Das von der Wand etwas zurückgetretene Plasma nimmt rasch an Masse ab und ist bald nur noch schwer zu erkennen. Ueber die Entstehungszeit der Cilien kann Berthold nichts Bestimmtes sagen, hält jedoch ihre frühzeitige Entstehung für unwahrscheinlich, da bei den Schwärmern die Cilien erst zuletzt, kurz vor ihrem Austritt sich bilden. Im Wesentlichen nimmt die Entwicklung der Spermatozoiden bei den Schachtelhalmen denselben Gang. Die Blase hält Berthold für den mit einer Membranschicht umgebenen Saft Raum der Zelle.

1) G. Berthold, Studien über Protoplasmamechanik. (Leipzig, 1886) S. 306—307.

Schliesslich änderte auch Strasburger seine ursprüngliche Ansicht und schloss sich der Zahl der Forscher an, welche den Spermatozoidenkörper als einen metamorphosirten Kern der spermatogenen Zelle betrachten. Wir finden wenigstens in den Untersuchungen von D. Campbell,<sup>1)</sup> der in Strasburger's Laboratorium arbeitete, die Ansicht, der Spermatozoidenkörper sei ein verwandelter Kern. Campbell's Untersuchung betrifft die Spermatozoiden der Farne, einschliesslich die Wasserfarne, und der Moose. Seinen Worten zufolge bildet sich auf der einen Seite des Kernes der spermatogenen Zelle eine Spalte oder Einstülpung, so dass der Kern von oben gesehen sichelförmig erscheint. Das zusammengezogene Kerngerüst hat nämlich die Form eines dicken, gekrümmten Bandes. Allmählich wird das Band dünner und platter, die anfangs netzartige Struktur des Kernes verschwindet, und der Körper des Spermatozoiden wird homogen. Die Cilien bilden sich im letzten Entwicklungsstadium des Spermatozoiden und entstehen aus dem Plasma, wie der Autor an einigen Präparaten zu constatiren Gelegenheit hatte. Das Bläschen entwickelt sich aus der bei der ersten Differenzirung des Spermatozoiden entstandenen Einstülpung, ist also plasmatischer Herkunft. Wie Guignard richtig bemerkt, lassen Campbell's Abbildungen viel zu wünschen übrig.

Gleichzeitig untersuchte die Entwicklung der Spermatozoiden Buchtien<sup>2)</sup> im Laboratorium von Goebel. Buchtien hat die Spermatozoidenbildung bei den Schachtelhalmen, Farnen und Moosen beschrieben. Nach Buchtien's Darstellung wird der grosse Kern der spermatogenen Zelle vor der Spermatozoidenbildung wandständig und beginnt an einem Ende auszuwachsen, wobei er sich mehr und mehr abplattet. „Es unterliegt keinem Zweifel,“ sagt Buchtien, „dass dieser (Spermatozoid) lediglich dem Zellkerne seinen Ursprung verdankt.“ Die grob schematischen Abbildungen von Buchtien stellen die consecutiven Veränderungen des Kernes bei der Spermatozoidenbildung dar und vervollständigen gewissermassen die Carnoy'schen Zeichnungen. Die Blase hält Buchtien für den Rest der Mutterzelle, der mit einer zarten Membran umgeben ist. Dem Autor glückte es zu beobachten, dass bei *Pellia epiphylla* die Cilien

1) D. H. Campbell, Zur Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden, B. der deutsch. bot. Gesellschaft, Bd. V, 1887, S. 120—126.

2) O. Buchtien, Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von *Equisetum*, Cassel, 1887.

angelegt werden, bevor der Zellkern seine Form wesentlich verändert hat. „In diesem Falle“, sagt Buchtien, verdanken sie also sicher dem Zellplasma ihren Ursprung.“

Der Spermatozoidenkörper der Schachtelhalme und der Farne beschreibt 2 bis 3 Spiralwindungen, von denen die ersten die engsten sind. Buchtien behauptet, dass die Cilien nur auf einer bestimmten halbkreisförmigen Zone, und zwar der convexen Rückenseite des Spermatozoidenkörpers dicht unterhalb des Vorderendes inserirt sind. Nach Buchtien's Versicherung kann man die Insertion der Cilien nur an lebenden Spermatozoiden beobachten: beim Absterben legen sich meistens die Cilien dem Körper dicht an, so dass es scheint, als ob sie am ganzen Spermatozoidkörper befestigt wären. Nur bei *Marsilia* sind die Cilien am hinteren Ende des Spermatozoiden befestigt, stehen indessen ebenfalls nur auf einer halbkreisförmigen Zone der Rückenseite.

In seiner 1888 erschienenen Arbeit gibt uns D. Campbell<sup>1)</sup> bei der Beschreibung der Spermatozoidbildung bei *Pilularia globulifera* Zeichnungen, auf denen die Metamorphose des Kerns der sich in den Spermatozoidkörper verwandelt, in gleicher Weise wie bei Buchtien veranschaulicht wird. Der Kern der spermatogenen Zelle rückt zur Peripherie, nimmt dann die Form eines Halbmondes an, streckt sich und beschreibt endlich 2 Windungen. Die zahlreichen Cilien bilden sich aus dem peripherischen Plasma, wogegen der centrale Theil der spermatogenen Zelle mit den in ihm enthaltenen Stärkekörnchen zur Blase wird.

Somit wird von den meisten Forschern dem Plasma eine geringere Bedeutung bei dem Bildungsprocesse der Spermatozoiden beigelegt. Aus demselben entstehen nun die Organe zweiter Ordnung — die Cilien und das Bläschen. Nach Leclerc du Sablon's<sup>2)</sup> Meinung spielt jedoch das Plasma bei der Spermatogenese eine wichtige Rolle und ist bei der Bildung des Spermatozoidenkörpers betheilig. Beim *Metzgeria furcata* begibt sich der Kern der spermatogenen Zelle an die Oberfläche derselben, ohne seine Form zu verändern. Zur selben Zeit differenzirt sich um die Zelle herum in dem grossen Kreise, der den Kern, welcher eine excentrische Lage eingenommen

1) D. H. Campbell, On the development of *Pilularia globulifera*. *Annals of Botany* (London, 1888) S. 241.

2) Leclerc du Sablon, Sur la formation des Anthérozoïdes des Hépatiques, *Comptes rend. de l'Acad. d. sciences*, 19. Mars 1888, pag. 876.

hat, berührt, ein dünner Protoplasmafaden; dieser Faden wird homogen und glänzend und lässt sich schwer mit den gewöhnlichen Reagentien für das Plasma und den Kern färben. Dies ist das erste Anzeichen der Bildung der Spermatozoiden. Dabei ist zu bemerken, dass sogar jetzt noch die Form des Kernes im Wesentlichen unverändert bleibt. Demzufolge kann man nicht sagen, dass nur in dem immer länger und dünner werdenden Kerne der Ursprung des Spermatozoiden zu suchen sei. Es ist wohl wahr, dass der Kern mit dem Faden in Berührung kommt, jedoch kann man bei Einwirkung von Hämatoxylin den farblosen Faden auf der Oberfläche des Kernes, der dabei eine intensiv violette Färbung annimmt, verfolgen. Allmählich wird der Kern kleiner, das Plasma flüssiger und der Faden dicker. Augenscheinlich wächst derselbe auf Kosten des Kernes und des Plasmas. Zuletzt verschwindet der Kern, der Ring öffnet sich und der Faden dehnt sich aus, wird immer dünner und nimmt allmählich die Form eines reifen Spermatozoiden an. Gleichzeitig erscheinen an einem der beiden Enden (des Fadens) zwei Cilien.

In einer anderen, in den Bulletins der französischen botanischen Gesellschaft im Jahre 1888 erschienenen Abhandlung, beschreibt derselbe Autor die Spermatozoidenbildung bei den Farnen.<sup>1)</sup> Auch hier behauptet er die Entstehung eines hyalinen und homogenen Ringes. Der Ring erscheint ursprünglich in der dünnen Plasmaschicht, welche die Zellwand vom Kerne trennt, der vom Centrum der Zelle an die Oberfläche derselben gerückt ist, verlängert sich dann schnell und schliesst sich rasch um die Zelle herum. Auf die Bildung des Ringes folgt die Formveränderung des Kernes, welcher anfangs oval wird; darauf dehnen sich seine beiden Enden weiter aus, bleiben aber im Zusammenhange mit dem plasmatischen Ringe; dadurch nimmt der Kern die Form eines Halbmondes an, dessen mittlerer Theil noch stark aufgetrieben ist. Die beiden Enden des Fadens, welcher sich bei der weiteren Ausdehnung des Kernes bildet, vereinigen sich an der Seite der Zelle, die der ursprünglichen Lage des Kernes entgegengesetzt ist. In Folge dessen sieht man im Innern des hyalinen plasmatischen Ringes einen anderen aus dem Kerne entstandenen Ring. Dann platzt der hyaline Faden, das eine seiner Enden wächst in derselben Richtung weiter, das andere aber biegt ins Innere der Zelle ein. Unterdessen ist die der anfänglichen Lage des Kernes ent-

---

1) Leclerc du Sablon, Sur les Anthérozoïdes du Cheilantes hirta, Bulletin d. l. Soc. bot. de France, t. XXXV. 1888, séance 13. Avril, pag. 238.



sprechende Auftreibung fast verschwunden. Die Cilien werden erst dann bemerkbar, wenn die Spermatozoiden schon vollkommen ausgebildet sind. So lange die Cilien noch nicht zum Vorschein gekommen sind, bleibt der Spermatozoidenfaden relativ dick. Die Cilien bleiben anfangs an dem Faden haften, später jedoch lösen sie sich von demselben allmählich ab, und zwar in der Weise, dass ihr dem Vordertheil des Spermatozoiden zunächst liegendes Ende ihre Insertionsstelle bildet. So entstehen die Cilien auf Kosten des plasmatischen Ringes, jedoch geht nicht der ganze Ring bei ihrer Bildung auf: an dem Spermatozoidenkörper verbleibt auch nach Loslösung der Cilien eine dünne plasmatische Schicht. Aus dem Plasma, welches in der Zelle nach der Bildung des Spermatozoidenkörpers und der Cilien verblieben ist, entsteht die Blase. Uebrigens bildet sich diese Blase nicht immer, weit öfter, und — nach Ansicht des genannten Forschers — auch bei normalem Verlauf, zerfließt der Rest der Mutterzelle im Wasser ohne eine Blase zu bilden, die nur dann bemerkbar wird, wenn der Spermatozoid noch nicht seine volle Reife erlangt hat.

Im Januar 1889 erschien die Untersuchung Guignard's,<sup>1)</sup> eine der umfassendsten Arbeiten über die Entwicklung und den Bau der Pflanzenspermatozoiden. Guignard geht hauptsächlich von der Untersuchung des Baues und der Entwicklung der Spermatozoiden bei den Characeen aus.

Nach Guignard's Beschreibung rückt bei den Characeen der Kern der spermatogenen Zelle erst an die Seitenwand und dann an eine der Querwände. Das Protoplasma der spermatogenen Zellen ist feinkörnig, füllt den ganzen Zellenraum aus und enthält keine Vacuolen. Von der Seitenwand, an die der Kern gerückt ist, wird er durch eine dünne Plasmaschicht geschieden. „An der Aussen-seite erscheint ein Faden, der dichter und stärker lichtbrechend ist, als der übrige Kern.“ Dieser Faden verläuft den Querwänden parallel und zwar der dem Kern nächstanliegenden Wand. Obschon es scheinen könnte, als ob dieser Faden bloss der Oberfläche des Kernes anliege, so ist doch zweifellos, dass derselbe durch Differenzirung des Kerns entsteht und mit demselben ein Ganzes bildet. Kaum ist dieser Streifen erschienen, so befestigen sich auch an einem seiner Enden, und zwar an der Aussenseite, die Cilien: auf solche Weise wird dasjenige Ende gekennzeichnet, das den Vordertheil des

1) L. Guignard, Développement et constitution des anthérozoïdes. Revue générale de botanique, 1889, pag. 11.

Flora, Ergänzungsband z. Jahrg. 1894. 78. Bd.

Spermatozoidenkörpers bilden soll. Das Vorderende des Streifens verlängert sich und bildet „eine Art Schnabel“, der an der Seitenwand des Kerns aus dessen Masse hervortritt. Guignard bemerkte, dass, wenn man die Präparate mit einer Mischung von Methylgrün und Fuchsin färbt, dieses Ende eine schwächere grüne Färbung, als die Kernmasse erhält; dessenungeachtet grenzt diese grüne Färbung den Faden deutlich und scharf von dem rosa gefärbten Protoplasma ab. Wenn auch bei den weiteren Entwicklungsstadien die Färbung eine noch schwächere wird, so ist es doch zu berücksichtigen „que cette extrémité est très grêle et que la substance, qui la forme, provient surtout de la partie fondamentale du noyau, qui sert de support à la chromatine et qui, par elle même, est bien moins colorable que cette dernière substance. C'est sur cet élément nucléaire que porte la première différenciation: la chromatine s'y mélange peu à peu, au fur et à mesure que ses granulations diminuent de grosseur et peut-être se dissolvent plus ou moins complètement dans le noyau.“

Weiter wiederholt Guignard: „Des méthodes de coloration indiquées plus haut montrent avec évidence, que ce n'est pas le protoplasme, qui forme la bande d'épaississement, mais bien le noyau lui-même.“

Nach Guignard's Worten zeigen dasselbe auch die Reagentien, mit deren Hilfe man den Kern vom Plasma unterscheiden kann: Magensaft löst wohl das Plasma der spermatogenen Zelle auf, zersetzt jedoch weder den Kern noch das sich zum Spermatozoiden ausdehnende Bändchen. Das entstandene Vorderende des Spermatozoiden dehnt sich schnell an der Oberfläche des körnigen Plasmas aus, dessen Contouren es genau folgt: „Avant même qu'elle n'ait décrit un quart de cercle, l'extrémité caudale prend naissance à l'opposé pour s'accroître en sens inverse et venir se juxtaposer latéralement à la première“ . . . „avec le noyau les deux parties opposées du corps forment ensemble à ce stade un tour de spire.“ Der Kern wird kleiner und homogen. Das Hinterende des Spermatozoidenkörpers wird etwas dicker als das vordere. Von der Seite, wo es mit dem Plasma in Berührung kommt, ist seine Oberfläche uneben und runzelig; an dieser Stelle kann man leicht die Körnchen unterscheiden. Dieser Theil des Hinterendes färbt sich schwach mit Methylgrün, und die Körnchen erhalten sogar bei Einwirkung von Fuchsin eine rosaroth Färbung (une légère teinte rose). Der Spermatozoid streckt sich immer mehr aus, und sobald der Faden zwei Spiralwindungen beschrieben hat, verschwindet die Verdickung in seiner Mitte, wo sich früher der Kern befand. Allmählich verringert sich auch die Quan-

tität des Plasmas, als ob der Spermatozoid dasselbe verdaue und absorbire („l'anthérozoïde le digère, pour ainsi dire, et l'absorbe peu à peu“). Das Vorderende isolirt sich ziemlich bald vom Plasma und diese Isolirung setzt sich allmählich bis zum Hinterende fort, so dass das Plasma zuletzt nur noch an der hinteren Spiralwindung haften bleibt. Zuletzt dringen die Plasmakörnchen, ohne eine wesentliche Veränderung zu erfahren, in das hintere Ende des Spermatozoiden ein (s'y incorporent) und bewirken dadurch die Unebenheit seines inneren Randes. Zu seiner Reifezeit bildet der Spermatozoid etwas über 3 Spiralwindungen und absorbiert das Plasma gänzlich. Die den Körper eines reifen Spermatozoiden bildende Substanz „lässt sich mit allen Reagentien auf Nuclein färben, und das Vorderende reagirt wie eine Nucleinsubstanz, nicht wie das Protoplasma“ (l'extrémité antérieure réagit comme la substance nucléaire et non comme le protoplasme). An der Oberfläche des Spermatozoidenkörpers ist ein äusserst dünnes Häutchen zu bemerken, welches sich kaum mit den für das Plasma charakteristischen Reagentien färben lässt. Hinsichtlich der Entstehung der Cilien gibt uns Guignard bestimmte Ausgangspunkte. Zur Zeit, wo das sich später in den Spermatozoidenkörper verwandelnde Verdickungsband erscheint, ist, wie schon bekannt, der Kern der spermatogenen Zelle an seiner Aussenseite mit einer dünnen hyalinen Plasmaschicht überzogen; diese äusserst dünne Schicht ist, was ihre Contouren und Reaction anbetrifft auch an der übrigen Peripherie der Zelle, vom körnigen Plasma, wenn auch schwierig, doch zu unterscheiden. „Elle ne forme pas un anneau étroit et saillant en dehors du noyau et tout autour du protoplasme, mais une lame d'une certaine longueur, dans laquelle les cils se découpent côte à côte en un même plan et en spirale.“

Die Differenzirung der Cilien beginnt am Vorderende des Spermatozoiden und geht sehr schnell von statten, so dass sie ihre definitive Länge schon dann erlangen, wenn der Spermatozoidenkörper kaum eine halbe Spiralwindung beschrieben hat. Ihre Länge entspricht der eines reifen Spermatozoidenkörpers. Demgemäss müssen sie etwa 3 Spiralwindungen ausmachen. Im optischen Längendurchschnitt der Zelle erscheinen die Cilien bei Anwendung einer doppelten Färbung in Form von rothen Pünktchen. Folglich müssen an jeder Seite des Spermatozoidenkörpers sechs solche Punkte vorhanden sein. „Mais au début“, bemerkt Guignard, „soit que la différenciation des cils soit encore incomplète, soit qu'ils restent partiellement soudés ou accolés au corps de l'anthérozoïde et au protoplasme il est moins élevé et varie forcément.“

Infolge ihrer Insertion am Vorderende des Spermatozoiden, bewirken sie bei Gebrauch von Methylgrün eine schwächere Färbung dieses Endes. Nach Guignard's Dafürhalten veranlasste dieser Umstand Schmitz zu der Annahme, dass das Vorderende nicht aus dem Kerne entstehe.

Nach Guignard vollzieht sich die Spermatozoidenbildung bei den Leber- sowie bei den Laubmoosen im allgemeinen in derselben Weise, wie bei den Characeen. Wenn auch einzelne Abweichungen vorkommen, so sind dieselben doch nicht wesentlich. Bei der *Pellia* z. B. dehnt sich der ganze Kern zu einer Spirale aus, ohne einen schnabelähnlichen Auswuchs zu bilden, wie dies bei den Characeen in den ersten Stadien der Spermatozoidenentwicklung zu bemerken ist. In den meisten Fällen enthalten die reifen Spermatozoiden in ihren letzten Spiralwindungen Ueberreste von nicht verbrauchtem Plasma, das die sogenannte Blase bildet; immerhin kommt es nicht selten vor, dass das Plasma, wie bei den Characeen, gänzlich bei der Spermatozoidenbildung aufgeht. Von den Farnen zieht Guignard besonders die Spermatozoiden der *Marattiaceen* in Betracht. Auch hier rückt der Kern der spermatogenen Zelle an die Peripherie, wird feinkörnig, dehnt sich aus und erscheint an der zum Centrum der Zelle gewandten Seite eingedrückt. Das eine Ende des ausgedehnten Kerns wird spitziger und bildet anfangs einen hakenförmigen Schnabel, der sich spiralförmig verlängert. Dies ist das vordere Ende. Das hintere Ende wächst ebenfalls, nur bleibt es beständig dicker, als das vordere. „Tant qu'elle n'a pas atteint sa longueur définitive la partie antérieure de l'anthérozoïde est granuleuse et moins chromatique, que le reste du corps.“ Zur Reifezeit verbleibt vom Plasma ein Rest, der sich in ein Bläschen umwandelt. Ein reifer Spermatozoid hat ungefähr  $2\frac{1}{2}$  Spiralwindungen. Die Cilien bilden sich aus der hyalinen Plasmaschicht, welche den Kern und das körnige Plasma der Zelle bedeckt und so von der Peripherie aus die ganze Zelle umgibt. Anfangs kann man in dieser Schicht nur Striche unterscheiden; wenn man jedoch die hyaline Schicht, welche den Körper bedeckt, zerreisst und die Cilien isolirt, so kann man sich überzeugen, dass diese Streifen körnige Fäden darstellen, die später in Folge der Auflösung und des Verschwindens der Körnchen homogen werden. Die Cilien befestigen sich ausschliesslich an der ersten Hälfte der vorderen Spiralwindung.

Bei Gebrauch der von Zacharias in Vorschlag gebrachten Reagentien erhält man keine allgemein gültigen und genauen Resul-

tate in Bezug auf die Zusammensetzung der einzelnen Theile des Spermatozoiden. Guignard's Ansicht nach liegt kein Grund vor, das Häutchen auf dem Spermatozoidenkörper für ein Produkt des Plasmas zu halten, wie das von Zacharias behauptet wird. „Les procédés de double coloration“, sagt Guignard, „ne m'ont pas permis de reconnaître un dépôt pur et simple de protoplasme à la surface de la bande spirale.“ Die Entwicklung und der Bau der Spermatozoiden der übrigen Farne unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der Spermatozoiden der Maratiaceen.

Noch vor dem Erscheinen der Arbeit Guignard's machte ich am 14. December 1888 J. in der Sitzung der St. Petersburger Naturforschergesellschaft eine Mittheilung über den Bau und die Entwicklung der Spermatozoiden bei den Gefässkryptogamen. Diese Mittheilung wurde von mir später in den Berichten der deutschen botanischen Gesellschaft veröffentlicht.<sup>1)</sup>

Bei meiner Untersuchung des Baues der Spermatozoiden der Schachtelhalme und der Farne überzeugte ich mich, das die Spirale der Spermatozoiden aus einer achromatischen Substanz besteht, in welcher ein Chromatinfaden oder ein mehr oder weniger länglicher Chromatinkörper eingeschlossen ist, der jedoch das vordere Ende des Spermatozoiden nicht erreicht. Die Entwicklungsgeschichte zeigt, dass das achromatische Band sich aus dem Plasma der Zelle, der Chromatinfaden jedoch aus dem Kerne bildet. Später veröffentlichte ich eine ganze Serie von Mittheilungen über den Bau und die Entwicklung der Spermatozoiden bei verschiedenen Pflanzen.<sup>2)</sup> Da der Inhalt dieser Mittheilungen in vorliegender Abhandlung mitverarbeitet ist, so halte ich es für überflüssig diese Arbeiten hier zu besprechen. Ende 1889 veröffentlichte Guignard in den Bulletins der französischen botanischen Gesellschaften zu seinem grossen Werke einen Nachtrag unter dem Titel: „Ueber Antherozoiden der Marsiliaceen und Schachtelhalme.“<sup>3)</sup> Durch die

1) Wl. Belajeff, Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoiden bei den Gefässkryptogamen. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft 1889, H. 3, S. 122.

2) Wl. Belajeff, Ueber Pflanzenspermatozoiden. Protokoll der Sitzung der Warschauer Naturforschergesellschaft No. 3 vom 17. Mai 1889. Ueber Spermatozoiden bei den Characeen, ebenda No. 4 vom 27. September 1889. Ueber Pflanzenspermatozoiden. Protokolle der 8. Versammlung russischer Naturforscher und Aerzte 1890 und Scripta Botanica Bd. III.

3) L. Guignard, Sur les anthérozoïdes des Marsiliacées et des Équisétacées (Bulletin de la Soc. bot. de France 1889, XXXVII, pag. 378).

Erforschung des Baues und der Entwicklung der Spermatozoiden bei der *Pillularia*, kam Guignard zu der Schlussfolgerung, dass auch hier die Spermatozoidenbildung ebenso vor sich geht, wie bei den Characeen, den Moosen und den Farnen. Der Kern schiebt sich zur Wand und streckt sich dann in den Spiralkörper des Spermatozoiden aus. Das Plasma wird dabei theilweise verbraucht, der übrig gebliebene Theil desselben bildet die Blase. Der Spermatozoidenkörper, welcher an die Spermatozoiden bei *Sphagnum* erinnert, zeigt an seinem Vorderende, wie bei den Torfmoosen, eine kleine Anschwellung, die eine gewisse Anzahl Cilien trägt. Die Cilien bilden sich auch hier aus der hyalinen peripherischen Plasmaschicht. Beim Uebergange zu der Besprechung der Schachtelhalme citirt Guignard die Ergebnisse meiner Arbeit und weist auf die Widersprüche zwischen meinen Ergebnissen und seinen eigenen Resultaten hin, bleibt aber bei seinen früheren Ansichten. Die Entwicklung der Spermatozoiden bei den Schachtelhalmen vollzieht sich auf gleiche Weise, wie bei den Farnen. Die vordere Spiralwindung des Spermatozoiden ist äusserst dünn und besteht hauptsächlich aus einer sich nicht färbenden hyalinen Substanz. An der zweiten Hälfte der ersten Spiralwindung kann man schon einzelne Körnchen und sogar einen dünnen Chromatinfaden unterscheiden. Die die erste Spiralwindung bildende achromatische Substanz geht am hinteren Theil des Spermatozoiden in das seinen Körper bedeckende Häutchen über. Die Beschreibung des Spermatozoiden der Schachtelhalme unterscheidet sich in nichts Wesentlichem von meiner Beschreibung. Früher war Guignard anderer Meinung: er behauptete, dass das Chromatin gleichmässig im ganzen Spermatozoidenkörper vertheilt sei, da es sich in der Grundmasse des Kernes, der sich schliesslich seiner Meinung nach in den Spermatozoidenkörper verwandelt, auflöse. Was die Entstehung des Achromatins anbelangt, so ist auch jetzt Guignard der Meinung, dass diese Substanz nicht aus dem Plasma hervorgeht, sondern die Grundmasse des Kernes der spermatogenen Zelle darstellt.

Aus dem hier angeführten Ueberblick der Litteratur ist ersichtlich, wie mannigfach und widersprechend die Resultate zahlreicher Untersuchungen über die Spermatogenese im Pflanzenreiche sind. Die Hauptursache dieser Widersprüche in den Daten und den Schlussfolgerungen der Autoren besteht wohl darin, dass die spermatogenen Zellen und vor allem die in ihnen enthaltenen Elemente, welche bei der Spermatozoidenbildung eine bedeutende Rolle spielen, sehr geringe Dimensionen haben.

Fassen wir die Litteraturdaten über Pflanzenspermatogenese zusammen, so können wir die Ansichten der Autoren in 3 Gruppen theilen:

1. Nach der Meinung der einen Forscher vermischt sich der Kern vor der Spermatozoidenbildung mit dem Plasma und der Spermatozoidenkörper erhält seinen Ursprung an der Peripherie der gleichartigen Masse, welche die Zelle ausfüllt (Nägeli, Strasburger, Sachs).

2. Andere Forscher behaupten, dass an der Bildung des Spermatozoidenkörpers sich der Kern und das Plasma der Zelle beteiligen (Schmitz, Zacharias, Leclerc du Sablon und meine Untersuchungen).

3. Die Mehrzahl der Forscher vertritt die Ansicht, dass der Spermatozoidenkörper ausschliesslich aus dem Kerne entsteht (Schacht, Goebel, Campbell, Strasburger, Buchtien, Guignard).

Was die Cilien anbetriift, so stimmen alle Forscher darin überein, dass diese Gebilde sich aus dem Plasma entwickeln, jedoch machen nur Leclerc du Sablon und Guignard einen Versuch ihre Entstehungsart zu erklären.

Die Blase wird von den meisten Forschern für den Plasmarest der Zelle gehalten; nur Schmitz ist der Meinung, dass dieselbe sich aus dem Kern der Mutterzelle des Spermatozoiden bilde.

---

### Eigene Untersuchungen.

#### *Characeae.*

Die Antheridien der Characeen bilden ein vortreffliches Material zum Studium der Entwicklung der Spermatozoiden. Die spermatogenen Zellen finden sich hier in Form von Fäden vereinigt, welche sich leicht aus dem Antheridium entfernen lassen. Demgemäss ist es nicht schwierig, die Veränderungen, welche in den spermatogenen Zellen vorgehen, bei ihrer Seitenlage zu verfolgen. Viel schwerer ist es, diese Zellen von ihrer unteren oder oberen, sie mit einander vereinigenden Querwand zu betrachten. Es gelang jedoch Guignard auch dieses Hinderniss zu beseitigen. Wenn man nämlich die Antheridien der Einwirkung von Osmiumsäure und dann von absolutem Alkohol aussetzt, so lassen sich die Zellen leicht von einander trennen. Die Spermatozoiden der Characeen sind verhältnissmässig gross, und

ihr Bau ist äusserst einfach; sie tragen nur zwei Cilien und haben gar keine Blase, wenn man nicht das verdickte hintere Ende des Spermatozoidenkörpers als solche betrachtet. Dank diesen Vorzügen bilden die spermatogenen Zellen der Characeen schon längst das klassische Material zum Studium der Spermatogenese. Da ich mich zuerst mit der Entwicklung der Spermatozoiden in den Lycopodineen, Schachtelhalmen und Farnen beschäftigte, wusste ich später die Vorzüge zu schätzen, welche die Characeen beim Studium dieses Processes gewähren. Was bei den Gefässkryptogamen nicht vollkommen klar schien, worüber man sich nur mit äusserster Mühe eine bestimmte Anschauung bilden konnte, das trat bei den Characeen ohne Schwierigkeit und mit wunderbarer Klarheit zu Tage.

Beim Studium der Spermatogenese der Characeen wandte ich zur Bereitung der nöthigen Präparate folgende Methode an:

Die Sprossen der Characeen mit den Antheridien wurden in concentrirter Picrinsäure fixirt. Nach 24 Stunden wurden sie sorgfältig gewaschen, wozu ebenfalls 24 Stunden erforderlich waren, da das destillirte Wasser mehrmals gewechselt werden musste. Dann kamen die Stengel in Boraxcarmin, wo sie 48 Stunden lang verblieben. Nach Ablauf dieses Zeitraumes wurden die Objecte nochmals einige Minuten lang gewaschen, worauf sie in Wasser oder Glycerin untersucht wurden. Dabei wurden die Antheridien vermittelt einer Nadel geöffnet, die aus denselben hervortretenden Fäden der spermatogenen Zellen zerschnitten und dann mit der Nadel in den Wassertropfen des Objectivglases gebracht. Der Boraxcarmin färbte den Kern intensiv roth, das Plasma jedoch blieb farblos. Das mit Carmin gefärbte Material bewahrte ich in Alkohol auf, wobei der Kern mehrere Jahre lang seine intensive Färbung, die jedoch leicht ihre Nüance änderte, beibehielt.

In Anbetracht der sich widersprechenden Resultate meiner Untersuchungen und der Arbeit Guignard's entschloss ich mich später, die von letzterem vorgeschlagene Methode anzuwenden. Seinen Vorschriften gemäss fixirte ich die Antheridien durch Dämpfe von Osmiumsäure und brachte dann die Präparate in absoluten Alkohol. Zuweilen bediente ich mich zur Fixirung auch der Flemming'schen Flüssigkeit; nach längerem Spülen der Präparate mit Wasser wurden dieselben nochmals in Alkohol gehärtet. Die Antheridien wurden vermittelt einer Nadel geöffnet. Die gegliederten spermatogenen Fäden zerfallen bei Einwirkung von Osmiumsäure oder Flemming'scher Flüssigkeit und Alkohol leicht in einzelne Zellen.



Um das Plasma vom Kern zu unterscheiden, gebrauchte ich eine Mischung von Jodgrün und Fuchsin, welche Strasburger in seinem „Botanischen Practicum“ empfiehlt und die von mir bei meiner Beschäftigung mit den Spermatozoiden der Gefässkryptogamen angewandt wurde.<sup>1)</sup> Guignard empfiehlt zu demselben Zwecke eine Mischung von Methylgrün und Fuchsin. Ich habe auch diese Mischung versucht. Ich erhielt dabei ganz gleiche Resultate, nur mit dem Unterschiede, dass die mit Methylgrün gefärbten Präparate schneller verblichen. Hierbei ist zu bemerken, dass die rothe Färbung des Plasmas besonders intensiv scheint, wenn die Präparate im Wasser betrachtet werden. Glycerin entzieht dem Plasma, welches dabei etwas blasser wird, das Fuchsin in bedeutendem Maasse. Um das Blosswerden des Plasmas zu verhindern, brachte ich die Präparate in vorher mit einer Mischung von Jodgrün und Fuchsin gefärbtes Glycerin. Bei Bereitung der Mischung sind das Fuchsin und das Jodgrün in solchen Proportionen zu nehmen, dass dieselbe eine violette Färbung erhält. Die Mischung muss jedes Mal frisch bereitet werden. 24 Stunden nach ihrer Herstellung zeigt sie schon eine schmutzige Färbung und mit der Zeit verschwindet allmählich der Unterschied zwischen Kern- und Plasmafärbung.

Die Präparate wurden grösstentheils in Glycerin aufbewahrt. Nach 2—3 Monaten verloren gewöhnlich die Objecte ihre Färbung. Es genügte jedoch den Präparaten, welche unverklebt aufbewahrt wurden, eine frische Mischung von Jodgrün und Fuchsin hinzuzufügen, um die frühere intensive Färbung wieder herzustellen. In alten, ungefähr 2 Jahre in Glycerin aufbewahrten Präparaten ist es mir nicht mehr gelungen, eine verschiedene Färbung des Kerns und des Plasmas hervorzurufen.

Wegen der geringen Dauerhaftigkeit der in Glycerin aufbewahrten Präparate und wegen der Schwierigkeit, dieselben unverklebt zu bewahren, machte ich den Versuch, die Präparate in eine feste Mitte einzuschliessen. Zu diesem Zwecke gebrauchte ich eine Lösung von Gummi arabicum. Ich streute auf die Präparate, welche im Wassertropfen durch die Mischung von Jodgrün und Fuchsin eine intensive Färbung erhalten hatten, mit einem Pinsel pulverisirtes Gummi arabicum. Das Gummi arabicum löste sich auf und allmählich trocknete diese Lösung an der Luft; so wurden die Spermatozoiden und die spermatogenen Zellen von einer festen Masse, ohne dass sie

1) Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoiden bei den Gefässkryptogamen. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1889, pag. 128.

dabei ihre Form geändert hätten, umschlossen. Der eingetrocknete Gummifleck wurde noch mit einem Tropfen Canadabalsam bedeckt, worauf ein Deckgläschen kam.<sup>1)</sup> Auf diese Weise gelang es mir, die intensiv gefärbten Präparate zu liefern, deren Färbung sich noch jetzt, nach 4 Jahren, unverändert erhalten hat. Der Bau der Spermatozoiden ist auf solchen Präparaten in seinen feinsten Details ganz deutlich zu erkennen.

Als Untersuchungsobjecte dienten mir die verschiedenen Arten der Gattung *Chara* (*Chara foetida*, *stelligera*, *ceratophylla* u. s. w.) und eine Art von *Nitella* (*N. flexilis*).

### I. Bau der Spermatozoiden.

Ich begann meine Untersuchungen mit dem Studium des Baues der Spermatozoiden. Hat man erst die Eigenthümlichkeiten des Baues eines reifen Spermatozoiden kennen gelernt, so kann man sich schon a priori eine Vorstellung von der Entstehung seiner einzelnen Theile machen; auch bietet es weiter keine Schwierigkeit die einzelnen Stadien der Verwandlung der Zelle in den Spermatozoiden zu verstehen.

Die Spermatozoiden der *Characeen* bestehen aus einem spiralförmigen, fadenähnlichen Körper, der zwei an der Aussenseite der Spirale befestigte Cilien trägt. Die Cilien sind nicht am äussersten Ende des Spermatozoidenkörpers, sondern in einiger Entfernung von diesem Ende befestigt und verlaufen spiralförmig nach dem entgegengesetzten Ende hin. Nach den Beschreibungen fast sämtlicher Autoren — Guignard nicht ausgeschlossen — sind die Cilien am äussersten Vorderende des Spiralkörpers befestigt. Nur auf den vorzüglichen Abbildungen und im Texte der Arbeit von Thuret<sup>2)</sup> finden wir eine richtige Darstellung der Spermatozoiden bei den *Characeen*. Bei allen Spermatozoiden dieser Gruppe, die er in seiner Arbeit auf Tabelle 9 (Fig. 5 u. 6) darstellt, sind die Cilien in einiger Entfernung vom Vorderende des Spermatozoidenkörpers befestigt.<sup>3)</sup> Man könnte übrigens voraussetzen, dass Guignard und

1) Diese Methode ist von mir ausführlicher in den Protokollen der Sitzungen der St. Petersburger Naturforschergesellschaft 1892, S. 10, beschrieben.

2) G. Thuret, Recherches sur les anthéridies des cryptogames. Ann. d. sc. natur. Botanique, 2ième ser. t. XVI, 1851.

3) Thuret sagt über die Befestigung der Cilien: „Deux cils très longs . . . naissent un peu en arrière de l'extrémité antérieure de la spire“ (pag. 20).

die übrigen Forscher andere Arten von Characeen, bei denen die Spermatozoiden anders gebaut sind, zu ihren Untersuchungen verwandt haben, als diejenigen, welche ich und Thuret gebrauchten. In der That beschäftigte sich Guignard speciell mit den Spermatozoiden der *Chara fragilis*, die bei meinen Untersuchungen nicht zur Verwendung kam. Allein erstens tragen Spermatozoiden der *Nitella*, einer anderen Gattung derselben Klasse, meinen Beobachtungen zufolge, die Cilien auch in einiger Entfernung vom Vorderende; zweitens sind bei Thuret auf Fig. 5 die Spermatozoiden der *Chara fragilis* ganz ebenso dargestellt wie bei mir die Spermatozoiden anderer Arten; drittens sind auf den Abbildungen von Guignard (Fig. 24 u. 22) die Cilien nicht ganz am Ende des Spermatozoidenkörpers befestigt. Guignard aber, der sie zum Unterschiede von der blauen Färbung des Spiralkörpers roth färbt, führt sie bis zum äussersten Ende des Spermatozoiden fort.

Eine Mischung von Fuchsin und Jodgrün (oder Methylgrün) färbt die Cilien hell oder intensiv roth, je nachdem die Mischung mehr oder weniger concentrirt ist. Gleiche, jedoch etwas intensivere Färbung erhält auch der vordere Theil des Spermatozoidenkörpers. Dieser sich roth färbende Vordertheil endigt, von der Ansatzstelle der Cilien aus gerechnet, etwas weiter nach hinten. Der Vordertheil ist dünner als der übrige Körper des Spermatozoiden (Fig. 31, 33 u. 35). Der mittlere und zugleich der längste Theil nimmt bei Behandlung mit der erwähnten Mischung eine blaugrüne Jodgrünfarbe an. Er scheint vollkommen homogen zu sein; nur mit Mühe lässt sich an seiner inneren (Bauch-)Seite eine schmale körnige Einfassung unterscheiden, welche sich roth färbt. Bei intensiver Färbung mit Fuchsin lässt sich längs des ganzen mittleren Theiles ein äusserst dünnes Häutchen wahrnehmen, welches eine rosaroth Färbung erhält. Das hintere und zugleich das dickste Ende des Spermatozoiden färbt sich gleich dem Vorderende roth; diese Färbung ist jedoch weniger intensiv. Am hinteren Ende lässt sich leicht ein homogener, sich nur schwach färbender Rückenfaden und eine innere (Bauch-)Einfassung, die sich stark färbende Körnchen enthält, unterscheiden (Fig. 31). Die freie Seite dieser Einfassung zeigt nicht selten äusserst unregelmässige Konturen (Fig. 35). Zuweilen nimmt der hintere Theil eine wabige Struktur an (Fig. 33 u. 34). Die Querwände der an einander stossenden Kammern und die innere Seite der Spirale färben sich intensiv roth, das Uebrige hell rosafarbig. Augenscheinlich besitzen eine solche Struktur nur ganz reife Spermatozoiden.

Die Länge der Spermatozoiden variirt je nach den verschiedenen Gattungen und Arten. Die Spermatozoiden der von mir untersuchten Charaarten sind bedeutend länger als die Spermatozoiden der *Nitella flexilis*. Der Spermatozoidenkörper der *Chara* bildet bis  $3\frac{1}{2}$  Spiralwindungen, derjenige der *Nitella* bloss gegen  $2\frac{1}{2}$  solcher Windungen. Meine Beobachtungen über die Zahl der Spiralwindungen der Spermatozoiden bei der *Nitella flexilis* stimmen mit den Abbildungen von Thuret überein, der die *Nitella syncarpa* vor Augen hatte. Die soeben erwähnte Anzahl der Windungen scheint für diese beiden Arten charakteristisch zu sein. Auf den mittleren Theil, der sich durch die genannte Mischung blaugrün färbt, kommen bei der *Chara*  $2\frac{1}{2}$  und bei der *Nitella*  $1\frac{1}{2}$  Spiralwindungen. Der vordere und hintere Theil zusammen beschreiben folglich in beiden Fällen ungefähr eine Windung.

Unter dem Mikroskop betrachtet, erscheint die Spirale des Spermatozoiden wie bei der *Chara*, so auch bei der *Nitella* von rechts nach links, d. h. in Wirklichkeit von links nach rechts (im botanischen Sinne) zu gehen.

Auf diese Weise entspricht meinen Beobachtungen nach weder die Insertionsstelle der Cilien, noch die Vertheilung der Färbung in dem Spermatozoidenkörper der Beschreibung und den Abbildungen Guignard's. Nach Guignard färbt sich das vordere Ende des Spermatozoiden durch Methylgrün schwächer als die übrige Masse des Kerns, weist jedoch vollkommen deutliche blaue Färbung auf. Guignard führt zur Erklärung der schwächeren Färbung verschiedene Gründe an: erstens durch Beschaffenheit dieses Endes, welches hauptsächlich aus der sich schwach färbenden Grundsubstanz des Kernes entsteht, zweitens durch die ausserordentliche Dünne dieses Endes und drittens durch die Befestigung der Cilien, welche sich rot färben und somit die grüne Färbung dieses Endes maskiren. Bei mir farbte sich jedoch dieses Ende gar nicht durch Methylgrün, sondern nur mit Fuchsin, und zwar sowohl ober- als unterhalb der Befestigungsstelle der Cilien. Obgleich das Ende äusserst dünn ist, nimmt es doch eine intensiv rothe Färbung an, die diejenige der Cilien weit übertrifft.

Ich beschränkte mich nicht allein auf die Färbung mit Fuchsin und Jodgrün, sondern bediente mich auch anderer Färbemittel, wobei ich gleiche Resultate wie beim Gebrauch dieser Mischung erhielt. Die kernfärbenden Mittel verliehen auch dem mittleren Theil des Spermatozoidenkörpers dieselbe Färbung und die plasmafärbenden

bewirkten gleiche Färbung des hinteren und vorderen Endes des Spermatozoiden. An den in Boraxcarmin gehaltenen Spermatozoiden färbt sich der mittlere Theil intensiv roth, während das vordere und hintere Ende, sowie die Cilien, hell bleiben oder eine schwache Rosa-färbung erhalten. Auf Fig. 36 sind in Mutterzellen eingeschlossene Spermatozoiden abgebildet. Ihr mittlerer Theil, der mit Boraxcarmin roth gefärbt ist, hat sich bei der Herstellung des Präparats zusammengezogen, so dass er nicht mehr als eine halbe Spiralwindung bildet. Wahrscheinlich ist diese Zusammenziehung eine Folge der Einwirkung von Picrinsäure, womit das Präparat fixirt wurde. Später werden wir sehen, dass eine ähnliche Zusammenziehung des mittleren Theils auch bei Einwirkung einiger anderen Säuren stattfindet.

Wenn man obengenannte Stoffe als zuverlässige Reagentien für Plasma und Kern betrachtet, so muss man auf Grund der Färbung eines reifen Spermatozoiden zu dem Schlusse kommen, dass sein mittlerer Theil sich aus dem Kern, der vordere und hintere Theil jedoch, sowie die Cilien sich aus dem Plasma bilden. Wir wollen uns jedoch nicht auf diese Daten beschränken, sondern werden 1. die Entwicklungsgeschichte des Spermatozoiden und 2. das Verhalten der Bestandtheile der Spermatozoiden und ihrer Mutterzellen den verschiedenen Reagentien gegenüber eingehend betrachten, um auf diese Weise die Entstehung der einzelnen Spermatozoidentheile aus den Elementen der Mutterzelle uns zu erklären.

## II. Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden.

Wie bekannt, vermehren sich die spermatogenen Zellen der Characeen durch Theilung vermittels sich bildender Querwände, und sind desswegen fadenförmig gruppirt. In sehr jungen Antheridien haben die fädenbildenden Zellen eine cylindrische Form, deren Höhe viel grösser als der Diameter ihrer Basis ist. So oft sich die Zellen theilen, verringert sich die Höhe derselben und zuletzt nehmen sie die Form von cylindrischen Plättchen an, deren Höhe 3—4 Mal geringer ist als der Diameter ihrer Basis. Die die spermatogenen Zellen von einander trennenden Scheidewände werden wir in unseren weiteren Auseinandersetzungen als Querscheidewände bezeichnen, die Wand aber, welche die Zelle nach aussen hin begrenzt, Seitenwand der Zelle benennen.

In jeder spermatogenen Zelle ist ein Kern enthalten, der das Centrum derselben einnimmt (Fig. 1). Das Chromatin im Kern ist in Form von äusserst kleinen Körnchen vertheilt, in Folge dessen

der Kern fast homogen erscheint. Er enthält ausserdem noch 2—3 Nucleolen, welche sich (Guignard ist anderer Ansicht) ihrer Grösse nach wesentlich von dem äusserst kleinen Chromatinkörnchen unterscheiden. Das Plasma füllt nicht, wie Guignard behauptet, die ganze Zelle aus, sondern bildet einen dünnen Wandbeleg, von dem aus Fäden zu dem im Centrum der Zelle befindlichen Kerne laufen. Sowohl im Plasma der Wandschicht, als auch in den Fäden sind Mikrosomen sichtbar. Dieselben sind an den Querwänden wie auch an der Seitenwand der Zelle (Fig. 1) äusserst regelmässig an einander gereiht. Die Plasmafäden sind nur bei sehr intensiver Färbung mit Fuchsin deutlich bemerkbar. Bei schwacher Färbung nimmt die ganze Zelle eine gleichmässige rosaroth Farbe an, wobei die sich oft verzweigenden Fäden nur an der Lage der in ihnen enthaltenen Mikrosomen zu erkennen sind (Fig. 2).

Vor der Theilung der spermatogenen Zellen vollzieht sich die Theilung der Kerne durch Karyokinese. Bevor es zu dieser Theilung kommt, werden die Chromatinkörnchen im Kerne grösser, die Kernkörperchen jedoch verschwinden: dies ist das Stadium des dichten Knäuels (Fig. 2). Oft gewahrte ich ganze Fäden spermatogener Zellen, bei denen die Chromatinfäden des Kernes sich an derjenigen Seite zusammgezogen, die der Basis des Fadens zugewandt war (Fig. 3). Die entgegengesetzte Seite des Kernes war von dessen Grundsubstanz eingenommen, welche sich weder durch Fuchsin, noch durch Jodgrün färbte; von der Chromatinanhäufung gehen einzelne Fäden aus, die in dem hellen, sogenannten Kernsaft verlaufen. Sie nehmen keine Färbung an und bestehen augenscheinlich nur aus Linin. Der Gedanke lag nahe, dass der Kern in solchen Zellen sich im Stadium des lockeren Knäuels befinde und dass die dem Polarfelde zugewandten Chromatinschleifen diese Anhäufung verursacht hätten. Dies schien mir um so wahrscheinlicher, da zwischen diesen Zellen zuweilen mehrere Zellen mit im Mutterstadium befindlichen Kernen vorkamen. Allein eine nähere Untersuchung zeigte, dass eine solche Chromatinansammlung auch in denjenigen sterilen Zellen zur Beobachtung kommt, an die sich die spermatogenen Fäden befestigen und welche keiner Theilung unterworfen sind. Hiernach ist die Voraussetzung weit natürlicher, dass die Ansammlung von Chromatin durch Einwirkung der Reagentien zu Stande komme.

In den mit Flemming'scher Flüssigkeit fixirten Präparaten suchte ich vermittels verschiedener Färbungsmethoden die Anwesenheit von Attraktionskörperchen und Centrosomen festzustellen. Vor-

läufig ist mir dies jedoch nicht gelungen. Dieser Misserfolg lässt sich vor allem durch die Kleinheit des Objects erklären. Uebrigens schienen mir im Stadium der äquatorialen Gruppe (des Muttersterns) an Endpunkten der Spindel Körnchen vorhanden. Die Körnchen waren jedoch so klein, dass ich sie nicht auf meinen Zeichnungen zu reproduziren wagte.

Eine eigenartige Erscheinung bieten, was ihre Lage anbetrifft, die Spindeln der in Theilung begriffenen Kerne. Die Axe der Spindel deckt sich nie mit der Axe des Zellylinders, sondern ist immer geneigt und bildet eine Diagonale (Fig. 4). Ausserdem haben die Axen der Spindeln zweier Nachbarzellen meistens verschiedene Richtungen (Fig. 5 u. 8), neigen sich jedoch zuweilen nach ein und derselben Richtung (Fig. 4 unten und Fig. 6 oben). Höchst selten erhielt ich solche Präparate, bei denen man im Muttersternstadium noch die Konturen des Kerns unterscheiden konnte (Fig. 8). Die Achromatinfäden der Kernspindel erscheinen bei schwacher Färbung mit Fuchsin hell, färben sich aber durch stärkere Lösungen intensiv roth. Diese Fäden laufen gewöhnlich an den Polen der Spindel in einen scharfen Winkel zusammen, nicht selten jedoch stemmen sie sich auch gegen die Querwand, wobei sie gleichsam gebrochen erschienen. Man erhält den Eindruck, als ob die Spindel nicht mehr Platz genug in der Zelle hätte. Was nun die Chromatinsegmente anbetrifft, so treten sie bei der Chara in Form von ziemlich grossen Körnchen auf, bei der Nitella jedoch in Form von dünnen Fäden. Sobald sie sich den Polen nähern oder, wie man jetzt annimmt, von den Polen angezogen werden, drängen sie sich aneinander und treiben die Spindel auf. Am Pole angelangt, bilden sie daselbst breite Polargruppen (Tochtersterne). Diese Gruppen sind an der Peripherie der Zelle dicker und gegen die Axe derselben dünner (Fig. 6).

Die Achromatinfäden behalten auch jetzt noch ihre diagonale Richtung, wobei sich in ihrer Mitte schon die Verdickungen zeigen, welche später bei ihrer Verschmelzung die Zellplatte bilden. Allmählich jedoch vertheilen sich die Chromatinsegmente gleichmässig längs der ganzen Querwand und die Achromatinfäden nehmen eine der Zellaxe parallele Richtung (Fig. 7). Auf diese Weise verändert die Axe der Kernspindel ihre Lage und die in Entstehung begriffene Zellplatte nimmt eine den Querwänden parallele Stellung ein. Aus den Chromatinsegmenten an den Querwänden bilden sich die Tochterkerne und die in die Zellscheidewand übergehende Zellplatte theilt

die Zelle in zwei Hälften. Unter den Tochterkernen bilden sich zwischen den Achromatinfäden Vacuolen, welche allmählich grösser werden, den Rest der Kernspindel verdrängen und der neuen Querwand zuschieben (Fig. 8, die beiden oberen Zellen). Die plasmatischen Plättchen zwischen den mit einander verschmelzenden Vacuolen verwandeln sich in diejenigen Fäden, mittelst derer der Kern an den Zellwänden suspendirt ist. Die sich auf diese Weise bildenden Querscheidewände sind äusserst dünn, und selbst bei Anwendung der stärksten Vergrösserungen ist es mir nicht gelungen in diesem Stadium die beiden Konturen, welche Guignard auf Fig. 1 darstellt, zu entdecken. Untersucht man eine ganze Reihe von Zellen, so unterscheiden sich gewöhnlich die karyokinetischen Figuren sehr wenig von einander, in einem ganzen spermatogenen Faden jedoch, findet man Zellgruppen mit in verschiedenen Stadien der indirecten Theilung befindlichen Kernen (Fig. 8).

In seiner Beschreibung der Kerntheilung in den vegetativen Zellen bei der *Chara foetida* kam Johow zu der Schlussfolgerung, dass die Karyokinese dieses Gewächses von dem für die anderen Pflanzen bekannten Schema abweicht. Die bei der Theilung der Zellen bei der *Chara foetida* stattfindende Kerntheilung, sagt Johow, „hat wenig Aehnlichkeit mit den meisten bei Pflanzen und Thieren bekannten Theilungsmoden“. <sup>1)</sup> Das ganze Chromatin des Kernes ist nach Johow's Meinung bei den Characeen in dem Nucleolus enthalten; eine Kernspindel und das Muttersternstadium bilden sich gar nicht etc. Meine Beobachtungen hinsichtlich der Karyokinese in den spermatogenen Zellen zeigen, dass wenigstens in diesem Falle die Kerntheilung bei den Characeen dem für die höheren Pflanzen bekannten Schema vollkommen analog ist.

Ungeachtet der grossen Ausdehnung des spermatogenen Fadens während seiner Entwickelung, theilt er sich zuletzt doch nur in äusserst flache Zellen (Fig. 9). Die Kerne dieser Zellen wandern schon im Stadium des dichten Knäuels aus dem Centrum der Zelle zu der Seitenwand hin. Die Seitenwand, zu der sich der Kern begibt, werden wir „Rückenseitenwand“ der Zelle benennen und die entgegengesetzte Wand als „Bauchseitenwand“ derselben bezeichnen. Auf der Rückenseite wird der Kern, welcher das Centrum verlassen hat, netzartig und feinkörnig und allmählich setzt sich diese Strukturveränderung gegen das Centrum der Zelle fort (Fig. 10). Schliesslich erscheinen in ihm auch die

1) Fr. Johow, Die Zellkerne von *Chara foetida*, Bot. Zeit. 1881, pag. 749.



Nucleolen (Fig. 11). Während der Wanderung des Kernes vom Centrum der Zelle bis zur Peripherie derselben, rückt er bald nach der einen, bald nach der anderen Seite hin, ohne eine bestimmte Regel zu befolgen. Oft jedoch liegen die Kerne in der ganzen Zellreihe an ein und derselben Seite.

In den mangelhaft fixirten Präparaten liegen die Kerne oft der einen Querscheidewand näher, als der anderen. Augenscheinlich nähern sie sich der der Basis des Fadens zunächst liegenden Scheidewand und lagern sich derselben so dicht an, dass sie sich an dieser Seite abflachen. An dieser Scheidewand befindet sich auch eine dichte Ansammlung des Plasmas (Fig. 12). Auf diese Erscheinung weist auch Guignard hin. Allein auf den besser fixirten Präparaten und besonders auf den mit Flemming'scher Flüssigkeit behandelten, ist eine solche Verschiebung der Kerne und eine solche Ansammlung des Plasmas nicht zu bemerken (Fig. 11). Bei frischen Präparaten befinden sich die Kerne ebenfalls in gleicher Entfernung von beiden Querscheidewänden. An fixirten Präparaten bemerkt man zugleich ein Loslösen des Plasmas von der Zellmembran. Der plasmatische Sack zieht sich zusammen und die Vacuolen nehmen an Zahl und Grösse ab, ohne jedoch gänzlich zu verschwinden; dies ist deutlich aus Fig. 13 zu ersehen, wo die spermatogenen Zellen von einer der flachen Seiten aus abgebildet sind und wo wir mehrere dem Kern der spermatogenen Zelle anliegende Vacuolen vorfinden. Eine solche Zusammenziehung des Plasmas, jedoch in einem viel geringeren Maasse, kann man auch an lebenden Objecten (Fig. 14) beobachten. Sie wird aber noch bedeutender in Folge der Einwirkung von Fixierungsmitteln. Am deutlichsten ist das Zurücktreten des Plasmas an der Seitenwand wahrzunehmen. Von den Querwänden löst dagegen sich das Plasma wahrscheinlich in Folge des Vorhandenseins von plasmatischen Fäden, welche den Inhalt der Nachbarzellen verbinden, sehr wenig ab. Um dem Plasmacylinder herum bildet sich in Folge seines Zurücktretens von der Seitenwand eine ringförmige Rinne. Diese Rinne spielt eine wesentliche Rolle: in dieselbe treten späterhin die heranwachsenden Cilien und der Spermatozoidenkörper. Der an der Peripherie der Zelle befindliche Kern ist von der der Seitenwand zugekehrten Seite aus mit einer kaum merkbaren, dünnen Plasmaschicht bedeckt. Wie wir bereits gesehen, ist nach Guignard's Ansicht diese dünne Schicht von grosser Wichtigkeit, da er annimmt, dass sich trotz ihrer äusserst geringen Dicke die Cilien der Spermatozoiden daraus bilden.

Den Beginn der Entwicklung des Spermatozoidenkörpers kennzeichnet das Auftreten eines kleinen Plasmahöckers an der Grenze zwischen Kern und Zellplasma. Dieser Höcker begibt sich in die ringförmige Rinne und ist der Seitenwand der Zelle zugewandt. Am deutlichsten ist das Hervortreten dieses Höckers von einer der flachen Seiten der spermatogenen Zelle aus zu verfolgen (Fig. 15 a). Dieser Höcker entspricht augenscheinlich den „glänzenden Pünktchen“ des Mettenius und dem von Goebel beschriebenen „Knopfe“. Aus dem Höcker wachsen zwei kurze, elastische Fäden hervor, die beide parallel der Seitenwand, aber in entgegengesetzter Richtung verlaufen.<sup>1)</sup> Die Cilien lagern sich in der Rinne und kommen ausser dem Höcker, aus dem sie hervorgegangen, mit dem Plasma nirgends in Berührung. Wenn man demnach zugibt, dass der Höcker aus dem Kern entsteht, so muss man auch die Cilien als Auswüchse des Kerns betrachten; eine solche Voraussetzung wäre aber im directen Widerspruche mit der Meinung aller Forscher, welche sich mit der Spermatogenese im Pflanzenreiche beschäftigt haben. Ausserdem färbt eine Mischung von Fuchsin und Jodgrün die Cilien sowie den Höcker intensiv roth, was auf die Entstehung derselben aus dem Plasma schliessen lässt. Bei einer weiteren und genaueren Untersuchung des Höckers ergibt sich, dass derselbe von dem Kern scharf abgegrenzt ist und unmerkbar in das Plasma der Zelle übergeht. Somit dürfte, glaube ich, die Herkunft des Höckers aus dem Plasma ausser Zweifel sein. Wenn der Höcker auch dicht neben dem Kerne entsteht, so beweist das noch nicht, dass er aus dem Kern entstehe. Augenscheinlich ist der Kern an jeder Neubildung in der Zelle betheiligt (Haberlandt); so ist es bekannt, dass derselbe sich der sich verdickenden Wand nähert; soll man jedoch daraus schliessen, dass die Wandverdickung aus dem Kerne entstehe?!

Das eben beschriebene Entwicklungsstadium der Spermatozoiden hat eine auffällige Aehnlichkeit mit der Zoospore der Algen. Dem zugespitzten Ende der Zoospore, aus welchem in den meisten Fällen zwei nach entgegengesetzter Richtung laufende Cilien entstehen, entspricht der Höcker bei den Characeen, aus dem ebenfalls zwei eine entgegengesetzte Richtung nehmende Cilien hervorgehen. In

1) Diese Bildung der Cilien ist bis zu einem gewissen Grade der Bildung der Cilien bei den Flagellaten ähnlich, welche Fisch beschreibt. (Untersuch. über einige Flagellaten. Zeitschrift für wiss. Zool. Bd. 42, 1885, pag. 47.) Nach Fisch's Beschreibung erscheint die Cilie in Form eines langen sich allmählich ausdehnenden Kegels.

beiden Fällen befindet sich der Kern in der Nähe der Befestigungsstelle der Cilien.

Wenn wir die weiteren Entwicklungsstadien des Spermatozoiden verfolgen, so fällt uns die Lageveränderung des Höckers auf, der allmählich vom Kern zur entgegengesetzten Seite der Zelle rückt. Diese Lageveränderung vollzieht sich parallel der Seitenwand. Vom Höcker zum Kern geht ein dünner, mit Fuchsin sich intensiv roth färbender Faden, der bei seinem ferneren Wachsthum den Höcker weiter schiebt (Fig. 16). Dieser Faden befindet sich im Plasma, aus welchem bloss der die Cilien tragende Höcker in die Rinne tritt. Auf diese Weise vollzieht sich die Anlage des vorderen Spermatozoidenendes. Zu gleicher Zeit wird auch die Bildung des hinteren Endes bemerkbar. An der der Ursprungsstelle des Höckers gegenüberliegenden Seite des Kerns erscheint im Plasma ein homogener Faden, welcher ebenfalls parallel der Seitenwand und zwar dem Vorderende des Spermatozoiden entgegen wächst. Dieser Faden ist bedeutend dicker als derjenige, der die Cilien trägt. Das der Bauchseitenwand der spermatogenen Zelle zugewandte Ende dieses Fadens tritt aus dem Plasma in die Rinne und bildet einen schnabelähnlichen Auswuchs (Fig. 16, 17 und 19). Fuchsin färbt diesen Faden viel schwächer als denjenigen, welcher das Vorderende des Spermatozoiden bildet, und eine Mischung von Fuchsin und Jodgrün bewirkt nur eine rosige, in keinem Falle aber eine grüne Färbung derselben. Bei Behandlung mit einer Mischung von Fuchsin und Jodgrün färbt sich der Kern der spermatogenen Zelle besonders an der Peripherie (nach Schmitz die verdickte peripherische Schicht) intensiv grün und unterscheidet sich dadurch äusserst scharf vom Plasma und den beiden fadenförmigen Gebilden, i. e. dem vorderen und dem hinteren Ende des zukünftigen Spermatozoiden.

Zu derselben Zeit, wo die vom Plasma eingeschlossenen fadenförmigen Gebilde sich ausstrecken, wachsen auch die Cilien mit grosser Schnelligkeit in die Länge (Fig. 17 und 19). Die Zahl der von den Cilien beschriebenen Windungen wächst immer mehr an. Fig. 15 b zeigt das Entstehungsstadium der Cilien; im optischen Längendurchschnitt des Fadens der spermatogenen Zellen ist in jeder derselben an der Bauchseite ein rothes Pünktchen zu bemerken, welches den optischen Durchschnitt einer der Cilien darstellt. Auf Fig. 18 sind an der Bauchseite je drei rothe Pünktchen zu bemerken: das eine von ihnen stellt den optischen Durchschnitt derjenigen Cilie dar, welche vorwärts (in derselben Richtung, wie das vordere Ende

des Spermatozoiden) wächst, nicht weit von der Insertionsstelle derselben; die beiden anderen Pünktchen bezeichnen die optischen Durchschnitte der beiden Cilien, welche eine ganze Windung gemacht haben. An der Rückenseite sind vier rothe Pünktchen vorhanden; zwei von ihnen stellen die Durchschnitte der beiden Cilien dar, nachdem sie eine halbe Windung beschrieben haben, und die beiden anderen Pünktchen die Durchschnitte derselben Cilien mit  $1\frac{1}{2}$  Windungen. Demgemäss beschreiben schon in diesem Entwicklungsstadium die Cilien ungefähr  $1\frac{1}{2}$  Windungen an der Peripherie der spermatogenen Zelle. Dank der Lagenveränderung des Höckers bildet eine der Cilien, welche derselbe trägt, eine Schlinge (Fig. 19) und wächst nun nach entgegengesetzter Seite, d. h. nach derselben Richtung mit der anderen Cilie weiter. Dieser Umstand zeigt, dass die Cilien von ihrer Basis aus wachsen.

Wie wir bereits sahen, bemerkte schon Guignard die allmähliche Vergrösserung der Anzahl der rothen Pünktchen an den Seiten des sich entwickelnden Spermatozoiden, da er aber für die Entstehung der Cilien, welche seiner Ansicht nach aus der äusseren Plasmaschicht sich ausscheiden (*se découpent*), eine aus seinen Abbildungen durchaus nicht hervorgehende Erklärung zuließ, so musste er seine Zuflucht zu der Voraussetzung nehmen, dass die Cilien am Anfang der Spermatozoidenentwicklung zusammenfliessen oder dem Körper des Spermatozoiden verbunden bleiben, um auf Grund dieser Voraussetzung eine Erklärung für die allmähliche Vergrösserung der Anzahl der optischen Durchschnitte der Cilien während der Spermatozoidenentwicklung zu finden.

Der auf der mittleren Linie der Rinne liegende elastische Faden des hinteren Spermatozoidenendes tritt aus dem Plasma in Form einer kleinen Walze hervor, die im optischen Durchschnitt der spermatogenen Zelle die Gestalt eines kleinen Knopfes hat (Fig. 20). Während seines weiteren Wachstums theilt sich dieser Faden an seinem der Bauchseite der Zelle zugewandten Ende von dem Plasma ab und bildet einen stäbchenförmigen Auswuchs (Fig. 21, 22 und 24). An diesem stäbchenförmigen Auswuchse lassen sich schon die Eigenthümlichkeiten der Struktur nachweisen, welche wir am hinteren Ende des reifen Spermatozoiden beobachtet haben: der Auswuchs enthält ausser einem homogenen, sich schwach färbenden Rückenfaden noch eine körnige Einfassung an seiner inneren (Bauch-)Seite. Der die Cilien tragende Faden wächst innerhalb des Plasma weiter. So lange derselbe die mittlere Linie an der Bauchseite der spermatogenen

Zelle noch nicht erreicht hat, sind die Cilien an seinem vorderen Ende befestigt. Von diesem Zeitpunkte an bleibt die Ansatzstelle der Cilien unverändert, so dass das fernere Wachstum des Fadens zur Bildung desjenigen Theils des vorderen Spermatozoidenendes führt, welcher vor der Befestigungsstelle der Cilien liegt. Ob dabei eine Verwachsung der Cilien mit dem Vorderende stattfindet, oder ob dasselbe von einem oberhalb der Insertionsstelle der Cilien liegendem Punkte weitergewachsen, ist schwer zu entscheiden. In jedem Falle bleibt der über der Insertionsstelle befindliche Faden vollkommen intact und niemals spalten sich die Cilien von demselben ab. An der Befestigungsstelle aber spalten sich die Cilien gleichsam von dem Faden ab, der dabei dünner wird, aber ein wenig näher zur Basis wieder seinen früheren Diameter zeigt. Wie mir scheint, kann das Wachstum des Fadens an seinem vorderen Ende ebenfalls als Beweis dafür dienen, dass derselbe nicht aus der Kernsubstanz entsteht, da in diesem Falle der Faden ausschliesslich an seiner Basis fortwachsen müsste.

Obschon der vordere Faden weniger elastisch ist als der hintere, so wird das Plasma doch sichtbar nach der Bauchseite geschoben, wie auf Fig. 22 zu sehen ist. Das Ende des vorderen Fadens trifft nicht mit dem Ende des hinteren zusammen, da beide, wie aus dem optischen Längendurchschnitt der spermatogenen Zellen (Fig. 23) zu ersehen ist, nicht in einer Fläche liegen.

In diesem Entwicklungsstadium des Spermatozoiden finden in der Kernstruktur wesentliche Veränderungen statt: die Nucleolen verschwinden und das Chromatin zerfliesst nach Carnoy's Worten gleichmässig in der ganzen Masse des Kerns, der dabei homogen wird und durch Jodgrün eine diffuse blaugrüne Färbung erhält (Fig. 22). Die Kernform ändert sich ebenfalls: aus einer mehr oder weniger runden Form wird eine elliptische (Fig. 21 und 22) und weiter eine halbmondförmige, an deren zugespitzten Enden sich das vordere und hintere Spermatozoidenende befestigen (Fig. 24). Bei weiterer Ausdehnung nimmt der Kern die Form einer Sichel an und drängt aus dem Plasma der Mutterzelle das vordere und hintere Ende des Spermatozoiden heraus. Wenn sich dabei das eine Ende rechts nach oben wendet, so zieht sich das andere links nach unten (Fig. 26). Das aus dem Plasma der Zelle hervortretende vordere Spermatozoidenende dehnt das die Zelle bedeckende plasmatische Häutchen aus und zieht die körnige Plasmasubstanz, welche sich in einer dichten Masse an der Basis dieses Spermatozoidenendes sammelt, nach sich.

Die Struktur des aus dem Plasma hervortretenden Vorderendes erinnert deutlich an diejenige des hinteren Endes: an seiner Aussen- (Rückenseite) zieht sich ein homogener, sich intensiv mit Fuchsin färbender Faden hin, der zwei Cilien trägt, an seiner inneren (Bauch-) Seite dagegen eine spongiöse oder feinkörnige Einfassung, welche sich weniger intensiv färbt und an der Basis des vorderen Spermatozoidenendes in die körnige Plasmamasse der Mutterzelle übergeht. Gleich dem vorderen tritt auch das hintere Spermatozoidenende bis auf seine Basis aus dem Plasma der Mutterzelle heraus. Die an seiner inneren (Bauch-)Seite befindliche körnige Einfassung geht an seiner Basis in die centrale körnige Plasmamasse über, welche im sichelförmigen mittleren Theil des Spermatozoiden eingeschlossen bleibt. Auf diese Weise besteht der Spermatozoid schon in diesem Entwicklungsstadium aus drei Theilen: aus zwei plasmatischen Enden, von denen jedes einen homogenen Rückenfaden und eine körnige Baueinfassung besitzt, und aus einem mittleren, sichelförmigen Theil, der sich aus dem Kern entwickelt hat. Dieser mit einer Mischung von Fuchsin und Jodgrün sich blaugrün färbende mittlere Theil ist mit einem dünnen Häutchen bedeckt, welches bei Behandlung mit derselben Mischung eine rosaroth Färbung erhält. Bei weiterem Wachstum des Spermatozoiden dehnen sich das vordere und hintere plasmatische Ende noch einige Zeit weiter aus, dann aber beschränkt sich das Wachstum nur auf seinen mittleren Theil, der allmählich dünner und länger wird. Wenn man den Spermatozoiden von oben oder unten, d. h. von einer der flachen Seiten der Mutterzelle aus betrachtet, so scheint es, als ob der mittlere Theil einen Ring bilde, in dessen Mitte die körnige Plasmamasse enthalten ist (Fig. 27). Wenn man ihn jedoch von der Seite aus betrachtet, so sieht man, dass der Spermatozoidenkörper eine Spirale beschreibt (Fig. 28). Dann zieht sich der Ring zu einer engen, das Plasma der Mutterzelle enthaltenden Schlinge zusammen (Fig. 29), während das aus der Schlinge hervortretende vordere Ende des mittleren Theils sich allmählich des körnigen Plasmas entledigt und die zweite, bedeutend breitere Spiralwindung bildet (Fig. 30). An der inneren Seite des aus der Schlinge hervortretenden Endes ist die körnige plasmatische Einfassung zu bemerken, die mit der centralen Plasmamasse und mit der Einfassung des vorderen Spermatozoidenendes in Zusammenhang steht. Das fernere Wachstum des mittleren Theils des Spermatozoiden bewirkt die Vergrößerung des Diameters der Schlinge, in welcher der Plasmarest der spermatogenen Zelle einge-

geschlossen ist. Bei seinem Weiterwachsen wird der Diameter der Windungen des mittleren Spermatozoidentheils zuletzt grösser als der Diameter der Windung des vorderen Endes und ebenso gross wie der Diameter der hinteren Windung (Fig. 30, 31 und 34). Mit der Ausdehnung der mittleren Schlinge zugleich verschwindet auch die in ihr enthaltene körnige Plasmaansammlung. Diese Ansammlung verwandelt sich in die körnige Einfassung der mittleren Spiralwindung des Spermatozoiden. Der Spermatozoidenkörper besteht also in diesem Stadium der Entwicklung aus einem spiralförmigen homogenen Rückenfaden, der in seinem mittleren Theil sich durch eine Mischung von Fuchsin und Jodgrün blaugrün und an seinem vorderen und hinteren Ende roth oder rosaroth färbt, und aus seiner körnigen oder spongiösen Baueinfassung, die bei Einwirkung derselben Farbstoffe ihrer ganzen Länge nach eine rothe Färbung erhält (Fig. 31). Bei weiterem Wachsthum des Spermatozoidenkörpers bildet sein mittlerer Theil noch eine halbe Spiralwindung, wobei die Einfassung immer dünner und weniger bemerkbar wird.

Es ist höchst wahrscheinlich, dass das Plasma zum grossen Theile von dem im Wachstume begriffenen Rückenfaden verbraucht wird, da derselbe besonders an solchen Stellen wächst, wo er mit der Plasmamasse in Berührung kommt. Die körnige Einfassung einer reifen Spermatozoidenspirale ist am hinteren Theile des Spermatozoiden ziemlich umfangreich, an seinem mittleren Theile kaum bemerkbar und am vorderen Ende gar nicht zu unterscheiden. Dieses vordere Ende wird zur vollen Reifezeit des Spermatozoiden ein wenig kürzer, da der Faden des mittleren Spermatozoidentheils bei seiner Ausdehnung in die Basis des vorderen Endes tritt und fast die Insertionsstelle der Cilien erreicht.

Noch ehe der Spermatozoid seine volle Reife erlangt, hört das Wachsthum der Cilien auf, so dass sie zu der Zeit, wo der Kern der spermatogenen Zelle seine Form ändert, schon ihre endgültige Länge erreicht haben. Im optischen Längendurchschnitt eines Fadens der spermatogenen Zellen sind in jeder Zelle 4 bis 5 optische Durchschnitte der Cilien an jeder Seite des Spermatozoiden enthalten (Fig. 23 u. 32). Eine solche Anzahl der Durchschnitte zeigt, dass die Cilien ungefähr 2 Spiralwindungen beschreiben. Der fünfte Durchschnitt liegt, wenn er vorkommt, nicht weit von der Insertionsstelle der Cilien, wo sie noch nicht aus einander gehen. Obgleich auf diese Weise die Zahl der von den Cilien beschriebenen Spiralwindungen geringer ist als die Anzahl der Windungen des Spermatozoidenkörpers,

so gibt ihre Länge dennoch derjenigen des letzteren nicht viel nach, da ihre Windungen einen verhältnissmässig grösseren Diameter besitzen.

In den spermatogenen Zellen liegen die Spermatozoiden in einem dichten spiralförmigen Knäuel, wobei das breite hintere Ende der einen und das dünne vordere Ende der anderen Querscheidewand zugekehrt ist. Auf Fig. 32 ist in einer ganzen Zellenreihe das vordere Spermatozoidenende derjenigen Querscheidewand zugekehrt, welche der Basis des Fadens am nächsten liegt. Allein es kommt nicht selten vor, dass die Spermatozoiden in den Nachbarzellen einander entweder mit ihren vorderen oder hinteren Enden zugewandt sind. Folglich gibt es keine feststehenden Regeln hinsichtlich der Anordnung der Spiralfäden, so dass auch zwischen der Aufeinanderfolge der Theilung der spermatogenen Zellen und der Lage der Spermatozoiden zu einander keine Correlation festgestellt werden kann.

Nachdem wir auf diese Weise die Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden bei den Characeen Schritt für Schritt verfolgt haben, sind wir zu denselben Resultaten gelangt, die wir bei der Erforschung des Baues eines reifen Spermatozoiden erhielten. Diese Entwicklungsgeschichte bestätigt unsere Ansicht, dass das vordere und hintere Ende des Spermatozoiden sich aus dem Plasma, der mittlere Theil dagegen aus dem Kerne der Mutterzelle bilde. Ein Einwurf dürfte noch gemacht werden: das vordere und hintere Spermatozoidenende könnte sich ja aus dem Plasma bilden aber erst nachdem letzteres den Kern passirt, d. h. der Kern könnte, wie Guignard annimmt, dass Plasma der Mutterzelle verschlingen, um es später in Gestalt der beiden Spermatozoidenenden wieder auszuscheiden, die ja mit ihrer Basis dem Kerne der Mutterzelle anliegen. Gegen diese Vermuthung spricht aber der Umstand, dass das vordere Ende über der Insertionsstelle der Cilien weiter wächst. Es lassen sich zu Gunsten dieser Hypothese kaum genügende Gründe finden. Viel wahrscheinlicher ist es, dass alle Theile des Rückenfadens eines Spermatozoiden (obgleich verschiedener Herkunft) nur durch Intususception auf Kosten des ihnen in Form eines körnigen Bauchrandes anliegenden Plasmas wachsen, dass in dem Maasse, in welchem der Spermatozoid wächst, verbraucht wird.

### III. Wirkung der Reagentien auf die Bestandtheile der Spermatozoiden.

Mit Benutzung der Untersuchungsergebnisse von Zacharias und Fr. Schwarz,<sup>1)</sup> die das verschiedene Verhalten des Plasmas und

1) Fr. Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Beiträge zur Biologie d. Pflanzen, her. von F. Cohn, B. V., H. 1, 1887.



des Kernes einzelnen Reagentien gegenüber gezeigt hatten, wählte ich einige der von ihnen bezeichneten Reagentien zu Untersuchungen an Spermatozoiden einerseits und an spermatogenen Zellen andererseits, die beide vorher in Alkohol gehärtet wurden, wobei ich folgende Resultate erhielt:

a) Eine 10 proc. Kochsalzlösung löst den mittleren Theil des Spermatozoidenkörpers äusserst rasch auf. Wurde der Spermatozoid zuvor mit Jodgrün gefärbt, so konnte man ein schnelles Quellen seines grün gefärbten Theils beobachten. Das vordere und hintere Ende, sowie die Cilien bleiben unverändert. Zwischen dem vorderen und hinteren Theile verbleibt ein dünner Faden, der sie zusammen hält. Es ist schwer festzustellen, ob dieser Faden den Rest des plasmatischen Häutchens vom mittleren Theile oder seine Baucheinfassung darstellt.

Bei Anwendung von 10 % Kochsalzlösung quellen die Kerne der spermatogenen Zellen und lösen sich zuletzt auf. Das Plasma wird von dem quellenden Kerne an die Zellwände gedrückt, löst sich jedoch nicht auf. Am besten ist die Reaction an den mit Jodgrün und Fuchsin gefärbten Präparaten zu verfolgen.

b) Die 24 Stunden lang in 0,5 proc. Salzsäure gehaltenen Spermatozoiden zeigen folgende Veränderungen: ihr mittlerer Theil zieht sich zusammen, lässt sich jedoch durch Jodgrün grün färben. Statt  $2\frac{1}{2}$  Spiralwindungen zu bilden, beschreibt er kaum eine volle Windung (Fig. 37). Der vordere Theil und die Cilien verändern sich nicht wesentlich. Am hinteren quellenden Theil erscheinen zahlreiche glänzende Körnchen oder Tropfen, die in der hyalinen Grundsubstanz suspendirt sind. Einen gleichen Bau erhält das hintere Ende bei Anwendung 3 proc. Ameisensäure, die jedoch eine grössere Quellung und Verlängerung dieses Spermatozoidentheils bewirkt. Ebenso wie 0,5 proc. Salzsäure ruft auch Picrinsäure eine bedeutende Verkürzung des mittleren Spermatozoidentheils hervor (Fig. 36).

Die während 24 Stunden in 0,5 proc. Salzsäure gehaltenen Kerne der spermatogenen Zelle bei den Characeen nehmen an Umfang ab, ohne die Fähigkeit zu verlieren sich durch Jodgrün grün zu färben (Fig. 38). Das Plasma bleibt dabei ziemlich unverändert. Augenscheinlich entzieht die 0,5 % Salzsäure den Kernen der spermatogenen Zellen und dem mittleren Theile des Spermatozoidenkörpers irgend eine Substanz, ohne jedoch das in ihnen enthaltene Chromatin wesentlich zu verändern.

c) In einer mit Salzsäure angesäuerten Lösung von Pepsin (1 Theil Pepsinglycerin und 3 Theile 0,2 % Salzsäure) verschwinden

nach 24 Stunden das vordere Ende und die Cilien der in der Membran der spermatogenen Zelle eingeschlossenen Spermatozoiden. Gewöhnlich verkürzt sich der mittlere Theil und die Spiralwindungen werden enger und legen sich aneinander ohne jedoch einen Klumpen zu bilden (Fig. 39). Der Beschreibung von Zacharias entsprechend, werden die Umrissse des mittleren Spermatozoidentheils äusserst scharf und die Spirale stark lichtbrechend. Jodgrün färbt sie intensiv. Der hintere Spermatozoidentheil zerfliesst und die unter Einwirkung von Salzsäure entstandenen Körnchen zerstreuen sich in der Zelle, indem sie in die Brown'sche Bewegung gerathen. Obgleich Zacharias darauf hinweist, löst der Alkohol diese Körnchen nicht auf, sondern bewirkt nur ihre Anhäufung, indem es sie zu dem hinteren Ende des mittleren Spermatozoidentheils hintreibt. Augenscheinlich löst sich die Grundmasse des hinteren Spermatozoidenendes unter Einwirkung des Magensaftes nicht auf, sondern quillt bloss ansehnlich an und zieht sich unter Einwirkung von Alkohol wieder zusammen.

Freiliegende Spermatozoiden erfahren wesentliche Veränderungen, sobald sie einige Minuten im Magensaft gelegen haben. Das vordere Ende wird feinkörnig und die Cilien verschwinden. Der mittlere Theil wird kürzer, erhält scharfe Umrissse und wird stark lichtbrechend. Das hintere Ende quillt an, wird grobkörnig und löst sich vom mittleren Theile ab (Fig. 40).

Nach 24stündiger Einwirkung des Magensaftes reducirt sich der Kern in den Mutterzellen der Spermatozoiden beträchtlich, erhält scharf gezeichnete Umrissse und wird stark lichtbrechend. Das Plasma löst sich bis auf einen körnigen Rest auf.

d) In einer trypsinhaltigen und nach Kühne<sup>1)</sup> zubereiteten Flüssigkeit verändert sich zuerst der Rückenfaden des mittleren Theils des Spermatozoidenkörpers, welcher schnell quillt und in Auflösung übergeht. Das hintere Körperende und die Baueinfassung des mittleren Theils werden körnig. Nach 24 Stunden bleibt nichts mehr von den Spermatozoiden übrig.

In den spermatogenen Zellen bewirkt die trypsinhaltige Flüssigkeit zuerst die Veränderung des Kernes, der stark anquillt. Der Process beginnt in den centralen Kerntheilen. In den mit Jodgrün gefärbten Kernen kann man eine Zeit lang in der entfärbten Grundmasse die gefärbten Nucleolen beobachten. Ebenso behält auch die peripherische Kernschicht einige Zeit hindurch ihre grüne Färbung. Nach 24 Stunden ist der ganze Inhalt der spermatogenen Zellen aufgelöst.

1) Fr. Schwarz, Die morph. und chem. Zusammensetzung etc. pag. 7.

Der Methode von Fr. Schwarz<sup>1)</sup> folgend, versuchte auch ich durch Kaliumferrocyanid mit Essigsäure dem mittleren Theile des Spermatozoiden und den Kernen der spermatogenen Zellen das Chromatin zu entziehen, allein meine Versuche hatten keinen Erfolg. Die Kerne und die Spermatozoiden behielten, wenn sie nach der Methode von Schwarz behandelt wurden, dennoch die Fähigkeit, sich mit Jodgrün grün zu färben. Franz Schwarz behauptet, die Färbung des Kerns sei noch kein Beweis von der Anwesenheit des Chromatins, wenn die Farbe sich leicht aus dem Kern entfernen lässt. Ich gebrauchte hier ebenfalls eine Mischung von Jodgrün und Fuchsin, der das Chromatin die grüne Farbe entzieht. Die Präparate wurden ganz nach der Methode von Schwarz behandelt; es tritt der Unterschied in der Färbung des Kerns und des Plasmas ebenso deutlich hervor, wie früher, so dass es fast ausser Zweifel schien, dass Chromatin im Kerne enthalten war, wodurch der Unterschied in der Färbung des Plasmas und des Kernes bedingt wurde.

Ich wandte ebenfalls die von Fr. Schwarz zu diesem Zwecke empfohlene Kupfervitriollösung an, erhielt jedoch keine besseren Resultate.

Wie aus dem Vorhergehenden erhellt, entspricht das Verhalten der einzelnen Spermatozoidentheile den Reagentien gegenüber vollkommen ihrem Verhalten den Farbstoffen gegenüber und stimmt mit der Entwicklungsgeschichte des Spermatozoiden überein. Den Reagentien gegenüber verhält sich der mittlere Körpertheil ganz so, wie der Kern der spermatogenen Zelle und wiederum das vordere und hintere Ende sowie die Cilien ganz so, wie das Plasma der Mutterzelle.

Zum Schluss wollen wir die wesentlichsten Ergebnisse anführen, zu denen wir bei unserer Betrachtung des Baues, der Entwicklung und der chemischen Eigenschaften der Spermatozoiden gekommen sind.

1. Die Spermatozoiden der Characeen bestehen aus einem Spiralkörper und zwei Cilien, die in einiger Entfernung von seinem Vorderende befestigt sind.

2. Der Spermatozoidenkörper zerfällt in ein vorderes Ende, den mittleren Theil und ein Hinterende.

a) Das Vorderende bildet ungefähr eine halbe Spiralwindung und entsteht aus dem Plasma der Mutterzelle. Am Vorderende der un-

1) Die morph. und chem. Zusammensetzung etc. pag. 115.

reifen Spermatozoiden kann man einen homogenen Rückenfaden und eine spongiöse Baueinfassung unterscheiden, die zur Zeit der Reife des Spermatozoiden verschwindet.

b) Der mittlere Theil der reifen Spermatozoiden beschreibt bei der *Chara*  $2\frac{1}{2}$  und bei der *Nitella*  $1\frac{1}{2}$  Spiralwindungen. Derselbe stellt einen homogenen Faden dar, welcher aus dem Kerne entsteht und alle charakteristischen chemischen Eigenschaften der Kerne beibehält; an der inneren (Bauch-)Seite besitzt der mittlere Theil eine körnige plasmatische Einfassung, welche bei den unreifen Spermatozoiden ziemlich breit ist und bei den ihre volle Reife erlangt habenden Spermatozoiden kaum noch zu bemerken ist.

c) Das hintere Ende bildet etwas über eine halbe Spiralwindung und entsteht aus dem Plasma. Dieses Ende besteht ebenfalls aus einem homogenen Rückenfaden und einem breiten Bauchrande. Bei den reifen Spermatozoiden nimmt das hintere Ende sehr oft einen wabigen Bau an.

3. Die Cilien entstehen aus dem Plasma, entspringen in Form von Auswüchsen am Ende des im Entstehen begriffenen Spermatozoiden und wachsen von ihrer Basis aus.

4. Der Umwandlungsprocess der Zelle, welche zu einem Spermatozoiden wird, fängt im Plasma an, wobei der Kern erst dann sich zu verändern beginnt, wenn das vordere und hintere Spermatozoidenende sich schon ausgebildet haben. Sehr wahrscheinlich verändert sich der Kern auch in diesem Entwicklungsstadium des Spermatozoiden passiv unter der Einwirkung des ihn bedeckenden plasmatischen Häutchens. Wie bei der Karyokinese der Process im Plasma und von den in ihm befindlichen Attractionssphären aus beginnt, ebenso fängt auch die Spermatogenese mit den im Plasma vorgehenden Umwandlungen an. Die Beobachtung der Spermatogeneseerscheinungen veranlasst uns der Meinung Hermann's, dass alle activen Bewegungen der Zelle durch das Plasma bedingt werden<sup>1)</sup>, anzuschliessen.

Somit bildet das Plasma nicht nur einen Bestandtheil der Spermatozoiden, sondern spielt auch eine wesentliche Rolle bei ihrer Entstehung. Guignard behauptete dagegen, dass der ganze Spermatozoidenkörper aus dem Kern entstehe; damit stand im Einklang die damals herrschende Theorie, der zufolge der Befruchtungsprocess sich auf das Eindringen des männlichen Kernes in die Eizelle beschränkte und man nur den Kern als den Träger der organischen

1) F. Hermann, Beiträge zur Lehre von der Entstehung der karyokinetischen Spindel. Archiv f. mikroskop. Anatomie 1891, S. 579.

Eigenschaften betrachtete. Im Sommer 1891 veröffentlichte Guignard seine Beobachtungen über die Verschmelzung der männlichen und weiblichen Attractionssphären und Centrosomen bei Befruchtungsprocesse des *Lilium* <sup>1)</sup> und früher noch wurden ähnliche Beobachtungen hinsichtlich der Befruchtung bei den Seeigeln <sup>2)</sup> von Fol gemacht. Die Attractionskörperchen bilden einen Theil des Plasmas, folglich ist dasselbe, trotz der früheren Behauptungen von Guignard und Strasburger, wesentlich an dem Befruchtungsvorgange betheilig. Wo soll man nun die Attractionssphären in den Spermatozoiden suchen? Natürlich nicht in den Cilien, obschon nach Guignard's Meinung nur sie allein aus dem Plasma entstehen. Folglich muss jetzt Guignard zugeben, dass in dem Spermatozoidenkörper ein Theil vom Plasma der Mutterzelle enthalten ist. Sehr wahrscheinlich bildet der Höcker, der als erstes Anzeichen der Entstehung des Spermatozoidenkörpers in geringer Entfernung vom Kern hervortritt, die Attractionssphäre; ob aber diese Voraussetzung begründet ist, wird erst durch weitere Untersuchungen gezeigt werden.

### Erklärungen der Abbildungen.

Die roth und blaugrün gefärbten Figuren sind Präparaten nachgebildet, welche mit einer Mischung von Jodgrün und Fuchsin behandelt wurden. Die Abbildungen, bei denen die Fixirmethode nicht ausdrücklich angegeben ist, stellen in Osmiumsäure fixirte Objecte dar.

Vergrößerung der Figuren 1—7, 9—29, 31—33, 35—38 und 40: 860; Fig. 8 und 30: 950; Fig. 34 und 39: 700.

#### *Chara foetida.*

- Fig. 1. Ein Faden spermatogener Zellen im Ruhezustande.  
 Fig. 2. Ein Faden spermatogener Zellen mit den im Stadium des dichten Knäuels befindlichen Kernen.  
 Fig. 3. Ein Faden spermatogener Zellen. Das Chromatin in den Kernen ist zur Basis des Fadens hingeschoben.  
 Fig. 4—8. Fäden spermatogener Zellen, mit Kernen in verschiedenen Theilungsstadien.  
 Fig. 9. Ein Faden spermatogener Zellen, die sich eben zum letzten Mal vor der Spermatozoidenbildung getheilt haben.

1) L. Guignard, Sur la nature morphol. du phénomène de la fécondation, Comptes rend. de l'Acad. d. sciences, t. CVII, 8. Juni 1891, S. 1320.

2) H. Fol, Die „Centrenquadrille“, Anat. Anzeiger 1891, Nr. 9 und 10, S. 266—274.

- Fig. 10. Ein Faden spermatogener Zellen, mit sieben zur Seitenwand gerückten Kernen.
- Fig. 11. Die zur Peripherie der Zelle abgegangenen Kerne im Stadium der Ruhe. Mit Flemming'scher Flüssigkeit fixirt.
- Fig. 12. Kerne und Plasmaanhäufung an der Wand, welche der Basis des Fadens zunächst liegt.
- Fig. 13. Eine in demselben Stadium wie auf Fig. 11 und 12 befindliche spermatogene Zelle, von einer flachen Seite aus betrachtet.
- Fig. 14. Ein Faden lebender spermatogener Zellen.
- Fig. 15 a. Eine spermatogene Zelle (von einer ihrer flachen Seiten aus) zur Zeit der Entstehung des vorderen Endes des Spermatozoidenkörpers und der Cilien betrachtet. Die dunkle Kontur entspricht der mittleren Linie der Rinne, welche sich seitens der cylindrischen Oberfläche der Zelle gebildet hat. Die helle Kontur entspricht dem Plasma, welches sich den Querwänden anschliesst. Mit Flemming'scher Flüssigkeit fixirt.
- Fig. 15 b. Spermatogene Zellen von demselben Präparate und im gleichen Entwicklungsstadium, von der Seite aus gesehen.
- Fig. 16. Eine spermatogene Zelle von einer flachen Seite aus betrachtet. Das vordere und das hintere Ende wachsen in Form von Fäden, welche dem Plasma anliegen. Die Cilien strecken sich aus.
- Fig. 17 und 18. Spermatogene Zellen aus demselben Präparate in zwei verschiedene Lagen. Die Cilien bilden mehr als  $1\frac{1}{2}$  Spiralwindungen. Mit Flemming's Flüssigkeit fixirt.
- Fig. 19. Eine spermatogene Zelle von einer ihrer flachen Seiten aus. Vorder- und Hinterende des Spermatozoiden sind bedeutend gewachsen. In Folge der Ortsänderung der Insertionsstelle hat die gerade laufende Cilie eine Schlinge gebildet.
- Fig. 20. Dasselbe Stadium von der Seite aus. In der Rinne ist ein Höcker zu bemerken, der den optischen Durchschnitt des hinteren Endes des Spermatozoiden darstellt.
- Fig. 21. Eine spermatogene Zelle von einer ihrer flachen Seiten aus. Weiteres Wachstum des vorderen und des hinteren Endes. Am vorderen Ende bildet sich ein Theil, der höher als die Befestigungsstelle der Cilien liegt; das hintere Ende tritt aus dem Plasma der Mutterzelle.
- Fig. 22 und 23. Spermatogene Zellen aus demselben Präparate in verschiedener Lage. Das vordere und das hintere Ende wachsen weiter.
- Fig. 24. Eine spermatogene Zelle von einer ihrer flachen Seiten aus. Bei seiner Ausdehnung erhält der Kern eine halbmondförmige Gestalt.
- Fig. 25. Dasselbe Stadium von der Seite aus.
- Fig. 26. Ein weiteres Entwicklungsstadium des Spermatozoiden. Bei seiner Ausdehnung nimmt der Kern die Form einer Sichel an und stösst das vordere und das hintere Ende des Spermatozoiden aus dem Plasma heraus.
- Fig. 27. Der Kern dehnt sich weiter aus und bildet die erste Spiralwindung.
- Fig. 28. Ein junger Spermatozoid von der Seite aus. Der aus dem Kern entstandene mittlere Theil bildet eine schmale Schlinge.

- Fig. 29. Ein Spermatozoid in demselben Entwicklungsstadium, von oben gesehen.  
 Fig. 30. Ein weiteres Entwicklungsstadium des Spermatozoiden. Das vordere Ende seines mittleren Theils tritt bei seiner Ausdehnung aus der Schlinge heraus; es trägt an seiner Bauchseite einen körnigen plasmatischen Rand.  
 Fig. 31. Ein Spermatozoid, der seine volle Reife noch nicht erlangt hat, von der Seite aus gesehen.  
 Fig. 32. Ein Faden spermatogener Zellen im optischen Längendurchschnitt, mit ausgebildeten Spermatozoiden im Innern.  
 Fig. 33. Ein reifer Spermatozoid, von der Seite aus gesehen.  
 Fig. 34. Ein reifer Spermatozoid, von oben gesehen. (Die blauen Flecken im hinteren Ende des Spermatozoidenkörpers sind beim Druck fälschlicherweise hinzugezeichnet.)

*Nitella flexilis.*

- Fig. 35. Ein vollständig entwickelter Spermatozoid.

*Chara foetida.*

- Fig. 36. Ein Faden spermatogener Zellen, inwendig mit Spermatozoiden. Das Präparat wurde mit Picrinsäure fixirt und mit Boraxcarmin gefärbt.  
 Fig. 37. Ein Spermatozoid, welcher 24 Stunden lang in 0,5proc. Salzsäure gehalten und mit Jodgrün gefärbt wurde.  
 Fig. 38. Eine spermatogene Zelle von einer ihrer flachen Seiten aus gesehen, 24 Stunden lang in 0,5proc. Salzsäure gehalten.  
 Fig. 39. Ein Zellenfaden mit Spermatozoiden im Innern, nach 24stündiger Einwirkung von angesäuerter Pepsinlösung.  
 Fig. 40. Ein Spermatozoid nach nicht lange dauernder Einwirkung von angesäuerter Pepsinlösung.

Vorstehende Arbeit ist die Uebersetzung meiner 1892 in den Warschauer Universitätsnachrichten (Februarnummer) in russischer Sprache erschienenen Untersuchung. Seitdem sind bereits mehrere Arbeiten veröffentlicht worden, die diese Frage behandeln.

D. Campbell<sup>1)</sup> hält auch in seiner Arbeit über Prothallium und Embryo bei den Osmundaceen daran fest, dass mit Ausnahme eines dünnen Plasmahäutchens an der Oberfläche der ganze Spermatozoidenkörper durch Transformation aus dem Kerne entstehe. In seinen früheren Untersuchungen erwähnt Campbell selbst dieses Häutchen nicht. Allein er behauptet auch jetzt mit voller Entschiedenheit, dass „nicht die geringste Spur von einem Kerne innerhalb des Spermatozoidenkörpers, wie Belajeff angibt, wahrzunehmen sei“. In dessen hat es auf seiner Fig. 58 den Anschein, als ob längs des den Spermatozoidenkörper darstellenden Schraubenbandes der Kern zu sehen sei.

1) D. Campbell, On the Prothallium and Embryo of Osmunda etc. *Annals of Botany*, Vol. VI, No. XXI, 1892, S. 63.

Schottländer<sup>1)</sup> theilt diese Auffassung und bestätigt die Ansicht Guignards, der zufolge der Spermatozoidenkörper aus dem Kerne entsteht. Schottländer's Abbildungen zeugen jedoch von der weitgehenden Deformation, die seine Untersuchungsobjecte infolge der von ihm angewandten Methode erfahren haben.

Strasburger<sup>2)</sup> dagegen schliesst sich jetzt den Ansichten an, die ich in der Mittheilung über die Spermatozoiden bei den Gefässkryptogamen und in der Untersuchung über Bau und Entwicklung der Spermatozoiden bei den Characeen dargelegt habe. Nach eingehendem Studium der Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden bei den Characeen kann er nicht umhin, alle von mir erhaltenen Resultate mit Ausnahme einiger Einzelheiten zu bestätigen.

Er gibt an, dass ich von der irrigen Vorstellung ausgehe, die beiden Cilien der Spermatozoiden bei den Characeen liefen bei ihrer Anlage nach entgegengesetzter Richtung auseinander, womit auch meine Abbildungen nicht ganz in Einklang zu bringen wären. Ich muss jedoch ganz entschieden für die unbedingte Richtigkeit meiner Beobachtungen eintreten, da denselben ein sorgfältiges Studium sehr zahlreicher Präparate zu Grunde liegt. Ich habe die Cilien in den Anfangsstadien ihrer Entwicklung nie nach derselben Richtung verlaufen sehen; dagegen nehmen die Cilien in weiter vorgerückten Stadien constant dieselbe Richtung an. Eine Erklärung dieser Erscheinung findet der Leser in der Arbeit selbst.

Mit dem ihm eigenen Geschick verzeichnet Strasburger dieselben Hauptzüge der Spermatozoidenstruktur nicht nur bei den Characeen, Farnen und Schachtelhalmen, sondern auch bei der Marsilia und bei einigen Moosen. In Betreff der Marsilia führt Strasburger an, dass die Spermatozoiden dieses Gewächses nur in den hinteren Windungen ihrer Spirale den Zellkern enthalten und dass bis an die cilientragende Windung die übrigen, verhältnissmässig zahlreichen Windungen, aus Plasma bestehen.

Auf Grund meiner schon vor längerer Zeit angestellten, aber noch nicht veröffentlichten Untersuchungen sehe ich mich veranlasst, dieser Auffassung Strasburgers beizustimmen.

1) P. Schottländer, Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen bei Kryptogamen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, B. VI, H. 2, S. 274.

2) E. Strasburger, Schwärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoiden und das Wesen der Befruchtung, Jena 1892, S. 105–131.





Лит. В. Глауковский в Варшаве.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung](#)

Jahr/Year: 1894

Band/Volume: [79](#)

Autor(en)/Author(s): Belajeff Wl.

Artikel/Article: [Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoiden der Pflanzen. 1-48](#)