Befruchtung bei Batrachospermum.

Von

W. J. V. Osterhout aus Californien, U. S. A.

(Hierzu Tafel V.)

Die vorliegende Arbeit ist schon im Jahre 1895[1]) im Bonner Institute ausgeführt, die Veröffentlichung aber anderer Beschäftigung wegen von Zeit zu Zeit verschoben worden.

Das Material (von Herrn Prof. Dr. Setchell als *Batrachospermum Boryanum Sirodot.* bestimmt) wurde auf dem Fundort sofort fixirt und zwar zu verschiedenen Tageszeiten, selbst während der Nacht von 6 Uhr Abends bis 4 Uhr morgens. Zur Fixirung dienten folgende Flüssigkeiten: Chromsäure 1 %, Boveri's Pikrinessigsäure, Wilson's Sublimatessigsäure, Mann's Gemisch, Merkel's Flüssigkeit, Flemming's starkes Gemisch, rein oder mit gleichem Volumen destillirtem Wasser verdünnt. Das letztere hat sich besser bewährt; Chromsäure 1 % gab auch sehr gute Resultate. Nach sechsstündigem Auswaschen im fliessenden Wasser kam das Material in einen Entwässerungsapparat,[2]) wo es 24 Stunden blieb. Darauf wurde die Hälfte des Alkohols entfernt, mit gleichem Volumen 95 proc. Alkohols gut vermischt und das Material wieder in diesen, stärkeren Alkohol übertragen. Nach zwölf Stunden kam es in 95 proc. Alkohol und danach in absoluten Alkohol (sechs Stunden), ein Gemisch gleicher Theile absoluten Alkohols und Bergamotöls (sechs Stunden), Bergamotöl (sechs Stunden), Bergamotöl und Paraffin 45° zu gleichen Theilen

1) Die Constatirung eines echten Befruchtungsactes habe ich schon im Jahre 1896 mitgetheilt (cf. Osterhout 1896 p. 418.)

2) Dieser wurde nach Vorschlägen des Herrn Prof. Dr. Setchell in folgender Weise zusammengestellt: Der Hals ist einem Trichter entnommen und der Trichter in einen Becher eingepasst. Beide müssen von gleichem Durchmesser sein, sonst sinkt der Trichter nieder oder ragt aus dem Becher hervor. Ein Stück Pergamentpapier ist gefaltet, wie zum Filtriren und in den Trichter eingesetzt. Man legt nun das Material hinein, giesst Wasser darauf und füllt gleichzeitig den Becher halbvoll Alkohol, 95 proc. Darauf setzt man den Trichter in den Becher und legt einen Deckel darüber. Die Geschwindigkeit der Entwässerung hängt von der Stärke des Alkohols, der Dicke des Pergamentpapiers und der Grösse der Contactfläche zwischen den beiden Flüssigkeiten ab und kann genau controllirt werden (s. Lawson 1898 und Williams 1899). Auf diese Weise können die empfindlichsten Objecte leicht und sicher ohne Schrumpfung entwässert werden. Der Apparat hat sich viel bequemer erwiesen, als der Schulze'sche Apparat.

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0113-6

(sechs Stunden), Paraffin 45° (sechs Stunden), Paraffin 52° (vierundzwanzig Stunden). Die Schnitte (2 bis 5 μ dick) wurden auf dem Objectträger nach der Wassereiweissmethode angeklebt.

Da die Carpogonäste parallel zu der Längsachse geschnitten werden sollten, so muss das Material beim Schneiden genau orientirt sein. Ich habe eine Methode erdacht, die solche Orientirung sehr leicht gestattet, da sie aber schon in Strasburger's „Das Botanische Practicum" (3. Aufl. S. 365) beschrieben, so brauche ich nicht hier darauf einzugehen.

Unter den vielen Tingirungsmethoden, die ich versucht, haben sich die Flemming'sche dreifarbige und Heidenhein's Eisen-Haematoxylinmethoden als die besten bewährt. Mit der ersteren färbt sich in gut gelungenen Präparaten das Kernkörperchen roth, das Chromatingerüst blau und das Cytoplasma orange oder orangegrau. Mit Eisenhaematoxylin färben sich Kernkörperchen und Chromatingerüst schwarz, der Chromatophor dunkelgrau oder schwarz und die Platten, die den Tüpfeln anliegen, tief schwarz. Die Auswaschung, resp. Controllirung der Färbung geschah stets unter Benutzung eines $^1/_{12}$ hom. Imm. Objectives.

Die feinsten Details können nur bei sehr intensiver Beleuchtung studirt werden. Ich benützte ein Auer'sches Glühlicht und concentrirte das Licht mittelst einer mit gefärbter Lösung angefüllten Glaskugel.

Die Trichogyne entstehen aus den Scheitelzellen der Carpogonäste, die von Anfang an durch ihre geradegestreckte Centralachse gekennzeichnet sind. Die mit dichtem Protoplasma angefüllte Scheitelzelle treibt einen Fortsatz aus, welcher zunächst breit elliptisch, später lageniform wird. Der Inhalt dieses Fortsatzes scheint in lebendem Zustande heller und mehr homogen als bei vegetativen Zellen der Fall ist. Nachdem dieses Protoplasma fixirt und gefärbt ist, gibt es den Anschein eines Netzwerkes. Ob dies als ein echtes Netzwerk oder als ein Wabenbau anzusehen ist, mag dahingestellt bleiben. Das Cytoplasma enthält Vacuolen; es kann sogar später hoch vacuolisirt erscheinen. Der Chromatophor des Trichophors setzt sich in das Trichogyn fort. Die Trichogynwand ist an der Basis dick, nach oben zu wird sie dünner, an der Spitze selbst ist sie sehr dünn. Der Trichophor enthält einen Kern mit ziemlich grossen Kernkörperchen und deutlichem Chromatingerüst (Fig. 1).

Die Spermatien enthalten einen Kern, worin Kernkörperchen und Chromatingerüst deutlich sichtbar sind (Fig. 2); im jugendlichen

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0114-1

Zustande ist auch ein reducirter Chromatophor vorhanden. Wenn die Spermatien frei werden, bleiben die Antheridienwände als leere Schalen an der Mutterpflanze sitzend. Die neu entstehenden Antheridien wachsen manchmal innerhalb dieser leeren Schalen, wie es auch bei *Tuomeya* (Setchell 1890) geschieht.

Die Spermatien setzen sich an das Trichogyn fest, meist nahe der Spitze; ausnahmsweise befinden sich auch einige mehr oder weniger weit von der Spitze entfernt. Mehr als ein Dutzend sind oft an demselben Trichogyn befestigt. Sie sind mit einer zarten Zellwand umgeben.

Nach vollendeter Resorbirung der Zellwände am Berührungspunkt des Trichogyns und Spermatiums (Fig. 3), geht der Spermatiumkern in das Trichogyn hinein, passirt durch dasselbe und dringt in den Trichophor. Der Kanal, welcher den Trichophor mit dem Trichogyn verbindet, verengt sich und wird bald vollständig geschlossen durch das Wachsthum oder die Quellung der Zellwand, wodurch das Eindringen eines zweiten Spermatiumkernes ausgeschlossen wird. Falls mehr als ein Kern an den anhaftenden Spermatien in das Trichogyn hineindringen — was sehr oft passirt — so gehen sie unter Fragmentirung zu Grunde. Diejenigen, welche in den Spermatien zurückbleiben, haben dasselbe Schicksal.

Nachdem der Spermatiumkern in den Trichophor hineingedrungen ist, verschmilzt er mit dem Eikern. Die verschiedenen Stufen dieses Vorgangs lassen sich derartig verfolgen, dass kein Zweifel darüber existiren kann. Ich habe die zwei Kerne gerade in dem Augenblick der Verschmelzung gesehen, wo die Kernwände an der Berührungsstelle schon resorbirt sind (Fig. 4). Dass dies keinesfalls eine optische Täuschung, veranlasst durch die Aufeinanderlegung der Kerne, ist, lässt sich durch genaue Einstellung beweisen.

Der Furchungskern enthält gewöhnlich nur ein Kernkörperchen; das Chromatingerüst zeigt keine Spur von seinem doppeltem Ursprung; kurz gesagt, er erscheint ganz wie ein normaler Kern. Er fängt an sofort zu wachsen und zeichnet sich bald durch seine Grösse und sein Chromatingerüst mit deutlichen Chromatinscheiben aus (Fig. 5). Der Trichophor nimmt an Grösse zu und treibt ein oder mehrere Fortsätze aus. Darauf theilt sich der Kern und einer der Tochterkerne wandert in den Fortsatz hinein. Da die Theilung des Verschmelzungskernes nie eintritt bevor die Fortsätze hinausgewachsen sind, so können die Tochterkerne keineswegs mit den verschmelzenden Geschlechtskernen verwechselt werden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0115-7

Auf diese Weise entstehen mehrere Fortsätze unter wiederholter Theilung des im Trichophor liegenden Kerns. Jeder Fortsatz, nachdem ein Kern in ihm eingedrungen ist, wird durch eine Scheidewand vom Trichophor getrennt und bildet sich zu einem Schlauche aus; nach folgender Quertheilung wächst er unter wiederholter Theilung seiner Scheitelzelle weiter und bildet sich zu einem langen Faden aus (Fig. 6). Die Fäden schmiegen sich dicht an die Centralachse des Carpogonastes an. Aus deren Gliederzellen entspringen zahlreiche Gonimoblasten. Vermengt mit diesen sind die sterilen Fäden, die aus der Centralachse hervorsprossen, und welche im Anfang fast wie Gonimoblasten aussehen (Fig. 6). Jeder Spross beginnt als eine kleine Ausstülpung von einer Gliederzelle. In dessen Nähe stellt sich der Kern und theilt sich. Die Spindel ist sehr klein, scharf gespitzt und stets schräge zur Längsachse der Zelle gerichtet [1]) (Fig. 7). Ein Tochterkern wandert in die Ausstülpung, welche bald abgegliedert wird, Quertheilung eingeht und weiterwächst. Bei der Zelltheilung scheint der Chromatophor durchgerissen zu sein. Die obige Beschreibung gilt auch für die Sprossbildung vegetativer Zellen.

Die Gonimoblasten sind durch dichten Gehalt an Protoplasma und durch die Grösse der Kerne gekennzeichnet. Die Endzellen bilden sich zu Sporen aus. Die Sporen sind von obovoidaler Gestalt; ihr Chromatophor ist reichlich verzweigt; der Kern liegt ungefähr in der Mitte.

In meinem Materiale hatten die Sporen in situ gekeimt und wurden zu *Chantransia*-Pflanzen, gerade wie dies von Sirodot (1884) beschrieben ist. Die vegetativen Zellen sowie auch die Sporen der *Chantransia*-Pflanze bieten in cytologischer Hinsicht kein besonderes Interesse dar.

Wenn Schmitz (1883) angibt, dass die beiden Geschlechtskerne bei den Florideen sich vereinigen, so beruht das nicht auf directer Beobachtung des Verschmelzungsakts, sondern auf der Thatsache, dass zuerst zwei Kerne vorhanden sind, später aber nur einer; daraus zieht er den Schluss, dass sie mit einander verschmolzen sind. Wille (1894) beobachtete die Verschmelzungsakte bei *Nemalion,* seine Beschreibung ist aber sehr unvollkommen hinsichtlich der cytologischen Details. Davis (1896) konnte die Verschmelzung bei *Batrachospermum* nicht beobachten; er gibt an, dass der Spermatiumkern nicht in den

1) Bei der Kleinheit dieser Objecte konnte ich nicht constatiren ob Centrosomen vorhanden sind oder nicht.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0116-3

Trichophor eindringt, sondern dass er im Trichogyn stehen bleibt um dort zu Grunde zu gehen. Davis hat aber selbst gefunden, dass isolirte, gegen Einwirkung von Spermatien geschützte, weibliche Exemplare keine Frucht entwickeln. Nach Davis besitzt Trichogyn sowohl als Trichophor seinen eigenen Kern. Ich habe in meinen Präparaten nicht die geringste Andeutung eines Kernes im Trichogyne gesehen vor Eintritt des Spermatiumkernes.

Oltmanns (1898) hat die Verschmelzung der Geschlechtskerne bei *Dasya* beobachtet. Von *Dudresnaya* redet er folgendermaassen: „Die Spermatien setzen sich an der Trichogyne fest und es beginnt zweifellos ein normaler Sexualakt, wie ihn Wille für *Nemalion* beschrieben hat. Ich habe nicht alle Stufen verfolgt, aber ich finde an der Spitze einen unverkennbar aus dem Spermatium ausgetretenen Kern, sehe wiederholt zwei Kerne in mehr oder weniger grosser Entfernung von einander und beobachtete schliesslich einen solchen an der Basis des Carpogoniums liegend. Diesen spreche ich als Verschmelzungsprodukt von Sperma- und Eikern an. Die Verschmelzung als solche habe ich nicht verfolgt, da die Dinge, mir persönlich wenigstens, zu wahrscheinlich waren, um eine eingehendere Untersuchung verlockend erscheinen zu lassen.“ Ich kann aber nicht zugestehen, dass sorgfältige Untersuchungen über diesen Punkt überflüssig sind; besonders wichtig ist es, nach Methoden zu operiren, welche die Kerne von anderen Zellbestandttheilen scharf und sicher unterscheiden lassen.

Die Frage nach dem Generationswechsel bei den Florideen habe ich bereits an anderer Stelle (Osterhout 1896) erörtert. Oltmanns ist der Ansicht, dass ein echter Generationswechsel vorhanden sei. Der Einwand, worauf de Bary (1870) Gewicht gelegt hat, dass bei den Florideen (sowie auch bei den Ascomyceten) eine Abrundung resp. Lostrennung des Eies nicht vorkommt, findet bei Oltmanns keine Erwähnung. Ich bin sehr geneigt, einen Generationswechsel bei den Florideen anzunehmen, obwohl die Frage nicht entschieden werden kann, bis die Zahl der Chromosomen ermittelt ist. Ist aber ein solcher Generationswechsel vorhanden, so kann man sagen, dass die Entwickelung des Sporophyts die gleiche Tendenz bei den Florideen und Lebermoosen zeigt. Die einfachsten Formen (*Callithamnion, Riccia*) besitzen sehr wenig vegetatives Gewebe im Sporophyt; die hoch entwickelten dagegen *(Anthoceros, Rhabdonia)* zeichnen sich durch ihren Reichthum an solchem Gewebe aus. Soche hoch entwickelte Sporophyten sind aber bei den Lebermoosen über den

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0117-9

Thallus gehoben, um die Sporen besser verbreiten zu können, bei den Florideen dagegen in den Thallus eingesenkt, um besser geschützt zu sein.

Nachdem das Obige niedergeschrieben wurde, gelangt eine Arbeit von W. Schmidle (Bot. Zeit. LVII, 125, 1899) in meine Hände, welche die Befruchtung von *Batrochospermum* behandelt. Schmidle gibt an, dass jedes Spermatium stets zwei Kerne enthält. Nach meinen Befunden besitzt das Spermatium nur einen Kern, welcher allerdings im Spermatium fragmentiren kann, falls er nicht in das Trichogyn einwandert. Dies ist aber als eine Desorganisationserscheinung aufzufassen. Den Verschmelzungsakt hat Schmidle nicht beobachtet, schliesst aber auf eine Verschmelzung der Geschlechtskerne.

University of California.

Berkeley, California, U. S. A.

Litteraturverzeichniss.

de Bary, A., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, von A. de Bary und M. Woronin. Dritte Reihe pag. 86. Frankfurt 1870.

Davis, B. M., The Fertilization of *Batrachospermum*. Annals of Botany, X, 49. 1896.

Lawson, A. A., Some Observations ou the Developement of the karyokinetic Spindle in the Pollen-Mother-Cells of *Cobaea scandens, Cav.* Proc. California Academy of Sciences. 3d. Series. I, 119. 1898.

Oltmanns, Fr., Zur Entwickelungsgeschichte der Florideen. Bot. Zeit. LVI, 99. 1898.

Osterhout, W. J. V., On the Life-History of *Rhabdonia tenera, J. Ag.* Annals of Botany, X, 403. 1896.

Schmitz, Fr., Untersuchungen über die Befruchtung der Florideen. Sitzungsberichte der Berliner Akademie der Wissenschaften. 1883.

Setchell, W. A., Concerning the Structure and Developement of *Tuomeya fluviatilis, Harv.* Proc. Am. Acad. of Arts and Sciences XXV, 53. 1890.

Sirodot, Les Batrachospermes etc. Paris 1884.

Wille, N., Befruchtung bei *Nemalion multifidum, J. Ag.* Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 1894, p. 50.

Williams, C. L., The Origin of the karyokinetic Spindle in *Passiflora coerulea,* Linn. Proc. Cal. Acad. of Sciences. Third. Series. I, 189. 1899.

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0118-4

Figurenerklärung.

Fig. 1 ist unter Benutzung einer Leitz'schen $^1/_{16}$ Oelimmersion und Huyg. Oc. 4; Fig. 2—6 unter Benutzung einer Zeiss'schen Apochromat. 2 m. m. N. A. 1,30 und Comp. Oc. 8; Fig. 7 wie Fig. 2—6, aber mit Comp. Oc. 18; sämmtliche Figuren mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparates entworfen.

Fig. 1. Carpogonium vor der Befruchtung. Der Trichophor enthält einen Kern; das Trichogyn ist mit vacuolisirtem Protoplasma angefüllt; seine Wand ist an der Basis dick, wird aber nach oben zu dünner.

Fig. 2. Antheridium, grob vacuolisirtes Protoplasma enthaltend, mit einem Kern.

Fig. 3. Spermatium an dem Trichogyn sitzend; die Wand ist an der Berührungsstelle resorbirt und die Plasmamassen haben sich vereinigt.

Fig. 4. Zwei Geschlechtskerne im Augenblick der Verschmelzung; die Kernwände sind schon an der Berührungsstelle resorbirt. Eine leere Spermatiumwand sitzt an der Trichogynspitze.

Fig. 5. Nach Verschmelzung der Kerne hat der Trichophor an Grösse zugenommen und einen Fortsatz hinausgetrieben. Das leere Spermatium hat den männlichen Kern geliefert; neben ihm ein Spermatium mit Kern, oben rechts ein Spermatium, dessen Kern fragmentirt hat.

Fig. 6. Der Trichophor hat zwei Zellen abgesondert, eine (rechts) schmiegt sich dicht an der Centralachse an; bei der anderen (links) hat sich der Kern getheilt. Diese zwei Zellen wachsen zu Gonimoblasten aus. Unten sieht man einen sterilen Faden, aus der Centralachse hervorsprossend. Oben ist das Trichogyn abgebrochen.

Fig. 7. Entstehung eines Seitensprosses aus einer Gliederzelle. Die Tochterzelle ist nur durch einen engen Hals mit der Mutterzelle verbunden. Durch diesen Hals muss der Tochterkern einwandern. Die schiefe Orientirung der Spindel ist typisch.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05156-0119-3

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1900

Band/Volume: 87

Autor(en)/Author(s): Osterhout W. J. V.

Artikel/Article: Befruchtung bei Batrachospermum. 109-115