

Die Entwicklung des Embryosackes bei *Haemanthus Katharinae*.

(Tafeln VI—VIII).

Von

ZYGMUNT WÓYCICKI.

Im Jahre 1925 erschien die Arbeit von A. Helge S. Son Stenar unter dem Titel „Embryologische Studien“, enthaltend Material zur Embryologie einiger *Columniferen* und *Amaryllideen*. Autor führt unter anderem auch Resultate seiner Forschungen über *Haemanthus Katharinae* an, die schon ziemlich lange der Gegenstand meiner Untersuchungen darstellt.

Die Samenanlage bei dieser Pflanze ist nach Stenar *crassinucellat*, mit einer Zellschicht von Deckzellen oberhalb der grossen Embryosackmutterzelle.

Diese Embryosackmutterzelle (E. S. M. Z.) teilt sich nach Beschreibung Stenars normal in 4 Tetraden. Stenar hat auch gezeigt, dass der ausgebildete Embryosack achtkernig ist, wie auch, dass die Samenanlage 2 Integumente besitzt, also zum Typus der *bitegminatae* gehört.

Dieselbe Ansicht (was die Entstehung des Embryosackes betrifft) teilt, wie es scheint, auch Schlimbach (1924), welcher in seiner früher als Stenars erschienenen Arbeit sagt: „Der Embryosack entsteht normal und zeichnet sich durch grosse Kerne aus“¹⁾.

Da ich bei Analysierung der Anzahl und des Charakters der Chromosomengarnitur bei *Haemanthus* mich auch näher mit den Vorgängen beschäftigen musste, welche sich während der Entstehung des Embryosackes abspielen, so halte ich es für angebracht, an dieser Stelle die von mir erhaltenen Resultate anzuführen, umsomehr, da

¹⁾ L. c., p. 47.

sie etwas abweichend von denen sind, die Stenar u. Schlimbach angegeben haben.

Die Samenanlage von *Haemanthus Katharinae* ist, wie Stenar mit Recht hervorhebt, crassinuzellat.

Wir haben es in dem jungen Ovularhöcker mit einem ganz gut ausgebildeten Nuzellus zu tun, welcher aus einer zartwandigen Epidermis und vielzelligem Gewebe besteht, das die Archespore umgibt (Taf. VI, Fig. 1). Oberhalb der grossen Embryosackmutterzelle liegt, wie sich Stenar ausdrückt, „eine einzige Zellschicht von Deckzellen“¹⁾. Jedoch unzutreffend ist die Bemerkung Stenars, als ob in dieser Schichte niemals perikline Teilungen vorkämen²⁾. Denn ganz das Gegenteil beweisen meine Photographien 7 u. 8, Taf. VII, aus denen zu ersehen ist, dass die Zelle, welche die Spitze der E. S. M. Z. deckt, also die Deckzelle im Sinne Dahlgrens (1927) oder Schnarfs (1927)³⁾, sich gerade in zwei Tochterzellen geteilt hat. Daher gehört die Samenanlage bei *Haemanthus* zweifellos zum III. Typus Schnarfs (1927)⁴⁾. Weiter soll sich nach Stenar die E. S. M. Z. in 4 Tetraden teilen⁵⁾. Dyaden, wie sie des Autors Zeichn. 5 Seite 84 darstellt, ruhen übereinander, die Tetraden aber sind so gelegen, dass zwei von ihnen übereinander und zwei nebeneinander liegen⁶⁾.

Dagegen gibt es in meinem Material, das mehrmals, sowohl von mir, als auch von Fr. Smólska durchmustert worden ist, kein einziges Präparat, welches auf so einen Entwicklungsverlauf des Embryosackes hindeuten könnte. Alle Entwicklungsphasen, welche wir auf den photographischen Aufnahmen 1, 2, 3, 4, 5 u. 6 Taf. VI sehen, zeugen ganz deutlich davon, dass die E. S. M. Z. keiner Tetradenteilung unterliegt, sondern, dass die Reduktionsprozesse sich während ihrer unmittelbaren Umgestaltung zum Embryosack abspielen. Noch mehr: die Makrosporenceimung (Rutgers, 1923) ver-

1) Stenar, H. l. c., p. 79.

2) „In dieser Schicht — sagt Stenar — kommen in älteren Samenanlagen niemals perikline Teilungen vor“. L. c., p. 79.

3) „In crassinucellaten Samenanlagen erfolgt meistens eine Zellbildung der Archesporzellen unter Ausbildung einer periklinen Wand. Diese trennt dann eine äussere (mikropylare) Zelle, parietale Zelle, auch Deckzelle, Schichtzelle oder Tapetumzelle genannt, von einer inneren sporogenen Zelle“. L. c., p. 68.

4) L. c., p. 72.

5) Stenar, H. l. c., p. 81.

6) „Die Tetradenteilung.... ist normal“. Stenar, l. c., p. 80.

läuft auf solche Weise, die mit der Modifikation übereinstimmt, welche anfangs für *Smilacina* (1909) und später (1914) für *Medeola virginica* Mac Allister¹⁾ beschrieben hat, ferner für *Epipactis pubescens* Brown u. Sharp (1911)²⁾. Bei *Haemanthus Katharinae* bildet sich daher, ähnlich wie bei obenerwähnten Vertretern, auf der Spindel der ersten heterotypischen Teilung die Anlage einer Zellplatte (Taf. VII, Fig. 7 u. 8); diese degeneriert jedoch bald, und wir erhalten einen Embryosack mit zwei Dyadenkernen, geteilt durch eine dazwischenliegende riesige zentrale Vakuole (Taf. VII, Fig. 9 u. 10), welche nach Rutgers den Ausdruck der Polarisierung der Makrospore oder ihren Keimungsbeginn darstellt³⁾. Wenn auch bei *Medeola* und *Epipactis* sogar nach der Teilung in vier Tetradenkerne die Schwester-elemente zeitweise durch ephemäre und unvollständige Membranen⁴⁾ getrennt sind, liess diese Erscheinung sich bei *Haemanthus* nicht beobachten.

Die sich zum eigentlichen Embryosack umwandelnde Mutterzelle wächst schnell an, die Nucelluszellen vernichtend, deren Inhalt in Gestalt durchsichtiger sich einheitlich färbender, unregelmässiger abgeplatteter Klümpchen an den Rändern des Embryosackes steckt (Tafel VII, Fig. 9, 10 u. 11). Eine grosse zentrale, zwischen den Dyaden liegende Vacuole besteht weiter, ihr Volumen entsprechend vergrössernd. Fast immer ist auch in dem halazalen Ende des Embryosackes bei *Haemanthus*, was Schnarf⁵⁾ als weit verbreitete Erscheinung betrachtet, hinter dem Kerne eine ziemlich grosse Vakuole enthalten, so dass der halazale Kern von dem unteren Ende der Zelle ziemlich weit entfernt ist (Taf. VII, Fig. 10). Die Dyadenkernteilung ist der Regel nach synchron (Taf. VII, Fig. 11); man kann jedoch auch Embryosäcke antreffen, in denen einer der Kerne (gewöhnlich der mikropylare) sich früher als der antipodale teilt, und dies Vorgehen spiegelt sich auch in dem weiteren Entwicklungsprozesse, da auch die Schwesterkerne sich unabhängig von einander teilen.

Der reife Embryosack ist ein Gebilde, welches drei Kerne in der mikropylaren und drei in der antypodalen Region enthält (Fig. 21 des Textes).

1) Allister, T. Mc., Bot. Gaz., V. 48 u. 58.

2) Brown, W. W. and Sharp, L. W. Bot. Gaz., V. 52, p. 441, Tafel X, Fig. 17, 18.

3) Schnarf, K., l. c., p. 180—181.

4) Allister, T. Mc., l. c., p. 142, Fig. 40 Taf. VII. Brown and Sharp, l. c., Taf. X, Fig. 19.

5) Schnarf, K., l. c., p. 122.

Zwischen beiden oben erwähnten Komplexen, ruht noch immer eine riesige von Plasmaströmen durchschnittene Vakuole.

Oberhalb solchen Embryosäcken, die schon die Deckzellen zerstört haben und solcherart zu der Epidermis vorgedrungen sind, lässt sich ein karyokinetischer Vorgang beobachten, welcher damit endet, dass die Zellplattenanlage ganz deutlich auf dem Gebiete der Spindel

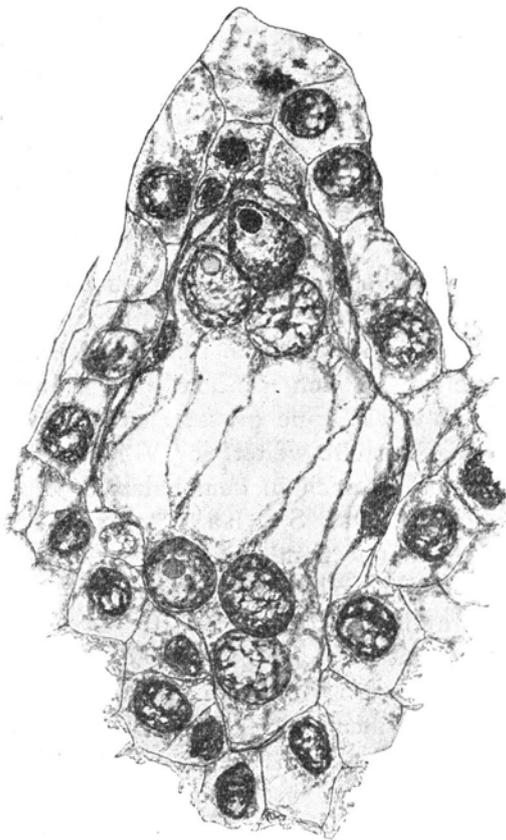


Fig. 21. Sechskerniger Embryosack bei *Haemanthus Katharinae*. Rekonstruktion von acht Schnitten. Gezeichnet mit Hilfe des Zeichenapparates von Abbé unter Benutzung des Objektivs Leitz Nr. 7 u. der Okular Leitz Nr. 5. Vergröss. circa 800 \times .

degeneriert und die neuentstandenen Kerne sich wieder kopulieren. Dies spielt sich gewöhnlich in den Epidermiszellen ab, die unmittelbar über dem Eiapparat gelagert sind (Fig. 22 des Textes).

Was den befruchtungsreifen Embryosack betrifft, so entspricht seine Struktur im allgemeinen der Beschreibung Stenars. Der

Embryosack ist dann gross und enthält normalerweise drei Zellen in der antipodalen und drei Zellen in der mikropylaren Region (Fig. 23 des Textes). Die Synergiden haben einen gut ausgebildeten Fadenapparat und stark karyolysierte Kerne. Das Plasma der Eizelle ist mit Oeltropfen und grossen Stärkekörnern vollgestopft. Die drei Antipodenzellen, welche nebeneinander in derselben Ebene liegen, haben grosse stark hyperchromatische Kerne und Plasma reich an Vakuolen. Die beiden Polkerne liegen in der unteren Region des Embryosackes, während nach ihrer Verschmelzung der Endosperm-

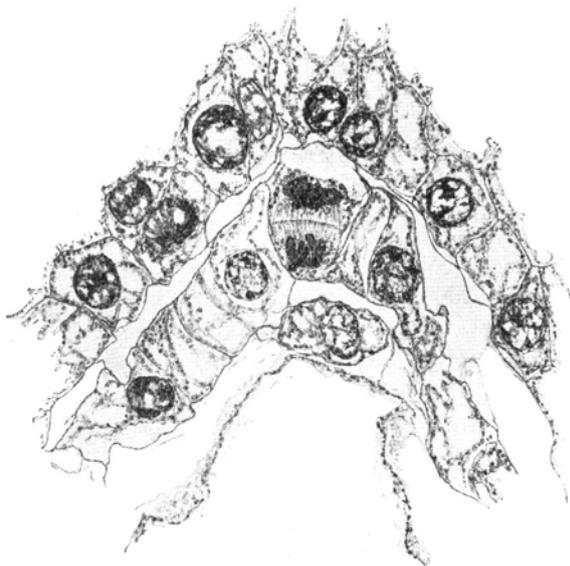


Fig. 22. Die Karyokinese in einer der Scheitelzellen der Nucellusepidermis bei *Haemanthus Katharinae*. Gezeichnet mit Hilfe des Zeichenapparates von Abbé unter Benutzung Reicherts Immer. $\frac{1}{12}$ u. Okular. Nr. 1. Vergröss. circa: $650\times$.

kern „unmittelbar oberhalb der drei Antipodenzellen liegt“¹⁾, in der Plasmaansammlung, welche viele Öltropfen besitzt.

Ein solcher Entwicklungsverlauf des Embryosackes bei *Haemanthus Katharinae*, mit dem ich es zu tun hatte, bestärkt die Überzeugung, dass der von Stenar beobachtete Prozess zu mindesten nicht der Regel entspricht, dass die Vorgänge vielmehr so verlaufen, wie das bei *Epipactis pubescens* (Brown and Sharp

1) Stenar, H. l. c. p. 80.

2) Bot. Gazette, V. 32.

(1911) der Fall ist, bei denen mit den Worten Schnarfs „...der Embryosack entweder nach dem Normal — oder nach dem *Lilium*-Typus entsteht“¹⁾.

Schliesslich möchte ich mir erlauben, noch auf zwei Fragen aufmerksam zu machen, da meine diesbezüglichen Resultate sich zu den von Stenar angegebenen abweichend verhalten. Die erste derselben betrifft die haploide Chromosomenzahl bei *H. Katharinae*, welche genannter Autor mit 12 angibt, die zweite Frage den Charakter des

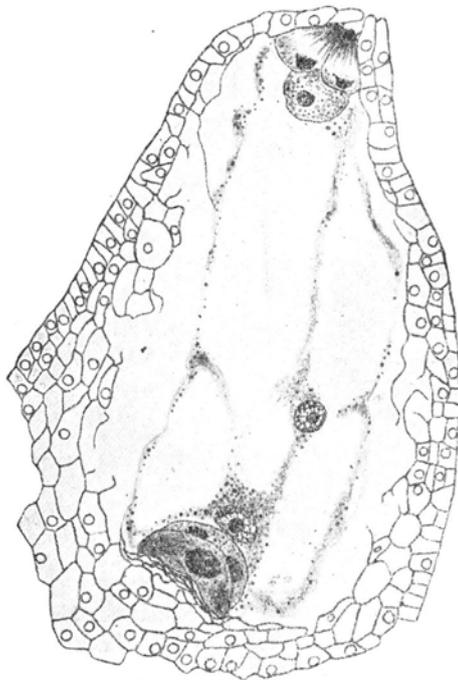


Fig. 23. Befruchtungsreifer Embryosack. Gezeichnet mit Hilfe des Zeichenapparates von Abbé unter Benutzung Objekt Zeiss A. u. Okul. 15. Vergröss. circa: 130 \times .

Pollens bei *H. Katharinae*, sowie den Charakter der in ihm enthaltenen generativen Elemente.

In meiner Arbeit vom Juni 1927 habe ich nachgewiesen, dass die haploide Zahl der Chromosomen 9 beträgt, und dass wir dabei 4 *M/M* und 5 *m/m* haben. Dieselben Zahlen konnte ich bei der Entwicklung der Makrospore bestätigen, wo besonders überzeugend

¹⁾ Schnarf, K. Embryologie der Angiospermen, II Teil, p. 249.

die Schwesterkerne des ersten (Taf. VII, Fig. 9 u. 10), sowie des zweiten Teilungsschrittes waren (Taf. VII, Fig. 12). In den im März und Juli 1926 veröffentlichten Arbeiten stellte ich noch dazu fest, dass der Pollen des *Haemanthus* eine ganze generative Zelle und nicht nur den generativen Kern enthalte. Endlich habe ich in einer der oben erwähnten Arbeiten (Juli 1926) die eigentliche Pollengestalt dargestellt, wie auch das Bestehen einer für die *Liliaceen*¹⁾ so typischen Längsfurche, über welche eine Ausgangsstelle für den Pollenschlauch vorhanden ist. Die Zeichnung 10 Stenars ist, meiner Ansicht nach, ein Längsschnitt des Pollenkornes gerade in der Ebene genannter Furche.

* * *

Zum Schluss möchte ich noch die Gelegenheit benutzen, um die Struktur der fixierten karyokinetischen Spindel in den Pollenmutterzellen bei *Haemanthus* zu berühren. Robyns meint: „Les fibres décrites par la plupart des auteurs, les lamelles fusoriales de Devisé, ne sont que des produits différents d'altération du corps fusorial métaphasique...“²⁾ Er kommt dann zur Überzeugung, dass in mit Flemmingslösung fixierten Präparaten die metaphasische Spindel folgenden Charakter hat: „Des cordons de fibres, ou pour mieux dire des paquets fibrillaires lammellisés, partent des chromosomes et délimitent entre eux de larges alvéoles parcourus par quelques rares et fines anastomoses transversales. Ces faisceaux de fibres sont aigus en leur point d'attache aux chromosomes et le plus larges aux pôles“³⁾ Bei *Haemanthus* haben wir in den mit Flemmingslösung fixierten Pollenmutterzellen ebenfalls „des cordons de fibres“⁴⁾ (Taf. VIII, Fig. 13, 14 u. 15) und solche in der fast immer den Chromosomen entsprechenden Anzahl (Taf. VIII, Fig. 15, 16), wie darauf auch schon Devisé (1922) bei *Larix* aufmerksam machte. Eine einzige Ausnahme stellt Fig. 17 dar, welche möglicherweise auf die verfrühte Längsteilung der Chromosomen an der Stelle der Anhaftung der Zugfasernbündel hinweist. Eine solche Klärung dieser Figur ist deshalb, wie ich glaube, sehr wahrscheinlich, da die überzähligen „cordons des fibres“ sich dicht neben den grossen

1) Pohl, F. „Der einfaltige Pollen, seine Verbreitung und phylogenetische Bedeutung“. Beih. z. Bot. Centrbl., Bd. 45, 1928.

2) L. c., p. 438.

3) L. c., p. 419. Mein Kursiv.

4) Tischler, G. (l. c., p. 322) sagt: „An entsprechend fixierten und gefärbten Präparaten ist es in der Tat leicht zu sehen, dass die Fasern einzeln oder „büschelförmig“ an den Chromosomen ansetzen“.

gut ausgebildeten Bündeln befinden und als ihre unmittelbaren Gefährten oder Tochterbündel betrachtet werden können. Auf Grund der obigen Ausführungen kann ich die Figur 17 nicht als Unterstützung der Meinung Tischlers betrachten, welcher in seiner Karyologie (1922) auf Grund der Beobachtungen Lundegårds (1910) kategorisch behauptet: „Damit wurden also Bertholds alte Beobachtungen glänzend bestätigt, nach denen die Zahl der Fasern zu der der Chromosomen in gar keiner Beziehung zu stehen braucht“¹⁾.

Alle meine Figuren zeigen ebenfalls, dass die „faisceaux de fibres“ bei *Haemanthus* „plus larges“ an den Stellen ihrer Befestigung an den Chromosomen sind, als an den Polen, wo sie scharf zugespitzte Kegel bilden. Die Schlussfolgerung Robyns lässt sich daher in keinem Falle verallgemeinern.

Institut für Allgemeine Botanik der Universität Warschau.

Literaturverzeichnis.

1. Brown, W. H. and Sharp, L. W. Bot. Gaz., V. 52, 1911.
2. Dalgren, Ossian, K. V. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 67, 1927.
3. Kuhn, Eckhard. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 68, 1928.
4. Mac Allister, F. Bot. Gaz., V. 48, 1909.
5. — Bot. Gaz., V. 58, 1914.
6. Palm, B. Diss. Stockholm, 1915.
7. Pohl, F. Beih. z. Bot. Centrbl. Bd. 45, 1928.
8. Robyns, W. La Cellule, T. 34 u. 37, 1922—27.
9. Schaffner, J. H. Bot. Gazette, V. 23, 1897.
10. Schlimbach, H. Flora, Bd. 17.
11. Schnarf, K. Handbuch d. Pflanzenanatomie. K. Linsbauer, Bd. X/2, I. Teil, 1927.
12. Schürhoff, P.N. Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart, Endke F. 1926.
13. — B. d. D. Bot. Ges., H. 7. Bd. 46, 1928.
14. Stenar, H. Ak. Abhandl. Upsala, 1925.
15. Tischler, G. Allgemeine Pflanzenkaryologie. Handbuch der Pflanzenanatomie, v. K. Linsbauer. Bd. 2.

Erklärung der Tafeln.

Alle Aufnahmen der Tafeln VI und VII sind mit Apochr. Zeiss. 4 mm. u. Projekt. — Okular Zeiss Nr. 4 ausgeführt. Entfernung des Klischées = 45 cm. Vergr. circa: 450×. Klischées „Micro“ Lumière's. Material fixiert mit starker Flemmingslösung. Gefärbt hauptsächlich mit Hämatoxylin Heidenhains; Nachfärbung mit Hellgrün im Nelkenöl. Dicke der Schnitte = 10·5 μ .

Tafel VI.

Fig. 1. Embryosackmutterzelle (E. S. M. Z.) mit Ruhekern. — Darüber liegt die Schicht der Deckzellen Dahlgrens.

¹⁾ Tischler, G. l. c., p. 341.

Fig. 2. E. S. M. Z. mit Kern in Prophase (Pseudospirem). — Im Plasma sieht man viele kleine Körnchen, welche sich mit Flemmingslösung schwarz färben.

Fig. 3. E. S. M. Z. mit synaptischem Kern. Plasma der E. S. M. Z. besitzt fädige Struktur. Die Anzahl der mit Osmium geschwärzten Körnchen ziemlich gross. Deckzelle deutlich sichtbar.

Fig. 4. E. S. M. Z. mit synaptischem Kern. — Plasma stellenweise stark plasmolysiert. Körnigkeit des Plasmas weniger deutlich als auf Fig. 3. Da Durchschnitt etwas schräge ausgeführt, sind die Verhältnisse in dem Nucellus der Samenanlage weniger deutlich als in vorigen Figuren.

Fig. 5. E. S. M. Z. mit spätdiakinetischem Kern. — Nucleolus deutlich sichtbar zwischen den Chromosomen. Plasma stark vakuolisiert und plasmolysiert unter Einwirkung der Fixierflüssigkeit, die die Körnigkeit im Plasma geschwärzt hat.

Fig. 6. E. S. M. Z. in etwas späterer Phase als in Fig. 5. Vakuolisierung des Plasmas fast dieselbe, wie in Fig. 5. Einige von den Zellen des Nucellus schon degeneriert, ihr Inhalt durchweg überschwemmt von den Zerfallprodukten der Kerne.

Tafel VII.

Fig. 7 u. 8. Zwei aufeinanderfolgende Schnitte durch den Gipfel des Nucellus. Die „Deckzelle“ geteilt in zwei Tochterzellen. In dem Embryosack zwischen zwei Tochterkernen, welche sich in der Phase „tassement polaire“ befinden, sieht man an der Spindel die transitorische Zellplatte. Das Plasma ist an der Spitze des Embryosackes (unter den Deckzellen) stark vakuolisiert. An der entgegengesetzten Seite (chalazale) Vakuolisierung weniger deutlich. Lokalisation der Öltropfen, mit Osmium geschwärzt, ist ungleichmässig. Die Zahl der Ölkörper ist viel grösser in der Chalazalpartie der Makrospore. Die Ölkörperchen besitzen viel bedeutendere Grösse als in den vorigen Phasen und fliessen stellenweise zusammen. Fast ebensolcher Zahl der Ölkörperchen befindet sich in den Deckzellen des Embryosackes, sowie in den Zellen der Epidermis.

Fig. 9. Zweikerniger Embryosack mit grosser centraler Keimungsvakuole zwischen den Tochterkernen. Beide Kerne besitzen keine gut umrissene Kernwand. Mikropylarer Kern schmiegt sich dicht an die Spitze des Embryosackes an, welcher direkt an die desorganisierte Deckzelle grenzt. Chalazaler Kern liegt etwas weiter von der Basis des Embryosackes, wo sich vakuolisiertes Plasma befindet. Kernsaft des mikropylaren Kernes zeigt (bei Fixierung mittels Flemmingslösung) ein flockiges Gerinsel, von welchem der chalazale Kern frei ist. In den beiden Kernen sind gut ausgebildete Nukleolen. Perinuclear — sowie Primordialplasma zeigen viele Öltropfen mit Osmium geschwärzt.

Fig. 10. Zweikerniger Embryosack mit Safranin und Gentianaviolett gefärbt. Die Phase fast dieselbe, wie in Fig. 9, nur mit ganz deutlich entwickelter Vakuole (basale Keimungsvakuole) hinter dem chalazalen Kern.

Fig. 11. Embryosack während der homeotypischen Kernteilung. Beide Kerne teilen sich synchronisch. Die Ebene der beiden Spindeln (sehr deutlich entwickelt) parallel gelagert und verlaufen im rechten Winkel zu der langen Achse des Embryosackes. Im Plasma, welches jede Teilungsfigur umgibt, sieht man in der Umgebung der Kernplatte Anhäufungen von kleinen Kernchen mit Osmium geschwärzt. Die langen Chromosomen sind längsgeteilt und die Tochterhälften ($\frac{L}{L}$) sind umwickelt. Die Deckzellen definitiv desorganisiert. Protoplast stark plasmolysiert und stark gefärbt durch die Produkte des desorganisierten Kernes.

Fig. 12. Vierkerniger Embryosack. Die beiden mikropylar gelegenen Kerne liegen untereinander, die antipodal gelegenen — liegen nebeneinander. Die enorme centrale Vakuole liegt zwischen beiden Gruppen der interkinetischen Kerne, welche von gut entwickelten Kernwandungen umgeben sind. Die Kernwandungen färben sich fast so stark wie die Zellwandungen des Nucellus. In allen vier Kernen kann man ohne jede Schwierigkeit die Zahl der Chromosomen als 9 — bestimmen. Sie sind unmittelbar unter der Kernwand gelagert, die Centren der Kerne sind von ihnen ganz frei. Wir haben es hier also mit denselben Erscheinungen zu tun, welche E. Kuhn (1928) bei *Thalictrum* beobachtet und die er als „somatische Diakinese“ betrachtet hat.

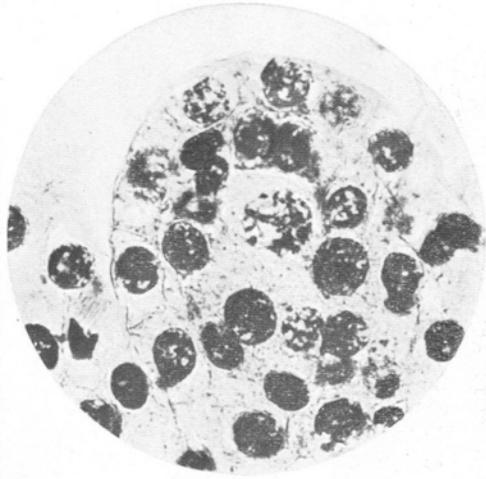
Im Plasma des Embryosackes befinden sich viele kleine Körnchen mit Osmium geschwärzt. Sie sind sehr zahlreich in der Gegend der beiden mikropylaren Kerne, in der Umgebung der chalazalen dagegen ist die Ansammlung derselben weniger deutlich.

Tafel VIII.

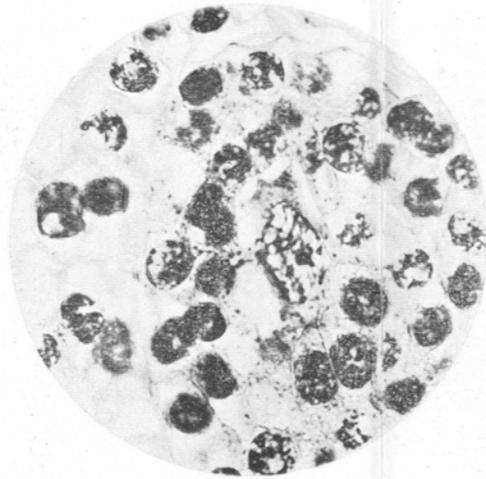
Alle Figuren der Tafel VIII sind mit Reichert Apochr.-Objekt. $\frac{1}{12}$ u. Huyghens Okul. Nr. 5 gezeichnet. Vergröss. circa: 1350 \times .

Fig. 13, 14 u. 15 B. Die Metaphase in den mit Flemmingslösung fixierten P. M. Z. Man sieht die Fädenbündel der karyokinetischen Spindel von der Seite.

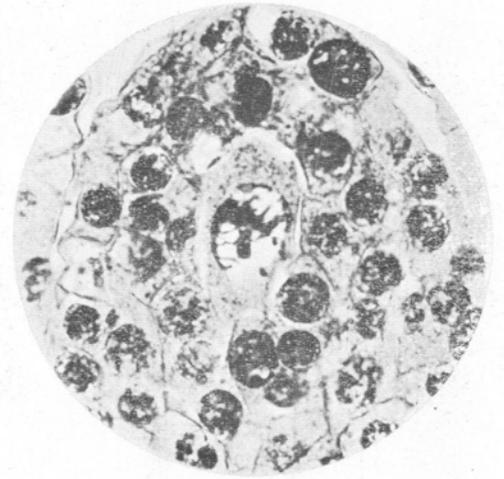
Fig. 15 A, 16 u. 17. Die Fädenbündel der karyokinetischen Spindel in den P. M. Z. vom Äquator gesehen.



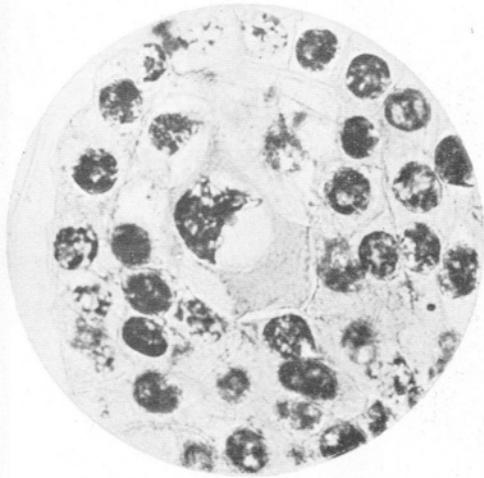
1



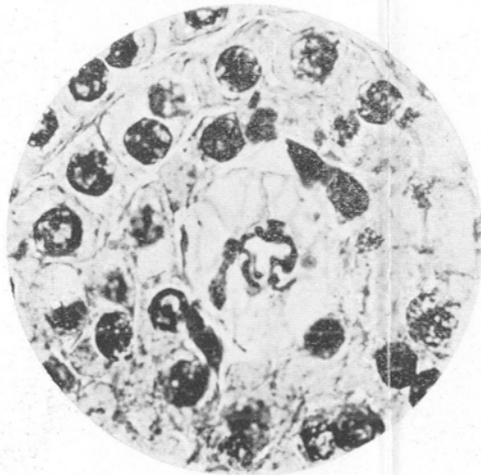
2



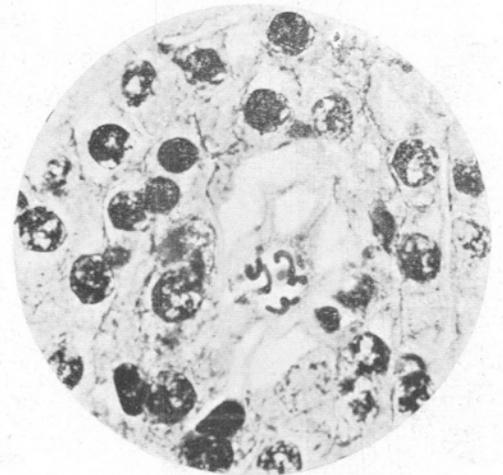
3



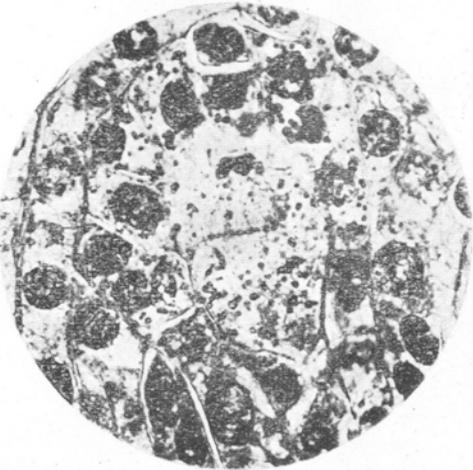
4



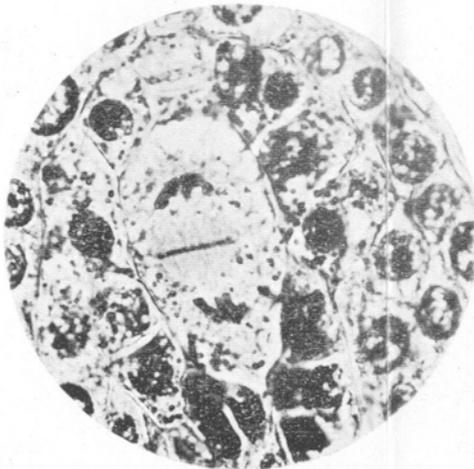
5



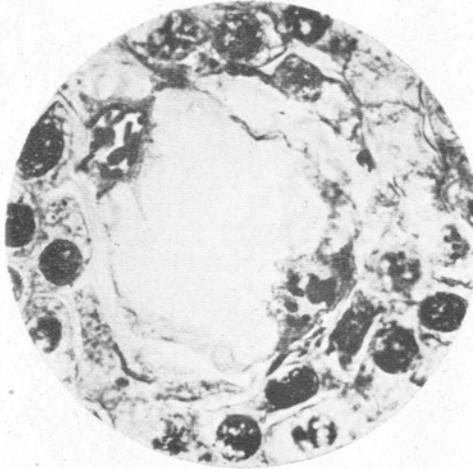
6



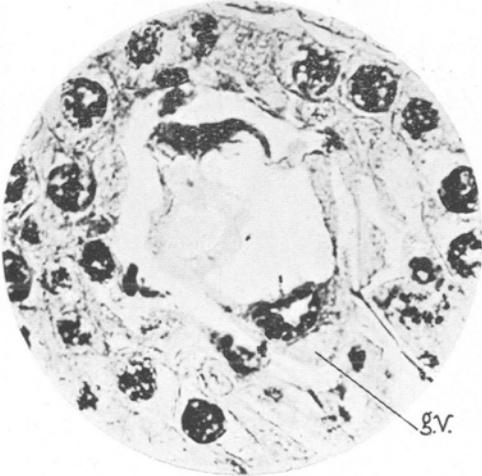
7



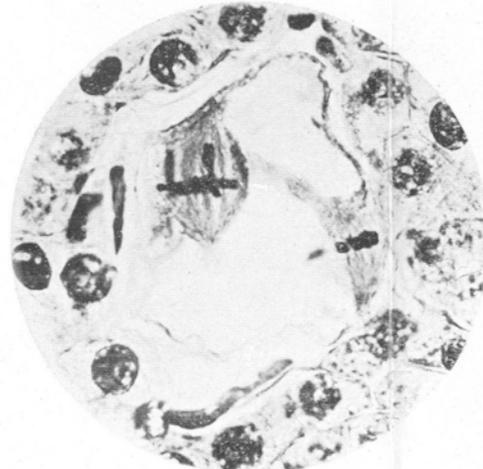
8



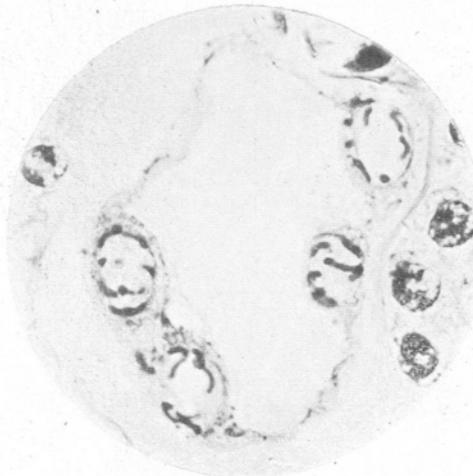
9



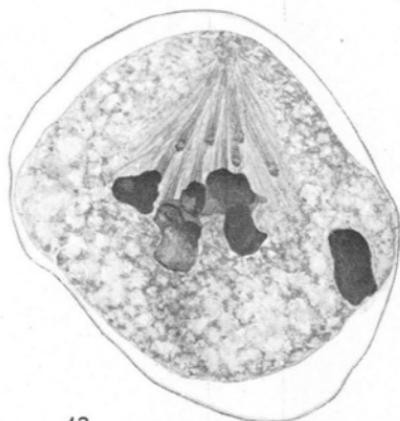
10



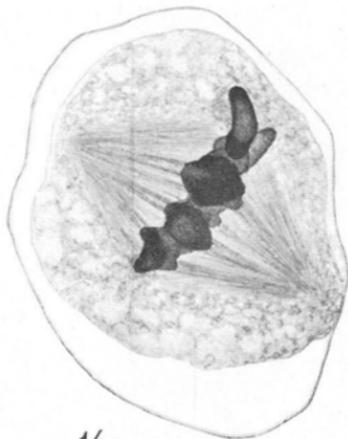
11



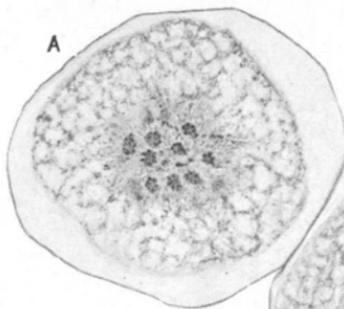
12



13



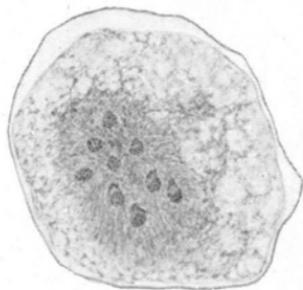
14



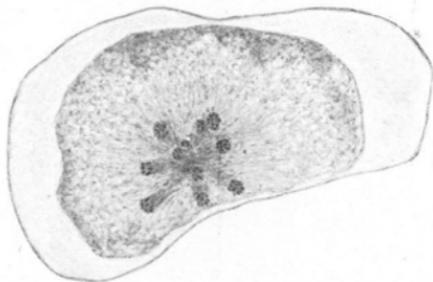
A



15



16



17