ÖSTERREICHISCHE BOTANISCHE ZEITSCHRIFT.

Herausgegeben und redigiert von Dr. Richard R. v. Wettstein,
Professor an der k. k. Universität in Wien.

Verlag von Karl Gerolds Sohn in Wien.

LVII. Jahrgang, No. 4.

Wien, April 1907.

Untersuchungen über die Embryogenie in der Gattung *Gnaphalium*.

Von Dr. Josef Schiller.

Aus dem botanischen Institute der k. k. Universität in Wien und aus der
k. k. zoolog. Station in Triest.

Mit Tafel V.

H. O. Juel zeigte in seiner bekannten Arbeit vom Jahre 1900 „Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria*“¹⁾, daß bei *Antennaria alpina* Parthenogenese vorliege. Diese Befunde legten die Frage nahe, in welcher Weise die Fortpflanzung bei der Gattung *Gnaphalium* erfolge, mit der ja bekanntlich *Antennaria* in den engsten verwandtschaftlichen Beziehungen steht. Die Frage gewann auch dadurch an Interesse, daß die Blüten vieler Spezies genannter Gattung eines Schauapparates entbehren. So ging ich also im Herbst 1904 über Veranlassung des Herrn Prof. v. Wettstein an die Untersuchung von *Gnaphalium supinum* und zog in der Folge auch *Gn. silvaticum* und *uliginosum* in den Kreis meiner Untersuchungen.

Für *Gn. supinum* sammelte mir Prof. v. Wettstein mehrmals Material von verschiedenen 2300—2700 m hohen Lokalitäten in Tirol. Die beiden anderen Arten sammelte ich selbst im nördlichen Böhmen, wo die Pflanzen sich sehr häufig finden.

Für die Aufsammlung des Untersuchungsmaterials von *Gnaphalium supinum* bin ich Herrn Prof. v. Wettstein zu vielem Danke verpflichtet, insbesondere aber für die Unterstützung, die mir jederzeit auf das bereitwilligste zuteil wurde.

Die Fixierung erfolgte mit 96% Alkohol, der heiß und kalt angewandt wurde, mit dem von Juel angegebenen Alkohol-Zink-

¹⁾ Kongl. Svenska Vetenskaps-Akad. Handl. Bd. 33, Nr. 5. Vgl. die hier zitierte Literatur.

chlorid-Essigsäure-Gemisch, und mit heißer und kalter Chromosmiumessigsäure, in der von Strasburger empfohlenen schwächeren Lösung. Die besten Resultate ergab die Chromosmiumessigsäure heiß angewandt, in der die Objekte durch 10' gelassen wurden, worauf sie noch durch 24 Stunden in ein kaltes Gemisch kamen.

Für die Embryosäcke der Gnaphalien gilt dasselbe, was Juel für die der Antennarien angibt. Denn auch sie sind für die Untersuchung sehr ungünstige Objekte, da schon bei den befruchtungsreifen Stadien eine sehr zähe Cuticula die Samenanlage umschließt, welche das Eindringen der Fixierungsmittel stark beeinträchtigt. In gleichem Sinne wirken Gliederhaare, welche sich zahlreich an den Fruchtknoten vorfinden.

Die Übertragung in Paraffin erfolgte durch Xylol, Chloroform und in einigen Fällen mittels Bergamottöl, ohne daß sich diesfalls ein besonderer Vorzug ergab. Die Färbung der 5—7.5 μ dicken Schnitte erfolgte mit Safranin, Dealafieldschem Haematoxylin und Eisenhämatoxytin, mit dem Flemmingschen Dreifarben-gemisch nach Strasburger und nach Benda¹⁾, wobei die entsprechend fixierten und gehärteten Objekte zuerst in eine 4% ige Lösung von Eisenalaun, dann in sulfalazarinsaures Natron (nach Kahlbaum) und schließlich in Kristallviolett kommen. Die Differenzierung erfolgt in 30% Essigsäure und man kontrolliert den Tinktionsgrad unter dem Mikroskope. Hierauf taucht man die Präparate einen Augenblick in Aceton, sodann auf 5—15' in Bergamottöl, worauf sie entweder sofort oder nach kurzem Verweilen in Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen wurden. Abweichend von Benda habe ich die Farben kalt einwirken lassen. Der Wert dieser Tinktion kommt der Flemmingschen Safranin-Gentianaviolett-Orange-G. in diesem Falle bei Embryosäcken gleich.

Die morphologische Untersuchung der gynomonöischen Blüten von *Gnaphalium supinum*, *silvaticum* und *uliginosum* ergab nichts Besonderes. Immer fand ich rein weibliche Randblüten, deren Zahl bei den einzelnen Arten fast konstant zu sein scheint, und fünf Zwitterblüten in der Mitte des Köpfchens. Diese produzieren in großer Menge den Pollen, welcher durch den bekannten Fegeapparat aus den Antheren heraustransportiert wird und schließlich ein rundliches Häufchen auf dem Blütenköpfchen bildet. Bestäuber konnte ich für *Gn. uliginosum* und *silvaticum* nicht feststellen, wiewohl ich oft vom frühen Morgen an, zu welcher Zeit der Pollen herausgefegt wird, während der verschiedensten Tageszeiten beobachtete. *Gn. supinum* konnte ich nicht untersuchen. Für die Selbstbestäubung sind die Bedingungen vorhanden; ich zweifle nicht, daß sie regelmäßig stattfindet. Denn Pflanzen, die ich vor der Blütenreife mit einem Gaceschleier umgab und von denen ich öfters einige Köpfchen auf kleine Käfer, die ich als eventuelle Bestäuber anfäng-

¹⁾ Benda, Zeitschrift f. wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. XVIII, S. 433.

lich in Betracht zog, untersuchte, ohne je solche finden zu können, hatten ebenso reichlich wie unbedeckte Früchte entwickelt. Die Apiden, welche als Bestäuber angegeben wurden¹⁾, scheinen nur gelegentliche Besucher zu sein.¹

Entwicklungsgeschichte der Samenanlagen von *Gn. supinum*, *silvaticum* und *uliginosum*.

In ganz jungen Fruchtknoten, deren Höhlung noch nicht von der Samenanlage ausgefüllt wird, fällt sogleich die verhältnismäßig große Samenanlage auf, die sich frühzeitig umzubiegen beginnt, wobei gleichzeitig das Integument rasch heranwächst. Der länglich ovale Nucellus enthält die reichlich mit dichtem Plasma versehene Embryosackmutterzelle und ist nach außen von dem Nucellus-Epiderm umgeben. Die Zellen des letzteren sind nur durch allerfeinste, vielfach nur schwer wahrnehmbare Membranen voneinander getrennt, sind beim heranwachsenden Nucellus stets deutlich und verhältnismäßig groß; doch degenerieren die Zellen, sobald die Tetradenteilung beendet ist, alsbald.

Der Kern der Embryosackmutterzelle zeigt dieselben Eigenschaften, die Juel bei *Antennaria dioica* fand. Die Tetradenteilung geht rasch in normaler Weise vor sich. Doch zeigt sich ein auffälliges Größenverhältnis der Tetradenzellen, da die drei unteren, d. h. gegen den Hohlraum gerichteten Zellen zusammen der oberen an Größe gleichkommen.²⁾ Siehe Fig. 1.

Diese Zelle wird in der Folge zum Embryosack, es degenerieren die drei Schwesterzellen und scheinen restlos³⁾ (?) zu verschwinden. Während der Embryosack an Größe beträchtlich zunimmt, wächst auch dessen Kern, geht ins Spiremstadium über, worauf dann die erste Teilung erfolgt, deren Schilderung ich mit Hinweis auf die schönen Juelschen Photographien wohl unterlassen darf, da ich Abweichungen nicht konstatieren konnte, soweit mir die Verfolgung dieser Vorgänge bei der oft nicht ganz tadellosen Fixierung überhaupt möglich war. Die zweite Teilung im Embryosack folgt sofort auf die erste, ohne daß die Tochterkerne in ein Ruhestadium übergehen, ja es scheint mir, daß auch die dritte Teilung recht bald ohne Pause einsetze. Demgegenüber ist bei vielen Formen, worauf D. M. Mottier⁴⁾, Strasburger und andere hingewiesen haben, eine längere Pause nach der zweiten Teilung beobachtet worden, während welcher die Kerne bedeutend

¹⁾ Vgl. Knuth, Handbuch der Blütenbiologie, 1899. Herm. Müller, Befruchtung der Blumen, 1873.

²⁾ Vgl. Juel, l. c. pag. 17.

³⁾ Eichler K., Über doppelte Befruchtung bei *Tragopon orientalis*. Sitzungsbericht d. k. Akad. d. Wissensch. Mathem.-naturw. Klasse. Bd. CXV, Abt. 1. 1906.

⁴⁾ Mottier J. M., Über das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosackes und die Vorgänge bei der Befruchtung. Pringsh. Jahrb. f. wissenschaft. Bot. Bd. 31, 1898.

wachsen. Sind nun je vier Kerne am Mikropylon und Chalazaende gebildet, so tritt bei je dreien Membranbildung ein. Diese Membranen sind bei den drei untersuchten Spezies sehr zart, ganz so, wie dies aus den Figuren von Hegelmaier¹⁾ und Juel²⁾ hervorgeht.

Die drei Antipodenzellen wachsen rasch heran, währenddem ihre Kerne kaum oder nur minimal mitwachsen, daher kaum so groß als die Synergidenkerne sind. Sie gehen alsbald neue Teilungen ein, die einen parenchymatischen Gewebekörper bilden, wie er ja bisher schon für viele Pflanzen, insbesondere bei Compositen nachgewiesen wurde. Vgl. die Zusammenstellung bei Juel, l. c. pag. 18. Die Bildung desselben geht von der untersten Antipodenzelle aus, die sich teilt (Fig. 4), und dieser Teilung folgen rasch andere sowohl bei dieser als auch bei den beiden anderen, so daß nicht selten noch vor der Verschmelzung der beiden Polkerne der antipodale Gewebekörper fertig ist.

Die Synergiden sind langgestreckt, haben die bekannte spitz birnförmige Gestalt, ihre Kerne liegen in der Mitte oder oberhalb dieser und ihr Plasma ist auf älteren Stadien vakuolig. Die Eizelle überragt die Synergiden, zeigt deren Form (Fig. 5 und 6), ist wie bei *Antennaria* nach oben gewölbt und ihr Kern ist bedeutend größer als der der Synergiden. Die drei Zellen des Eiapparates lassen in der Mitte stets einen deutlichen, nicht immer gerade verlaufenden röhrenartigen Hohlraum frei, den man nach den Bildern als eine Fortsetzung der Mikropyle ansehen kann, so daß er für den Pollenschlauch eigentlich den natürlichsten Weg in den Eiapparat darstellt. In der Tat sah ich bei *Gn. silvaticum* und *uliginosum* den Pollenschlauch in diesen Hohlraum eindringen. Die Eizelle zeigt nicht selten eine große Vakuole unterhalb des Kernes.

Während der Bildung des Ei- und Antipodenapparates wachsen die beiden Polkerne, noch im Mikropylon-, resp. Chalazaende befindlich, langsam weiter, nähern sich, wobei der Chalaza-Polkern rascher wandert, bis sie schließlich, von der Eizelle nicht weit entfernt, zur Verschmelzung kommen, dadurch den Zentralkern (sekund. Embryosackkern) bildend, der den größten Kern des Embryosackes darstellt.

Große Vakuolen charakterisieren das zwischen den Antipoden und dem Eiapparate befindliche Plasma, dessen Struktur je nach der Güte der Fixierung etwas verschieden war.

Befruchtung.

Schon früher hat der Eiapparat seine Reife erlangt und jetzt nach der Verschmelzung der beiden Polkerne ist das befruchtungs-

¹⁾ Hegelmaier, Über den Keimsack einiger Compositen. Botanische Zeitung 1889, pag. 805, 821, 837.

²⁾ Juel, l. c.

reife Stadium gegeben. Untersucht man zu dieser Zeit die Mikropyle, so findet man alsbald Pollenschläuche, vielfach drei in einer Mikropyle, also wiederum analoge Verhältnisse, wie sie Juel bei *Antennaria* fand. Der Pollenschlauch wächst in der Nähe des Gefäßbündels zwischen langgestreckten Zellen in den Fruchtknoten herab, tritt hier in die Mikropyle ein, so daß er nur in dieser einen Hohlraum passiert.

Bei *Gn. supinum* hatte es den Anschein (Fig. 6), als ob das Ende des Pollenschlauches kopfig aufgetrieben würde, eine Erscheinung, die bei Kompositen schon beobachtet wurde.¹⁾ Hingegen konnte ich bei *Gn. silvaticum* und *uliginosum* nichts Derartiges beobachten, es schien mir dagegen, daß der Pollenschlauch in der von den drei Zellen des Eiapparates gebildeten Röhre hinaufwachsen würde. Die Spermakerne²⁾ sind wurmförmig, ziemlich dick und kurz, ferner bemerkt man einen deutlichen Unterschied. Vgl. Fig. 6. Der in der Abbildung links befindliche Kern, der offenbar mit der Eizelle verschmelzen wird, ist etwas dicker und länger als der andere, gegen den sekundären Embryosackkern zustrebende.

Die Synergidenzellen weisen, so weit sich dies aus der Färbung beurteilen läßt, bereits eine Desorganisation auf. Es scheint mir mit Rücksicht auf die Bedeutung des Zellkernes wichtig, daß zunächst die Kerne desorganisiert werden, die bereits als rote Flecke im Präparate erscheinen (Fig. 5 und 6) und eine homogene Masse darstellen. Bald darauf bildet das Plasma gleichfalls eine sich diffus färbende Masse. Die doppelte Befruchtung findet in ganz ähnlicher Weise auch bei den beiden anderen untersuchten Spezies statt. Fig. 5 zeigt die Verhältnisse bei *Gn. uliginosum*, der männliche Kern ist gerade im Verschmelzen mit der Eizelle begriffen, während der andere mit dem Zentralkern bereits vereinigt erscheint, wie der stark gefärbte Wulst an diesem zeigt.

Embryobildung.

Nach der Befruchtung macht die Eizelle von *Gn. uliginosum* und *silvaticum* eine kurze Ruhepause durch, während welcher der sekundäre Embryosackkern rasch Teilungen eingeht, die alsbald eine Menge von Endospermkernen ergeben. Vor der Teilung zeigt das Plasma die bekannte strahlige Anordnung um den Kern. Diese verschwindet wieder, Plasmavakuolen treten zahlreich auf und in den Strängen des Plasmas liegen die Endospermkerne. Der sich normal entwickelnde Embryo sitzt auf einem langen Suspensor, der sich später verkürzt, sobald der Embryo seine endgültige herzförmige Gestalt anzunehmen beginnt.

¹⁾ Siehe Chamberlain J., The embryosac of *Aster Novae Angliae*. The bot. Gaz. Vol. XX, 1895.

²⁾ Vgl. die Arbeiten Guignards, Nawaschins u. a. über doppelte Befruchtung.

Kastrationsversuche.

Mit Rücksicht auf die in der letzten Zeit bei den Kompositen konstatierten eigentümlichen Fortpflanzungsverhältnisse entschloß ich mich zu Kastrationsversuchen bei den beiden mir zur Verfügung stehenden Arten *Gn. silvaticum* und *uliginosum*. Dieselben wurden nach den Angaben von Ostenfeld und Raunkiaer¹⁾ in der Weise kastriert, daß ihre Blütenköpfchen vor der Narbenexposition in der Mitte oder knapp unterhalb der Mitte mit einem Rasiermesser durchgeschnitten wurden. Diese Versuche bezogen sich auf den Sommer 1904 und 1905. Dabei ergab sich, daß bei den auf einem älteren Entwicklungsstadium befindlichen kastrierten Blüten der Fruchtknoten mit dem Embryosack sich eine Zeit lang weiter entwickelte, dagegen eine Fruchtbildung niemals beobachtet werden konnte. Sehr junge Blüten gingen infolge der Operation überhaupt ein.

Tafelerklärung.

(Tafel V.)

- Fig. 1. *Gnaphalium uliginosum*. Zeiß Comp. Okul. 4. Homog. Imm. 2 mm. Fertige Tetrade. Die drei unteren Tetradenzellen fangen an zu degenerieren. Dicke 5 μ . Färbung: Safran.-Gent.-Orange-G.
- Fig. 2. *Gn. uliginosum*. Reichert. Okul. 4. u. Homog. Öl. Imm. $\frac{1}{12}$. Embryosack, vor der ersten Kernteilung. Schnittdicke 7.5 μ . Färbung: Safran.-Gent.-Orange-G.
- Fig. 3. Dass. Kernteilungen im Embryosack. Vergr. und Färbung wie bei Fig. 2.
- Fig. 4. Eiapparat vollständig ausgebildet; die Polkerne nähern sich; die unterste Antipodenzelle hat sich geteilt. Vergr. wie bei Fig. 3, desgl. Färbung.
- Fig. 5. Dass. Eizelle im Kontakt mit einem Sperma-kerne (der mitten entzwei geschnitten ist); Synergidenkerne degenerierend; ein parenchymatisches Antipodengewebe ausgebildet. Vergr. 700. Färbung nach Benda.
- Fig. 6. *Gn. supinum*. Pollenschlauch kopfig aufgetrieben; die beiden Sperma-kerne wandern aufwärts zum Ei-, resp. sekund. Embryosackkerne. Antipodengewebe ausgebildet. Vergr. 1000. Safraninpräparat.

Über die neuesten Torfmoosforschungen.

Von Dr. J. Röhl (Darmstadt).

(Schluß.²⁾)

Nun noch ein Wort über die von Warnstorf in seiner Kryptogamenflora der Mark 1903 und die von Roth in seinen Europ. Torfmoosen 1906 angeführten Varietäten und Formen

¹⁾ C. H. Ostenfeld und C. Raunkiaer, Kastreringsforsøg med *Hieracium* og andre Cichorieae. Saertrijk of Bot. Tid. 25, Bd. 3, H. 1903.

²⁾ Vgl. Nr. 3, S. 96.