

solche durch Entnahme mehrerer Exemplare behufs Messungen etc. nicht zu vermeiden gewesen wären, so wurden die Pflanzen durch fünf Monate vollkommen unberührt gelassen und während dieser Zeit in der früher beschriebenen Weise nur für die Konstanz des Salzgehaltes gesorgt.

Nach sechsmonatlicher Kultur hatte sich das Wasser im Gefäße 1 von 1·028 auf 1·031 konzentriert. Im Inhalte der Zelle zeigte sich an Pflanzen aus dieser Kultur keinerlei auffällige Veränderung, wohl aber war ihre Gestalt vielfach recht auffällig durch Einschnürungen im Verlaufe eines Fadens, wodurch ganz eigenförmlich aussehende Zellen zustande kamen.

In 2 konnte diese Erscheinung nicht konstatiert werden; hier fanden sich jetzt sehr wenige Zellen mit einer netzförmigen Anordnung ihrer Chromatophoren. Im übrigen zeigten die Pflanzen volle Übereinstimmung mit den Kontroll-exemplaren.

In 3 waren nach derselben Zeit einige Exemplare vollkommen abgestorben, viele zeigten eine rotbraune Farbe, begannen aber, in Wasser vom spezifischen Gewicht 1·028 direkt übertragen, lebhaft zu assimilieren und grüne Äste nachzutreiben, wie auch die braungefärbten Glieder nach und nach ihre grüne Farbe wieder annehmen; allerdings erhielt die Pflanze dabei ein Aussehen, nachdem man sie kaum mehr als *Cladophora trichotoma* hätte bestimmen können. Fast sämtliche Glieder waren nach ca. einmonatlicher Kultur unter den neuen Verhältnissen irgendwie deformiert. Bald bildeten sich keulenartig angeschwollene Enden, bald waren die Zellen eingeschnürt oder kugelig aufgetrieben. In Glas 4 schien die *Cladophora* vollkommen abgestorben zu sein; man findet hier wie in 3 vielfach sehr dicke Zellmembranen mit deutlicher Schichtung, vollkommen abgestorbene Zellen in wenigen Überresten, solche mit licht- bis dunkelbraun verfärbtem Inhalte (besonders an den Spitzen der Zweige), aber auch Schwärmerbildung. Abgesehen von dem letzten Umstande, findet man, wie später darzutun, auch sonst noch lebenskräftige Teile des Thalloms bei genauerer Untersuchung dieser sehr salzreichen Kultur. Die Trennung des Wassers in eine farblose, etwas getrübbte Schichte und eine rot gefärbte war in diesem Glase noch nach sechs Monaten deutlich zu erkennen, freilich war das Rot stark ausgebleicht. Wurde der Inhalt kräftig umgerührt, so trat die Trennung in beide vorgenannten Schichten innerhalb kurzer Zeit wieder ein und erst nach sieben Monaten verschwand sie völlig.

(Schluß folgt.)

## Zur Embryologie von *Colchicum autumnale* L.

Von Dr. Johannes Furlani (Wien).

(Mit Tafel VII.)

### Vorbemerkung.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit ging von meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. v. Wettstein, aus, in dessen Laboratorium auch vorliegende Untersuchung ausgeführt

wurde. Es schien von vorneherein nicht uninteressant, den Befruchtungsvorgang bei *Colchicum* zu studieren mit Rücksicht auf zwei Verhältnisse bei dieser Pflanze: auf den relativ langen Weg, den der Pollenschlauch zurücklegen muß, um zum Eiapparat zu gelangen, da ja die Perigonröhre 1—2 dm lang ist, und darauf, daß der Sproß, der die Fruchtkapsel trägt, erst im nächsten Frühjahr, nach Entwicklung der Blätter hervorwächst und zur Reife gelangt, also erst ungefähr fünf Monate zumindest nach der Blütezeit, die Samenanlage mithin überwintert. Naheliegend war nun die Frage, ob das Überwintern im bereits befruchteten oder noch unbefruchteten Zustande der Eizelle geschehe und die Befruchtung erst im Frühjahr eintrete, oder ob nicht vielleicht keine Ruhepause in der Entwicklung eintrete, die Embryobildung den ganzen Winter über vor sich gehe, da wir ja auch von unterirdischen Pflanzenorganen, wie Rhizomen, wissen, daß sie gerade zur Zeit der sonstigen Vegetationsruhe sich fortentwickeln. Es hat sich im Laufe der Untersuchung für das zur Verwendung gekommene Material gezeigt, daß die Embryobildung langsam, aber stetig den ganzen Winter über vor sich geht, im Gegensatz zu Hofmeisters Befunden, welcher sich die Anschauung gebildet hatte, daß eine Befruchtung im Herbst erfolge, die Weiterentwicklung der Eizelle zum Embryo aber erst im nächsten Frühjahr.

### Zur Methode der Untersuchung.

Das für die vorliegende Untersuchung benützte Pflanzenmaterial wurde mir teils von Herrn Prof. Dr. R. v. Wettstein, in Trins in Tirol gesammelt, zur Verfügung gestellt, teils von mir selbst in Istrien und im Friaulerlande gesammelt. Die mannigfaltigsten Fixiermethoden wurden versucht. Flemmings Chrom-Osmium-Essigsäure, Pikrinschwefelsäure und Pikrinsublimat erwiesen sich als unbrauchbar. Bessere Resultate erzielte ich mit Platinchloridverbindungen, Sublimat, Chromessigsäure. Die besten Resultate gab Telljesniczky's Kaliumbichromat-Essigsäure, wovon ich zwei Teile nahm und zu diesem bekannten Fixierungsgemische je einen Teil Platinchlorid und Osmiumsäure hinzufügte. Das Gemisch wurde auf eine Temperatur von 45° C. erwärmt und die Fruchtknoten ca. 12 Stunden bei dieser Temperatur im Gemische belassen, dann ließ ich die Flüssigkeit abkühlen, und nachdem die Objekte noch weitere 24 Stunden darin gelegen hatten, wurden sie im Wasser ausgewaschen, um dann durch die steigenden Alkoholgrade, Xylol, 45° Paraffin in 52gradigem eingeschlossen zu werden. Aus dem so präparierten Materiale wurden dann mittels eines Reichertschen Schlittenmikrotoms Schnitte in der Dicke von 4, 8 und 12  $\mu$  angefertigt. Gefärbt wurden die Schnitte vorerst mit Safranin-Gentianaviolett-Orange, Delafields Hämatoxylin und Eosin, und da diese Methoden keine befriedigenden Resultate ergaben, wurde dann die größte Zahl derselben mit Heidenhains Eisen-

hämatoxylin behandelt, worauf dann zur Nachfärbung Eosin oder Fuchsin, letzteres verbunden mit einer Nachbehandlung der Schnitte in pikrinhaltigem Xylol, verwendet wurde. Was die Anfertigung der Abbildungen anbetrifft, so habe ich die Größenverhältnisse und Zellkonturen bei Objektiv 8a und Okular 3 (Reichert), die histologischen Details bei homogen  $\frac{1}{15}$  Immersion (Cedernöl) gezeichnet; die so gewonnenen Figuren wurden auf der Tafel verkleinert wiedergegeben.

### Systematische Notiz.

Als ich in meiner Heimat (Istrien) das Material sammelte, hatte ich Gelegenheit, solches aus der stark eisenhaltigen Terra rossa und solches aus dem Humusboden zu erhalten. Das Material aus den beiden verschiedenen Böden sah wesentlich verschieden aus. Kleiner und schwächer war die Pflanze aus dem Karstboden, mit kleiner Zwiebel, diese bekleidet von einer zarten, braunen, durchscheinenden Schuppe, von lichtroter Blütenfarbe mit spitz zulaufenden Perigonzipfeln. Pospichal hat diesen Unterschied erkannt. In seinem Herbar (im Besitze des k. k. Gymnasiums zu Triest) findet sich bei dieser Form die Bezeichnung: „varietas rosea“. Es ist also auch seine Anschauung, daß dies eine konstante Varietät sei; es soll hier angeführt werden, daß nun diese Pflanze weit mehr Ähnlichkeit mit dem *Colchicum longifolium* zu besitzen scheint, welche Form nach Pospichals „Flora des österreichischen Küstenlandes“ nur bei St. Vincenti di Barbana am Festlande vorkommt, wohl aber im Quarnero allgemein vorkommen soll.

Der Humusbewohner sieht der mitteleuropäischen Pflanze ähnlich, ist eine bei weitem stärkere Pflanze mit von vielen kräftigen Schuppen bedeckter Zwiebel. Die Blütenfarbe geht mehr ins Violette; stumpf auslaufende Perigonzipfel. Auch blüht diese Form später als die erstgenannte und ebenso verhält es sich in bezug auf das Austreiben der Blätter im Frühjahr und das Heranreifen der Samen. Es ist hier noch hervorzuheben, daß die den Humus bewohnende Form gewöhnlich in Häufchen von mehreren Exemplaren beieinander steht, während ich die erstere stets nur einzeln zerstreut gefunden habe. Dies ist zweifellos auf den Umstand zurückzuführen, daß sich bei der ersteren Form sehr häufig in den Achseln der Niederblätter Brutknospen finden, die dann zu selbständigen Individuen werden, während diese Bildungsweise beim Bewohner der Terra rossa nicht vorzukommen scheint. Ich konnte ferner bei *varietas rosea* nie frühjahrsblütige Exemplare finden, während solche beim Humusbewohner an manchen Standorten nicht gerade selten vorkommen. Es spricht ja dieser Umstand auch dafür, daß die erstere Form ihre Entwicklung rascher durchläuft, es keine verspäteten Exemplare gibt, die dann im Frühjahr nachblühen. Die im Frühjahr blühende Pflanze von *Colchicum autumnale* ist so oft schon der Gegenstand von Schilderungen gewesen, daß ich hier auf sie nicht weiter einzugehen brauche.

Auch die Blattformen der beiden Pflanzen sind verschieden. Der Bewohner der Terra rossa hat lang lineale, spitz auslaufende, schmale Blätter, die des Humusbewohners sind, ein ähnliches Verhältnis wie zwischen den Perigonzipfeln der beiden Formen, bedeutend breiter, mehr stumpf auslaufend. Ich will schließlich noch bemerken, daß ich diese Verhältnisse ziemlich konstant gefunden habe und man in der Lage ist, bei vorgelegten Exemplaren zu erkennen, aus welchem Boden sie stammen.

### Anlage des Embryosackes und Bildung des Eiapparates bei *Colchicum*.

Die Pflanze wurde bereits von Hofmeister hinsichtlich ihrer Embryobildung untersucht. Das Ergebnis dieser Untersuchung war ein in einzelnen Punkten von dem meiner Untersuchungen verschiedenes. Man muß da aber bedenken, daß Hofmeisters Material aus einer anderen Gegend mit anderen Vegetationsbedingungen stammte; es darf aber auch nicht vergessen werden, daß die Untersuchung aus dem Ende der fünfziger Jahre des vorigen Jahrhunderts herrührt, aus einer Zeit, da man weder Mikrotom noch Färbemethoden kannte. Übereinstimmend mit vorliegender Untersuchung hat er in Tafel XVII seiner Abhandlung, betitelt: „Neue Beiträge zur Kenntnis der Embryobildung der Phanerogamen, II. Monocotyledonen“, die Nucellarkappe gezeichnet, die nach Auflösung aller übrigen Elemente des sporogenen Zellkomplexes bei der Bildung des Eiapparates übrig bleibt und der, wie wir im Verlaufe unserer Untersuchung sehen werden — wenigstens gelegentlich — eine bedeutende Rolle bei der Embryobildung zufällt. Es soll auch hier gleich hervorgehoben werden, daß Hofmeister ähnliche Verhältnisse noch bei anderen Melanthaceen: *Merendera caucasica*, *Bulbocodium vernum*, *Moularia grandiflora*, ferner bei *Arum maculatum* gefunden hat (hier soll auch eine bedeutende Vermehrung der Zellen der Kernwarze, wie er sich ausdrückt — gemeint sind die Elemente der nucellaren Kappe — während des Verschwindens der seitlich dem Embryosack anliegenden Zellen vor sich gehen), ferner bei *Arum orientale*, *divaricatum*, *ternatum*, *Philodendron Imbe*, *Pothos pentaphylla*, *longifolia*, *Pistia stratiotes*, bei der Lemnacee: *Lemna minor*. Seine Fig. 1 zeigt den fertigen Eiapparat mit dem Pollenschlauch im Mikropylkanal. Ich konnte bei meiner Untersuchung auch Reste von Pollenschläuchen in dem Mikropylkanal finden (ungefähr Ende November, während Hofmeisters vorhin besprochenes Bild aus der Mitte September stammt). Nach Hofmeisters Angabe beträgt das Maximum der Zeit für das Erreichen der Mikropyle durch den Pollenschlauch sieben Tage, bei dem von mir untersuchten Materiale betrug die Zeit hierfür nach obiger Angabe ungefähr zwei Monate.

Hofmeister gibt nun an, daß eine Befruchtung der Eizelle eintrete. Es gelang mir bei meinem untersuchten Material nicht,

eine solche zu finden; auch zeigen die Bilder Hofmeisters keine solche. Die Eizellen in seinen Figuren 4, 6, 7 und 9 sind wohl keiner Weiterentwicklung fähig, denn sie scheinen plasmaarm, offenbar auf dem Wege resorbiert zu werden. Hofmeister gibt dann an, daß die Weiterentwicklung des Embryos Mitte Mai vor sich gehe; am Karste sind zu dieser Zeit die Blätter bereits wohl entwickelt und die Samen der Reife nahe, auch in den Alpen sind um diese Zeit schon wohlentwickelte Embryonen zu finden. Bei meiner Untersuchung fand ich den Embryo, wie ihn Fig. 9 zeigt, bereits Ende Dezember, allerdings aus Zwiebeln, die in Töpfen bei einer Temperatur von 14—17° C. gehalten wurden, nachdem sie zur Blütezeit, Ende September, ausgegraben worden waren; das würde also drei Monate ausmachen als Intervall von der Zeit des Blühens bis zur Entwicklung des Embryos.

Ich will nun im folgenden die eigenen Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung darzulegen versuchen, u. zw. an der Hand einzelner Präparate, die ich aus einer großen Zahl analoger herausgreife. Die beiden ersten Figuren 1 und 2 zeigen uns Stadien mit vollzogener Tetradenteilung der Embryosackmutterzellen. Es fällt vor allem auf, daß dieser Komplex von Sporogenen, wie sie Murbeck nennt, nicht wie sonst bei den meisten Phanerogamen unter einer Epidermis liegt, sondern terminal am Nucellus seine Lage hat. Die Ausbildung einer Epidermis scheint zu unterbleiben. Auch ein Tapetum ist nicht von den Initialzellen ausgebildet worden. Die Embryosackzelle geht aus der zentralen sporogenen Reihe hervor, u. zw. scheint es in der Regel die dritte Zelle von oben zu sein, die zum Embryosack wird. Die Rückbildung der benachbarten Zellen derselben sporogenen Reihe geht ziemlich rasch vor sich, ebenso erfolgt alsbald die Auflösung der basalen Zellen der peripheren Reihen.

Fig. 3 zeigt uns den fertigen Embryosack vor Bildung des Eiapparates. Er hat bereits eine bedeutende Größe erreicht und hat die in Auflösung begriffenen Zellen der peripheren Reihen zusammengedrückt. Der Kern hat einen großen, zentral gelegenen Nucleolus und einen Kreis größerer Chromatinkörper; ich konnte deren bis sieben zählen; das Plasma der Zelle läßt deutlich zwei Partien, eine zentrale, von äußerst feiner Fibrillenstruktur und eine äußere grobkörniger Natur unterscheiden. Die Zellulosemembran ist deutlich entwickelt. Der Auflösungsprozeß in den peripheren Reihen, der schon in den vorhergehenden Bildern zu sehen war, hat hier bedeutende Fortschritte gemacht, es hat sich nur eine Kappe von Zellen, jene schon von Hofmeister beschriebene, auf der Mikropylenseite gelegen, lebenskräftig erhalten. Die Art, wie der Embryosack in dem abgebildeten Präparate der unteren linken Zelle anliegt, erlaubt den Schluß, daß hier vielleicht eine Nahrungsaufnahme auf Kosten derselben stattgefunden habe. Von jener Zellenkappe wäre noch hier gleich zu sagen, daß sie sich sehr lange erhält, ja daß einer dieser Zellen, wie wir sehen werden — wenigstens manchmal — noch

eine ganz andere Funktion zufällt als bloß die der Ernährung des Embryosackes, welche ja diese Kappenzellen besorgen.

Fig. 4 zeigt den Embryosack im Stadium der Zweiteilung des Kernes. Der generative und der vegetative Pol sind also zur Ausbildung gelangt. Der Embryosack hat sich im Vergleich zum vorigen Bilde sehr in die Länge gestreckt. Die Kerne haben die Form eines Ellipsoids mit zentralem Nucleolus und zahlreichen Chromatinkörnern. Im Gegensatze zu den Embryosackkernen haben die noch im vorigen Bilde ovoid erscheinenden Kerne der Kappenzellen hier eckige, unregelmäßige Formen angenommen.

Durch die Arbeiten von Goldflus ist für die Kompositen nachgewiesen worden, daß hier die Zellen der Epidermis des Nucellus die Ernährung des Embryosacks besorgen; die Zellen zeigen sich dort plasmareich und lösen sich aus dem Verbande. In unserem Falle aber fehlt die Epidermis, die unteren Nucellaren einerseits, die sporogene Kappe andererseits besorgen hier die Ernährung. Die Plasmakonturen in den Nucellaren, die in manchen Bildern recht charakteristisch gegen den Eiapparat hin verlaufen, die nun eintretende Auflösung der Zellen aus ihrem Verbande (wie dies besonders Fig. 5 zeigt), sprechen für obige Anschauung. In diesem Bilde sind auch beide Integumente zur Darstellung gekommen, wie ersichtlich, beteiligen sich beide an der Bildung der Mikropyle.

Ich will hier anführen, daß ich die meisten Samenanlagen in diesem Entwicklungsstadium zur Blütezeit antraf, manche zeigten aber zur Blütezeit erst Stadien wie die vorhergegangenen Bilder. Es läßt sich allgemein sagen, daß in den von mir beobachteten Fällen der Eiapparat erst nach dem Verwelken des Perigons ausgebildet erschien.

In ganz normaler Weise gehen nun der generative und der vegetative Kern des Embryosackes die zwei Teilungen ein, die zur schließlichen Ausbildung des Eiapparates führen am generativen Pole und zur Ausbildung der Antipoden am vegetativen Pole; in der Mitte des Embryosackes liegen die beiden Polkerne, die wir mit Rücksicht auf ihre Herkunft auch den generativen und den vegetativen nennen können. Mit Rücksicht darauf, daß diese Vorgänge ganz normal ablaufen, sehe ich von der Abbildung entsprechender Präparate ab. Zur Illustration des Zustandes der Nucellarkappe bringe ich nur Fig. 5. Es sind in diesem Schnitt acht Kappenzellen gelegen; doch scheinen davon nur mehr zwei lebenskräftig zu sein, nämlich die beiden mittleren, die übrigen sind offenbar durch die den Eiapparat ernährende Tätigkeit entkräftet, verschrumpft; deutliche Zellulosemembranen scheinen nur an der gegen die Placenta gerichteten Seite ausgebildet worden zu sein. Nach abwärts von der Kappe liegen die Synergiden, durch Einwirkung der Fixierflüssigkeit etwas von der Kappe abgehoben, das Ei ist nicht in diesem Schnitte enthalten, doch unterscheidet es sich, wie aus anderen Schnitten zu entnehmen war, nur durch

größeren Kernumfang und größere Plasmamasse von den Synergiden. Über die unter dem Eiapparat liegenden Polkerne, die noch von geringer Größe sind, ist zu sagen, daß der vegetative sich gegen den Eiapparat hin bewegt hat, während der generative in der ursprünglichen Lage verblieben ist. — Ich fühle mich an dieser Stelle veranlaßt, einige Worte über die Färbbarkeit der generativen Zellen zu sagen: Von Auerbach, Zacharias, Rosen wurde behauptet, daß sich die weiblichen Keimzellen bezüglich ihrer Färbbarkeit anders verhalten als die männlichen. Letztere seien cyanophil, erstere erythrophil. Es wurde daraus auf verschiedene chemische Zusammensetzung der Eiweißkörper geschlossen und für die Cyanophilie des Spermas das Vorhandensein von Nuclein, für die Erythrophilie des Eis das Vorhandensein von Plastin verantwortlich gemacht. Für das von mir untersuchte Material trifft dies nicht zu und es läßt sich auf Grund der hier gewonnenen Erfahrungen folgendes sagen: Die Eizelle, Synergiden, Antipoden besitzen zufolge des Plasmareichtums die Fähigkeit, alle Farbstoffe stärker zu speichern als andere Zellen. Die Selektion bei Doppelfärbungen hängt wohl lediglich von dem Fixiermittel ab, das angewendet worden. Ich erhielt bei gleicher Färbung, nämlich bei Gebrauch von Eisenhämatoxylin und Eosin, doch verschiedener Fixierung (von Objekten dieses Stadiums waren welche mit Platinchlorid-Sublimat, andere mit Alkohol-Chrom-Essigsäure fixiert worden), bei Gebrauch ersterer Fixierflüssigkeit Cyanophilie, bei der letzteren Erythrophilie des Eiapparates.

Die drei Antipoden (in Fig. 5 nicht enthalten), an den stark schwarzen Kernen erkennbar, haben in diesem Stadium, an Stelle der bis auf wenige erschöpften Kappenelemente, die Ernährung des Embryosackes übernommen; unter ihnen liegen etliche Nucleolaren mit Kernresten, auch sonst in verschiedenen Stadien der Auflösung. Die vollständige Ausbildung des Eiapparates läßt erwarten, daß nun der Befruchtungsvorgang erfolgt. Doch konnte ich einen solchen, obwohl ich begreiflicherweise gerade auf ihn meine Aufmerksamkeit konzentrierte, nie mehr beobachten.

Ich konnte zwar Fragmente von Pollenschläuchen wohl im Mikropylekanal sehen, erhielt ganz ähnliche Bilder wie Hofmeister, nie aber konnte ich eine wirkliche Befruchtung, ein Übertragen von Sperma an das Ei sehen. Der Eiapparat machte im Gegenteil von nun an stets den Eindruck, als sei er in Auflösung begriffen. Ich sah in zahlreichen Fällen die Membranen der Eizellen und Synergiden in Auflösung begriffen, den Inhalt, speziell die Kerne mehr oder minder degeneriert. Es liegt mir ferne, zu behaupten, daß bei *Colchicum autumnale* eine normale Befruchtung überhaupt nicht vorkommt, ich kann nur sagen, daß in den von mir untersuchten zahlreichen Samenanlagen eine solche nicht erfolgte.

(Schluß folgt.)