

Die Kernteilung bei *Fritillaria imperialis*

von

Dr. B. SIJKENS.

Aus dem Botanischen Laboratorium der Universität
Groningen.

Mit drei Tafeln.

EINLEITUNG.

Die freien Kerne im protoplasmatischen Wandbelege des Embryosackes von *Fritillaria imperialis* L. waren früher für karyokinetische Untersuchungen in der Botanik, wie die Salamanderkerne in der Zoologie, bei weitem das beliebteste Material. Später sind sie, ausgenommen von van Wisselingh, wenig untersucht worden. Dieser hat sich hauptsächlich mit den chromatischen Teilen beschäftigt; über die achromatischen sind mir aus der letzten Zeit keine Untersuchungen bekannt.

Mittelst einer ganz neuen, höchst eigentümlichen Methode gelangte van Wisselingh zu Resultaten, die von denen der meisten früheren und späteren Forscher wesentlich abwichen. Die auf so ungewöhnlichem Wege gewonnenen abweichenden Resultate machten es meines Erachtens sehr wünschenswert, dass diese Kerne einer erneuten Untersuchung unterworfen wurden. Ich habe mich dabei jedoch nicht auf die chromatische Substanz beschränkt, sondern den ganzen Teilungsprozess verfolgt, um auch hier in allen Punkten die neueren Ergebnisse am klassischen Material zu prüfen.

Bei meinen Untersuchungen habe ich Serienschnitte be-

nutzt, die nach einer Methode hergestellt wurden, welche bereits Moll bei *Spirogyra* und auch bei *Fritillariakernen* anwandte. Auf diese Weise hoffte ich auch bisher unbekannte Erscheinungen ans Licht zu bringen, was mir in der Tat gelungen ist.

Der nächste Zweck meiner Untersuchung bestand also darin, einige Resultate von Wisselinghs nachzuprüfen. Sie geht ferner auf die Anlage und die weitere Entwicklung der Spindel ein, und zeigt wie diese auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung zusammengesetzt ist, und wie sie schliesslich wieder verschwindet.

Einige Wahrnehmungen bezüglich der Bildung der Zellplatte bei den *Fritillariakernen* haben mich endlich dazu geführt, auch die Keimwurzeln von *Vicia Faba* zu untersuchen.

I. KAPITEL.

LITERATURÜBERSICHT.

Dieses Kapitel enthält eine Übersicht der Literatur, welche sich auf die Punkte des Teilungsprozesses bezieht, die bei meinen Untersuchungen in den Vordergrund treten. Die Punkte, die zu meinen Untersuchungen nicht in direkter Beziehung stehen, sind nur beiläufig erwähnt worden. Die Resultate, zu denen andere Forscher bezüglich der *Fritillariakerne* gekommen sind, wurden hier und da eingehender besprochen.

§ 1. Das Gerüst des ruhenden Kernes. Altmann und Bütschli folgend, schreiben einige den ruhenden Kernen einen granularen oder alveolaren Bau zu. Die übergrosse Mehrheit der Forscher hat jedoch in den Kernen ein fadenförmiges oder netzförmiges Gerüst wahrgenommen. Dieses soll aus zwei scharf geschiedenen Bestandteilen, Linin und Chromatin, bestehen. Ersteres bildet den Grund-

stoff, letzteres ist in Körnern durch dasselbe verteilt. Pfitzner ¹⁾ war der erste, der einen Unterschied zwischen beiden Substanzen machte, und auf botanischem Gebiet ist dasselbe durch Fr. Schwarz ²⁾ näher begründet. Letzterer ist zu seinen Resultaten gekommen, indem er die auflösende Wirkung einiger chemischen Verbindungen, wie Magnesium- und Kupfersulfat u. a., auf die Kernbestandteile beobachtete. Er sah, wie sich in Magnesiumsulfat Chromatin auflöste, Linin aber nicht; beim Gebrauch von Kupfersulfat und einigen anderen Verbindungen fand er dasselbe. Zimmermann ³⁾, der diese Untersuchungen wiederholt hat, kam mehrfach zu Resultaten, welche zu denen von Schwarz im Widerspruch standen. Er hielt dessen Kriterien für durchaus ungenügend. Jedoch stellt auch Zimmermann Linin und Chromatin einander gegenüber, er tut dies aber auf Grund von Färbungen. Fast alle Forscher haben sich aus demselben Grunde dieser Auffassung angeschlossen; neue Beweise sind auch später nicht hinzugefügt worden.

Auch Heuser ⁴⁾ und Strasburger ⁵⁾ sind bei ihren Untersuchungen der *Fritillariakerne* zu Resultaten gekommen, welche mit der allgemeinen Ansicht über Bau und Zusammensetzung des Gerüsts genau übereinstimmen.

In den letzten Jahren sind jedoch einige Abhandlungen erschienen, in welchen diese Ansicht bestritten wird.

1) Pfitzner. Ueber den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkernes. Morphol. Jahrb. Bd. 7. p. 289.

2) Fr. Schwarz. Die morphol. und chem. Zusammensetzung des Protoplasmas. Cohns Beitr. z. Biologie der Pfl. Bd. V.

3) Zimmermann. Die Morphol. u. Physiol. des pflanzlichen Zellkernes. Jena 1896. p. 30.

4) Heuser. Beobachtungen über Zellkernteilung. Bot. Centralbl. Bd. 17. 1884. p. 57.

5) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung. Histol. Beitr. I. Jena 1888. p. 27.

Zu diesen gehört in erster Linie die bereits in der Einleitung erwähnte Untersuchung von van Wisselingh über das Gerüst der *Fritillariakerne*.¹⁾ Als Resultat seiner Untersuchungen gibt er an, dass das Gerüst „aus kleinen Körperchen, Klümpchen und Körnern besteht, welche alle durch sehr dünne Fädchen mit einander verbunden sind. Die genannten Körperchen und die Fädchen sind gleicher Natur.“ Etwas später sagt er darüber, „dass kein hinreichender Grund da ist, um zwei aus verschiedener Substanz gebildete Bestandteile bei demselben (dem Gerüste) zu unterscheiden.“²⁾

Wie in der Einleitung bereits gesagt worden ist, hat er eine aussergewöhnliche Methode angewandt, die im Prinzip der von Zacharias nicht unähnlich ist. Schon früher hatte van Wisselingh diese Methode bei seinen Untersuchungen über den Nucleolus von *Spirogyra*³⁾ verwandt und damit höchst überraschende Resultate erzielt. Er verfuhr dabei auf folgende Weise. Aus Samenknospen, die mit einer starken Flemmingschen Lösung fixiert worden waren, wurden Stückchen von dem wandständigen Protoplasma des Embryosackes abgelöst. Kleine Stückchen mit einer Anzahl Kerne wurden in einen Tropfen Chromsäure von 50 % gebracht.

Verschiedene Bestandteile des Kernes lösen sich darin allmählich auf; aber das Gerüst bietet am längsten Widerstand und bleibt zuletzt ganz allein übrig. Dadurch ist es leicht, den Bau desselben zu beobachten. Nachdem die Chromsäure mit destilliertem Wasser entfernt worden ist, lässt er „Brillantblau, extra grünlich“ zufließen. Dadurch färbt sich das ganze Gerüst gleichmässig, und Chromatin-

1) Van Wisselingh. Ueber das Kerngerüst. Bot. Zeit. Bd. 57. 1899. p. 155.

2) Van Wisselingh. l.c. p. 158.

3) Van Wisselingh. Ueber den Nucleolus von *Spirogyra*. Bot. Zeit. Bd. 56. 1898. p. 195.

körner in den Lininfäden zerstreut, sind nicht wahrzunehmen.

Dieselben Resultate wurden dadurch erzielt, dass er die Kerne in Glycerin bis auf 230°—250° C. erwärmte. Hierdurch lösen sich die Kerne allmählich auf, sie müssen dazu jedoch mit Alkohol fixiert werden.

Es ist mir wohl bekannt, dass einige gegen diese Methode Bedenken erhoben haben. Von wirklichen Schwierigkeiten habe ich jedoch nichts gemerkt, und ich glaube, dass der Widerwille einiger Botaniker bloss auf dem Fremdartigen und anscheinend Abweichenden dieser Methode beruht. Bei meinen Untersuchungen habe ich mich, wenigstens was die Chromsäuremethode betrifft, davon überzeugen können, dass der ganze Lösungsprozess einen regelmässigen Verlauf nimmt. Plötzliche Veränderungen sind nicht wahrzunehmen, und erst nach etwa 25 Minuten ist, mit Ausnahme des Gerüsts alles aufgelöst. Durch den Gebrauch einer weniger starken Chromsäurelösung lässt sich die Dauer des Prozesses übrigens willkürlich verlängern.

Die Tatsache, dass in beiden Fällen an verschieden fixiertem Material dieselben Resultate erzielt wurden, deutet darauf hin, dass diese Resultate in jeder Beziehung zuverlässig sind.

Resultate, die in mancher Hinsicht mit den vorhergehenden übereinstimmen, haben Grégoire und Wijgaerts ¹⁾ für die Kerne aus den Wurzelmeristemen einiger *Trillium*-arten auf gewöhnlichem Wege erlangt. Ebenso Grégoire und Berghs ²⁾ für die Kerne der sich teilenden *Pellia*-sporen und Sporocyten.

Wie van Wisselingh meinen auch diese Forscher,

1) Grégoire et Wijgaerts. La reconstitution du noyau et la formation des chromosomes, etc. La Cellule, T. 21. 1903.

2) Grégoire et Berghs. La figure achromatique dans le *Pellia epiphylla*. La Cellule, T. 21, 1904.

im Kerngerüst seien keine zwei verschiedenen Bestandteile vorhanden. Ihre Auffassung von dem Bau des Gerüsts kommt der van Wisselinghs sehr nahe. In erst genannter Abhandlung wird mit Nachdruck darauf hingewiesen, dass die Färbung nach der Heidenhainschen Hämatoxylinmethode für die Untersuchung der chromatischen Strukturen den Vorzug verdient.

Ich werde jetzt die von verschiedenen Forschern angewandten Methoden näher prüfen, um voraussichtlich darin eine Erklärung für die verschiedenen Resultate zu finden.

Die Untersuchungen der Kernstrukturen, die an ganzen Kernen angestellt worden sind, wie es früher allgemein Gebrauch war, haben für die hier behandelte Frage nur geringen Wert. Auch Schnitte, die nicht sehr dünn sind, eignen sich nicht. Ein Beispiel dazu liefern uns die Untersuchungen von Ethel Sargent.¹⁾ Sie hat an ihren Schnitten von ungefähr 10 μ nicht feststellen können, ob die Fäden des Gerüsts anastomosierten oder ob sie in einiger Entfernung einander kreuzten. Dünnere Schnitte würden dies sofort klargestellt haben.

Um einen zuverlässigen Einblick in die hier besprochenen Kernstrukturen zu bekommen, sind also sehr dünne Schnitte durchaus notwendig. Eine Methode, wie die van Wisselinghs, bei der das Gerüst ganz isoliert wird, ist dafür ebenfalls sehr geeignet; seine Resultate gewinnen dadurch an Wahrscheinlichkeit.

Noch auf einen andern Punkt wünsche ich hier die Aufmerksamkeit zu lenken. Viele und vielerlei Färbungen haben sich im Laufe der Jahre für Kerne als brauchbar erwiesen. Unter allen nimmt die Safranin-Gentianaviolett-Orangefärbemethode von Flemming wohl den ersten Rang ein. Wie ausgezeichnet diese Färbung auch sein mag,

1) Ethel Sargent. The Formation of the Sexual Nuclei in *Lilium Martagon*. Annals of Bot. Vol. 10. 1896.

um die Kernteilungsfiguren im Grossen und Ganzen zu verdeutlichen, so bin ich doch der Meinung, dass gerade diese Färbung sich sehr schlecht dazu eignet, mit ihr die feinere Struktur des Gerüsts in den ruhenden Kernen zu studieren. Flemming ¹⁾ selbst macht darauf aufmerksam, wie schwer es ist, sie gut anzuwenden und wie verschieden ihre Resultate sein können. Für unsern Zweck liegt hier die Gefahr in den zahlreichen aufeinanderfolgenden Färbungen und Entfärbungen. Hierauf hat schon Fischer ²⁾ mit besonderem Nachdruck hingewiesen. Durch verschiedene Fixiermittel erhielt er in Albumoselösungen einen Niederschlag, der oft einen granularen Charakter hatte. Die Granula des Präcipitats wurden mit irgend einem Farbstoff gefärbt und darnach teilweise entfärbt, so dass ein gefärbter Kern übrig blieb. Bei Nachfärbung mit einem andern Farbstoff schien es, als ob sie aus zwei ganz verschiedenen Teilen beständen. Dennoch war das nicht der Fall. Dadurch, dass er die Entfärbung länger oder kürzer dauern liess, konnte er den anders gefärbten Kern der Granula willkürlich vergrössern oder verkleinern. Durch die Färbung mit einer Farbenmischung kann etwas Ähnliches hervorgerufen werden. Was Fischer auf diese Weise erreichte, zeigen seine Figuren 12—15 und 26—30 Taf. I.

Auch die Färbemethode Flemmings kann solche Erscheinungen verursachen. Nach der ersten Entfärbung, die solange dauern muss, „bis sich wenig Farbe mehr löst,“ ³⁾ kann in den dickeren Teilen des Gerüsts ein farbiger Kern übrig bleiben. Durch die folgenden Färbungen und Entfärbungen tritt dieser noch mehr hervor.

1) Flemming. Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle, II; Archiv für Mikrosk. Anat. Bd. 37. 1891. p. 685.

2) A. Fischer. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.

3) Flemming. Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle. II. p. 686.

Wahrscheinlich hat der häufige Gebrauch dieser Färbemethode viel beigetragen zur Bestärkung der Meinung, in den dickeren Teilen des Gerüstes kämen differenzierte Chromatinkörner vor. Auch Pfitzner ist durch Doppelfärbung dazu gekommen, den Unterschied zwischen Linin und Chromatin zu machen.

Auch viele andere Färbemethoden, ausser der Flemmingschen, zeigen diesen Mangel. Bei der Anwendung einer einfachen Färbung gibt man sich oft auch nicht die Mühe, eine Entfärbung beim Montieren zu verhindern. Oft hat man auch mit Absicht zuerst die Präparate zu stark gefärbt, um eine stärkere Entfärbung zu ermöglichen; dadurch erreicht man, dass die gefärbten Körner in den dickeren Teilen des Kerngerüstes noch mehr hervortreten. Von der Voraussetzung ausgehend, dass die Chromatinkörner vorhanden sind, werden auf diese Weise die schönsten Präparate gewonnen.

Um also ein einigermaßen zuverlässiges Resultat für die Zusammensetzung des Kerngerüstes zu erhalten, muss man eine einfache Färbung ohne eine Entfärbung anwenden.

Van Wisselingh hat eine solche benutzt. Auch die Heidenhainsche Hämatoxylinmethode, die Grégoire und seine Mitarbeiter angewandt haben, kann bei einer Untersuchung des Gerüstes diesen Anforderungen genügen. Wenn sie nach der Angabe von Zimmermann angewandt wird, kann eine Entfärbung der Kernbestandteile grösstenteils vermieden werden. Die Verwendung rationellerer Färbungen verleiht also den Resultaten obiger Forscher einen grösseren Wert.

Es gibt aber noch ein anderes Bedenken gegen das Vorhanden sein von Linin und Chromatin. In dem Stadium der individualisierten Chromosomen ist von Linin nichts zu bemerken. Selbst die hartnäckigsten Verteidiger ihres Vorhandenseins bilden die Chromosomen ganz homogen ab. Folglich erhebt sich die Frage, wo das Linin geblieben

ist, und woher es später wieder kommt. Strasburger¹⁾ nimmt an, dass in den Prophasen das Linin in Chromatin übergeht, und in den Telophasen das Chromatin wieder in Linin. Beweise dafür fehlen jedoch, und eine andere Erklärung für das Fehlen des Linins in den Chromosomen ist nicht gegeben. Man muss deshalb, um an dem Vorhandensein von Linin und Chromatin im Gerüste des ruhenden Kernes festhalten zu können, seine Zuflucht nehmen zu einer Hypothese über das, was bei der Teilung geschieht. Dadurch wird aber das Vorhandensein der Lininfäden und der Chromatinkörner im Gerüste nur unwahrscheinlicher.

Die mehrmals erwähnten Forscher, die zu dem Resultat gelangt sind, dass das Kerngerüst eine homogene Zusammensetzung hat, haben eine derartige Hypothese nicht nötig. Dadurch erhalten ihre Resultate eine weitere nicht unbedeutende Stütze.

§ 2. Das Chromatin während des Teilungsprozesses. Die Formveränderungen der chromatischen Substanz spielen bei meinen eigenen Beobachtungen nur eine untergeordnete Rolle. Für Beobachtungen bezüglich der Stellung des Knäuels zum Polfelde und der Ortsveränderungen der Chromosomen für die Bildung der Kernplatte sind dünne Schnitte, wie ich sie für meine Untersuchungen gebraucht habe, nicht geeignet. Diese Punkte sind bezüglich der *Fritillaria*-kerne durch Strasburger²⁾ und van Wisselingh³⁾ ausführlich besprochen worden. Ich verweise den Leser deshalb auf diese Abhandlungen. Da meine Präparate mir jedoch einige Aufklärungen über die Entstehung der Chromosomen gegeben haben, teile

1) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung, p. 33. Strasburger. Die pflanzlichen Zellhäute. Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 31. 1898. p. 518.

2) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung, p. 70.

3) Van Wisselingh. Ueber das Kerngerüst, p. 167.

ich hier noch mit, was bezüglich derselben in der Literatur zu finden ist.

Nach denen, die Lininfäden und Chromatinkörner unterscheiden, entsteht aus dem Gerüste des ruhenden Kernes das Knäuel dadurch, dass die Fäden kürzer werden und die seitlichen Verbindungen verschwinden. Die Chromatinkörner nähern einander und verschmelzen zu grösseren. Auch soll sich dabei Linin in Chromatin verwandeln. Einige Forscher teilen mit, dass aus dem Gerüste ein einziger durchlaufender Faden entsteht; dieser Faden teilt sich dann später in Chromosomen. Dies finden wir u. a. angegeben bei Heuser für die *Fritillariakerne* ¹⁾, bei Debsky für *Chara* ²⁾, bei Němec für *Allium* ³⁾ und bei Schaffner für *Erythronium* ⁴⁾. Andere sind der Meinung, dass das Gerüst sich in mehrere Fäden auflöst, möglicherweise gleich in die bestimmte Anzahl von Chromosomen ⁵⁾. Auch van Wisselingh und Grégoire halten dies für wahrscheinlich. Sowie über den Bau des Gerüstes in den ruhenden Kernen, sind sie auch über die Entstehung der Chromosomen abweichender Meinung. Nach van Wisselingh entstehen letztere dadurch, dass die feinen Verbindungen sich zusammenziehen und die Körnchen sich nähern ⁶⁾. Grégoire und Wijgaerts sagen, „que les chromosomes ne sont que des plages, des tranches du réseau, concentrées et homogénisées.“

1) Heuser. Beobachtungen über Zellkernteilung, p. 57.

2) Debsky. Beobachtungen über Kernteilung bei *Chara fragilis*; Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 30. 1897. p. 223.

3) Němec. Ueber die Karyokinetische Kernteilung in der Wurzelspitze von *Allium Cepa*; Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 33. 1899. p. 318.

4) Schaffner. The life History of *Erythronium* Bot. Gaz. Bd. 31. 1901. p. 369.

5) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung, p. 35. Berghs. Formation des Chromosomes hétérotypiques, etc. La Cellule. T. 21. 1904. p. 179.

6) Van Wisselingh. Ueber das Kerngerüst, p. 163.

Auch über die Zahl der Chromosomen habe ich einige ziemlich sichere Ergebnisse erlangen können. Hier sei nur erwähnt, dass Val. Häcker ¹⁾ in den *Fritillariakernen* ihrer 24 zählte, van Wisselingh ²⁾ jedoch 50—60.

Die Zahl von Häcker bezieht sich möglicherweise auf die Kerne aus dem Nucellargewebe; auch nach van Wisselingh beträgt in diesem die Zahl 24. Strasburger ³⁾ und van Wisselingh ⁴⁾ weisen auf Erscheinungen hin, welche es wahrscheinlich machen, dass die Zahl nicht in allen Kernen gleich ist.

Mehr aber als die Anzahl, fällt in den Schnitten die Form der Chromosomen ins Auge. Belajeff ⁵⁾ glaubt, dass die Form bei der Teilung vegetativer Zellen anders ist als bei der Teilung generativer Zellen. Bei ersteren sollen sie stets U-förmig, bei letzteren stets V-förmig sein. Als ein Beispiel der ersteren nennt er u. a. die Kerne im wandständigen Protoplasma des Embryosackes von *Fritillaria*.

Strasburger ⁶⁾ hat diese Ansicht Belajeffs mit Hilfe von Beispielen aus der Literatur genügend widerlegt. Wie sich aus dem folgenden Kapitel ergeben wird, schliessen meine Beobachtungen sich diesen Beispielen an.

Das Auseinanderweichen der Tochterchromosomen und die dabei wirksamen Kräfte will ich hier unberücksichtigt lassen. Solange wir nicht imstande sind, die Karyokinese an lebendem Material eingehender zu studieren, werden

1) Val. Häcker. Theorie und Praxis der Zellen- und Befruchtungslehre: Jena 1899. p. 54.

2) Van Wisselingh. Ueber das Kerngerüst, p. 169.

3) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung, p. 73.

4) Van Wisselingh. Ueber das Kerngerüst, p. 172.

5) Belajeff. Einige Streitfragen in den Untersuchungen über die Karyokinese; Ber. d. Deutschen Bot. Ges. Bd. 15. 1897. p. 345.

6) Strasburger. Ueber Reduktionsteilung, Spindelbildung u.s.w. Histol. Beitr. VI; Jena 1900. p. 102 u. f.

wir schwerlich eine klare Einsicht in den Mechanismus erlangen.

Nach dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen legen diese sich an den Polen der Teilungsfigur dicht aneinander. Nach einigen sollen sie wieder einen einzigen durchlaufenden Faden bilden; die meisten Forscher aber glauben, dass dies nicht der Fall ist.

Die Masse der Tochterchromosomen rundet sich ab, und gleich darauf entsteht die neue Kernmembran. Die Anhäufung der Chromosomen lockert sich wieder. Nach allen Forschern entsteht das Gerüst der ruhenden Tochterkerne durch dieselben Veränderungen, welche der chromatische Stoff in den Prophasen durchgemacht hat, aber in umgekehrter Reihenfolge.

§ 3. Das Verhältnis zwischen den Nucleolen und dem Chromatin. Bekanntlich lösen die Nucleolen sich im Knäuelstadium auf. Einige Forscher nehmen an, dass dieselben sich an der Bildung der Chromosomen beteiligen. Ob dies wirklich der Fall ist, will ich unentschieden lassen; für bewiesen halte ich es nicht. Im folgenden Paragraphen komme ich noch näher darauf zurück. Bezüglich der Funktion der Nucleolen verweise ich vorläufig auf die Untersuchungen von Montgomery¹⁾, Vigier²⁾ und Wager³⁾. Bei letzterem findet man auch eine Zusammenstellung der neueren Literatur.

§ 4. Die Kernspindel. In den letzten Jahren sind zahlreiche Abhandlungen erschienen, die sich besonders auf die Anlage der Spindel beziehen. Charles E. Allen

1) Montgomery. Comparative cytological Studies, etc.; Journ. of Morphol., Bd. 15. 1898.

2) Vigier. Le Nucléole; Paris 1900.

3) Wager. The Nucleolus und Nuclear Division in the Root-Apex of *Phaseolus*; Annals of Bot. Bd. 18. 1904.

hat dieselben am Schluss einer Abhandlung über diesen Gegenstand übersichtlich zusammengestellt.¹⁾ Ich habe es daher nicht für nötig gehalten, sie alle anzugeben, umso mehr, da ihre Resultate in den Hauptpunkten übereinstimmen. Soweit sie sich auf höhere Pflanzen beziehen, bei denen sich keine Centrosomen finden, können sie folgendermassen zusammengefasst werden.

Im Knäuelstadium bildet sich um die Kerne eine filzartige Hülle aus Cytoplasmafasern. Diese kann an der Kernmembran anliegen oder durch einen hyalinen Hof von derselben geschieden sein. Ersteres finden wir besonders bei Sporen-, Embryosack- und Pollenmutterzellen, letzteres in den Zellen der Vegetationspunkte.

An zwei einander gegenüberliegenden Seiten des Kernes ist der Hof kräftig entwickelt, senkrecht dazu ist er oft kaum sichtbar.²⁾

Auch die Kernmembran kann teilnehmen an der Bildung der Spindel. In einzelnen Fällen entstehen daraus Fäden, die sich den genannten Cytoplasmafäden anschliessen.

1) Charles E. Allen. The Early Stages of Spindle-Formation in the Pollen-Mother-cells of *Larix*; Annals of Bot. Vol. 17. 1903. p. 308—311.

2) Einige der wichtigsten Abhandlungen, die sich auf die Spindelbildung in den Pollenmutterzellen beziehen, sind: Strasburger. Ueber Reduktionsteilung, Spindelbildung etc. Histol. Beitr. VI, Jena 1900. Mottier. Beiträge zur Kenntniss der Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen und Monokotylen; Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. 30. 1897. Juel, Die Kernteilung in den Pollenmutterzellen von *Hemerocallis fulva*; ibidem. Lawson. Studies in spindle formation; Bot. Gaz. Bd. 36. 1903. — Die wichtigsten, die sich auf Vegetationspunkte beziehen, sind: Strasburger, wie oben. Rosen. Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzelle; Cohns Biol. Beitr. Bd. 7. 1896. Hof. Histologische Studien an Vegetat. Punkten; Bot. Centralbl. Bd. 76. 1898. Němec. Mehrere Abhandlungen u. a. Ueber die karyokin. Kernt. in der Wurzelspitze v. *Allium Cepa*; Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. 33. 1899.

Dies ist u. a. beobachtet worden von Grégoire bei *Lilium Martagon* ¹⁾, von Mottier bei *Lilium candidum* ²⁾ und von Heuser bei den *Fritillariakernen*. ³⁾ Viele Forscher sprechen sich über diese Sache nicht aus; jedoch erwähnt Němec, dass es bei *Allium*, ⁴⁾ und Lawson, dass es bei *Gladiolus*, ⁵⁾ nicht der Fall ist.

Die Kernmembran wird allgemein als eine mehr spezialisierte Schicht des Cytoplasmas betrachtet. Wenn diese an der Bildung der Spindel teilnimmt, bleibt also dennoch die ganze Spindelanlage cytoplasmatisch.

Nun erhebt sich die Frage, ob vielleicht auch Kernbestandteile an ihrer weiteren Bildung teilnehmen.

Grégoire und Berghs fanden bei *Pellia*, dass die Spindel, übereinstimmend mit obiger Beschreibung, aus Cytoplasmastrahlen entsteht, welche im Knäuelstadium um den Kern her sichtbar sind. Über die weitere Entwicklung geben sie Folgendes an: „C'est pendant la dernière étape de la genèse du fuseau que celui-ci envahit, latéralement, l'espace du noyau et des vésicules polaires. Ni le noyau ni les vésicules ne contribuent en rien à la formation de la figure achromatique qui est tout entière d'origine cytoplasmatique.” ⁶⁾

Wilson Smith kam bei den Sporenmutterzellen von

1) Grégoire. Les cinèses polliniques chez les *Liliacées*; La Cellule, T. 16. 1899. p. 287.

2) Mottier. Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosackes, etc. Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 31. 1898. p. 133.

3) Heuser. Beobachtungen über Zellkernteilung; l. c. p. 121.

4) Němec. Ueber die karyokin. Kernteilung in der Wurzelspitze von *Allium Cepa*; Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 33. 1899. p. 326.

5) Lawson. Origin of the cones of the multipolar spindle in *Gladiolus*; Bot. Gaz. Bd. 30. 1900. p. 149.

6) Grégoire et Berghs. La figure achromatique dans le *Pellia epiphylla*; l. c. p. 204.

Osmunda regalis zu demselben Resultat. Auch hier bildet sich die Spindel ganz extranuclear.¹⁾

In diesen beiden Fällen liegt kein einziger Grund vor, an der cytoplasmatischen Natur der ganzen Spindel zu zweifeln. Mögen sich auch später noch einige Fäden bilden, die meisten — wenn nicht alle — entstehen innerhalb des Cytoplasmas und zwar auf Kosten desselben, während die Kernmembran noch vorhanden ist.

In den meisten Fällen verschwindet diese aber schon, wenn die Spindel sich noch im Stadium der fädartigen Hülle befindet. Dann sind bald zahlreiche Fäden innerhalb des Kernraumes sichtbar. Ihre Entstehung aus Cytoplasma liegt hier nicht so klar auf der Hand wie in den beiden vorhin beschriebenen Fällen. Strasburger folgend, nehmen daher auch viele Forscher an, dass die Nucleolen direkt oder indirekt an der Spindelbildung teilnehmen. Indirekt dadurch, dass sie sozusagen das Cytoplasma in Tätigkeit setzen, oder direct dadurch, dass sie selbst das Material dazu liefern. Beide Meinungen treten an zahlreichen Stellen bei Strasburger zu Tage. Am ausführlichsten behandelt er diesen Gegenstand in seinen Histologischen Beiträgen, VI.

Seine frühere Meinung, die Nucleolen würden das Material für die Chromosomen liefern, hatte er schon früher aufgegeben.

Die Gründe, welche Strasburger anführt, um zu beweisen, dass die Nucleolen sich an der Spindelbildung betheiligen, reichen meines Erachtens nicht aus. Andere Botaniker geben dieselben Gründe an, um die Beziehung zwischen den Nucleolen und den Chromosomen zu beweisen. Ich werde dieselben kurz besprechen.

Zunächst weist Strasburger darauf hin, dass die Spindel-

1) Wilson Smith. The achromatic spindle in the spore mother cells of *Osmunda regalis*; Bot. Gaz. Vol. 30. 1900. p. 368.

bildung beginnt, wenn die Nucleolen sich auflösen. Wenn die Spindel verschwindet, treten die Nucleolen wieder auf. Oft hat man auch darauf hingewiesen, dass zwischen den Nucleolen und den Chromosomen dasselbe Verhältnis besteht. Strasburger selbst sieht darin denn auch nur einen indirekten Beweis.

Er macht ferner darauf aufmerksam, dass die Cytoplasmafäden, welche die Spindelanlage bilden, erst beim Auflösen der Nucleolen durch Gentianaviolett gefärbt werden. Sobald die Nucleolen wieder auftreten, geschieht dies nicht mehr. Bemerkt sei noch, dass Went ¹⁾ eine ähnliche Tatsache anführt, um die Beziehung der Nucleolen zu den Chromosomen zu beweisen. Vor der Auflösung der Nucleolen werden die Chromosomen durch Diamantfuchsin-Jodgrün blaugrün gefärbt; wenn die Nucleolen sich auflösen, werden sie violett; sobald sie wieder auftreten, färben sich die Chromosomen wieder grün.

Einen direkteren Beweis sieht Strasburger in der Mitteilung Némecs, dass sich Spindelfäden in Nucleolen verwandeln. Im Gegensatz zu dieser einen Mitteilung stehen die Behauptungen vieler anderer, dass die Nucleolen in die Chromosomen aufgenommen werden. ²⁾

Strasburger führt weiter an, Hottes habe bei niedriger Temperatur extranucleare Nucleolen auftreten, und bei hoher Temperatur das fadenförmige Cytoplasma sich vermehren sehen. Auf keinen Fall ist dies ein direkter Beweis dafür, dass die Spindelfäden aus Nucleolen entste-

1) Went. Beobachtungen über Kern- und Zellteilung; Ber. der Deutschen Bot. Ges. Bd. 5. 1887. p. 250.

2) Coker. On the gametophytes and embryo of *Taxodium*; Bot. Gaz. Vol. 36. 1903. p. 115.

Gardner. Studies on growth and cell division in the root of *Vicia Faba*; Pennsylv. Univ. Ser. 6. 1901. p. 150.

Wager. The Nucleolus and Nuclear Division in the Root-Apex of *Phaseolus*; Annals of Bot. Vol. 18. 1904. u. a.

hen. Hottes hatte seine Resultate im Jahre 1900 noch nicht veröffentlicht, und bis jetzt ist mir noch keine Abhandlung darüber bekannt geworden.

Auch die intranucleäre Spindelbildung beweist nicht, dass die Nucleolen Material für die Spindel liefern.

Flemming¹⁾, der eine solche Spindelbildung beschreibt, gibt ohne Bedenken wenigstens die Möglichkeit zu, dass die Spindel nicht aus einer typischen Nuclearsubstanz entsteht. Er richtet sein Augenmerk dabei auf Cytoplasma, das durch Öffnungen in der Kernmembran oder durch Diffusion eingetreten sein könnte.

Grégoire²⁾ sah ebenfalls einen bedeutenden Teil der Spindel intranuclear entstehen. Das Material dazu fand er in einer im Kern sich befindlichen, dem Cytoplasma gleichenden Substanz (Karyoplasma).

Zudem sehen wir, wie auch Lawson angibt, die intranucleare Spindelbildung fast immer erst dann deutlich auftreten, wenn die Kernmembran aufgelöst wird, sodass von aussen leicht Material hinzutreten kann.

Daher bin ich der Meinung, dass Strasburger keinen genügenden Beweis für irgendwelche Mitwirkung der Nucleolen bei der Spindelbildung geliefert hat.

Viele Forscher nehmen dies auch nicht an. Lawson³⁾ konnte eine Mitwirkung der Nucleolen bei der Spindelbildung bei *Gladiolus* nicht wahrnehmen. Ferner gibt er an, dass die Cytoplasmafäden der Spindelanlage gleich nach ihrem ersten Auftreten durch Gentianaviolett gefärbt werden.

Wilson Smith⁴⁾ hält eine Mitwirkung der Nucleolen

1) Flemming. Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle, I und II. Arch. f. Mikrosk. Anat. Bd. 29. 1887 und Bd. 37. 1891.

2) Grégoire. Les cinèses polliniques chez les *Liliacées* l. c. p. 285.

3) Lawson. Origin of the cones of the multipolar spindle in *Gladiolus*; l. c. p. 150.

4) Wilson Smith. The achromatic spindle in the sporemother-cells of *Osmunda regalis*; l. c. p. 375.

für unwahrscheinlich, da die Spindel schon zu weit entwickelt ist, wenn sie sich auflösen.

Coker ¹⁾ konnte bei *Taxodium* die Nucleolen noch lange Zeit nach der Spindelbildung wahrnehmen; er sah sie direkt in die Chromosomen übergehen.

Ferguson ²⁾ meint ebenfalls, dass die Nucleolen bei *Pinus* weder direkt noch indirekt an der Spindelbildung teilnehmen, „for the nucleoli, after.... the spindle-threads have attained considerable length are morphologically the same as they were before the inception of the spindle.”

Auch Grégoire und Berghs ³⁾ schliessen sich dieser Ansicht an. „Celui-ci (der Nucleolus) demeure vivement coloré jusqu'au moment où l'ébauche cytoplasmique envahit l'aire nucléaire, fig. 16, et jusqu'à ce moment aussi le noyau est dépourvu d'appareil filamentaire-granuleux qui aurait pu provenir du nucléole.”

Das Fehlen eines genügenden Beweises bei Strasburger und vorstehende Mitteilungen machen es unwahrscheinlich, dass den Nucleolen irgend welche Funktion bei der Spindelbildung zukommt.

Mottier ⁴⁾, welcher der Meinung ist, dass die Spindel vornehmlich aus Cytoplasma entsteht, glaubt jedoch, dass auch das Linin des Kerngerüstes an ihrer Bildung teilnimmt. Aus § 1 ergibt sich zur Genüge, dass ich dieser Ansicht nicht zustimmen kann. Im dritten Kapitel komme ich darauf noch näher zurück.

Fassen wir zusammen, was sich aus dem Vorhergehen-

1) Coker. On the gametophytes and embryo of *Taxodium*; l. c. p. 114.

2) Ferguson. The development of the pollentube, etc. in *Pinus*; Annals of Bot. Bd. 15. 1901. p. 210.

3) Grégoire et Berghs. La figure achromatique dans le *Pellia epiphylla*; l. c. p. 208.

4) Mottier. Ueber das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosackes; l. c. p. 154.

den über die Spindelbildung ergibt, so gelangen wir zu folgendem Resultat.

Zunächst steht fest, dass die Spindelanlage aus Cytoplasma entsteht. In den meisten Fällen entsteht sicher die ganze Spindel daraus. Nicht bewiesen ist aber, dass irgend eine typische Kernsubstanz an der Bildung derselben teilnimmt. Die Spindelbildung bei den *Fritillaria*-kernen ist von Heuser ¹⁾ und Strasburger ²⁾ untersucht worden. Beide haben beobachtet, dass der grösste Teil der Spindel aus Cytoplasma entsteht, das als solches nach der Auflösung der Kernmembran in den Kernraum eingedrungen ist. Ebenso wie Mottier lässt auch Heuser das Linin an die Spindelbildung teilnehmen. Nach Strasburger entsteht nicht die ganze Spindel innerhalb des Kernraumes. Bei *Leucojum aestivum* fand er die Kerne im Knäuelstadium von einer Cytoplasmaspindel umgeben. Der äquatoriale Teil derselben verschwindet, aber die Pole werden zu den Polen der Kernspindel. Nach Analogie dieses Befundes nimmt er dasselbe für die *Fritillaria*-kerne an. Nach seiner Meinung entsteht hier also die ganze Spindel aus Cytoplasma; teils aus Cytoplasma innerhalb des Kernraumes, teils aus Cytoplasma ausserhalb desselben.

In seinen Histologischen Beiträgen I von 1888 erwähnt Strasburger bei *Fritillaria* nur ein einziges System von Spindelfäden, die von Pol zu Pol laufen. Van Beneden ³⁾ fand jedoch bei *Ascaris* ein System von Fäden, die im Äquator endeten und dort an den Chromosomen befestigt waren. Später fand Strasburger diese auch bei den *Fritillaria*-kernen, ⁴⁾ und jetzt wird das Vorkommen beider Systeme allgemein anerkannt.

1) Heuser. Beobachtungen über Zellkernteilung; l. c. p. 120.

2) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung; p. 76.

3) Van Beneden. Recherches sur la maturation de l'oeuf, la fécondation etc.; Arch. de Biologie. Bd. 4. 1883.

4) Strasburger. Karyokinetische Probleme; Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 28. 1895. p. 179.

Weiter kommt noch ein drittes System von Fäden vor, die frei in das Protoplasma ausstrahlen.

Wilson Smith weist darauf hin, dass das System der Äquatorial unterbrochenen Fäden bei den Sporenmutterzellen von *Osmunda regalis* fehlt.

Nach der Funktion, die er ihnen zuschreibt, nennt Strasburger die Fäden, welche an den Chromosomen befestigt sind, „Zugfasern“ und diejenigen, welche von Pol zu Pol laufen, „Stützfasern“. Beide entstehen gleichzeitig auf dieselbe Weise und zwar durcheinander.¹⁾ Nach Němec entstehen die Fäden, welche von Pol zu Pol laufen, zuerst; dann, peripherisch von diesen, die andern. Nach den Stellen, an denen sie entstehen, nennt Němec sie „Centralfasern“ und „Mantelfasern“.

Nach dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen bleiben allein die Stützfasern als sogenannte Verbindungsfäden noch lange bestehen. Strasburger ist der Meinung, dass zu diesen später noch sekundäre Verbindungsfäden hinzukommen, so dass ihre Zahl wächst. Flemming und Zacharias²⁾ haben dies nicht wahrnehmen können.

Viele Forscher schreiben den Verbindungsfäden eine bedeutende Rolle bei der Bildung der Zellplatte zu.

§ 5. Die Zellplatte. Ueber die Entstehung der Zellplatte bestehen wenig Meinungsverschiedenheiten. Mit Ausnahme einiger weniger nehmen die Forscher allgemein an, dass die Verbindungsfäden direkt an ihrer Bildung teilnehmen. Strasburger gibt davon folgende Beschreibung.³⁾ Die Verbindungsfäden zeigen, bald nachdem sie sich von den Tochterkernen gelöst haben, im Äquator

1) Strasburger. Ueber Reduktionsteilung, Spindelbildung, etc.; l. c. p. 115.

2) Zacharias. Ueber Kern- und Zellteilung; Bot. Zeit. Bd. 46, 1888. p. 38.

3) Strasburger. Die pflanzlichen Zellhäute; l. c. p. 513.

Verdickungen (Dermosomen). Diese verschmelzen zu einer durchlaufenden Lamelle, so dass sie bald ihre Identität verlieren. Die Lamelle teilt sich in zwei Teile, und zwischen beiden entsteht die Zellwand.

Zacharias ¹⁾ untersuchte die Zellplattenbildung der Wurzelhaare von *Chara* und der Pollenmutterzellen von *Hemerocallis*. Er kam zu dem Resultat, dass die Zellplatte „aus denselben Elementen wie das Zellplasma“ besteht. Diese Elemente sollen in keiner Beziehung zu den Verbindungsfäden stehen, sondern aus dem umgebenden Protoplasma eingedrungen sein.

Grégoire und Berghs ²⁾ berühren diese Frage nur beiläufig. Sie sind der Meinung, dass die Zellplatte nicht durch die seitliche Verschmelzung von äquatorialen Verdickungen der Fäden entsteht. „Les épaississements équatoriaux des filaments connectifs ne seraient pas réels. Ils seraient dus simplement au dépôt, autour de chaque filament de la substance qui forme la plaque.“ Diese Substanz soll von der Kernflüssigkeit und indirekt von den Verbindungsfäden herrühren.

Gardiner ³⁾ beschreibt die Zellplatte als eine dünne Protoplasmaschicht im Äquator, durch welche die Verbindungsfäden hindurch laufen. Die Verbindungsfäden selbst sollen später die Plasmaverbindungen bilden.

Die Resultate über die Bildung der Zellplatte können wir folgendermassen zusammenfassen: Die Zellplatte entsteht nach einigen Autoren unter direkter Mitwirkung der Verbindungsfäden. Nach andern jedoch entsteht sie aus Cytoplasma, das sich zwischen den Tochterkernen befindet.

1) Zacharias. Ueber Kern- und Zellteilung; l. c. p. 55.

2) Grégoire et Berghs. La figure achromatique, etc. l. c. p. 218.

3) Gardiner. The Genesis and Development of the Wall and Connecting Threads in the Plant Cell; Proc. of the Roy. Soc. Vol. 66, 1900, p. 186.

II. KAPITEL.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN.

I. Material.

Wie bereits erwähnt worden ist, habe ich für meine Untersuchungen die freien Kerne aus dem wandständigen Protoplasma des Embryosackes von *Fritillaria imperialis* L. benutzt. Das Material wurde Juni 1903 im Botanischen Garten der Groninger Universität gesammelt. Seit 1890 sind dort zahlreiche Pflanzen vorhanden, die in jedem Frühjahr künstlich bestäubt werden. Ohne diese Vorsichtsmassregel setzen sie oft nicht hinreichend Frucht an. Es besteht aber noch eine andere Schwierigkeit, gutes Material zu erlangen. Die Samenknospen befinden sich nur kurze Zeit in dem Stadium, in dem die Kerne des wandständigen Protoplasmas sich vielfältig teilen. Für eine Kernteilungsuntersuchung braucht man aber gerade diese Stadien. Die mittleren Samenknospen der 6 Reihen sind den anderen meistens etwas in der Entwicklung voraus. Sobald diese nun eine Länge von 3—4 mm. erreicht haben, muss man sie täglich beobachten. Die Teilungen treten dann bald in grosser Menge auf, und bei regelmässiger Kontrolle ist es nicht schwer, dieses Stadium zu treffen, so dass man auf diese Weise leicht genügend Material erhält. Nun sammelt man die einzelnen Früchte. Nachdem man oben und unten eine Kappe abgeschnitten und dann die Fächer und die Zwischenwände der Länge nach aufgeschnitten hat, kann man die Samenknospen leicht herausnehmen und fixieren.

Das von mir verwandte Material ist mit einer starken Flemmingschen Lösung (0,75 % Chromsäure, 0,4 % Osmiumsäure und 4 % Essigsäure) fixiert worden. Es hat darin ungefähr 3 Wochen gelegen und ist darnach in fließen-

dem Wasser längere Zeit ausgewaschen und später in Alkohol von 96 % aufbewahrt worden.

II. Methode.

Aus der Literaturübersicht hat sich zur Genüge ergeben, welche Methode nach meiner Meinung den Vorzug verdient. Da die Gründe, auf die sich diese Meinung stützt, dort ausführlich angegeben sind, genügt es, die Methode selbst hier einfach mitzuteilen.

Sie besteht, um es in aller Kürze anzudeuten, im Folgenden. Sehr dünne Schnitte werden mit einem einfachen Farbstoff gefärbt und eine Entfärbung gänzlich vermieden. Es ist oft schwer, an Schnitten von Kernteilungsfiguren zu bestimmen, mit welchen Stadien man gerade zu tun hat, und wie die Figur genau getroffen ist. Beim Schneiden von Samenknospen bin ich oft auf diese Schwierigkeiten gestossen. Darum habe ich bei der Anfertigung von Schnitten eine Methode angewandt, bei der diese Schwierigkeiten vermieden werden, und die mich in stand setzte, die Kernteilungsfiguren im voraus genau zu studieren und darnach in jeder gewünschten Richtung zu schneiden.

Moll wandte bei seinen *Spirogyra*untersuchungen eine ähnliche Methode an und zeigte ihre Brauchbarkeit bei den *Fritillariakernen*.¹⁾ Auch ich habe diese Methode befolgt. Sie besteht in Folgendem.

Ein kleines Stückchen wandständiges Protoplasma, das ein oder mehrere der erwünschten Kernteilungsfiguren enthält, wird in dünnes Celloidin gebracht. Eine sehr brauchbare Concentration erhält man, wenn man 6 gr. troc-

1) Moll. Observations on Karyokinesis in *Spirogyra*, Verh. Kon. Akad. Amsterd. I, 9, 1893.

Moll. Doorsneden van celkernen en kerndeelingsfiguren; Dodonaea II, 1890.

kenes Celloidin in 100 cc., zu gleichen Teilen aus Alkohol und Äther bestehend, auflöst. Der Alkohol muss 90 % stark sein, da aus bestimmten, näher zu erörternden Gründen ein geringer Wassergehalt notwendig ist. In diesem Celloidin bleibt das Protoplaststückchen eine Stunde oder länger; darnach wird es mit ein wenig Celloidin mittelst einer Tropf-Pipette aufgenommen und mit dem aufgenommenen Celloidin auf ein Objektglas gebracht. Auf demselben fließt das Celloidin zu einer dünnen Schicht auseinander und trocknet bald zu einem zähen Häutchen, das aber infolge des Wassergehaltes nicht zu schnell hart und nicht runzelig wird. Man lässt es ein Paar Minuten trocknen, bis es, ohne Formveränderungen befürchten zu müssen, mit dem Objektglas in Alkohol von 96 % gebracht werden kann. Wenn es darin einige Zeit gelegen hat, lässt sich das Häutchen leicht mit einem Spatel ablösen. Unter fortwährender Anfeuchtung mit Alkohol kann es dann weiter behandelt werden.

Das Protoplaststückchen mit den Teilungsfiguren ist in dem Celloidinhäutchen gut zu erkennen. Unter dem Mikroskop wird sodann die Schnittrichtung bestimmt und eine Skizze des ganzen Stückchens gemacht.¹⁾

Man legt das Celloidinhäutchen so auf das Objektglas, dass die Schnittrichtung mit der Längsrichtung des Glases zusammenfällt. Aus dem Häutchen schneidet man dann ein kleineres Stück mit dem Protoplaststückchen heraus. Diesem Stückchen kann man leicht eine Form geben, an der die Schnittrichtung sofort auffällt. Nun wird es gefärbt mit einer alkoholischen Lösung von Gentianaviolett (3 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung in 100 cc. Alkohol). Darauf wird es in Origanumöl gebracht, um den Alkohol zu entfernen. Man Sorge dabei aber für eine

1) Vielleicht ist es besser, dies erst nach der Behandlung mit Origanumöl zu tun.

gute Qualität Origanumöl; schlechtes Öl greift Celloidin und Protoplasma an. Ein sehr gutes Präparat habe ich von Gröbler und Co. erhalten.

In dem Origanumöl bleibt es ungefähr zwei Stunden. Darauf bringt man es in geschmolzenes Paraffin, und nach ein paar Stunden wird ein Paraffinblock hergestellt. Infolge der Färbung mit Gentianaviolett ist auch im Paraffinblocke die Schnittrichtung noch deutlich wahrzunehmen.

Nun können die Schnitte gemacht werden. Bei meinen Untersuchungen habe ich Schnitte von $2-4\ \mu$ benutzt. Um so dünne Schnitte zu bekommen, ist unbedingt zweierlei notwendig: ein äusserst scharfes Messer und ein genau arbeitendes Mikrotom.

Für meinen sämtlichen Untersuchungen habe ich mich des Mikrotoms Reinhold-Giltay bedient. Aber wichtiger ist das Messer. Ich habe die Erfahrung gemacht, dass es am besten ist, das Messer selbst zu schleifen. Dann kann man es leicht so scharf bekommen und behalten, dass man Schnitte von $2\ \mu$ anfertigen kann.

Ich habe dabei die Schleifmethode Moll's ¹⁾ benutzt, die bei einiger Ausdauer bald gute Resultate liefert. Als ich das Schleifen verstand, habe ich stets ohne viel Mühe lange Schnittbänder von $2\ \mu$ Dicke herstellen können. Die Schnitte wurden mit Eiweissglycerin auf Deckgläschen geklebt. Durch Xylol wurde das Paraffin, durch absoluten Alkohol das Xylol und durch destilliertes Wasser der Alkohol entfernt.

Darauf wurden die Präparate gefärbt. Als Farbstoff habe ich eine wässrige Lösung von Gentianaviolett R. (Trommsdorff) gebraucht (6 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung in 100 cc. destilliertes Wasser). Ungefähr eine Stunde liess ich die Deckgläschen mit den Schnitten nach

1) Moll. Het slijpen van Microtoom-messen; Dodonaea III. 1891. Moll. Das Mikrotom Reinhold-Giltay; Zeitschr. Wiss. Mikrosk. Bd. 9. 1892.

unten bei 50—60° C darauf treiben. Darnach wurde das Wasser mit absolutem Alkohol, der durch Gentianaviolett R. sehr dunkel gefärbt worden war (10 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung in 100 cc. Alkohol) entfernt. Hierdurch wurde eine Entfärbung vollständig vermieden. Ungefähr eine halbe Minute wurden die Präparate in einen Tropfen Nagelöl auf ein Objektglass gelegt und dann in Canadabalsam, der in Chloroform aufgelöst war, montiert.

III. Beobachtungen.

§ 1. Das Kerngerüst vom ruhenden Stadium bis zur Entstehung der Chromosomen. Die Beobachtungen beziehen sich in erster Linie auf das Gerüst der ruhenden Kerne. Ich habe dasselbe an Schnitten von 2 μ , die ich auf die angegebene Weise gefärbt hatte, studiert.

Wenn man von einem ruhenden Kern spricht, versteht man darunter gewöhnlich einen Kern, an dem von aussen noch keine Veränderungen, die den Beginn einer Teilung andeuten, wahrzunehmen sind. Die Grenze ist oft schwer zu ziehen, besonders dann, wenn, wie hier, die Teilungen so schnell aufeinander folgen, und die Tochterkerne vielleicht kaum ganz in Ruhe gewesen sind, bevor sie sich aufs neue teilen. Wenn man eine Anzahl Samenknospen untersucht, erhält man den Eindruck, dass die Kerne im ruhenden Stadium rund sind und bei Beginn der Teilung ellipsoidisch werden. Letzteres ist wirklich der Fall. Aber bald wurde mir klar, dass nicht alle runden Kerne denselben inneren Bau zeigten. Dadurch kam ich auf den Gedanken, ob in einigen runden Kernen bereits Veränderungen im Bau eingetreten wären, die auf eine beginnende Teilung hinwiesen, ehe dies von aussen zu erkennen war. Deshalb habe ich sehr viele runde Kerne untersucht, und den Bau derselben mit dem Bau von Kernen, die äussere Anzeichen einer bevorstehenden Teilung zeigten, und weiter

mit dem Bau von Kernen aus dem Nucellargewebe und den Integumenten der Samenknospen verglichen. Besonders in den Integumenten finden in diesen Stadien keine oder nur sehr wenige Teilungen statt. Die Kerne derselben befinden sich also ziemlich sicher im ruhenden Stadium.

Die Vergleichung aller dieser Kerne bestärkte mich in der Meinung, dass der verschiedene Bau der runden Kerne wahrscheinlich eine Folge von Veränderungen war, die unter dem Einfluss der beginnenden Teilung stattgefunden hatten. Durch eine Vergleichung der Unterschiede habe ich auch mit einiger Sicherheit feststellen können, welche Struktur zum ruhenden Stadium gehörte. In Schnitten von wirklich ruhenden Kernen sieht man Folgendes.

Der ganze Raum innerhalb der Kernmembran enthält unregelmässig zerstreute Klümpchen Chromatin, die durch feine Fäden miteinander verbunden sind. Nach der Membran hin sind die Klümpchen etwas zahlreicher als in der Mitte. Wegen der Dünnhheit der Schnitte behält die Struktur meist wenig Zusammenhang, aber doch sind viele Verbindungen zwischen den Chromatinklümpchen wahrzunehmen. In Schnitten welche der Oberfläche eines Kernes entnommen sind, hat sich die Struktur am besten erhalten und liegen die Verbindungen in einer Fläche, so dass man sie gut beobachten kann. Fig. 1 stellt ein solches Stück des Gerüsts dar. Aus den zahlreichen Schnitten habe ich zur Genüge ersehen, dass der Bau des Gerüsts nach allen Richtungen hin derselbe ist. Ich schliesse daraus, dass das Gerüst des ruhenden Kernes aus einem anastomosierenden Netzwerk mit unregelmässigen, dicken Knoten besteht. Durch Gentianaviolett R. ist das ganze Gerüst gleichmässig gefärbt; Lininfäden und Chromatinkörner sind nicht wahrzunehmen. Das Gerüst hat also eine homogene Zusammensetzung.

Beim Uebergang in das Knäuelstadium bleibt im grossen und ganzen derselbe Bau bestehen. Das Gerüst wird locke-

rer, es sind weniger Anastomosen vorhanden, und der Unterschied in der Dicke zwischen den Verbindungen und den Knoten vermindert sich (Fig. 2). Auch in diesen Stadien färbt sich alles homogen, besondere Chromatinkörner sind auch jetzt nicht zu sehen.

Die Nucleolen liegen lose in den Maschen des Gerüsts. Sie berühren es, sind aber nicht damit verbunden. Sie sind ganz homogen, ohne Vakuolen oder andere Einschlüsse, und färben sich genau wie das Chromatin.

Um die Resultate van Wisselinghs besser beurteilen zu können, habe ich die Kerne auch nach seiner Methode untersucht.

50 g. Chromsäure wurden in destilliertem Wasser zu 100 cc. aufgelöst. Ein Tropfen dieser Lösung wurde auf ein nicht zu kleines Stückchen des wandständigen Protoplasmas gebracht. Dadurch, dass ich ein grosses Deckglas darauf legte, konnte ich die Einwirkung unter dem Mikroskop mit Objektiv D verfolgen, ohne die Linse in Gefahr zu bringen. Auch muss man darauf achten, dass das Protoplasmastückchen vorher gut in Wasser abgespült und der Alkohol entfernt werde. Wenn dies nicht geschieht, wird das Stückchen schwarz, und ist für weitere Beobachtungen unbrauchbar.

Wir sehen nun bald das Protoplasma um die Kerne sich auflösen, wodurch diese selbst viel deutlicher werden. Mit Objektiv D sieht man zwar wenig von der Struktur, aber ein Immersionsobjektiv würde durch die Chromsäure leicht verdorben werden. Die Nucleolen sind aber scharf wahrzunehmen. Herr Doktorandus J. J. Prins von hier hat mittelst der statistischen Methode ihre Zahl pro Kern bestimmt. Seine Ergebnisse auf Grund einer Zählung von 300 Kernen sind folgende: M (die Mediane) = 6,7 Nucleolen, Q (das Quartil) = 1,2 Nucleolen und $\frac{Q}{M}$ (der Variabilitätskoeffizient von Verschaffelt) = 0,18. Für weitere Ein-

zelheiten verweise ich auf seine in Kürze erscheinende Dissertation.

Auch bei der Untersuchung nach der Chromsäuremethode zeigen die Nucleolen sich ganz homogen und lose in den Maschen des Gerüsts liegend. Ihre Grösse ist sehr verschieden und ihre Form rund bis ellipsoidisch. Sie lösen sich langsam auf und bleiben, solange sie wahrzunehmen sind, homogen.

Auch die Kernmembran löst sich auf, und das Gerüst bleibt allein übrig. Um dieses zu untersuchen, wird die Chromsäure mit destilliertem Wasser ausgewaschen. Bis dies gründlich geschehen ist, gehen viele Kerne verloren; darum empfiehlt es sich, grössere Protoplaststückchen mit vielen Kernen zu nehmen. Dann bleiben immer wohl einige übrig, und durch einen Zusatz von Gentianaviolett lassen sie sich bequem wieder auffinden. Nun kann auch das Immersionsobjektiv gebraucht werden; denn es hindert keine starke Säure mehr. Es zeigt sich, dass diese Methode für Untersuchungen des Gerüsts ruhender Kerne den Vorzug vor Schnitten verdient; denn der Zusammenhang bleibt besser erhalten. Der Bau stimmt ganz überein mit dem an Schnitten wahrgenommenen. Auch jetzt ist kein Linin und Chromatin zu unterscheiden.

Bei der Chromsäuremethode finde ich auch bei Knäueln eine Bestätigung der Resultate, die ich an Schnitten erhalten habe. Besonders in diesen Stadien fällt der grosse Vorteil der Chromsäuremethode in die Augen. Vieles, was an Schnitten in älteren Knäueln nicht zu sehen ist, wird jetzt klar.

Die Frage, ob ein durchlaufender Kernfaden entsteht, aus dem durch Segmentation die Chromosomen entstehen, kann an Schnitten schwerlich gelöst werden. Bei der Anwendung der Chromsäuremethode ist dies viel leichter möglich. Wenn ältere Knäuel auf diese Weise untersucht werden, ergibt sich, dass die Anzahl der Anastomosen fort-

während abnimmt. Die Substanz des Gerüsts konzentriert sich zu bandförmigen Massen, die zuerst unregelmässig geformt sind, aber bald eine regelmässigere Form annehmen. Einen durchlaufenden Kernfaden habe ich nie wahrgenommen. Die Chromatinsegmente stehen von Anfang ihres Entstehens an mehr oder weniger senkrecht zur grössten Kernlänge. Meine Untersuchungen bestätigen also, sowohl beim Gebrauch von Schnitten als auch bei der Anwendung der Chromsäuremethode, die Resultate van Wisselinghs über die Kerne aus dem wandständigen Protoplasma des Embryosackes.

Bekanntlich enthalten diese Kerne viel Chromatin; es sind zahlreiche Chromosomen vorhanden, vielleicht infolge der Befruchtung und der Verschmelzung der Polkerne. Mit Hilfe von Schnitten habe ich darum auch noch einige andere Kerne mit weniger Chromatin untersucht; in erster Linie die Kerne der Integumente und des Nucellargewebes der Samenknospen von *Fritillaria*. Diese haben genau denselben Bau wie die bisher behandelten Kerne; aber sie lassen dies viel besser erkennen, da ihr Gerüst lockerer gebaut ist.

Eine Bestätigung obiger Resultate fand ich noch bei einer andern Pflanze, nämlich bei *Tulipa sylvestris*. Die Kerne des Nucellargewebes von Samenknospen, die sich in dem Stadium befinden, in dem die Integumente noch wenig entwickelt sind, eignen sich ganz besonders für eine solche Untersuchung. Das Material war mit Chromsäure von 1 % fixiert worden; Schnitte von 3μ wurden ebenso behandelt wie die Schnitte der *Fritillariakerne*. Die bei letzteren erhaltenen Resultate fand ich bei *Tulipa sylvestris* vollkommen bestätigt. Figur 3 und 4 stellen ein Stückchen des Gerüsts eines ruhenden Kernes und eines Kernes im Knäuelstadium dar. Die Zeichnungen geben nur wieder, was bei einer Einstellung scharf zu sehen ist. Wenn man mit der Mikrometerschraube arbeitet, erhält man eine viel genauere Vorstellung vom Bau des Gerüsts.

Das Resultat meiner Untersuchungen bezüglich der Kernstruktur ist also folgendes.

Das Gerüst des ruhenden Kernes ist ein anastomosierendes Netzwerk mit unregelmässigen dicken Knoten. Zwei scharf geschiedene, verschiedenartige Bestandteile sind nicht darin zu erkennen. Das Knäuel entsteht durch das Verschwinden vieler Anastomosen, während der Unterschied in der Dicke zwischen den Knoten und den Verbindungen abnimmt. Im späteren Knäuelstadium konzentriert die chromatische Substanz sich zu bandförmigen Stücken, welche in senkrechter Richtung zur grössten Kernlänge stehen. Anfangs haben diese eine unregelmässige Form, aber bald werden sie regelmässiger und bilden die Chromosomen. Ein durchlaufender Kernfaden entsteht aber nicht.

§ 2. Weitere Formveränderung der Chromosomen. Hierüber habe ich beim Studium der Spindel einige Beobachtungen machen können.

Wie in der Literaturübersicht bereits mitgeteilt wurde, beziehen diese Beobachtungen sich nicht auf die Bildung der Kernplatte. Schnitte sind dazu nicht brauchbar. Auch die Zahl der Chromosomen ist nicht leicht zu bestimmen; aber im Laufe der Untersuchung habe ich aus Schnittserien, doch einige darauf bezügliche Ergebnisse sammeln können. Wahrscheinlich beträgt die Zahl gewöhnlich ungefähr 60, aber in einigen Kernen ist sie sicher viel kleiner.

Ferner war in Längsschnitten von Diasterstadien die Form der Tochterchromosomen gut zu sehen. Aber ebenso wenig wie die Zahl ist die Form konstant. Es gibt sowohl U-, wie V-, wie J-förmige.

Auch über die Entstehung des ruhenden Gerüstes in den Tochterkernen habe ich einige Wahrnehmungen machen können. Wenn die Tochterchromosomen an den Polen der Teilungsfigur angekommen sind, legen sie sich dort sehr dicht gegen einander an. Die Anhäufung ist eine so starke,

dass in Schnitten von 2μ oft keine Scheidungslinien zu sehen sind. Ich glaube aber nicht, dass sie verschmelzen, denn sobald die Masse sich nach der Bildung der neuen Membran wieder zu zerteilen beginnt, finden wir in den losen Stücken die Form der Chromosomen mehr oder weniger wieder (Fig. 13 und 14). Auch halte ich es nicht für wahrscheinlich, dass ihre Enden miteinander verschmelzen; denn wenn die Masse bereits sehr dicht zusammen gedrängt ist, sieht man noch viele freie Enden nachkommen (Fig. 12).

Wenn die aufeinander gedrängten Chromosomen wieder auseinander gehen, sind sie durch zahlreiche pseudopodienartige Ausläufer verbunden. Schliesslich geht jedoch die Form der Chromosomen verloren; sie fallen sozusagen in Stücke auseinander, die jedoch alle durch feine Verbindungsfäden miteinander im Zusammenhang bleiben. Die pseudopodienartigen und die zuletzt genannten Verbindungen sind die Verbindungsfäden des ruhenden Gerüsts. Die Knoten des Gerüsts sind die Überbleibsel der Chromosomen.

§ 3. Die Kernspindel. Im ersten Teile des vorigen Paragraphen sind die Veränderungen beschrieben worden, die in der chromatischen Substanz bei Beginn der Teilung innerhalb des Kernes auftreten. Sehr bald treten auch äussere Veränderungen ein, sowohl an den Kernen selbst, als auch in dem umgebenden Protoplasma. Wenn die Kerne sich in Ruhe befinden, ist das umgebende Protoplasma wie folgt gebaut. Nach aussen schliesst es mit der Hautschicht an die Wand des Embryosackes an; nach innen wird es begrenzt durch den Tonoplast der grossen Vakuole des Embryosackes. Hautschicht und Tonoplast sind in den Schnitten stets deutlich zu sehen. Zwischen beiden befindet sich ein sehr kompliziertes Netzwerk aus hyalinen Protoplasmafäden. Zahlreiche Mikrosomen, überall gleichmässig verteilt, haften diesen Fäden an. Zwischen den Fäden befindet sich eine durchscheinende Substanz.

Dass der Raum zwischen den Fäden nicht leer ist, erkennt man aus den darin befindlichen kleinen, runden, scharf begrenzten Vakuolen.

Wenn die Kerne in das Knäuelstadium eintreten, werden sie, wie ich schon oben beschrieb, ellipsoidisch. In dem umgebenden Protoplasma treten dann auch Veränderungen ein. Um die Kerne entsteht ein heller Hof, der in der Längsrichtung der Kerne oft etwas stärker entwickelt ist als in der Querrichtung. Nach aussen hin ist dieser Hof nicht scharf begrenzt. Er ist von einer Zone sehr dichtkörnigen Protoplasmas umgeben, das weiter von den Kernen allmählig weniger dicht wird, sodass in einiger Entfernung von den Kernen das Protoplasma ebenso durchsichtig ist wie der Hof; in diesem Stadium befinden sich in einiger Entfernung von den Kernen nur sehr wenige Mikrosomen.

Ausser der erwähnten Differenzierung in Zonen sehen wir in dem umgebenden Protoplasma zahlreiche Strahlungen ungefähr senkrecht auf der Oberfläche des Kernes. Diese Strahlungen zeigen sich deutlich in dem hellen Hof, sie beginnen an der Kernmembran mit einer breiten Basis; in der dichten Protoplasmazone sind sie nicht sichtbar, aber ausserhalb derselben kommen sie wieder deutlich zum Vorschein. Einige scheinen ununterbrochen von einem Kern zum andern durchzulaufen.

Bald verschwindet die Kernmembran; sie löst sich aber nicht über ihre ganze Oberfläche regelmässig auf, sondern schwindet stückweise. In viel älteren Stadien, in denen die Entwicklung der Spindel bereits begonnen hat, sind oft noch Teile derselben übrig geblieben (Fig. 5 und 8). Zugleich lösen sich auch die Nucleolen auf; sie fallen nicht in Stücken auseinander, sondern ihre Auflösung schreitet langsam von aussen nach innen fort.

Wenn die Kernmembran ganz oder teilweise verschwunden ist, sehen wir den Kernraum mit einer körnigen Masse

gefüllt, die der umgebenden dichtkörnigen Protoplasmazone gleich ist. (Fig. 5). Zugleich mit der Wand verschwindet auch der helle Hof. Oft befinden sich in der körnigen Masse innerhalb des Kernraumes auch kleine, aber deutliche und scharf begrenzte Vakuolen.

In etwas älteren Stadien sind im Kernraum viele Fäden vorhanden. Sie haben ein körniges Aussehen und laufen sehr unregelmässig (Fig. 6). Diese Figur stellt einen medianen Schnitt eines Kernes dar, in dem die Chromosomen ihre definitive Gestalt zu bekommen beginnen. Zwischen den Fäden befinden sich, da es ein Schnitt ist, Bruchstücke der Chromosomen.

Im folgenden Stadium laufen die Fäden regelmässiger in der Längsrichtung des Kernraumes, und das körnige Aussehen ist verschwunden. Sie konvergieren nicht scharf zu den beiden Polen. Fig. 7 ist ein medianer Schnitt eines Kernes in diesem Stadium; Fig. 8 ist der äusserste tangentielle Schnitt desselben Kernes. In letzterem laufen die Fäden weniger regelmässig und zeigen noch eine körnige Struktur. In diesen Kernen war das Asterstadium noch nicht erreicht.

Bis zum Asterstadium findet man noch keine andern Fäden als die genannten, die alle von Pol zu Pol laufen.

Fig. 9 ist ein medianer Längsschnitt eines Asterstadiums. In diesem befinden sich ausser den vorhin genannten Fäden noch andre, welche nur bis zum Äquator laufen. Sie sind dort an den Chromosomen befestigt, immer je zwei gegenüber einander. Diese Fäden sind viel dicker als die des zuerst genannten Systems. Sie haben wie diese anfangs ein körniges Aussehen; am Äquator sind sie breiter als an den Polen. In älteren Asterstadien haben auch diese Fäden nicht mehr das körnige Aussehen, sondern scheinen viel eher aus einem Bündel feiner Fäden zu bestehen, die nach den Polen hin scharf konvergieren. Auch jetzt ist die ganze Teilungsfigur nicht scharf bipolar,

sondern stimmt mehr überein mit der multipolaren diarchen Type Strasburgers.¹⁾ Dies wird nicht durch alle Fäden zusammen verursacht, sondern allein durch die Fäden oder Fadenbündel, die nur bis zum Äquator laufen (Fig. 10).

Während des Asterstadiums und besonders, wenn die Tochterchromosomen auseinander zu gehen beginnen, ist an ganzen Kernen oder an dicken Schnitten von den beiden Systemen von Spindelfäden wenig zu sehen. Nur in dünnen Schnitten sind sie deutlich voneinander zu unterscheiden. Bei der Entstehung des Diasterstadiums ändert sich dies; dann treten auch in dickeren Schnitten deutlich zwei Systeme von Spindelfäden in die Augen. Zwischen den Tochtersternen sehen wir Fäden welche diese verbinden, und deren äusserste Enden zwischen den Chromosomen stecken. Dann sitzen zwei andere Systeme von Fäden wie spitze Kegel auf den Tochtersternen (Fig. 11).

Die Tochterchromosomen bilden bald zwei kompakte Massen, die durch zahlreiche Verbindungsfäden miteinander verbunden sind. In Fig. 12 sind diese Fäden sehr deutlich, während hier die beiden spitzen Kegel bereits zu verschwinden beginnen. Ferner sind in Fig. 12 noch viele freie Enden der Chromosomen zu sehen. Nach einiger Zeit rundet die Chromosomenmasse sich ab, nachdem die freien Enden vorher in dieselbe aufgenommen worden sind. Von den beiden Kegeln ist bald nichts mehr zu sehen, nur die Verbindungsfäden sind übrig geblieben.

Nach Ablauf des Asterstadiums sind oft Strahlungen von den Polen in das umliegende Protoplasma sichtbar. Auch in späteren Stadien sind diese noch vorhanden. Ihr Ausgangspunkt befindet sich dann jedoch an der Innenseite der neu entstehenden Tochterkerne.

Die Teilung ist bis auf dieses Stadiums in allen Samen-

1) Strasburger. Ueber Reduktionsteilung etc., I. c., p. 118.

knospen gleich. Die weiteren Stadien zeigen jedoch Unterschiede, die mit dem Grad der Entwicklung der Samenknospe zusammenhängen. Ich unterscheide dabei drei Fälle.

1. Samenknospen, bei denen im wandständigen Protoplasma des Embryosackes noch keine Zellbildung eingetreten ist;

2. solche, bei denen die Zellbildung begonnen hat;

3. solche, bei denen die erste Schicht der Endospermzellen bereits entstanden ist und diese erste Zellschicht sich gerade in zwei Zellschichten teilt.

Im ersten Fall wird die Spindel, sobald die Teilungen bis zu dem zuletzt beschriebenen Stadium gekommen sind, äquatorial eingeschnürt. Die ganze Teilungsfigur erhält dadurch die Form einer Sanduhr. Im medianen Schnitt einer solchen Teilungsfigur fand ich einmal einen Ring, der durch Gentianaviolett nicht gefärbt war. Die Bedeutung desselben ist mir nicht klar geworden.

Da die Spindel jedoch bald ganz verschwindet, so habe ich diese Stadien nicht weiter untersucht.

Im zweiten Fall bleibt die Spindel allerdings viel länger bestehen; schliesslich verschwindet sie aber auch ganz. Auch hier kommt es nicht zur Bildung einer neuen Zellwand in direkter Verbindung mit der Kernteilung. Die Zellwandbildung, die zur Entstehung der ersten Schicht Endospermzellen Veranlassung gibt, erfolgt, wenn die Kerne sich in Ruhe befinden, und steht nicht in direkter Verbindung mit dem Kernteilungsprozess.

Im dritten Fall haben wir es mit einem vollkommenen Teilungsprozess zu tun. Der Kernteilung folgt die Zellteilung.

Die beiden letzten Fälle habe ich weiter untersucht; den zweiten nach der beschriebenen Methode; der dritte Fall eignet sich aber nicht dazu. Es ist sehr schwer, die Endospermschicht aus der Samenknospe zu präparieren. Die Orientierung der Teilungsfiguren macht es aber auch ohne Anwendung dieser Methode möglich, zahlreiche Längsschnitte

zu bekommen. Sie stehen nämlich fast alle senkrecht auf der Fläche der Endospermschicht; nur einige Teilungen liegen in dieser Fläche. Um also Längsschnitte der Teilungsfiguren zu bekommen, habe ich Quer- und Längsschnitte solcher Samenknospen gemacht. Auch diese Schnitte waren 2—4 μ dick und wurden weiter behandelt in der früher angegebenen Weise.

Ausser dem genannten grossen Unterschied bestehen bei den Teilungen des zweiten und dritten Falles einige kleinere Unterschiede, die im Laufe der Beschreibung noch deutlich werden.

Kehren wir jetzt zur Beschreibung der Teilungsfiguren zurück. Das Folgende bezieht sich zunächst auf die freien Kernteilungen des zweiten obengenannten Falles. Wir verliessen die Teilungen in dem Stadium, in dem die beiden sich bildenden Tochterkerne zwei abgerundete, durch zahlreiche Verbindungsfäden verbundene Chromatinmassen bildeten. Von den folgenden Stadien habe ich Quer- und Längsschnitte von 2 μ Dicke gemacht. Die eintretenden Veränderungen werden an den Figuren gezeigt werden.

Fig. 13 stellt einen medianen Längsschnitt eines geteilten Kernes dar in dem Stadium, in dem die zusammengedrängte Chromosomenmasse sich wieder zu lösen beginnt. Die unterste Kernanlage ist in zwei Teile geteilt; ich vermute, dass dies nicht beim Schneiden geschehen ist, da das Präparat sonst sehr gut war. Neue Kernmembrane haben sich noch nicht gebildet. Die Verbindungsfäden lassen sich nicht mehr bis zu den Chromatinmassen verfolgen. Zwischen den Fäden befindet sich eine körnige Substanz, und die ganze Teilungsfigur ist von dichtem, körnigem Protoplasma, in dem mehrere kleine Vakuolen liegen, umgeben. Der Komplex der Verbindungsfäden ist im Äquator breiter als näher bei den Kernen.

Fig. 14 stellt einen medianen Längsschnitt eines etwas älteren Stadiums dar. Die neuen Kernmembrane haben

sich hier bereits gebildet, und die Chromatinmassen sind viel lockerer geworden.

Der Komplex der Verbindungsfäden ist jetzt durch eine Protoplasmaschicht von den Tochterkernen getrennt; in dieser Figur ist in diesem Protoplasma eine kleine, scharf begrenzte Vakuole zu sehen. In dem umliegenden Protoplasma sind deren noch mehr. Ferner sehen wir in dieser Figur, dass die Verbindungsfäden mehr oder weniger zu Bündeln vereinigt sind.

Fig. 15 stellt ein ähnliches Stadium wie das in Fig. 14 dar. Hier zeigt sich besonders deutlich, dass die Verbindungsfäden nicht mehr am Kern befestigt sind. Auffallend sind die grossen Mengen Protoplasma und die zahlreichen kleinen Vakuolen, die sich in dieser Figur zwischen dem Kern und den Verbindungsfäden befinden.

Fig. 16 und 17 stellen Querschnitte eines Stadiums dar, von dem in Fig. 14 der Längsschnitt abgebildet ist. Fig. 16 ist der mediane Schnitt. Wir sehen daraus, dass die Spindel in diesem Stadium aus einem massiven Bündel von Verbindungsfäden besteht. In der Mitte sind die Fäden dichter aufeinander gedrängt als am Rande. Der Raum zwischen den Fäden steht in direkter Verbindung mit dem umgebenden Protoplasma, in dem sich mehrere Vakuolen befinden. Fig. 17 stellt den Schnitt dar, der, vom Äquator an gerechnet, demjenigen vorausging, in dem etwas vom Kern vorhanden war. In den aufeinander folgenden Schnitten in genannter Richtung werden die Fäden allmählich dünner, und ihre Zahl nimmt ab. In Fig. 17 sind die Fäden deshalb auch viel dünner und weniger zahlreich. Zwischen den Fäden befindet sich viel Protoplasma mit zahlreichen kleinen Vakuolen. Die Zahl der Verbindungsfäden beträgt im Äquator zwischen 200 und 300. Sie geht in keinem Fall weit über die Zahl hinaus, die sich in früheren Stadien, wie z. B. in Fig. 12 zu sehen ist, zeigt.

Fassen wir jetzt zusammen, was sich aus den Stadien, durch die Figuren 13 bis 17 representiert ergeben hat.

Wenn die Chromatinmasse sich lockert und die neue Kernmembran entsteht, wird der Zusammenhang der Verbindungsfäden mit den Tochterkernen aufgehoben, und zwischen den Tochterkernen und den Verbindungsfäden erscheint Protoplasma, in dem kleine Vakuolen sichtbar sind. Der Komplex der Verbindungsfäden wird tonnenförmig, und die Fäden gruppieren sich zu Bündeln.

In älteren Stadien, von denen Fig. 18 einen tangentialen Längsschnitt darstellt, ist die Gruppierung zu Bündeln noch viel deutlicher. Fig. 19 ist ein Querschnitt desselben Stadiums. Wir sehen darin, dass die Bündel der Verbindungsfäden sich besonders am Rande der Figur befinden. In der Mitte sind nur wenige, und der dazwischenliegende Raum ist mit körnigem Protoplasma, in dem sich kleine Vakuolen befinden, gefüllt.

Weiter bringen es auch diese Teilungen nicht. Die Spindel verschwindet auf der Stelle im Protoplasma.

Zum Schluss will ich noch auf eine abnorme Erscheinung aufmerksam machen, die sich nicht selten bei den hier beschriebenen Fällen von Kernteilung zeigt (Fig. 20). Wir sehen darin die Spindelfäden am Rande, aber an der linken Seite, d. h. an der Wand des Embryosackes, fehlen sie gänzlich.

Jetzt gehe ich zur Beschreibung der Teilungen des dritten Falles, nämlich derjenigen in der ersten Endospermzellenschicht, über.

Bezüglich der ersten Stadien kann ich mich kurz fassen, da diese mit den vorhergehenden genau übereinstimmen. Wenn die Tochterchromosomen sich zu einer kompakten Masse vereinigt haben, ist nur noch das System der Verbindungsfäden vorhanden. Die Zahl der Fäden ist auch hier sehr gross. Bei den vorigen Teilungen sahen wir zwischen den Verbindungsfäden Protoplasma und viele kleine

Vakuolen. In Fig. 21 sehen wir, dass sich auch hier Vakuolen zwischen den Fäden befinden; sie sind jedoch grösser und weniger zahlreich, und während sie bei der freien Kernteilung anfangs allein auf der Grenze zwischen den Kernen und dem Komplex der Verbindungsfäden vorkommen und erst später auch im Äquator, finden sie sich hier gleich im Äquator sowohl als näher bei den Kernen.

Fig. 22 stellt einen Längsschnitt eines viel älteren Stadiums dar. Die Nucleolen sind schon in den Tochterkernen vorhanden, und aus dem Gerüste, das ich nicht gezeichnet habe, ergab sich deutlich, dass die Kerne des ruhenden Stadiums sehr nahe waren. Auch hier sehen wir nur am Rande Spindelbündel; der dazwischen liegende Raum ist mit Protoplasma, in dem sich viele Vakuolen befinden, angefüllt.

Zusammenfassend komme ich also zu folgendem Resultat. Nach dem Verschwinden der Kernmembran füllt sich der Kernraum mit einer körnigen Masse. Bald darauf befinden sich innerhalb des Kernraumes zahlreiche Fäden; diese laufen zuerst unregelmässig, dehnen sich aber später in der Längsrichtung des Kernraumes aus, und laufen ununterbrochen von Pol zu Pol. Im Asterstadium erscheint ein zweites System von Fäden, die viel dicker sind und nur bis zum Äquator gehen. Nach dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen verschwindet dieses letzte System bald wieder, während das erste System als sogenannte Verbindungsfäden bestehen bleibt. Nach einiger Zeit erscheint Protoplasma mit kleinen Vakuolen zwischen den Tochterkernen und dem Komplex der Verbindungsfäden, die sich zu Bündeln gruppieren. Dieser Komplex ist zuerst massiv, aber bald sind nur noch am Rande Bündel übrig geblieben, während der Raum dazwischen mit Protoplasma und kleinen Vakuolen gefüllt ist.

§ 4. Die Zellteilung. Wie ich bereits mitgeteilt habe, folgt allein im dritten hier besprochenen Fall, d. i. also

bei der Teilung der ersten Endospermzellenschicht in zwei Zellschichten, auf die Kernteilung eine Zellteilung. Betrachten wir nochmals Fig. 22 die ein Stadium darstellt, das der Zellteilung eben vorausgeht. Von dieser Teilungsfigur habe ich die vollständige Schnittserie beobachten können. Daraus ist mir klar geworden dass nur ein Mantel von Verbindungsfäden übrig geblieben ist innerhalb dessen sich Protoplasma mit vielen Vakuolen befindet. In diesem Protoplasma ist kein einziger Spindelfaden mehr vorhanden. Ferner zeigte es sich, dass dieser Mantel nicht aus isolierten Fäden, sondern aus spindelförmigen Bündeln von Fäden besteht. Sie sind nicht mehr im Zusammenhang mit den Kernen.

Im Protoplasma innerhalb des Mantels von Verbindungsfäden sehen wir nichts, was einer Zellplatte gleicht, wie man sich dieselbe gewöhnlich vorstellt. Weder in diesem Stadium, noch in den vorausgehenden Stadien sind Dermosomen im Sinne Strasburgers vorhanden. Dennoch entsteht in allen Zellen eine neue Wand. In Stadien, die etwas älter sind als das in Fig. 22 dargestellte, sehen wir mitten zwischen den Kernen eine durchlaufende Schicht sehr feinkörnigen Protoplasmas von der einen Seitenwand zur andern gehen. In Fig. 22 ist diese Schicht bereits angedeutet. Was hier von den Verbindungsfäden noch übrig geblieben ist, verschwindet bald ganz, noch bevor die Zellteilung vollendet ist.

Bie *Fritillaria* habe ich jedoch keine Gelegenheit gehabt, die Entstehung der neuen Wand in Verbindung mit den Seitenwänden wahrzunehmen. Die Wände der jungen Endospermzellen sind so zart, dass in meinen Präparaten der Zusammenhang der Kernteilungsfigur mit den Zellwänden stets zerstört wurde, obwohl die Kernteilungsfiguren selbst ganz unbeschädigt waren. Aus Längsschnitten des Vegetationspunktes der Keimwurzel von *Vicia Faba* ersah ich, dass darin der Zusammenhang besser erhalten blieb.

Darum habe ich dieses Objekt gewählt, um meine Beobachtungen bei *Fritillaria* zu ergänzen.

Ich habe von genannten Keimwurzeln Längsschnitte von $2\ \mu$ gemacht, die weiter behandelt wurden, wie dies für die *Fritillaria*-kerne angegeben ist.

Von den beobachteten Stadien der Kernteilung beschreibe ich nur diejenigen, welche für die Bildung der neuen Zellwand von Bedeutung sind.

Fig. 23 stellt eine Zelle mit einer Kernteilung dar. Die Tochterchromosomen sind zu zwei kompakte Massen verschmolzen, und zwischen beiden befindet sich eine Menge durchlaufender Verbindungsfäden.

Fig. 24 stellt ein etwas älteres Stadium dar. Die Chromatinklumpen haben sich abgerundet, und die Verbindungsfäden sind nicht mehr daran befestigt. Das Auffallende an dieser Figur ist, dass alle Verbindungsfäden im Äquator durchbrochen sind.

In Fig. 25 sehen wir ein viel älteres Stadium abgebildet. Von den Verbindungsfäden ist hier nichts mehr vorhanden, als rechts in der Figur einige kleine Überbleibsel. Zahlreiche Protoplasmafäden verbinden die Kerne untereinander und mit der Aussenschicht des Zellprotoplasmas. Mitten zwischen den Kernen befindet sich eine fast gerade, dünne Schicht Protoplasma, die sich in keiner Weise von dem übrigen Zellplasma unterscheidet. Diese Schicht befindet sich jedoch an der Stelle, an der voraussichtlich die neue Wand entstehen wird. In den Figuren 23—25 ist nirgends etwas von Dermosomen zu sehen.

Vergleichen wir Fig. 25 mit 22, dann bemerken wir eine grosse Ähnlichkeit. Die Stadien bei *Fritillaria*, die etwas älter sind, als das in Fig. 22 dargestellte, stimmen noch mehr mit Fig. 25 überein.

Aus diesen Beobachtungen schliesse ich, dass weder bei *Fritillaria* noch bei *Vicia Faba* eine Zellplatte durch die seitliche Verschmelzung von Verdickungen der Verbin-

dungsfäden im Äquator entsteht, sondern dass sich an dieser Stelle nur eine dünne Protoplasmaschicht vorfindet, die sich zwischen den Tochterkernen von Wand zu Wand ausdehnt und sich in keiner Weise von dem gewöhnlichen Zellplasma unterscheidet.

III. KAPITEL.

BESPRECHUNG DER RESULTATE.

§ 1. Die chromatische Substanz und die Nucleolen. Aus den beiden vorhergehenden Kapiteln ergibt sich, dass meine Resultate betreffend den Bau und die Zusammensetzung des Gerüstes des ruhenden Kernes genau mit denen van Wisselinghs übereinstimmen. Die Abbildung, die er von dem Gerüste gibt, unterscheidet sich nur darin von der meinigen, dass in ersterer die Verbindungsfäden zwischen den Chromatinklumpchen mehr zurücktreteten; mit meiner Abbildung, die sich auf *Tulipa sylvestris* bezieht (Fig. 3), stimmt die van Wisselinghs vollständig überein. Grégoire und Wygaerts¹⁾ beschreiben das Gerüst als „alvéolaire-réticulé, ou peut-être, simplement réticulé.“ Den alveolaren Charakter erklären sie durch die Art der Entstehung des Gerüstes aus den Tochterchromosomen. In der Telophase sollten darin Alveolen auftreten, wodurch die chromatische Masse auseinander gedrängt wird. Dies ist bei *Fritillaria* nicht der Fall, und der alveolare Charakter fehlt hier im Bau des Gerüstes vollständig. Übrigens stimmen ihre Fig. 5 und 6 genau überein mit meiner Fig. 1.

Das Vorkommen von Linin und Chromatin glaube ich aufs entschiedenste bestreiten zu müssen. Bei der Färbung der Schnitte und an dem mit Hilfe der Chromsäuremethode

1) Grégoire et Wygaerts. La reconstitution du noyau, etc. l. c. p. 14.

isolierten Gerüste sind keine zwei verschiedenen Bestandteile wahrzunehmen. Auch würde die Einwirkung der Chromsäure allein, schon zwei so von einander abweichende Bestandteile deutlich erkennen lassen. Ich verweise weiter auf die Schwierigkeiten, die ich in der Literaturübersicht besprochen habe.

Das Knäuelstadium, wie ich es in Fig. 2 und 4 abgebildet habe, ist ein Übergang zu den Chromosomen. Diese entstehen nicht durch Segmentation eines durchlaufenden Kernfadens, sondern sofort isoliert aus dem Gerüste, wie es auch van Wisselingh und Grégoire angeben.

Auf Grund meiner Beobachtungen über die Form und die Anzahl der Chromosomen erwähne ich zunächst, dass ich mich der Meinung Strasburgers anschliesse, dass die Form bei generativer und vegetativer Teilung nicht typisch verschieden ist. Das Vorkommen von U-, V- und J-förmigen Chromosomen bei derselben Art von Kernen ist ein genügender Beweis dafür dass die U-form nicht typisch ist für die vegetativen, und die V-form für generativen Zellen.

Meine Beobachtung, dass die Anzahl der Chromosomen nicht konstant ist, braucht uns, meines Erachtens, nicht zu wundern. Wir haben es hier im Endosperm mit einem Gewebe zu tun, das dazu bestimmt ist, bald zu verschwinden. Im einem ähnlichen Fall, nämlich bei den Teilungen im Embryosack einer *Lilium*-Art, welche Veranlassung zur Entstehung des untersten Polkerns und der Antipodenzellen geben, welche letztere ebenso schnell wieder zu Grunde gehen, fand Guignard die Zahl wechselnd von 12—24.¹⁾

Van Wisselingh sah bei den Teilungen der *Fritillaria*-kerne oft Chromosomen aus ihrer Verbindung treten und selbständige kleine Kerne bilden.

Aber auch in andern Fällen scheint die Zahl nicht so

1) Guignard. Nouvelles études sur la Fécondation; Annales d. Sc. Nat., S. VII. T. 14, p. 244.

konstant zu sein, als man anzunehmen geneigt ist. Dixon¹⁾ fand sie wechselnd in Gewebezellen von *Lilium longiflorum*, und Wilson Smith²⁾ erwähnt dieselbe Erscheinung bei *Osmunda regalis* in den Sporenmutterzellen. Moll³⁾ hat einen Kern von *Spirogyra crassa* mit 13 Chromosomen abgebildet, während die Zahl dort gewöhnlich 12 beträgt.

Eine Frage, die in der letzten Zeit häufig besprochen wird, ist die Individualität der Chromosomen. Direkte Beobachtungen darüber sind sehr schwer und sind auch von mir nicht gemacht worden. Meine Untersuchung hat mir jedoch wohl einige Fingerzeige gegeben. Im II Kapitel habe ich bereits mitgeteilt, dass ich es für wahrscheinlich halte, dass die Chromosomen während der polaren Anhäufung ihre Selbständigkeit bewahren. Die Beobachtungen, die ich über die Bildung der Chromosomen aus dem Gerüste und des Gerüsts der Tochterkerne aus den Tochterchromosomen machte, haben den Eindruck in mir erweckt, dass dies auch im ruhenden Stadium der Fall ist. Die Formveränderungen, die in der chromatischen Substanz auftreten, lassen sich kurzweg bezeichnen als eine Centralisation und eine Decentralisation einer Anzahl Chromatinmassen, die in bestimmten Stadien ebensoviele Chromosomen bilden.

Sehr zu Gunsten der Selbständigkeit der Chromosomen haben sich Grégoire und Wygaerts ausgesprochen, und bekanntlich ist auch Boveri dieser Ansicht.⁴⁾

1) Dixon. Proc. Roy. Irish Acad. 2 S. V. III.

2) Wilson Smith. The achromatic Spindle in *Osmunda*; l. c. pag. 367.

3) Moll. Observations on Karyokinesis in *Spirogyra*; l. c. Fig. 37.

4) Boveri. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena, 1904.

Betreffs der Nucleolen kann ich mich kurz fassen; denn meine Beobachtungen haben mich zu keinem Schluss bezüglich ihrer Funktion geführt.

§ 2. Die Spindel und die Zellteilung. Bei der vegetativen Kernteilung entsteht im Knäuelstadium um die Kerne ein hyaliner Hof; auch bei den *Fritillariakernen* ist dies der Fall. Der Hof bei diesen stimmt jedoch nicht mit demjenigen, der in den Vegetationspunkten um die Kerne vorkommt, überein; denn er ist nach aussen hin nicht scharf begrenzt. Die Cytoplasmastrahlen stimmen ebenfalls nicht ganz überein mit denjenigen, welche bei andern Kernen im Knäuelstadium die Spindelanlage bilden. Bei *Fritillaria* nehmen sie nicht direkt an der Spindelbildung teil. Wohl wird auch hier die Spindelanlage aus Cytoplasma gebildet, aber erst innerhalb des Kernraumes und nicht, wie es gewöhnlich der Fall ist, im Cytoplasma ausserhalb des Kernraumes.

Die körnige Substanz, die im Knäuelstadium nach dem Verschwinden der Kernmembran den Kernraum füllt, ist nichts anderes als gewöhnliches Protoplasma, das von aussen eingedrungen ist. Den Beweis dafür finde ich 1. in der grossen Ähnlichkeit, die sie mit dem umgebenden Protoplasma hat; 2. in dem Vorhandensein von kleinen, scharf begrenzten Vakuolen innerhalb des Kernraumes, die in den ruhenden Kernen nicht vorkommen, aber in dem umgebenden Protoplasma in grosser Zahl zu sehen sind; 3. in Fällen wie Fig. 5 uns zeigt; dort ist die Wand erst teilweise verschwunden, und wo dies der Fall ist, finden wir mehr körnige Substanz als an der Innenseite der noch vorhandenen Reste der Kernmembran.

Aus dem Protoplasma, das in den Kernraum eingedrungen ist, entstehen die Spindelfäden durch Aneinanderreihung der körnigen Bestandteile desselben. Wenn die Fäden zuerst sichtbar werden, haben sie das Aussehen sehr feiner Perlenschnüre, erst später werden sie mehr homogen. In

derselben Weise entstehen nach Wilson Smith¹⁾ die Spindelfäden in den Pollenmutterzellen von *Osmunda regalis*; hier jedoch ausserhalb des Kernes im Cytoplasma.

Die Spindelfäden, die in der oben beschriebenen Weise bei *Fritillaria* entstehen, laufen zuerst unregelmässig, strecken sich aber bald in der Längsrichtung des Kernraumes und laufen von Pol zu Pol. Dies sind die Fäden, aus denen später die sogenannten Verbindungsfäden werden.

Wir haben gesehen, dass im Asterstadium ein zweites System von Spindelfäden erscheint, die nur bis zum Äquator laufen und dort an den Chromosomen ansetzen. Es sind die Fäden, die Strasburger „Zugfasern“ nennt. Das erste System deckt sich mit seinen „Stützfasern“. Ich glaube für diese Fäden dieselbe Entstehungsweise annehmen zu dürfen wie für die des ersten Systems. Sie sind nämlich, ebenso wie diese, anfangs körnig; später werden sie mehr homogen, und im späten Asterstadium scheinen sie aus mehreren feinen Fäden zusammengesetzt zu sein. Es könnte auch möglich sein, dass sie aus den Fäden des ersten Systems entstanden. Das erscheint mir jedoch nicht wahrscheinlich; denn dann müsste man annehmen, dass diese Fäden im Äquator zerbrechen; zudem würden die Fäden des zweiten Systems dann nicht von Anfang an körnig sein, denn die Fäden des ersten Systems sind bereits homogen, wenn die des zweiten Systems entstehen. Bei dieser Entstehungsweise würden sie also, sobald sie sichtbar werden, aus mehreren Fäden zusammengesetzt sein müssen, und das ist doch erst später wirklich der Fall.

Das dritte System von Fäden, das ich in der Literaturübersicht nur der Vollständigkeit halber angegeben habe, ist von untergeordneter Bedeutung. Diese Fäden kommen auch bei *Fritillaria* vor, vielleicht sind es Spindelfasern,

1) Wilson Smith. The achromatic Spindle in *Osmunda*; l. c., p. 373.

die sich aus dem Verband gelöst haben, vielleicht sind es auch gewöhnliche Cytoplasmastrahlen; in beiden Fällen sind sie cytoplasmatischen Ursprungs.

Wir sehen also, dass die Spindel bei *Fritillaria* ganz aus Cytoplasma entsteht. Strasburger kam zu demselben Resultat. Er sah jedoch nur einen Teil der Spindel innerhalb des Kernraumes entstehen, und einen Teil im Cytoplasma ausserhalb desselben.

Aus meinen Beobachtungen ergibt sich, dass die ganze Spindel innerhalb des Kernraumes entsteht. Zu diesem Resultat kam auch Heuser. Einige Fäden, die sich nach seiner Meinung aus Linin bildeten, ausgenommen, sah er alle übrigen innerhalb des Kernraumes aus eingedrungenem Cytoplasma entstehen.

Vergleichen wir meine Resultate jetzt noch mit denen, welche ich bereits in der Literaturübersicht über die Spindelbildung im allgemeinen mitgeteilt habe, so sehen wir, dass sie auch damit grosse Ähnlichkeit haben. Über die cytoplasmatische Natur der Anlage besteht kein Zweifel. Was die Mitwirkung der Kernbestandteile betrifft, so habe ich schon im ersten Kapitel die Meinung widerlegt, dass die Nucleolen an der Spindelbildung beteiligt seien. Weiter habe ich dort gezeigt und meine eigenen Beobachtungen haben es bestätigt, dass Linin, welches nach Heuser und Mottier an der Spindelbildung teilnehmen soll, im Kerngerüst nicht vorkommt. Ein anderer Kernbestandteil, das Karyoplasma, trägt nach Grégoire zu einem nicht geringen Teil zu der Spindelbildung in den Pollenmutterzellen der *Liliaceen* bei. Dieses Karyoplasma hat nach Grégoire weder mit Linin noch mit Chromatin etwas zu tun. Aus seiner Beschreibung folgt jedoch, dass es mit Cytoplasma viel Ähnlichkeit hat. Die offene Gemeinschaft, die während der Kernteilung stets zwischen dem Kern und dem umgebenden Cytoplasma besteht, macht es nicht unwahrscheinlich, dass das Karyoplasma gewöhnliches Cy-

toplasma ist, oder aber durch eine geringe Veränderung daraus entstanden ist.

Für die wenigen Spindelfasern, die in einigen Fällen bereits vor dem Verschwinden der Kernmembran entstehen, ist wahrscheinlich wohl Cytoplasma im Kern vorhanden. Nach Flemming ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die Spindeln in Salamanderkernen, die sich vor dem Verschwinden der Kernmembran vollständig intranuclear bildeten, ganz aus Cytoplasma entstehen, das durch Diffusion oder durch kleine Öffnungen in der Membran eingedrungen ist.

Klar ist jedoch, dass bei der Spindelbildung das Cytoplasma immer die Hauptrolle spielt. Insofern stimmen also die allgemeinen Resultate auch mit den meinigen überein; noch mehr ist dies der Fall mit den Resultaten von Grégoire und Berghs und von Wilson Smith, die bei den *Pelliasporen* und den Sporenmutterzellen von *Osmunda regalis* auch die ganze Spindel aus Cytoplasma entstehen sahen.

Alles, was bezüglich der Spindelbildung bekannt ist, weist darauf hin, dass die Spindel cytoplasmatischen Ursprungs ist; auch meine Resultate bestätigen dies.

Bei der Spindelbildung kommt weiter noch die Frage in Betracht, ob die Fäden des ersten und zweiten Systems gleichzeitig und in derselben Weise entstehen, und ob sie örtlich von einander geschieden sind. Strasburger bejaht die erste Frage und verneint die zweite; Němec tut gerade das Gegenteil. Bei *Frittilaria* entstehen, wie wir gesehen haben, beide Systeme von Fäden aus Cytoplasma, und in einer 2 μ dicken Schnittserie von einem Kern im Asterstadium fand ich beide Arten von Fäden in allen Schnitten; sie sind also nicht örtlich geschieden. Bezüglich dieser beiden Punkte kann ich also die Meinung Strasburgers bestätigen; die Präparaten zeigen aber auch ganz deutlich, dass das zweite System einige Zeit

nach dem ersten entsteht; darin stimmen meine Resultate also mit denen von Němec überein.

Soweit sie bis jetzt besprochen sind, stimmen meine Resultate also durchaus mit denen anderer Forscher überein. Bezüglich der noch folgenden Stadien der Kernteilung bin ich bei meiner Untersuchung der Spindel jedoch zu einer von der gewöhnlichen ganz abweichenden Meinung gekommen. Ich glaube nämlich, dass die Spindel nach dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen keine Funktion mehr zu erfüllen hat. Man legt ihr gewöhnlich eine wichtige Rolle bei der Bildung der Zellplatte bei. Aber mit Unrecht. Aus der Beschreibung, die ich im zweiten Kapitel von der Spindel gegeben habe, ist klar geworden, dass sie noch vor der Bildung der neuen Zellwand verschwindet. Dies ist bei allen von mir beschriebenen Teilungen von *Fritillariakernen* der Fall und, wie Fig 25 zeigt, bei *Vicia Faba* ebenfalls. Bezüglich dieser letzten Pflanze lenke ich die Aufmerksamkeit nochmals auf Fig. 24. Dort sehen wir schon in einem frühen Stadium alle Spindelfäden in der äquatorialen Fläche durchbrochen, ein Fall, der nicht allein steht. Eine ähnliche Zeichnung gibt Zacharias¹⁾ von den Pollenmutterzellen von *Hemerocallis flava* und Wager²⁾ von der Kernteilung in dem Vegetationspunkt von *Phaseolus vulgaris*. Es ist nicht einzusehen, wie die Spindelfäden, die im Äquator durchbrochen sind, an der Bildung einer neuen Zellwand teilnehmen können indem Verdickungen dieser Fäden im Äquator seitlich zu einer Zellplatte verschmelzen. Dennoch wird dieses allgemein angenommen und es wird deshalb mein Resultat vielleicht auf dem ersten Blick befremden. Das braucht jedoch keineswegs der Fall zu sein, denn es gibt zahlreiche Fälle von Zellwand-

1) Zacharias. Ueber Kern- und Zellteilung; Bot. Zeit., Bd. 46, 1888, Taf. II, Fig. 6.

2) Wager. The Nucleolus and Nuclear Division in the Root-Apex of *Phaseolus*; Annals of Bot., Bd. 18, 1904, Pl. 5. Fig. 27.

bildung, bei denen von einer Mitwirkung der Spindel keine Rede sein kann. In erster Linie nenne ich einige Beispiele, bei denen überhaupt keine Spindel vorhanden ist. Wenn man z. B. eine *Caulerpa* verwundet, so bildet sich eine neue Wand. Ferner kann ein plasmolysierter Protoplast von *Spirogyra* in kurzer Zeit eine neue Wand bilden; auch Schwärmsporen verschiedener Art tun dies nach dem Ausschwärmen ebenfalls.

In zweiter Linie nenne ich einige Beispiele, bei denen zwar eine Kernteilungsspindel vorhanden ist, diese aber nur einen ganz geringen Teil der ganzen Oberfläche der neuen Wand ausmacht. Wir finden dies u. a. bei den Mutterzellen der Stomata von *Aneimia*. Diese entstehen durch die Bildung einer kreisförmigen Wand mitten in einer Epidermiszelle. Der Kern der Epidermiszelle hat sich vorher geteilt, und die beiden Tochterkerne liegen dicht bei einander, die eine innerhalb, die andere ausserhalb der kreisförmigen Wand. In keinem Fall befinden sich rings um den Kern der Stomamutterzelle Spindelfäden, die an der Bildung der Wand um diesen Kern beteiligt sein könnten. Zu diesem Falle gehört auch die Bildung der Stomamutterzelle durch die Entstehung einer U-förmigen Wand bei andern Farnkräutern und die Wandbildung bei den Antipodenzellen.

Ein weiteres Beispiel liefert uns das wandständige Protoplasma der Embryosäcke, das eine Schicht von Zellen bildet. Dies geschieht, wenn die Kerne sich in Ruhe befinden. Es liessen sich leicht noch mehr Beispiele anführen; aber die hier gegebenen genügen, um zu beweisen, dass die Zellwandbildung keineswegs mit den Spindelfäden in Verbindung zu stehen braucht. Aus der gegebenen Beschreibung folgt, dass dies bei *Fritillaria* und *Vicia Faba* auch nicht der Fall ist. Wie aber die neue Zellwand eigentlich entsteht, habe ich nicht weiter verfolgt, sondern späteren Untersuchungen überlassen.

Durch meine Untersuchungen habe ich jedoch noch über einige andere Punkte Klarheit bekommen. In erster Linie teile ich hier einiges mit über die Vakuolen, die bei einigen Stadien der Kernteilung innerhalb der Teilungsfigur wahrzunehmen sind. Ich habe hier, im Lichte der Theorie von de Vries und Went, namentlich ihre Herkunft im Auge. Bevor ich jedoch darauf näher eingehe, erinnere ich noch einmal an die verschiedenen Fälle der Kernteilung, die ich auf Seite 36 näher auseinander gehalten habe. Der erste Fall, den ich dort beschrieben habe, ist für unsere Frage ohne Bedeutung, da die Teilungsfigur nicht das Stadium erreicht, in dem die Vakuolen wie beim zweiten und dritten Fall zu sehen sind. Diese beiden letzten Fälle sollen hier näher betrachtet werden. Zu dem zweiten Fall rechne ich die freien Kernteilungen im Wandbeleg, in dem die Zellbildung gerade begonnen hat, und zum dritten Fall die Kernteilungen bei der Teilung der ersten Endospermzellenschicht in zwei Zellschichten. In diesen Fällen ist das Verhältnis der verschiedenen Vakuolen derselben Zelle zu einander sehr verschieden. Im zweiten Fall dominiert die grosse Vakuole des Embryosackes; sie hat mit den Zellteilungen nichts zu tun, sondern bleibt intakt; ferner befinden sich viele Adventive Vakuolen im körnigen Protoplasma. Im dritten Fall finden sich einige gleichwertige Vakuolen, die sich bei der Zellteilung wie bei der gewöhnlichen vegetativen Zellteilung verhalten.

Sehen wir zunächst, woher die Vakuolen kommen, die bei den Teilungen des zweiten Falles innerhalb der Teilungsfigur sichtbar werden. Im Protoplasma, das diese Figur umgibt, sind in allen Stadien zahlreiche Vakuolen vorhanden. Vor dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen befinden sich nur in einzelnen Fällen Vakuolen innerhalb des Kernraumes. Später ändert sich dies jedoch bald. Noch eine Zeit lang bilden die neu entstehenden

Tochterkerne mit dem Komplex der Verbindungsfäden ein einigermaßen selbständiges Ganzes. Die Verbindungsfäden hängen mit den Tochterkernen zusammen und sind dicht auf einander gedrängt; es befindet sich nur wenig Protoplasma zwischen den Fäden. Kaum aber ist der Zusammenhang der Fäden mit den Kernen unterbrochen, so erscheint dort Protoplasma mit Vakuolen in stets zunehmender Menge. Bei meinen Präparaten von zahlreichen aufeinander folgenden Stadien habe ich immer mehr den Eindruck bekommen, das dieses Protoplasma mit seinen Vakuolen, das später auch mehr in der Äquatorialebene vorhanden ist, von der Stelle aus, wo es zuerst sichtbar wird, also von den Tochterkernen aus, zum Äquator dringt. In den Figuren 13—17 ist dies zu sehen. Ohne Zweifel stammt dieses Protoplasma mit seinen Vakuolen, das in der Teilungsfigur sichtbar wird, aus dem umliegenden Protoplasma, und die zwischen den Tochterkernen vorhandenen Vakuolen sind also als Adventive Vakuolen zu betrachten, wie solche im körnigen Protoplasma des Embryosackes stets in grosser Menge vorkommen. Diese Vakuolen sind es auch, die bei der simultanen Bildung einer Schicht Endospermzellen in die Zellen aufgenommen werden. Die grosse Vakuole des Embryosackes bleibt dabei intakt. Einen analogen Fall finden wir bei der Bildung der ungeschlechtlichen Zoosporen in den Zellen von *Hydrodictyon*. Die Schwärmsporen, welche in den Mutterzellen zu Tausenden entstehen und sich daselbst bald zu neuen Zellnetzen zusammenfügen, bilden sich vollständig aus den äusseren Schichten des wandständigen Protoplasma's. Wenn sie ganz ausgebildet und in voller Bewegung sind, kann man die Wand der grossen Vakuole der Mutterzelle, den Tonoplast, noch vollkommen intakt in dieser Zelle liegend beobachten. Dennoch zeigen die aus den Schwärmsporen gebildeten Zellen vom Anfang an kleine Vakuolen, welche also ohne Zweifel schon vor der Schwärmsporenbildung als

Adventive Vakuolen im Protoplasma der Mutterzelle vorhanden sind und in die Schwärmsporen aufgenommen werden. ¹⁾ Went ²⁾ beschreibt ähnliche Fälle.

Bei den Teilungen des 3. Falles finden wir den Gegensatz zwischen den kleinen Adventiven Vakuolen und der sehr grossen mittleren Vakuole nicht, sondern in den neugebildeten Zellen nur einige Vakuolen von ungefähr gleicher mittelmässiger Grösse. Diese sind es auch, die in die Spindel eindringen: dieser Fall stimmt also im wesentlichen mit dem von *Spirogyra* überein, bei der van Wisselingh in ausgewachsenen Zellen bei der Teilung Ausläufer der grossen Zellvakuole in die Spindel eindringen sah ³⁾.

Aus dem Vorhergehenden sehen wir also, dass in beiden Fällen der Teilung, die Vakuolen, die sich in bestimmten Stadien innerhalb der Teilungsfigur befinden, dort nicht entstehen, sondern anderwärts schon vorhanden waren. Meine Resultate stimmen also mit den Anschauungen von de Vries und Went überein.

Dem Vorstehenden will ich hier noch einiges über die Selbständigkeit des Kernes hinzufügen. Strasburger beschreibt bei *Fritillaria* und bei *Spirogyra* in dem Stadium, in dem die aufeinander gedrängten Chromosomen der Tochterkerne wieder auseinander gehen und wo von der Spindel nur noch die Verbindungsfäden übrig sind, einen „Verbindungsschlauch“. Er versteht darunter eine Protoplasmaschicht, welche die ganze Teilungsfigur umgibt, wodurch dieselbe eine gewisse Selbständigkeit erlangt ⁴⁾.

1) Das Obenstehende nach nicht veröffentlichten Beobachtungen des Herrn J. W. Moll.

2) Went. Die Entstehung der Vakuolen in den Fortpflanzungszellen der Algen; Jahrb. Wiss. Bot., Bd. 21. 1890. p. 346. 350. 356. 359.

3) Van Wisselingh. Untersuchungen über *Spirogyra*; Bot. Zeit., 1902. p. 115.

4) Strasburger. Ueber Kern- und Zellteilung; l. c., p. 15 und 162.

Zacharias ¹⁾ schreibt ebenfalls den Kernen eine grosse Selbständigkeit zu, auch während der Teilung.

Bei meinen Untersuchungen bin ich zu der entgegengesetzten Ansicht gekommen. Schon im Knäuelstadium dringt Protoplasma in die Kerne, und aus der Beschreibung und den Zeichnungen geht am deutlichsten hervor, dass in den späteren Stadien jede Selbständigkeit verschwindet, was auch durch die Untersuchungen van Wisselinghs über *Spirogyra* bestätigt wird. Das Chromatin ist der einzige Kernbestandteil der in allen Stadien seine Selbständigkeit behält; nur hier zeigt sich also eine vollkommen erbliche Organisation. Die Kernmembran und die Spindel zeigen diese keineswegs; sie sind vielmehr als vorübergehende Cytoplasmastrukturen zu betrachten, die bei jeder Teilung durch Neubildung entstehen.

Bezüglich der Spindel habe ich hier ausschliesslich die Fälle im Auge, bei denen sich keine Centrosomen finden; hinsichtlich der Fälle, in denen sie vorhanden sind, erwähne ich hier nur einen Satz von Wilson. Wo er über die Entstehung der Centrosomen *de novo* spricht, sagt er ²⁾; „the evidence in favour of such a possibility has of late rapidly increased.“

ZUSAMMENFASSUNG DER RESULTATE.

Das Gerüst des ruhenden Kernes ist ein anastomosierendes Netzwerk mit dicken, unregelmässigen Knoten. Es besteht nicht aus Lininfäden, in denen Chromatinkörner zerstreut liegen, sondern besitzt eine homogene Zusammensetzung (Fig. 1—4).

Die Spindel entsteht innerhalb des Kernraumes aus Pro-

1) Zacharias. Ueber Kern- und Zellteilung; Bot. Zeit., Bd. 46 1888, p. 33.

2) Wilson. The Cell in Development and Inheritance, New-York, 1902, p. 305

toplasma, das nach der Auflösung der Wand in den Kernraum eingedrungen ist. (Fig. 5 und 6).

Die Spindel bildet sich nicht sogleich ganz vollständig. Bis kurz vor dem Asterstadium sind nur Fäden vorhanden, die von Pol zu Pol laufen. Im Asterstadium entsteht ein zweites System dickerer Fäden, die nur bis zum Äquator gehen und dort an den Chromosomen befestigt sind. Beide Arten von Fäden entstehen durch die Aneinanderreihung körniger Elemente des Protoplasmas, das in den Kernraum eingedrungen ist (Fig. 5—10).

Nach dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen hat die Spindel keine Funktion mehr zu erfüllen. Das zweite System von Fäden verschwindet sehr bald (Fig. 11, 12), und die Verbindungsfäden nehmen nicht nur nicht an Zahl zu, sondern geraten auch bald in Zerfall. Das Protoplasma mit den Vakuolen, das den Kern umgibt, dringt in die Teilungsfigur ein, wodurch die Verbindungsfäden in Bündeln gruppiert und nach dem Rande gedrängt werden (Fig. 13—22).

Die Vakuolen, die innerhalb der Teilungsfigur sichtbar werden, sind dort nicht durch Neubildung entstanden; sondern waren anderswo schon preformiert da. In dem einen Falle sind es die Adventivvakuolen aus dem körnigen Protoplasma des Embryosackes (Fig. 13—17, 19 und 20), und im andern Falle die gewöhnlichen Zellvakuolen (Fig. 21—25).

Dermosomen bilden sich nicht, und es entsteht keine Zellplatte (Fig. 22—25).

Der Kern besitzt, während der Teilung, nur was die Chromosomen angeht eine deutlich ausgesprochene Selbständigkeit dem umgebenden Protoplasma gegenüber.

GRONINGEN, Juni 1904.

ERKLÄRUNG DER TAFELN.

Die Figuren sind mit Hilfe des Zeichenprismas gezeichnet worden nach Schnitten von Material, das mit der starken Flemmingschen Lösung fixiert worden war. Fig. 1—4 mit Zeiss, Compensations-Ocular 18 und homogener Immersion, Apertur 1,80, und Fig. 5—25 mit Compensations-Ocular 6 und derselben Immersion. Die Schnitte waren gefärbt mit Gentianaviolett R. (Trommsdorff).

TAFEL I.

- Fig. 1. Gerüst eines Kernes aus dem Embryosack von *Fritillaria* im Ruhezustand.
„ 2. Gerüst eines gleichen Kernes von *Fritillaria* im frühen Knäuelstadium.
„ 3. Gerüst eines Kernes aus der Samenknospe von *Tulipa sylvestris* im Ruhezustand.
„ 4. Gerüst eines gleichen Kernes von *Tulipa sylvestris* im Knäuelstadium.

Fritillaria imperialis.

Embryosack.

- Fig. 5. Medianer Längsschnitt eines Knäuelstadiums.
„ 6. Dasselbe von einem älteren Knäuelstadium.
„ 7. Dasselbe von einem Kern kurz vor dem Asterstadium.
„ 8. Ein tangentialer Längsschnitt desselben Kernes wie in Fig. 7.
„ 9. Medianer Längsschnitt eines jungen Asterstadiums.
„ 10. Dasselbe von einem älteren Asterstadium.

TAFEL II.

- Fig. 11. Dasselbe von einem Diasterstadium.
 „ 12. Dasselbe von einem Kern kurz nach dem Diasterstadium.
 „ 13. Dasselbe von einem Stadium, in dem die Chromosomenmasse sich zu lockern beginnt.
 „ 14. Dasselbe von einem etwas älteren Stadium.
 „ 15. Dasselbe von einem noch etwas älteren Stadium.
 „ 16. Querschnitt des Stadiums der Fig. 14 in der Äquatorialebene.
 „ 17. Dasselbe auf der Grenze von Tochterkern und Verbindungsfäden.

TAFEL III.

- Fig. 18. Tangentialer Längsschnitt des Stadiums, bei dem die Bündel nach dem Rande gedrängt worden sind.
 „ 19. Medianer Querschnitt des Stadiums von Fig. 18.
 „ 20. Dasselbe einer Teilungsfigur mit den Bündeln nach einer Seite geordnet.
 „ 21. Medianer Längsschnitt einer Teilungsfigur aus einer Zelle der ersten Endospermzellenschicht. Das Stadium stimmt mit dem von Fig 18 überein.
 „ 22. Dasselbe von einem mit dem von Fig. 18, 19 und 20 übereinstimmenden Stadium.

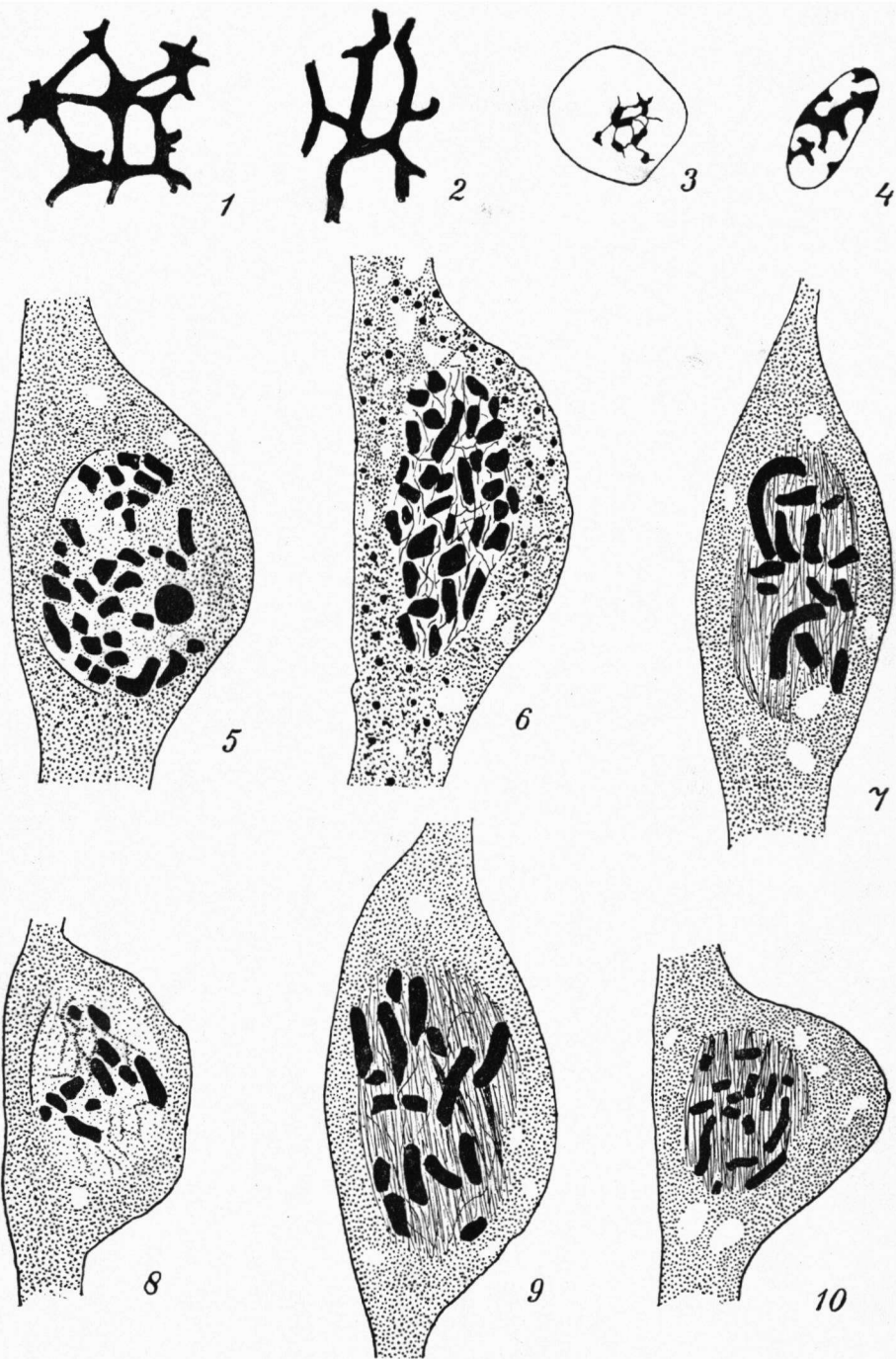
Vicia Faba.

Vegetationskegel der Wurzel.

- Fig. 23. Medianer Längsschnitt eines Stadiums wie in Fig. 12.
 „ 24. Dasselbe von einem etwas älteren Stadium.
 „ 25. Dasselbe von einem Stadium, das etwas älter ist als das in Fig. 22. An der rechten Seite sind noch die letzten Überreste der Spindel zu sehen.

INHALT.

	Seite
Einleitung	160
I. KAPITEL. Literaturübersicht	161
§ 1. Das Gerüst des ruhenden Kernes	161
§ 2. Das Chromatin während des Teilungsprozesses	168
§ 3. Das Verhältniß zwischen den Nucleolen und dem Chromatin	171
§ 4. Die Kernspindel	171
§ 5. Die Zellplatte	179
II. KAPITEL. Eigene Untersuchungen	181
I. Material	181
II. Methode	182
III. Beobachtungen	185
§ 1. Das Kerngerüst vom ruhenden Stadium bis zur Entstehung der Chromosomen	185
§ 2. Weitere Formveränderung der Chromosomen	190
§ 3. Die Kernspindel	191
§ 4. Die Zellteilung	199
III. KAPITEL. Besprechung der Resultate	202
§ 1. Die chromatische Substanz und die Nucleolen	202
§ 2. Die Spindel und die Zellteilung	205
Zusammenfassung der Resultate	214
Erklärung der Tafeln	216

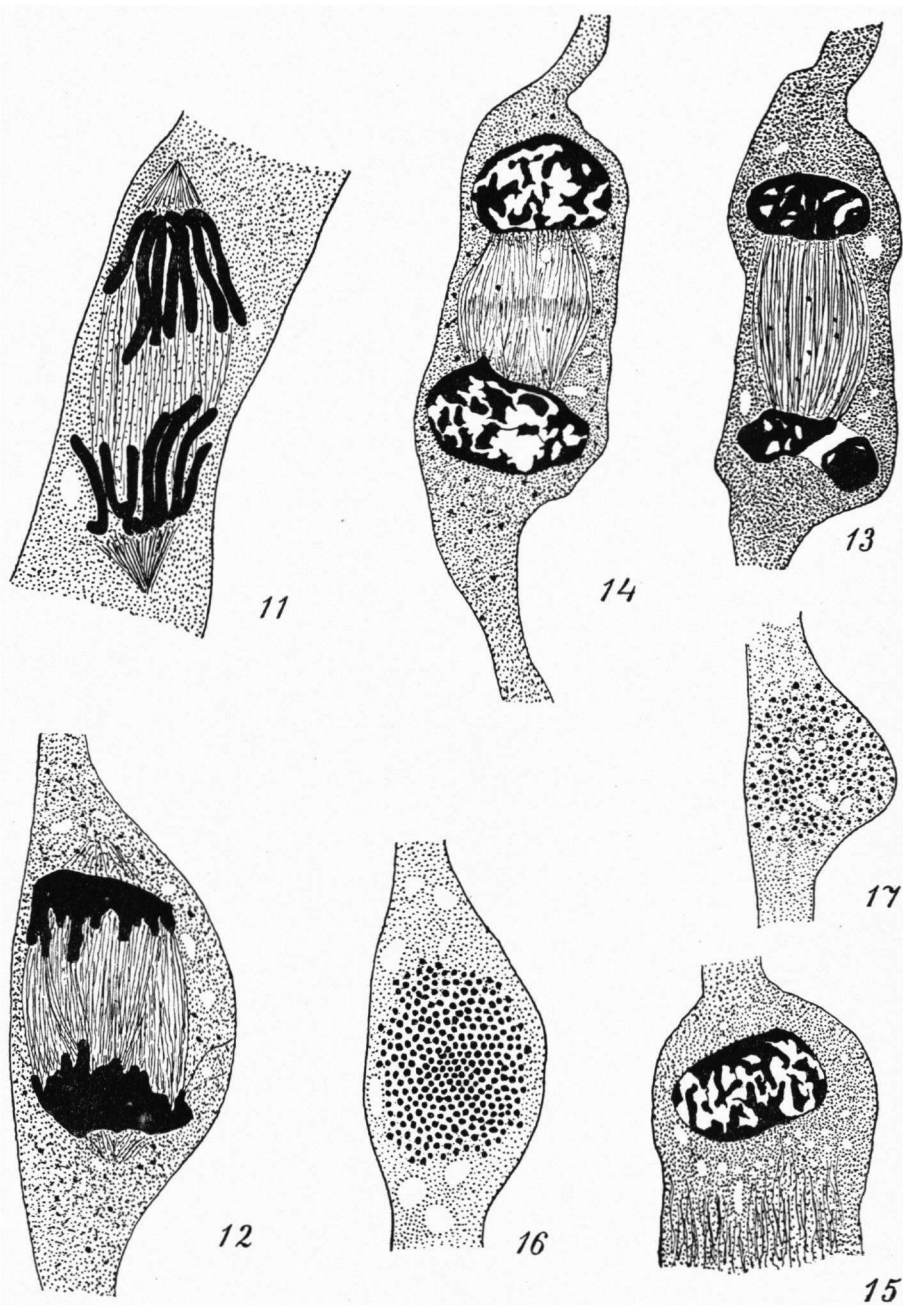


0 5 10 15 20 μ

Fig. 1-4.

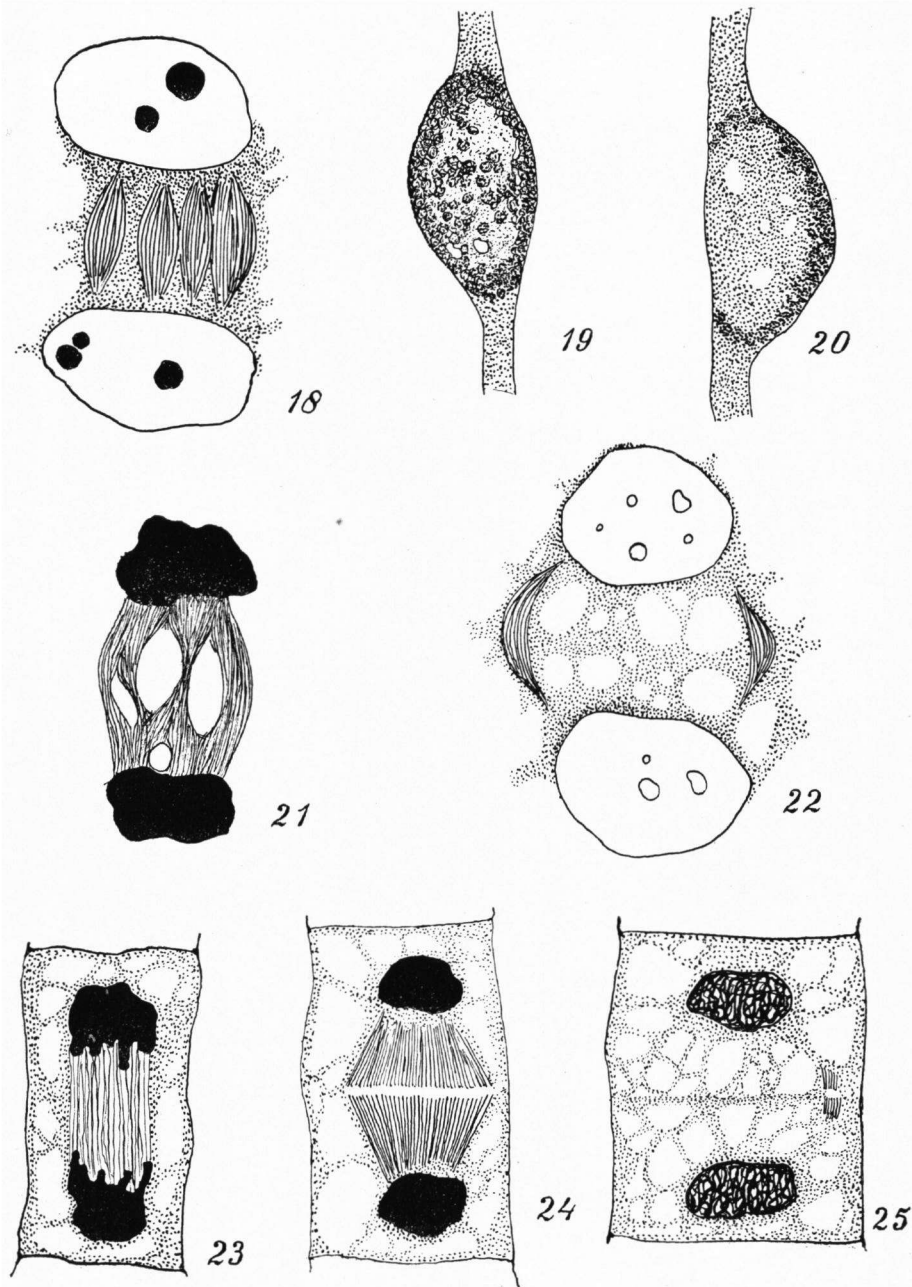
0 5 10 15 20 μ

Fig. 5-10



0 5 10 15 20 25 30 35 40 μ

Fig. 11-17.



0 5 10 15 20 25 30 35 40 μ

Fig. 18-25.