

Über eine zweifache Reduktion bei der Bildung der Geschlechtszellen und darauf folgende Befruchtung mittels zwei Spermatozoiden und über die Individualität der Chromosomen bei einigen Polytrichum-arten

von

J. und W. DOCTERS VAN LEEUWEN-REIJNVAAN.

I. EINLEITUNG.

Während über die spermatogenese der Lebermoose speziell in den letzten Jahren viele Untersuchungen veröffentlicht wurden, so kann man in der Litteratur nur gelegentlich etwas über die Spermatogenese der Laubmoose finden. Die älteren Autoren behandeln meistens nur die Frage, wie die Spermatide sich in einen Spermatozoid verwandelt, und aus welchen Teilen der Zelle die verschiedenen Abschnitte des männlichen Samenkörpers entstehen. Da diese Arbeiten schon in vielen Schriften eingehend behandelt wurden, und wir uns gerade nicht mit diesen letzten Änderungen beschäftigt haben, möchten wir nach dem, was in den Arbeiten von Ikeno u. a. hierüber gesagt wird, hinweisen.

1908 erschien eine interessante Arbeit von Ikeno ¹⁾

1) Ikeno. Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*. Beihefte z. Bot. Centrbl. Bd. 15, 1903.

über die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*, welche zahlreiche Untersuchungen bei den Lebermoose veranlasst hat. Es war damals unsere Absicht dieselbe Vorgänge auch bei den Laubmoosen zu untersuchen, wir fanden aber dabei solche unerwarteten Tatsachen, dass wir auch die Oogenese und Befruchtung mit in Untersuchung zogen.

Da aber seitdem drei Jahren nach dem Erscheinen der Ikenosche Verhandlung, so weit wir wissen, nichts über diese Sachen bei Laubmoosen untersucht worden ist, brauchen wir davon auch keine historische Übersicht zu geben, indem die Befunde an andern Pflanzen von selbst in diesem Artikel berücksichtigt werden sollen¹⁾.

Über das Entstehen der weiblichen Sexualorgane sind dagegen zahlreiche Arbeiten publiziert worden. Vor einigen Jahren noch ein Artikel von Holferty²⁾, in dem er eine Homologie der Antheridien und Archegonien zu beweisen sucht. Diese Arbeiten gehen aber nicht weiter als die Entwicklung der Archegonien, und über Befruchtung sprechen sie entweder nicht oder nur gelegentlich, wie z.B. Gayet³⁾, welche diese bei *Fissidens* gesehen haben will, aber weiter wenig darüber mitteilt.

Wir studierten die *Polytrichum*-arten, da diese leicht zu

1) Nachdem wir unsere Artikel druckfertig gemacht hatten, empfingen wir die Abhandlung von P. Arens, Zur Spermatogenese der Laubmoose (Inauguraldissertation Bonn, Aug. 1907). Dieser Untersucher studierte zufällig auch *Polytrichum juniperinum* und dazu auch *Mnium hornum*. Bei ihm findet man eine ausführliche Literaturübersicht, einige Aufsätze der letzteren Zeit waren ihm noch unbekannt. Dass wir mit vielen von seinen Resultaten nicht einverstanden sind, wird man aus unserem Artikel ersehen; am Ende des III^{ten} Abschnittes wollen wir noch einige Punkte besprechen.

2) Holferty. The Archegonium of *Mnium cuspidatum*. Bot. Gaz. XXXVII, 1904.

3) L. A. Gayet. Recherches sur le développement de l'archégone chez les Muscinées. Ann. d. Sc. nat. Bot. Série 8, T. III, 1897.

sammeln sind und wir durch ihre besondere Lebensweise sowohl an trocknen als an feuchten Stellen allerlei Eigentümlichkeiten zu finden meinten. Die Eigenartigkeiten haben sich aber in anderer Weise gefunden, als wir sie erwarteten. Diese Untersuchung hat schon einige Jahre gedauert. Die Spermatogenese war schon im ersten Jahre abgeschlossen, die Oogenese und Befruchtung haben erst nach langen, vergeblichem Suchen Resultate geliefert.

II. MATERIAL UND METHODEN.

Zu unseren Untersuchungen benutzten wir einige *Polytrichum*-arten, nämlich *P. piliferum*, *juniperinum*, *formosum* und *commune*. Die Pflanzenteile wurden fast immer im Freien fixirt und dazu gebrauchten wir meistens eine Sublimatlösung (9 Teile Kaisersche Sublimatlösung (HgCl_2 10 G, Eisessig 3 G, H_2O 300) und Formaline 1 Teil). Gelegentlich auch die Sublimatlösung von Apathy (HgCl_2 3 G, NaCl $\frac{1}{2}$ G, alcohol 50%, 100 c.M³.) und das bekannte schwache Flemmingsche Gemisch. Es ist wohl unnötig weiter hierüber zu sprechen. Jeder muss nun einmal ein Fixativ für sich ausprobieren, und man sieht oft dass einer ein Fixativ bei demselben Objekt für vorzüglich hält, für welches ein Anderer es für verderblich achtet.

Die Antheridienstände werden meistens in 4 bis 8 Stunden fixirt, die zarten, weiblichen Blüten in einer halben bis einer Stunde.

Von den männlichen Blüten präparierten wir die äussersten Hüllblätter ab, und warfen sie so in die Fixirlösung, aber bei den weiblichen Blüten war dies nicht so einfach. Wenn man befruchtete Stadia nötig hätte, und man untersuchte ohne weiteres die weiblichen Blüten, so würde es wohl sehr zufällig sein, wenn ein befruchtetes Archegonium sich vorträte. Wir präparierten die meisten Blätter ab, und konnten dann leicht mit einer starken Lupe sehen,

ob der Hals des Archegoniums noch geschlossen war oder nicht. Wir fixirten nun die Blüten, welche ein Archegonium mit etwas gewundenem oder geschrümpftem Hals hatten, die jüngeren Archegonien findet man doch in grosser Anzahl dabei.

Speziell *Polytrichum formosum* hat Archegonien mit einem ausserordentlich langen Halse, und nach einiger Übung gelingt es leicht die guten Stadien zu finden. Leider besteht auch dann noch die Möglichkeit, dass ein Archegonium mit geschrümpftem Halse eine unbefruchtete Eizelle einschliesst.

Die Objekte wurden mittels Zedernöls oder Benzols eingebettet, was weiter keine besondere Schwierigkeiten hat. Allein war es bei den Antheridien mit den harten Blättern nötig ein hartes Paraffin (58° Schmelzpunkt) zu verwenden. Wir können hier zugleich unser Bedenken äussern gegen das unnötig lange Verweilen der Objekte im Paraffinofen, was in verschiedenen Lehrbüchern noch angeraten wird. Selbst bei den härtesten Antheridienblüten war dies nicht nötig. Einige, höchstens 8, Stunden genügen immer um ein ganz durchtränktes Objekt zu bekommen. Auch beim Studium von Wurzellenden und Vegetationspunkten ist uns aufgefallen, wie unnötig lange die Zeit des Einschliessens meistens genommenen wird. Wir verfahren auf folgende Weise. Die Objekte kommen in Alkohol-absolute, während der Nacht in ein Gemenge von gleichen Teilen Alkohol-absolute und Benzol, dann am folgenden Morgen eine oder 2 Stunden in Benzol. Darauf bringen wir die Objekte mit Benzol in den Paraffinofen und fügen allmählich Stücke Paraffin von 58° Schmelzpunkt hinzu. Nach einiger Zeit ist der Benzol verdunstet und man kann die Objekte in ein anderes Glas mit reinem Paraffin bringen und bald einschliessen. Will man, dass das Einschliessen langsam geschieht, dann nimmt man viel Benzol und weniger Paraffin, andernfalls gerade das umgekehrte. Aber selbst-

verständlich so viel Paraffin, das dieses, wenn der Benzol verdunstet ist, die Objekte gut bedeckt. Die kleinen Archegonien brauchten 2—3 Stunden, die harten Antheridenblüten 6 bis 8 Stunden zum Durchtränken.

Die winzigen, loospräparierten, weiblichen Blüten, welche wir nur mit einigen Blättern fixierten, wurden ganz weiss in der Sublimatlösung und speziell beim Durchtränken der Objekte mit Zedernöl oder Benzol wurden sie so transparent, dass man sie noch kaum sehen konnte. Wir verfahren nun auf folgende Weise. In dem Alkohol-absolute wurde eine Spur Pikrinsäure gelöst, und die Objekte kamen dann während des Entwässerns in diesen schwach gelb gefärbten Alkohol, und werden dann auch gelb gefärbt. Auch zu der folgenden Flüssigkeit, z. B. Alkohol Benzol wird ein wenig Pikrinsäure gefügt, und nun behalten die Objekte während der ganzen, weiteren Behandlung die gelbe Farbe. Man kann dann weit leichter als sonst, mit diesen kleinen Objekten manövrieren, welche sich auch im Paraffin deutlicher zeigen, was das Orientieren der Präparate auf der Mikrotomtafel sehr erleichtert. Bei der Färbung verursacht diese Pikrinsäure gar keine Schwierigkeiten, meistens ist dieses schon wieder in den verschiedenen Flüssigkeiten, worein die Präparate vor der Färbung kommen, wieder verschwunden.

Mit einem scharfen Messer bekommt man ohne Mühe Schnittserien von 2 bis 3 μ . Wie immer bei Objekten ungleicher Konsistenz, lassen die Schnitte oder Teile derselben, z. B. die harte Paraphysen beim Färben oft vom Objektglas los. Wir verfahren aber auf folgende Weise. 1) Nachdem das Paraffin aus den Schnitten mittels Xylol und 1) Alkohol-absolute aufgelöst worden ist, taucht man

1) Methode von Regaud zitiert aus: L. Launois. Précis de Technique Histologique. Paris, 1906, pag. 33.

die Gläser in eine $\frac{1}{4}$ % Zelloidin Lösung in Alkohol-absolute und Aether. Dann lässt man die Gläser etwas abtropfen und setzt sie in 70 % igen Alkohol, damit das Zelloidin härtet. Man kann dann darauf ohne Schaden alle Färbungen verwenden.

Wir färbten fast immer mit Eisenhaematoxylin nach Heidenhain. Ikeno¹⁾ und Lewis²⁾ und neuerdings auch Pedro Arens³⁾ geben an, dass die Antheridien der Lebermoose sich schwer mit anderen Farbstoffen tingieren lassen. Doch gebrauchten wir zur Vergleichung noch andere Färbungen.

III. DIE ENTWICKLUNG DER MÄNNLICHEN SEXUALORGANE.

Wie schon oben erwähnt wurde, ist über die Spermatogenese, was die *Muscineae* betrifft, nur wenig publiziert worden. Guignard⁴⁾ und Strasburger⁵⁾ haben sich beschäftigt die Veränderungen der Spermatiden in Spermatozoiden an *Pellia*-arten nachzuforschen. In Anschluss damit zog Strasburger *Polytrichum commune* in Vergleich und fand, dass der Vorgang dort fast ganz, wie bei *Chara*, wie es bei dieser Pflanze von Belajeff⁶⁾ und Mottier⁷⁾ beschrieben wurde, verläuft. Strasburger beschreibt, dass auf der einen (vorderen) Seite des Kernes

-
- 1) S. Ikeno. Beihefte z. Bot. Centr. Bd. 15, 1903.
 - 2) Lewis. Bot. Gazette. Bd. 42, 1906.
 - 3) Pedro Arens. Inaugural-Dissertation, Bonn. 1907.
 - 4) L. Guignard. Développement et constitution des Anthérozoïdes, Rev. gén. de Bot. Bd. I, 1899.
 - 5) E. Strasburger. Schwärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoiden etc. Histol. Beiträge IV, 1892.
 - 6) W. Belajeff. Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoiden der Pflanzen. Characeen. Flora 1894, Bd. 79.
 - 7) D. M. Mottier. The Development of the Spermatozoiden of Chara. Ann. of Botany, Vol. 18, 1904.

ein stark lichtbrechender Cytoplasmahöcker auftritt, an dem bald die Zilien wachsen und der also ein Blepharoplast ist. Der Kern verlängert sich zu einem Bande, steht in Verbindung mit dem Blepharoplaste und bildet mit ihm das Spermatozoid. Strasburger ersieht im Blepharoplasten nur eine Verdickung der Hautschicht und keinen zentrosomenartigen Körper.

Über die Spermatogenese der Lebermoose erschien von Ikeno¹⁾ eine genaue Beschreibung. An *Marchantia polymorpha* beobachtete er erstens die Teilungen in den Antheridien. Er sah deutlich zentrosomenartige Gebilde und fand dass diese bei jeder Teilung aus dem Kerne entstehen. Es wird nämlich von dem Chromatin des Kernes ein kleiner Teil abgeschnürt. Dieser Teil tritt aus dem Kerne heraus, teilt sich in zwei Körperchen, die nach den zwei gegenüberliegenden Seiten der Zelle wandern. Die Spindel entsteht dann zwischen beiden. Nach der Teilung im Diasterstadium verschwinden sie wieder. Nur nach der letzten Teilung bleiben sie und liegen in dem Cytoplasma. Bald gehen sie dann nach der Ecke der Spermotide und werden zum Blepharoplasten.

In seinem Artikel: „Blepharoplasten im Pflanzenreich“ (Biol. Centr.bl. 1904, Bd. 24) schrieb Ikeno, dass er beschäftigt sei, einige Laubmoose zu untersuchen und bereits gefunden habe, dass bei *Atrichum angusatum* und *Pogonatum rhopalophorum* in den jungen Antheridien keine Zentrosomen wahrnehmbar sind. Er vermutet, dass dieselben erst in der Spermotid-mutterzellen auftreten, oder vielleicht erst in der Spermotide selbst, und also gleich zum Blepharoplasten werden.

Ikeno sah dann im Cytoplasma noch einen chromatoiden Teil auftreten, den er „chromatoider Nebenkörper“

1) S. Ikeno. Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*, Beihefte z. Bot. Centr. Bl. Bd. 15, 1903.

nennt und dessen Bedeutung er, ebenso wenig wie seine Entstehungsweise kennt. Nach einiger Zeit ist dieser Körper wieder verschwunden. Der Blepharoplast verlängert sich und es differenziert sich nun ein Band vom ihm aus dem Kerne zu, welches aus Cytoplasma entsteht. Dieses Band tritt schliesslich in Verbindung mit dem verlängerten Kerne.

Nach Ikeno haben mehrere Botaniker Untersuchungen an andern Lebermoosen angestellt. So beobachtete Lewis ¹⁾ den Prozess an *Riccia*-arten und fand, dass bei der Entwicklung der Antheridien Zentrosomen auftreten, welche nach jeder Teilung, ausgenommen nach der letzten, verschwinden. Von ihrer Entstehung konnte er nichts sehen. Die Vorgänge sind weiter als die von Ikeno beschriebenen; ein chromatoïder Nebenkörper wurde aber nicht sichtbar.

Bolleter ²⁾, an *Fegetella conica*, erhielt die nämlichen Befunde wie Ikeno, obgleich er nur in der letzten Teilung in den Antheridien die Zentrosomen finden konnte. Er sah auch einen chromatoïden Nebenkörper und spricht die Vermutung aus, dass dieser eine Rolle spiele beim Entstehen des Bandes, weil er während des Anwachsens des letzteren kleiner wird.

Dieses wurde an *Fossombronia longiseta* von Humphrey ³⁾ wirklich wahrgenommen. Der chromatoïde Nebenkörper legt sich hier an die Seite der Spermatide zwischen Kern und Blepharoplast, verlängert sich und wird allmählich zum bekannten Bande. Humphrey meint einen dergleichen Vorgang gehe auch wohl aus den Abbildungen

1) Ch. E. Lewis. The Embryology and Development of *Riccia lutesceus* and *R. crystallina*. Bot. Gaz. XLII, 1906.

2) Bolleter. *Fegetella conica*. Beihefte zur Bot. Centr.bl., XVIII, 1, 1905.

3) H. B. Humphrey. The Development of *Fossombronia longiseta*. Ann. of Botany, XX, 1906.

Ikeno's hervor, was wir ihm aber gar nicht beipflichten können.

Der chromatoïde Nebenkörper, wie ihm Ikeno beschrieben hat, ist von Botanikern hie und da gefunden worden, d. h. bei den Lebermoosen und neuerdings von Arens an *Mnium hornum*. In der Litteratur über die tierische Spermatogenese findet man mehr über einen solchen Körper erwähnt. Es war Benda ¹⁾, der diesen Namen einem Gebilde gab von dem er meinte, dass es während der Spermatozoidbildung aus dem Kern im Cytoplasma träte und dann verschwinde.

Später wurde von zahlreichen Forschern darüber berichtet. Niessing ²⁾ gab zum ersten male eine eingehende Schilderung und beschrieb auch die Veränderungen ausführlich. Benda dachte sich diesen Nebenkörper als einen dunkel-färbaren Punkt mit einem mützenförmigen hellen Teil, aber Niessing, wie auch Lenhossek ³⁾, geben an, dass der Nebenkörper sich intensiv mit Eisenhaematoxylin schwärzt. Die anderen, basischen wie sauren, Farbstoffe liessen es untingiert. Meves ⁴⁾ vermutet, dass es Nuclearsubstanz sei, welche aus dem Kerne ausgestossen werde und weiter keine Bedeutung habe, während A. und K. E. Schreiner ⁵⁾ angeben, dass dieser chromatoïde Nebenkörper aus dem Kerne tritt und später wieder in das Spermatozoid aufgenommen wird. Neuerdings erschien

1) Benda. Neue Mitteilungen über die Entw. der Genitaldrüsen. Arch. f. Anat. u. Physiol. Abt. Physiol. 1891.

2) Niessing. Die Beteiligung von Centrankörper und Sphäre am Aufbau der Samenfadens bei Säugetiere. Arch. f. micr. Anat. Bd. 48, 1896.

3) Lenkossek. Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. micr. Anat. Bd. 51, 1898.

4) Meves. Structur und Histogenese. der Spermien. Ergebn. d. Anat. und Entw. Bd. XI, 1901.

5) A. und K. E. Schreiner. Archiv de Biologie. Tome 21, p. 183.

noch ein Artikel von Wasileff,¹⁾ welcher ähnliche Gebilde nicht als eine besondere Art Chromatin, sondern als ein überflüssiges, schädliches Chromatin ansieht. Solches ist aber leichter zu vermuten, als zu beweisen, und wir halten die Frage der Funktion dieser Nebenkörper noch für völlig ungelöst.

Wir wollen jetzt eine Beschreibung unserer Ergebnisse an den Polytrichumarten geben.

Die männlichen Blütenstände sind schon im Winter sehr gut zu finden; wir sammelten sie zuerst im Februar. Die Stände sind dann aber noch nicht geöffnet, die Hüllblätter zusammengeneigt. Man findet darin die Antheridien in sehr verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung, von den jüngsten Anlagen derselben ab, bis zu denen, in welchen die Spermatozoiden schon gebildet sind. *Polytrichum juniperum* und *piliferum* reifen ihre Sexualzellen etwas eher als *P. formosum* und *commune*. Die ersteren blühen Ende April, während die Blütenstände von *P. commune* zuletzt, im Mai und Juni fertig sind.

Im März und April kann man dann natürlich alle Stadien der Spermatogenese finden. Die Teilungen in den Antheridien geschehen nicht in allen Zellen zu gleicher Zeit. Man findet die Mitosen beisammen liegen und so sind auch die Zellen nicht alle in ein und demselben Entwicklungsstadium. Auch andere erzielten diese Tatsache und Holferty²⁾ sagt, dass diese Gruppen von Zellen die Abkömmlinge einer Mutterzelle sind. Beim Fixieren ziehen diese Zellgruppen sich oft ein wenig zusammen, sodass man dann die Antheridien in Segmenten verteilt sieht. Die Teilungen kommen immer in solch einem Segment vor. Speziell bei den letzten Änderungen der Spermatozoiden

1) Wasileff. Die Spermatogenese von *Blatta germanica*. Arch. f. micr. Anat. Bd, 70. 1907.

2) Holferty. The Archegonium of *Mnium cuspidatum*. Bot. Gaz. XXXVII. 1904.

ist dieses vorteilhaft, da man in einem Antheridium Zellen findet, welche nur wenig von einander in Entwicklung verschieden sind.

Bei allen Kernteilungen sind sehr gut Körper wahrzunehmen, die als Zentrosomen zu bezeichnen sind, und deren Ursprung wir auch haben sehen können.

Der Kern selber zeigt bei starker Differenzierung der Eisenhaematoxyline nur einen grossen sehr intensiv gefärbten zentralen Körper. Ob dieser als eigentliches Kernkörperchen (Nucleolus) zu betrachten sei oder nicht, wollen wir dahin gestellt lassen, speziell wegen der geringen Übereinstimmung der verschiedenen Autoren über diesen Punkt. Bei der Teilung zerfällt der Körper in verschiedene Stücke, aus denen die Chromosomen hervorgehen.

Bevor die Masse sich bei einer Kernteilung zu den Chromosomen auflöst, sieht man, dass sie einen kleinen Teil abschnürt (Fig. 38, 39, 40). Dieser Teil ist erst in Verbindung mit der Hauptmasse zu finden, dann aber liegt er frei in dem Kerne. Darauf bewegt sich dieses Körperchen nach der Peripherie und kommt endlich aus dem Kern heraus.

An dem Umriss der Kernmembran bleibt es liegen, (Fig. 41 u. 42), aber ändert seine Form. Das runde Körperchen wird länger, stabförmig; (Fig. 43) dann schnürt es in der Mitte ein und wird also halterförmig; (Fig. 44) endlich zerfällt es in 2 Teile, die jeder wieder ein rundes Körperchen bilden (Fig 45). Diese beiden entfernen sich nun von einander und schieben, die Kernmembran entlang, (Fig. 46, 47 u. 48) bis sie an entgegengesetzten Stellen angelangt sind. Dann entfernen sie sich von der Kernmembran und wandern nach der Aussenseite der Zelle hin, bis sie endlich an den zwei Polen angekommen sind. In diesen letzten Stadien sind die Körper oft von einem kleinen hellen Hof umgeben. (Fig. 49 u. 50).

Bald bildet sich dann ein Spindel zwischen ihnen aus (Fig. 32, 51, 52 u. 53). Sie betragen sich also wie Zentrosomen.

Dieser ganze Vorgang kommt bis soweit mit dem was Ikeno von *Marchantia polymorpha* beschreibt überein. Bei dieser Pflanze verschwinden die Zentrosomen, wenn die Chromosomen die neuen Kerne bilden.

Wir fanden nun bei den Polytrichen, dass, wenn die Chromosomen die Polpatte bilden, die Zentrosomen immer neben der Platte, aber an der anderen Seite der Chromosomen, also an der Seite der neu entstehenden Zellplatte lagen. (Fig. 54, 55, 56, 57, 58, 59 u. 24). Sie werden dann zwischen den Chromosomen der Tochterzelle eingenommen und alles fliesst zu dem neuen Kerne zusammen,

Ikeno sagt, er habe das Entstehen der Zentrosomen nur in den generativen Zellen des Antheridiums gefunden. Wir aber haben die nämlichen Vorgänge auch bei anderen Zellen gesehen, doch ist alles da nicht so deutlich.

Es liegen, hauptsächlich in den teilenden Zellen in den jungen Antheridien mehrere schwarzen Körner im Cytoplasma und dieser Umstand verschwert natürlich die Untersuchung. Aber erstens sind die Zentrosomen grösser und regelmässiger kugelförmig als die anderen Körner, und zweitens sind sie oft von einem hellen Hof umgeben. Bei Tierzellen würde man nicht daran zweifeln dass diese Körper Zentrosomen seien, aber bei pflanzlichen Objekten ist Vorsicht immer noch geboten. Auch sind selbstverständlich nicht alle Kernteilungen gut gefärbt und jeder weiss dass speziell die Färbung der Zentrosomen nicht leicht ist und selbst in den tierischen Objecten, welche für Zentrosomen berühmt geworden sind, Schwierigkeiten bereitet. So gibt z. B. Meves¹⁾ an, dass bei den Spermatozytenteilungen der Honigbiene die gute Färbung der Zentriolen erst nach monatelanger Arbeit gelinge. Wir zögern dann aber nicht, diese Körper als Zentrosomen zu deuten.

1) Meves. Die Spermatozytenteilungen bei der Honigbiene etc. Arch. f. micr. Anst. Bd. 70, 1907.

Die Antheridien, bei denen die letzten Teilungen abgelaufen sind, sind leicht kenntlich. Erstens haben sie ihre definitive Länge erreicht, zweitens sind die Zellwände kaum mehr sichtbar und die Zellen fangen an sich abzurunden. Bei stärkerer Vergrössung sieht man, dass auch die Kerne anders als in den jungen Antheridienzellen sind: die zentrale schwarze Masse ist viel kleiner. Dabei ist das Cytoplasma weniger dicht.

Nach der letzten Teilung wird auch das Zentrosom wieder zwischen die Chromosomen der Tochterkerne aufgenommen, und dieses macht also einen Unterschied mit dem, was von Ikeno und anderen von Lebermoosen gesagt wird. Dort bleibt das Zentrosom nach der letzten Teilung in der Tochterzelle übrig und bildet den Blepharoplast.

Wir fanden nun, dass die zentrale schwarze Masse im Kerne wieder ein Teilchen abschnürt (Fig. 60), welches, wie bei der Entstehung der Zentrosomen, auch aus dem Kerne heraustritt. Es zerfällt dann aber nicht in zwei Körper, sondern es geht sogleich nach der Peripherie der Zelle hin. Es ist oft auch wieder von einem hellen Hof umgeben.

Die zentrale Kernmasse teilt dann wieder ein Stück, und dieses Mal ein viel grösseres, ab (Fig. 61). Zuerst sieht man die zwei Teile mit einander in Verbindung, nachher lösen sie sich von einander ab, und die beiden können dann von fast gleicher Grösse sein (Fig. 62). Dieses zweite Stück rundet sich kugelförmig ab und wandert auch nach der Peripherie des Kernes und aus demselben hinaus (Fig. 63). Bei den Polytrichen bleibt dieser Körper im Cytoplasma dem Kerne nahe liegen und ändert bald seine Form. Er wird nach und nach länger, krümmt sich zu gleicher Zeit und wird sichelförmig (Fig. 64 u. 65). Diese Sichel wächst schnell aus (Fig. 66) und bildet schliesslich einen geschlossenen Kreis (Fig. 67). Der Körper ist bandförmig, nicht hohl-kugelförmig, denn man be-

kommt in den Durchschnitten immer die gleiche Grösse und Krümmung und wenn es eine Hohlkugel wäre, so würde man Durchschnitte von verschiedener Grösse bekommen, je nach der Höhe auf welcher der Körper getroffen war. Er ist immer scharf und schwarz tingiert und hat neben dünneren Stellen einigermassen unregelmässige Verdickungen.

Wir glauben, dass dieser Körper dem chromatoiden Nebenkörper bei *Marchantia* homolog ist, der von Ikeno beschrieben wurde und wollen auch weiterhin diesen Namen gebrauchen.

Inzwischen ist das zentrosomenartige Körnchen an die Oberfläche der Zelle gelangt (Fig. 63) und hat sich dort verlängert, ist etwa kolbenförmig geworden (Fig. 64). Es wird auf diese Weise zum Blepharoplast, aus dem bald die Zilien wachsen werden. An ihrem stumpfen Ende wird ein Band gebildet, das sich nach der Seite des Kernes hin weiter differenziert. Dieses Band wird mit Eisenhaematoxyline auch schwarz tingiert, aber ein Unterschied in ihrer Färbung mit der des Chromatins ist doch zu erkennen, er ist etwas grauer. Ikeno sagt, es tingiere sich in gleicher Weise, wiewohl stärker, wie das Cytoplasma und dieser Untersucher meint darum, dass das Band sich aus dem Cytoplasma differenziert. Wir können seiner Meinung im ganzen beipflichten. Von einem Verband zwischen dem chromatoiden Nebenkörper und dem Band haben wir nichts finden können. Beiden wachsen zu gleicher Zeit aus, wie aus den Figuren hervorgeht. Wenn der chromatoiden Nebenkörper ganz kreisförmig ausgewachsen ist, hat auch das Band schon eine beträchtliche Länge erreicht.

Was die Bedeutung des chromatoiden Nebenkörpers sein kann, darüber können wir nichts mitteilen. Nach einiger Zeit wird er weniger deutlich wahrnehmbar. Wie in Fig. 63 gezeichnet, sieht er bald nicht mehr wie ein schwarzes

Bändchen aus; er besteht aber nur aus feinen Körnchen. Er wird später noch schwächer (Fig. 69) und verschwindet schliesslich völlig.

Indessen hat noch ein anderer Vorgang stattgefunden. Der Kern verlässt das Zentrum der Zelle und geht nach der Peripherie, nämlich nach der Seite hin, welche der vom Blepharoplast eingenommenen gegenüberliegt.

Zum dritten Male wird dann vom zentralen Chromatinklumpen ein Teil abgesondert. Der dritte ist ein feines Körnchen, das zuerst auch wieder mit der grösseren Masse in Verbindung steht, und sich nachher ablöst (Fig. 68). Es wandert auch wieder nach der Oberfläche des Kernes (Fig. 69) und tritt schliesslich aus demselben hinaus (Fig. 70), entfernt sich aber meistens nicht weit von ihm. Zur Zeit, wo das Band auswächst und der chromatoïde Nebenkörper zu degenerieren anfängt, findet man das Körperchen im Cytoplasma liegen. Es bewegt sich dann so um den Kern herum, dass es zuletzt an der der Peripherie der Zelle zugekehrte Seite zu liegen kommt.

Das Band erreicht nun den Kern. Wir fanden dann, dass das dritte chromatoïde Körperchen endlich an der Stelle liegt, wo das Band und der Kern zusammenkommen; es bildet also die Verbindung zwischen den beiden (Fig. 71). In diesem Momente sind öfters noch deutliche Spuren von dem chromatoïden Nebenkörper übrig.

Endlich fangen dann die Veränderungen des Kernes selber an. Dieser Prozess untersuchte Strasburger ¹⁾ an *Polytrichum commune*, wie oben erwähnt wurde und stimmt mit den Kernbildungen während der Spermatogenese mehreren anderen Pflanzen wesentlich überein. Nur wird die Spirale bei den Polytrichen viel weniger lang als z. B. bei *Pellia*, *Chara*, u. s. w. Wir haben uns mit diesen Sachen weiter nicht beschäftigt.

1) Strasburger. *Histol. Beiträge*. IV. 1892.

Die Ergebnisse P. Arens¹⁾ weichen in mehreren Punkten von den unserigen ab. Erstens sieht er in der Teilung der Spermatidemutterzellen eine Diagonale zur Zellachse, wie dies bei *Marchantia* und *Pellia* vorkommt, eine Meinung, welcher wir durchaus nicht beipflichten können. Fig. 51 ist ein ganz junges Antheridium entnommen.

Weiter fand er nur in diesen letzten Teilungen Zentrosomen, die zum Blepharoplast wurden und entdeckte bei *Polytrichum* keinen chromatoiden Nebenkörper. Einen derartigen Körper sah er wohl bei *Mnium hornum*, meint aber, dass er nicht aus dem Kernkörper entstehen könne. Endlich kommt die Zahl der Chromosomen, die er in den Antheridien des *Polytrichum* zählt, nicht überein mit der welche wir fanden. Er sieht 8 Chromosomen, während wir, wie aus dem IV^{ten} Abschnitt hervorgeht, deren nur immer 6 zählten.

IV. ÜBER DIE ZAHL UND EINE ZWEIFACHE REDUKTION DER CHROMOSOMEN.

Wie aus den Artikeln von Lewis²⁾ u. a. hervorgeht sind die Chromosomen der Lebermoose sehr klein. Ikeno³⁾ gibt Zeichnungen von Kernteilungen in den Antheridien von *Marchantia* mit 8 Chromosomen und auch von einigen andern Arten ist die Chromosomenzahl schon gefunden worden. Über *Muscineae* wird nur einiges hierüber berichtet, z. B. von Gayet, der in den Eizellen von *Fissidens* während der Befruchtung 4 Chromosomen gesehen haben will. Ob die Stücke, die er im Kerne ohne etwaige Färbung sieht, wirklich Chromosomen sind, halten wir aber für sehr zweifelhaft.

Ebenso wenig haben wir in der rezenten Abhandlung Holferty's⁴⁾ über die Archegonien von *Mnium cuspidatum*

1) Sieh Pag. 1.

2) Lewis. Bot. Gazette. Bd. 42. 1906.

3) Ikeno. Beih. z. Bot. Centr. Blatt. Bd. 15. 1903.

4) Holferty. Bot. Gazette, vol. 37. 1904.

in den Zeichnungen die Chromosomen zählen können, obwohl *Mnium* für ein Moos sehr grosse Chromosomen hat. Ikeno ¹⁾ gibt für *Atrichum angustatum* und *Pogonatum rhopalophorum* 8 Chromosomen an.

Die Zahl der Chromosomen ist gering. Dies erleichtert das Studium der ziemlich kleinen Zellen. Wenn ihre Zahl grösser wäre, so wäre es gar unmöglich die kleinen Elemente eingehend zu studieren. Über die Gefässcryptogamen mit der grossen Zahl von Chromosomen ist man darum bis heute noch nicht genau orientiert. Es spricht natürlich von selbst, dass man erst dann über eine Reduktion sicher sein kann, wenn sowohl in den vegetativen als in den generativen Zellen die Menge der Chromosomen zu zählen ist.

Sonst ist es nur möglich annähernd dieses Problem zu untersuchen, und speziell in Bezug auf die in letzter Zeit aufgekommenen Fragen ist es wichtig, genau über diese Tatsachen orientiert zu sein. Wie wir in einem anderen Abschnitte dieses Artikels zeigen werden, eignet sich *Polytrichum* für diese Fragen als ein sehr günstiges Objekt.

Bei den Lebermoosen und den Gefässcryptogamen hat man gefunden, dass vor der Bildung der Sporen eine Reduktionsteilung eintritt, und dass darum die generative Generation, welche zwischen Sporenbildung und Befruchtung liegt, nur die Hälfte der Chromosomen der vegetativen Generation hat.

Wir haben um dieses auch von *Polytrichum* zu untersuchen junge Sporocarpn dazu verwendet. Es war nicht leicht zu erfahren in welcher Zeit die Reduktionsteilungen stattfanden und bis jetzt haben wir den richtigen Moment noch nicht getroffen, auch weil unsere Aufmerksamkeit mehr in andre Richtung gelenkt war.

Bei den verschiedenen Stadien, welche wir studierten, waren für die Zählung der Chromosomen die ganz jungen

1) Ikeno. Biol. Centr. Bl. Bd. 24. 1904.

Recueil des trav. bot. Néerl. Vol. IV. 1907.

Sporocarpn am vorteilhaftsten. Teilungen in den Sporengenen Lagen fanden wir aber nur einige Male. Doch ist Fig. 20 danach gezeichnet. Mehrmals sahen wir aber Kernteilungen in den Epidermis- und Parenchymzellen.

Die Chromosomen sind sehr kleine Stäbchen und wenn sie gerade in der aequatorialen Fläche liegen, sind sie sehr leicht zu zählen.

Aber nicht immer liegen die Chromosomen in einer Fläche und wenn man auch in dem Präparat deutlich ihre Zahl bestimmen kann, so ist dies noch nicht immer in den Abbildungen auszudrücken. Wir haben nun zwei Mitosen gezeichnet, wie wir sie oft in unseren Präparaten trafen. In Fig. 19 sieht man zehn Chromosomen; noch zwei waren obendrein im Präparate deutlich sichtbar, lagen aber etwas höher über den anderen. Es hätte die Zeichnung undeutlich gemacht, wenn wir dieselben auch abgebildet hätten. In Figur 20 lagen auch zwei Chromosomen etwas höher, welche wir nicht schwarz, sondern mit Pünktchen gezeichnet haben.

Die vegetativen Kerne von den von uns untersuchten Arten haben also 12 Chromosomen.

Es stand also zu erwarten, dass als Analogon dessen, was von Lebermoosen und Pteridophyten bekannt ist, in den Sporenmutterzellen eine Reduktion der Chromosomen stattfinden und die Kerne der generativen Zellen 6 Chromosomen bei der Mitose zeigen würden. In der Tat fanden wir in den teilenden Antheridienzellen, in den Zellen der Blätter und in den weiblichen Pflanzen immer 6 Chromosomen. Mitosen waren besonders reichlich in den Antheridien vorhanden und wir sahen Hunderte von guten Kernplatten. Die geringe Zahl erleichtert das Zählen, und wir bildeten viele Zellen ab. Fig. 25 wurde einer Blattzelle und die übrigen Antheridienzellen entnommen, (Fig. 26, 27, 28, 29).

In den jüngeren Antheridien fanden wir dieselbe Anzahl

von Chromosomen und, als wie vor einigen Jahren unsere Untersuchungen anfangen, dachten wir auch nicht weiter daran. Aber nach einiger Zeit fiel es uns auf, dass bei den letzten Teilungen der Antheridienzellen die Mitosen ganz anders aussahen und wir fanden nun vor drei Jahren schon die verschiedenen hier zu beschreibenden Tatsachen, welche damals in Amsterdam in einer Versammlung von biologischen Studenten vorgetragen wurden. Die Tatsachen waren aber so merkwürdig, dass wir es für besser urteilten unsere Untersuchungen noch einige Zeit fortzusetzen und auch die Befruchtung, welche sich als höchst interessant erwiesen hat, zu studieren. Weiter werden wir beschreiben, wie gerade die Oogenese und die Befruchtung einen schönen Beweis für die an den Antheridien gefundenen Ergebnisse liefern, so dass wir nicht zögern jetzt unsere Beobachtungen zu publizieren.

Die letzten Teilungen verlaufen wahrscheinlich sehr schnell hintereinander, denn man kann bisweilen in einem Antheridium die verschiedenen Teilungen neben einander finden. Es zeigt z. B. die untere Hälfte eines Antheridiums noch die gewöhnlichen Teilungen, während in der oberen Hälfte die Zellen sich schon etwas abgerundet, und mit der Umformung zum Spermatozoïd angefangen haben.

Nacheinander sieht man nun drei Prozesse auftreten. Die jüngsten Zellen zeigen die gewöhnliche Form und Anordnung der Chromosomen. Man sieht hier aber schon deutlicher, dass die Chromosomen an Paaren liegen (Fig. 26, 27, 28 u. 29), worüber wir im letzteren Abschnitte noch sprechen werden; weiter ist aber nichts besonders dabei zu bemerken. Aber wenn diese Chromosomen an den beiden Polen der Spindel angekommen sind, so haben sie nicht dieselbe glatte, runde Form und es sind nicht mehr die kurzen, regelmässigen Stäbchen, welche man zuerst bei den Mitosen sah. Man erblickt dieses am besten, wenn man vertikal auf die Spindel sieht.

In einem etwas weiter gerückten Stadium machen diese Kerne den Eindruck als wäre das Chromatin aus groben Stückchen und Körnern aufgebaut. Das ist aber durchaus nicht der Fall. Die Chromosomen sind nur dünner geworden und zeigen mehr oder weniger verdichtete Stellen. Wenn man die sechs Chromosomen auf diese Weise etwas in einander liegen sieht, so bekommt man den oben genannten Eindruck und die Zahl ist dadurch nicht mehr so leicht zu bestimmen, wie zuvor. Dieses wird wieder leichter, wenn die Kerne zur Teilung heranschreiten. Es gehen dabei allerlei wichtige Veränderungen vor.

Die Chromosomen in der aequatorialen Platte haben sich nun sehr deutlich zu Paaren gruppiert und in den meisten Zellen liegen sie schon mit einem Ende an einander (Fig. 26). Diese aneinanderlagerung schreitet weiter, bis man in den Zellen nur drei Chromosomen zu sehen meint. Die drei Stücke zeigen aber deutlich eine Einschnürung und dann und wann auch einen feinen Riss nach der Mitte zu. In diesem Stadium liegen die Chromosomen meistens so dicht neben und über einander, dass man nur mit Mühe ein paar geeignete Zellen auffinden kann, wie die, von denen Fig. 30 u. 31 angefertigt wurden. In dieser Weise sieht man dann auch eine Spindel mit drei starken Fasern, welche nach den drei, je aus zwei verschmolzenen Chromosomen bestehenden Chromosomen gehen. Die Verschmelzung ist dann energisch bei einigen Zellen; man kann nur eine kleine Einstülpung am Ende der Chromosomen wahrnehmen (Fig. 32). Die beiden Hälften von jedem verschmolzenen Chromosom lassen nun wieder von einander los und wandern nach beiden Seiten der Spindel hin (fig. 33 u. 36).

Wir finden also, dass bei den von uns untersuchten Polytrichen während der letzten Teilung vor der Bildung der Spermatiden eine Reduktion der Chromosomenzahl auftritt durch die jedesmalige Verschmelzung zweier Chro

mosomen, und durch das Auseinanderweichen der Hälften nach den zwei Seiten der Spindel hin. Wir haben eine Menge dieser Verteilungen in ihrer Polar- (Fig. 34, 35, 37, 56 u. 57) und Seitenansicht gezeichnet.

Ob auch hier nach der Absonderung der verschmolzenen Chromosomen eine gewöhnliche Teilung vorkommt, konnten wir nicht bestimmen. *Polytrichum* würde dann in dieser Hinsicht eine Ausnahme bilden, wenn sich dieses bestätigte.

V. DIE WEIBLICHEN GESCHLECHTSORGANE.

Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane von *Muscineae* wurde von mehreren Forschern wiederholt untersucht. Von der Befruchtung ist dagegen nur noch sehr wenig bekannt. Es schien uns darum sehr wichtig diesen Gegenstand zu erforschen, und zwar in Bezug auf das Eigentümliche, dass wir in den Antheridien gefunden hatten.

Die Blütezeit von *Polytrichum piliferum* und *juniperinum* ist ungefähr Mitte April bis Mitte Mai. *Pol. formosum* blüht einige Wochen später und *commune* noch etwas später. Im Juni ist die Blütezeit abgelaufen.

Die weiblichen Blütenstände sind viel schwerer als die männlichen aufzufinden. Die Archegonien sitzen in den Achseln der terminalen Blätter und man kann die fertilen Sprossen daran erkennen dass diese jüngsten Teile etwas mehr als die bei den vegetativen zusammengeneigt sind. Eigentlich lässt sich der Unterschied nicht beschreiben, wenn man aber einige Zeit damit beschäftigt ist die fertilen Sprossen zu präparieren, so lernt man sie doch gleich von den sterilen unterscheiden. Dieses wird durch den Umstand erleichtert, dass sie meistens zu mehreren bei einander in kleinen Rasen sitzen.

Obgleich nur äusserst selten mehr als ein Sporocarp auf einen Spross zu finden ist, so werden doch mehrere

Archegonien angelegt. Wenn vorsichtig die meisten Blätter abgepflückt sind, kann man mit guter Lupe die langen Halse der Archegonien sehen und auch entdecken, ob sie noch jung und geschlossen, neugeöffnet, oder schon geschrumpft und nach unten gebogen sind. Die Archegonien die sich an einem Spross befanden, werden nicht zugleich angelegt; wir fixierten nur die Spitzen solcher Sprosse, von denen einer der Halse geschrumpft war. Es waren dann obendrein immer noch andere in jüngeren Stadien anwesend und wir hatten so die günstigste Gelegenheit, die verschiedenen Grade der Entwicklung der Eizellen und eventuell die der Befruchtung zu erforschen.

Es hängt natürlich bloss vom Zufall ab, ob die erwünschten Stadien dabei und ausserdem deutlich sichtbar sind. Wir sammelten denn auch Hunderte von weiblichen Ständen, immer gleich nachdem es stark geregnet oder stark getaut hatte, sodass Boden und Pflanzen tüchtig feucht waren und die fixierten wir dann meistens gleich im Freien.

Obleich nach dem Schneiden und Tingieren ein grosser Teil der Präparate sich als wertlos erwies, hatten wir doch das Glück alle erwünschten Stadien der Oogenese und der Befruchtung zur Anschauung zu bekommen und ergab sich, dass gerade bei *Polytrichum* sehr merkwürdige Sachen stattfinden.

Schon sehr früh ist eine grössere Zelle mit grossem Kern mitten in dem unteren Teil der jungen Archegonien zu sehen (Fig. 1). Über diesen Zellen wird eine Reihe von Zellen sichtbar, welche zu Halskanalzellen werden. Die grosse zentrale Zelle teilt sich (Fig. 2 u. 2a) in 2 Teile, aus denen die Eizelle und die Bauchzelle entstehen (Fig. 3). Bei den *Polytrichen* ist aber die Eizelle nicht grösser als die Bauchzelle, sondern beide sind gleich gross. Dieses wurde auch von einigen andern *Muscineae* schon erwähnt oder wenigstens gezeichnet.

Diese beiden Zellen ziehen dann ihr Cytoplasma von den umgebenden Zellwänden zurück und runden sich ab (Fig. 4). Sie rücken dabei etwas aus einander und die Höhle des Archegoniums dehnt sich aus, sodass schliesslich eine kugelförmige Zelle oben und eine unten frei in der geräumigen Höhle liegt.

Zu gleicher Zeit verändern die Halskanalzellen; sie degenerieren, d. h. ihre Wände werden undeutlich und verschwinden, das Cytoplasma rundet sich ein wenig ab und die Zellen kommen frei im Halse zu liegen.

Indessen öffnet sich die Spitze des Halses. Die obersten Zellen weichen aus einander und biegen etwas nach aussen aus. Wenn lebende Objekte mit reifen, aber noch geschlossenen, Archegonien unter dem Microscope in Wasser gebracht wurden, so öffneten sich die Hälse und wir nahmen dan deutlich wahr, dass die Halskanalzellen sich der Öffnung des Halses zu bewegten und hinaus traten. Eine nach dem anderen kam heraus, bis sich ein offener Kanal gebildet hatte.

Mehrere Autoren schreiben, dass sich bei der Öffnung des Halses die Gipfelzellen abwerfen. Wir für uns aber meinen, dass sie die austretenden Halskanalzellen dafür angesehen haben.

Eine Verschleimung der Halskanalzellen, wie z. B. von Gayet¹⁾ beschrieben wurde, findet bei *Polytrichum* also nicht statt. Gayet sagt, dass der gebildete Schleim zur Anziehung der Spermatozoïden diene, was er durch Versuche bewiesen hat. Wir sahen auch, dass in dem zur Befruchtung fertigen Archegonien Schleim im Halse war. Möglich ist es aber dass dieser Schleim z. B. nach der Ausstossung der Halskanalzellen von den Halszellen abgetrennt ist.

1) L. A. Gayet. Recherches sur le développement de l'archéogone chez les *Muscineae*. Ann. de sc. nat. Bot. Série 8, T. III, 1897.

In fixierten Objekten findet man im Stadium, wo die Halskanalzellen los gelassen haben und der Hals im Begriff steht sich zu öffnen, dass eine ganze Menge der Halskanalzellen in die Bauchhöhle neben Bauch- und Eizelle geraten sind (Fig. 5 u. 10).

Während dieser Veränderungen im Halse ist in der Bauchhöhle die Bauchzelle der Eizelle zugewandert. Wie in Fig. 5 liegen die beiden an einander und eine Abscheidung zwischen den beiden Protoplasten ist nicht sichtbar. Es hat sich nun ergeben, dass der Kern der Bauchzelle mit dem der Eizelle verschmilzt. Wir erhielten eine sehr genaue Reihe von den verschiedenen Stadien dieser Verschmelzung, wie aus den Figuren hervorgeht.

Während die Halszellen noch in den Bauchhöhle liegen, also bevor die Spermatozoiden in die Archegonien eindringen können, finden sich mehrere Stadien, welche zeigen, dass der Kern der Bauchzelle mit dem der Eizelle zu einem Kerne verschmilzt. In den Hunderten von Archegonienblüten, welche wir untersuchten trat dieses Stadium besonders häufig auf.

Ob nun allein der Kern der Bauchzelle in die Eizelle eintritt, oder dass auch die Cytoplasten mit einander verschmelzen, wagen wir noch nicht ganz bestimmt zu behaupten. Nehmen wir aber an, dass das erstere statt findet. Wie z. B. in Fig. 10 und Fig 12 abgebildet wurde findet man in vielen Archegonien, eine Eizelle mit verschmolzenen Kerne, und noch eine kernlose, ganz schwarz gefärbte Zelle, welche auch bei weiterer Differentiation schwarz gefärbt bleibt. Nun ist es eine auffällige Tatsache, dass degenerierenden Zellen sich mit Eisenhaematoxyline intensiv schwarz färben. Wenn z. B. ein Archegonium unbefruchtet bleibt, und alles stirbt, dann bleibt nach einiger Zeit nur ein ganz schwarzer Klumpen übrig. Betrachten wir nun diese Kernverschmelzung etwas näher.

Wir haben in den Figuren 6, 7, 10 und 12 auch die

Bauchhöhlung dazu gezeichnet, damit man sehen könne, dan diese Verschmelzung statt findet bevor der Hals geöffnet worden ist. In Fig 6 findet man in einem runden Protoplast zwei ganz gleich grosse Kerne, welche schon zu einander gekommen sind; in einem anderen Schnitt lag noch ein Stück, doch es war nicht sicher zu stellen, ob diese Stücke noch mit einander zusammen verbunden waren, oder nicht, da der Schnitt gerade zwischen beiden hindurch gegangen war. In Fig. 7 ist ein etwas weiter geschrittenes Archegonium gezeichnet. Hier sind die Halszellen noch an ihren gewöhnlichen Stellen. Das Cytoplasma der Halszellen hat sich doch etwas zurückgezogen, die Querwände sind verschwunden, und die Eizelle weist nun sehr schön die beiden Kerne auf, welche aber noch deutlich an einander liegen. Dieses ist noch deutlicher in den noch mehr vergrösserten Figuren 8 und 9 zu sehen. Fig. 10 bildet noch ein Beispiel eines Archegoniums, bei dem die Halszellen in den Bauch eingetreten, während die Kerne noch nicht ganz verschmolzen sind. Darauf folgt Fig. 11. Die beiden Kerne weisen keine deutliche Scheidewand mehr auf, und in Fig. 12, noch besser in Fig. 13, sieht man eine schöne Eizelle mit grossem chromatinreichem Kerne, welcher also aus den beiden mit einander verschmolzenen Kernen der Ei- und Bauchzelle entstanden ist.

Während dieses Prozesses fällt noch auf, dass das Cytoplasma um die Kerne viel dichter aussieht als das periphere. Und dieses wird immer stärker, bis das periphere Cytoplasma viele Vacuolen aufweist und das um den Kern herumliegende sehr dicht ist und sich z. B. mit Eosin sehr stark färbt. Diese Anhäufung ist, wie aus den Figuren hervorgeht, nicht ganz regelmässig konzentrisch um die Kerne.

VI. DIE BEFRUCHTUNG.

Von grosser Wichtigkeit war es natürlich zu wissen, wie viel Chromosomen der Kern der befruchtungsfähige Eizelle enthält. Wie wir weiter beschreiben werden, wird die Eizelle von 2 Spermatozoiden befruchtet. Jeder Spermatozoid besitzt 3 Chromosomen, also ist es natürlich, dass sie Eizelle $2 \times 3 = 6$ Chromosomen bekommt. In den weiblichen Pflanzen fanden wir bei den Mitosen immer 6 Chromosomen (Fig. 25) und auch in Fig. 1, eine zur Teilung heranschreitende Eizelle sieht man im Kerne 6 Chromatinstücke. Bei der Verschmelzung von Ei- und Bauchzellkernen wird die Chromosomenzahl verdoppelt, und wenn jeder Kern 6 Chromosomen besessen hätte, würde die Eizelle deren 12 haben, was unmöglich ist. Wir müssen also annehmen, dass auch hier eine zweite Reduktion stattgefunden hat. In allen Hunderten von jungen Archegonien fanden wir nur eine Eimutterzelle in Mitose; diese war aber sehr glücklich getroffen, (Fig. 2 A und B) in zwei Schnitte zerlegt. Es war eine ausserordentlich schöne Spindel mit stumpfen Polen. Die Chromosomen lagen noch in der Aequatorialfläche, aber sie machten ganz den Eindruck, als ob sie schon nach den Polen hinzögen. Paarweise sitzen die vier in Fig. 2 A noch an einander verbunden, indem eine Seite schon nach den Spindelpolen gerichtet ist. Daraus geht sehr wahrscheinlich hervor, auch in Bezug auf das, was wir bei den Antheridien, und bei der Befruchtung fanden, dass die Eizelle und Bauchzelle vor der Verschmelzung je drei Chromosomen hatten.

Wenn die Halskanalzellen ausgestossen werden, sind die beiden Kerne also schon ganz verschmolzen und in der Bauchhöhle findet man nur eine grosse, runde Zelle mit schönem Kern. Bald dringen nun zahllose Spermatozoiden ins Archegonium ein. Oft ist die ganze Höhle und der Hals mit denselben gefüllt; sie sind mit der Eisenhaematoxy-

line ausserordentlich schwarz gefärbt. Es zeigte sich nun die sehr merkwürdige Tatsache, dass je zwei Spermatozoïden mit einer Eizelle verschmolzen, und zwar auf folgende Weise.

Das erste Stadium des Eindringens der Spermatozoïden wurde in Figur 14 abgebildet. Wir zeichneten diese Eizelle, weil in derselben die beiden Spermatozoïden in einem Schnitt lagen und die meisten anderen Eizellen nicht so glücklich getroffen waren; weiter sieht man in mehreren Schnitten Teile der Spermatozoïden. Die Spermatozoïden haben gerade dieselbe Form, wie die in den Bauch- und Eizelle herumliegenden. Sie liegen unstreitig im Cytoplasma. So fanden wir mehrere Exemplare, speziell in einem Rasen von blühenden, weiblichen Pflanzen, welche wir morgens in einem Regenschauer sammelten und mittags im Laboratorium fixierten.

Darauf folgt ein Stadium, wie wir es in Fig. 15 abbildeten. Hier sind die Spermatozoïden schon zum Kerne herangerückt und umgeben denselben grossenteils. Sie sind deutlich dicker und kürzer geworden. Wir verglichen sorgfältig die Spermatozoïden in und ausserhalb der Eizelle mit einander und sahen, dass die letzteren Spermatozoïden viel kürzer waren, als das ganze am Kern liegende schwarze Stück. Unter dem Microscop war überdies zu sehen, dass es aus zwei Stückchen bestand, welche mit ihren Enden übereinander lagen, was in der Zeichnung nicht abzubilden war.

Dann folgt Fig. 16. Hier sind die Spermatozoïden schon bedeutend angeschwollen, sie sind aber noch sehr dunkel und weisen einige schwarzen Körner im Innern auf. Diese Schwellung der Spermatozoïden geht noch weiter und schliesslich findet man Stadien, wie sie in Fig. 17 abgebildet wurden. Hier liegen drei Kerne an einander; die Scheidewände sind noch deutlich sichtbar und jeder Kern zeigt einen grossen Klumpen und einige kleineren Stücke

Chromatin. In dem darauffolgenden Stadium (Fig. 18) sind die Scheidewände zwischen den Kernen nicht mehr sichtbar, der Umriss ist aber eingeschnitten und die drei Chromatinteile sind noch deutlich wahrnehmbar. Es folgt also daraus, dass die Eizelle bei *Polytrichum* mit zwei Spermatozoiden verschmilzt, sodass die Zahl der Chromosomen wieder auf 12 gestiegen ist.

Einige Male kam es uns vor, dass ein dritter Spermatozoid in die Eizelle gedrungen war. Wir sahen aber nicht genug Eizellen, die diesen Vorgang zeigten um hierüber etwas weiteres schreiben zu können. In Fig. 16 liegt z. B. noch ein Spermatozoid im Cytoplasma, welcher unverändert war. Ob dies normal oder nur zufällig war, das wissen wir nicht. Vielleicht sind es auch Resten des Bandes, der zwischen Blepharoplast und Kern liegt.

VII. ÜBER DIE INDIVIDUALITÄT DER CHROMOSOMEN BEI POLYTRICHUM.

Über die Individualität der Chromosomen ist in den letzten Jahren, sowohl von zoologischer wie von botanischer Seite vieles entdeckt und geschrieben worden. Es bestehen heute schon einige sehr ausführliche übersichtliche Darstellungen des heutigen Standes unseres diesbezüglichen Wissens. So u. a. in dem vorzüglichen Korschelt und Heiderschen Lehrbuch, in den letzten Abhandlungen von Boveri¹⁾ und Strasburger²⁾, und

1) Boveri. Die Ergebnisse über die Konstitution der Chromatischen Substanz der Zellkerns. Jena, 1904.

2) E. Strasburger. Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. Wiss. Bot. Bd. 42, 1905.

Idem. Ueber die Individualität der Chromosomen etc. idem. Bd. 44, 1907.

Idem. Die Ontogenie der Zelle seit 1875. Prograssus rei botanicae. Bd. 1, 1907.

vor einigen Wochen empfangen wir einen Artikel von V. Häcker ¹⁾, worin dieser Forscher ausführlich die Befunde der letzten Jahren zusammengestellt hat.

Es bestehen also zahlreiche Übersichten dieser wichtigen Fragen und, wo diese Auseinandersetzungen von solchen Autoritäten gegeben wurden, da scheint es uns ganz unnötig, ja selbst verkehrt, hier diese theoretischen Erörterungen so weit auszuspinnen, wie das in den letzten cytologischen Verhandlungen gebräuchlich ist. Die cytologische Litteratur ist für jeden, der sich aktiv damit zu beschäftigen hat, überwältigend und es wird gerade durch die, unserer Ansicht nach, ganz unnötig langen theoretischen Betrachtungen oft unmöglich sie durch zu lesen; immer dieselben Argumente, ohne wirklich etwas neues!

Die obengenannten Übersichten haben uns überzeugt, dass in dem gegenwärtigen Stand der Untersuchung die Hypothese von der Individualität der Chromosomen einer der wichtigsten Schlüsse ist, welcher aus den zahllosen entdeckten Tatsachen zu ziehen ist. Und wir können uns völlig dem anschliessen, was obengenannte drei Forscher den Gegnern der Individualitätslehre geantwortet haben. Wir meinen die Wiederlegung der Beschwerde, welche Nussbaum ²⁾ und Fick ³⁾ veröffentlicht haben.

Wir glauben, dass die Resultate unserer Untersuchungen, zu Gunsten der Individualitätslehre sprechen und wir wollen nun zur Besprechung dieser Befunde schreiten.

In der letzten Zeit wurden speziell von Amerikanischen Forschern Tiere entdeckt, bei denen die Chromosomen ungleich an Länge waren und bei denen dieses sich bei

1) V. Häcker. Die Chromosomen als angenommene Vererbungs-träger. Ergebnisse und Fortschritte der Zoologie. Bd. 1, 1907.

2) M. Nussbaum. Befruchtung und Vererbung. Anat. Anzeiger. Bd. 28, 1906.

3) R. Fick. Betrachtungen über die Chromosomen etc. Arch. Anat. Physiol. Abth. Anat. Supplement. 1905.

allen Kernteilungen zeigte. Besonders Sutton¹⁾ hat in den Testikeln von *Brachystola magna*, eine Heuschreckenart, ein sehr schönes Objekt entdeckt.

Man fand auch in jüngster Zeit mehr und mehr, dass bei den Synapsisstadien die Chromosomen Paarweise beisammen liegen und dass sie eine kurze Zeit, wie *ein* einziges Chromosom aussehen und Sutton hat deutlich gezeigt, dass Chromosomen von gleicher Länge sich immer an einander legten. Es wurde nun weiter gefunden, dass bei den weiteren Teilungen in jede Zelle die Hälfte der Chromosomen kam und zwar von jedem Paar gleicher Chromosomen, einen in jede Zelle. Wenn dann in der Eizelle dasselbe statt fände da wäre es begreiflich, dass nach der Kopulation wieder von jeder Länge zwei Chromosomen in dem Kerne gefunden werden sollten. Leider hat Sutton dieses nicht gesehen. Es sind viele Schriften über dieses Thema erschienen. Natürlich können nur aus sehr günstiger Objekten Schlüsse gezogen werden und daher kann man unserer Überzeugung nach bei einer Zelle mit vielen Chromosomen niemals darüber sicher sein.

Polytrichum stellte sich nun als ein sehr günstiges Object heraus. Die Chromosomen sind, wie wir in unseren Zeichnungen auch angegeben haben, sehr von einander verschieden. Man darf aber nicht vergessen, dass genaue Messungen noch nicht möglich sind und dass man noch gar nicht weiss, welche Kontraktionen die verschiedenen Fixativen verursachen. Wir haben darum diese Tatsachen nur an mit demselben Fixativ (Sublimat) behandelten Objekten studiert.

In den teilenden Zellen des Sporocarps zählten wir immer zwölf Chromosomen. Fig. 20 ist einer Zelle des sporogenen Lagers entnommen.

1) Sutton. On the morphology of the Chromosome Group in *Bractystola magna*. Biol. Bull. Vol. 4, 1902.

Erstens sieht man, dass die Chromosomen deutlich in zwei Gruppen geteilt sind, zwischen denen eine gerade Linie zu ziehen ist. In beiden Gruppen sieht man je 2 längere, 2 kürzere Chromosomen und noch 2 welche in Bezug auf ihre Länge zwischen diesen beiden die Mitte halten und die wir mittlere Chromosomen nennen wollen. Die beiden punktierten Chromosomen, welche etwas höher lagen als die andren, waren kleine.

Bei Fig. 19, einer Epidermiszelle entnommen, war diese Teilung in zwei Gruppen nicht so deutlich, und die Chromosomen lagen zu viel über einander um alle in die Zeichnung hineinzubringen, obwohl sie alle 12 anwesend waren. Hier sieht man wieder 4 längere, dan 3 kürze und 3 mittlere Chromosomen; noch eine Kleine, wie auch eine Mittlere lagen höher. Wie wir schon beschrieben, haben wir die Reduktionstellungen im Sporocarp nicht in Betracht gezogen.

In den Sexualzellen und in den vegetativen Teilen der generativen Sprosse fanden wir immer 6 Chromosomen, und unter diesem immer 2 lange, 2 kurze und 2 mittlere. In Fig. 25 zeichneten wir eine Chromosomenplatte aus einer Blattzelle eines Archegonienstandes; die Blattzellen sind öfters sehr lehrreich. Man kann in den Zellen der Blattlamellen, welche bei jungen Blättern vielfach in reger Teilung sind, und sehr klein sind, sehen, wie die Chromosomen bei der Mitose kaum in dem kleinen Raum manövriren können; speziell die längeren welche oft länger sind als der Durchmesser solch einer Zelle. Sie sind dann gewunden, während sie in grösseren Zellen mehr gerade oder einigermassen gebogen sind.

In Fig. 21 bis 24, vier Zellen aus Antheridien, von denen die erste aus einem jungen, die 3 anderen aus einem älteren, gerade vor dem Anfang des Reduktionsteilungen. In Fig. 21 sieht man noch kaum etwas von einer Gruppierung zu Paaren, aber in 22, 23 u. 24 ist diese sehr

deutlich und kann nicht in Abrede gesetzt werden.

Auch in den Monaster- und Diasterstadien kann man die verschiedenen Längen der Chromosomen sehr deutlich sehen. In Fig. 52 ist sie schon deutlich, in Fig. 53 aber berühren die langen Chromosomen einander noch, während die kurzen schon fast am Pole angelangt sind und in Fig. 54 sieht man wie 2 kurze einander noch genau gegenüber liegen.

Wir waren so glücklich in den Eimutterzellen eine Mitose zu finden. Man sieht in Fig. 2A u. B eine grosse Spindel und 6 Chromosomen unter denen wieder 2 lange, 2 mittlere und 2 kurze sind und man bekommt den Eindruck, als ob die Chromosomen gerade im Begriff stehen nach den Spindelpolen zu gehen, und aus Fig. 2A geht es mit Wahrscheinlichkeit hervor dass von jedem Paare ein Chromosom herauf und eins herunterwandern wird. In dem Eizellkern bekommt man denn auch wieder ein langes, ein kurzes und ein mittleres Chromosom.

Aber betrachten wir wieder die Teilungen in den Antheridien. Es tritt nach der Teilung, von denen Stadien in Fig. 22—24 abgebildet wurden, eine andre Gestalt der Chromosomen auf. Sie werden viel dünner mit unregelmässigen Verdickungen, Fig. 26—29. Hier ist auch wieder deutlich, dass die Chromosomen zu Paaren von gleicher Länge geraten sind. Und endlich findet man Zellen, bei welchen sich nun drei Chromosomen zeigen (Fig. 30 u. 31), welche aber viel dicker sind und in leider sehr seltenen günstigen Fällen, dass sie je aus 2 an einander liegenden Chromosomen bestehen. In diesen Stadien liegen sie meistens ganz über einander, sodass das kleine Paar in Fig. 30 beinahe von den andren ganz verdeckt ist. Es bildet sich darauf eine Spindel; in Fig. 32 ist ein Monaster gezeichnet mit drei Chromosomen; der rechte, lange Doppelchromosom ist, da er schief nach oben gerichtet war, in der Zeichnung kürzer. In Fig. 33 sieht man, wie die

kleinen und mittleren schon an die Pole gekommen sind und die lange einander mit den Enden berühren und so einen Kreis bilden; in Fig. 36 ist etwas ähnliches zu sehen. In den Figuren 34, 35, 37, 56 u. 67 haben wir noch einige Kernplatten gezeichnet mit 3 Chromosomen, welche alle die drei verschiedenen Längen aufweisen. Es gibt also bei *Polytrichum* einen der frappantesten Fälle der Individualität der Chromosomen. Sie sind deutlich von einander an Länge verschieden und zeigen dieses am besten während des Synapsis bei der Paarung.

Die Eizelle hat auch drei Chromosomen von verschiedener Länge, die Bauchzelle gleichfalls. Diese verschmelzen wieder, die Befruchtungsfähige Eizelle hat wieder 6 Chromosomen; das weitere haben wir schon alles ausführlich beschrieben.

Wir hoffen dass wir eine gute, erwünschte Stütze für die Lehre der Individualität der Chromosomen geliefert haben. Wir glauben, dass für diese Auffassungen die Untersuchung der Moosen noch viele Resultate ergeben wird.

VIII. DIE ZENTROSOMEN BEI DER BEFRUCHTUNG.

Es sind in der letzten Zeit auch botanischerseits viel Abhandlungen über die Zentrosomen erschienen und trotzdem das Vorkommen von Zentrosomen in höheren Pflanzen dann und wann wieder beschrieben wurde, haben speziell die Untersuchungen aus dem botanischen Laboratorium Strasburgers zu Bonn deutlich bewiesen, dass Zentrosomen bei Phanerogamen nicht vorkommen. Es wurden in niederen Pflanzen Zentrosomen wahrgenommen und bei Lebermoosen gelang der Nachweis dieser Körperchen schon leicht; von Laubmoosen aber kennen wir nur Ikeno's¹⁾ Erwähnung, dass er in *Atrichum an-*

1) S. Ikeno. Die Blepharoplasten im Pflanzenreich. Biol. Centralbl. 1904, Bd. 24.

gustatum und *Pogonatum rhopalophorum* noch keine Zentrosomen in den jungen Antheridien wahrgenommen habe. Ob sie nun in diesen Pflanzen wirklich nicht vorkommen, oder ob Ikeno sie nicht hat färben können, können wir dahin gestellt lassen. Die Färbung der Zentrosomen gelang uns bei *Mnium* entweder nicht oder sie war zweifelhaft, während wir den Austritt eines kleinen Körperchens aus dem Kerne, auf dieselbe Weise, wie Ikeno ihn bei *Marchantia* beschrieb, leicht sehen konnten. Unser Material war aber nicht so gut fixiert und es standen uns nur wenige Exemplare zur Verfügung.

Wir haben nun über das Vorkommen von Zentrosomen in den teilenden Zellen der Antheridien von *Polytrichum* zeichnen können. Die Zentrosomen kommen bei jeder Teilung aus dem Kerne in das Cytoplasma, teilen sich in zwei Stücke und werden später wieder in die Tochterkernen der Zelle aufgenommen. Dann kommen später solche Körper in die Spermatiden vor. Ikeno hat nun energisch die Homologie des Blepharoplasten mit den Zentrosomen verteidigt und noch neuerdings über dieses Thema eine Arbeit veröffentlicht¹⁾. Das Zentrosom der Spermatidzellen verschwinde nach der letzten Teilung nicht, aber wandere nach der Peripherie und werde dann zum Zilienträger oder Blepharoplasten.

Bei *Polytrichum* haben wir etwas derartiges. Das Zentrosom wird aber auch nach der letzten Teilung in die Tochterkerne aufgenommen, und wie kann man nun beweisen, dass das Körperchen, welches in den Spermatiden zuerst aus dem Kerne tritt ein Zentrosom ist? Denn eine Strahlung hat er nie um sich und der einzige andere Beweis für die zentrosomartige Natur eines Körperchens kann nur der sein, dass es sich an den Spindelpolen befindet.

1) S. Ikeno. Zur Homologie der Blepharoplasten und Centrosomen. Flora, 1907.

Wie Mottier¹⁾ auch schon richtig bemerkt hat: wie täuschend Körperchen auch den Zentrosomen gleichen mögen, dadurch sind sie noch nicht wirklich Zentrosomen.

Bei *Polytrichum* haben wir nun aber zwei solche Körperchen gesehen; wie soll man aber entdecken, welches von diesen beiden das Zentrosom und welches es nicht ist oder ob beide vielleicht Zentrosomen sind? Das erst austretende Körperchen wird zum Blepharoplasten und ändert seine Form beträchtlich, das andre behält seine Form und lagert sich unverändert zwischen Band und Kern. Entspricht dieses nun dem, was bei tierischen Spermatozoen gefunden wurde? und wird bei *Polytrichum*, wie bei Tieren, das Zentrosom in das Mittelstück des Spermatozoids aufgenommen?

Wir wissen es nicht, und dieses kann an den Spermatozoid allein auch nicht nachgewiesen werden.

Schliesslich wollen wir noch das Verhalten der Zentrosomen bei der Eizellenbildung und bei der Befruchtung betrachten.

Bei der Eimutterzelle sieht man einen zentrosomartigen Körper neben dem Kerne liegen (Fig. 1). Die Spindel der sich teilenden Zelle hat aber keine spitzen, sondern breiten Enden; man sieht in Fig. 2 A an der Oberseite der Spindel ein Zentrosom in einem hellen Hofe liegen, während der unten liegende nicht allein keinen Hof aufweist, sondern auch nicht mehr so regelmässig rund ist. Und rechnet man hinzu, dass obendrein diese Zelle mehr schwarze Punkte speziell in einem andren Schnitte besass, so ist es sehr zweifelhaft ob die zwei von uns gezeichneten Körperchen wirklich Zentrosomen sind.

Auch beim weiteren Wachstum sieht man ein grösseres schwarzes Klümpchen neben dem Kerne im Cytoplasma

1) D. Mottier. The development of the spermatozoid in *Chara*. Ann. of Bot. 1904, XVIII.

liegen und es ist nun fraglich, ob das Zentrosom der Eizelle nicht im Cytoplasma zu Grunde gehe. Die Lösung dieser Frage ist nur durch weitere Untersuchungen zu erzielen.

Von zoölogischer Seite wurde schon eine grosse Anzahl von Abhandlungen veröffentlicht, welche das Verhalten der Zentrosomen bei der Befruchtung behandeln und neuerdings hat Konstantecki¹⁾ einen sehr interessanten Artikel darüber geschrieben, so gediegen, dass wir auf seine Arbeit hinweisen können. Wir selbst haben den Streit in Bezug auf diese Seite der Befruchtung fleissig verfolgt, und können völlig dem, was Konstantecki in so knapper Weise kritisch hat zusammengestellt, beipflichten.

Er hat unserer Ansicht nach vorläufig unzweideutig dargetan, dass bei der Befruchtung die Zentrosomen von dem Spermakerne geliefert werden und dass man die dann und wann aufkommenden entgegengesetzten Mitteilungen anderer Forscher für verfehlt halten muss. Es wurde von botanischer Seite darüber noch nichts veröffentlicht, wenigstens so weit wir wissen, und obwohl wir wohl keine sicheren Tatsachen mitteilen können, so möchten wir auf diesen Punkt hinweisen. Dazu wäre es unbedingt nötig, dass eine weit grössere Anzahl dieser befruchteten Eizellen untersucht würden, als wir zu untersuchen im Stande gewesen sind.

Wie wir gesehen haben, ist es sehr wahrscheinlich, dass in das Spermatozoid ein Zentrosom aufgenommen worden ist, entweder in den Blepharoplast, oder zwischen Band und Kern.

Betrachten wir nun die verschiedenen Figuren, so sehen wir bei mehreren im Cytoplasma einen Körper mit hellem Hofe liegen. Natürlich lagen sie nicht immer so günstig um das Studium zu erleichtern. In Fig. 14 liegt bei dem linken Spermatozoid am untern Ende deutlich ein Zentro-

1) K. Konstantecki. Ueber die Herkunft der Teilungszentren der ersten Fürchungsspindel im befruchteten Ei. Arch. f. Micr. Anat. Bd. 68, 1906.

som, aber bei dem anderen ist nichts davon sichtbar, da dieses Ende den Kern verdeckt. In Fig. 15 ist auch wieder ein Zentrosom sichtbar, in Fig. 16 nicht, da leider diese Zelle nicht ganz weit genug differenziert war.

Fig. 17 zeigt etwas ganz anderes. Hier sieht man zwei Zentrosomen dem Kerne ganz nahe liegen. Es ist aber nicht auszumachen welchem Kerne sie angehören. Wir berühren bloss diese Frage um die Aufmerksamkeit darauf zu lenken. Vielleicht das andre Forscher glücklicher sind als wir. In Bezug auf das was bei Tieren gefunden wurde, würde es uns nicht wundern, wenn die zwei Zentrosomen von den beiden Spermatozoiden geliefert würden.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.

1. Die Kerne der mit Eisenhaematoxylin gefärbten Antheridienzellen weisen nach energischer Differentiation eine grosse schwarze Masse auf, aus der die Chromosomen höchst wahrscheinlich entstehen.
2. Von diesem Kernkörperchen wird ein kleines Körnchen abgeschnürt, das aus dem Kerne wandert, sich in zwei Stückchen teilt, die bei der Mitose als Zentrosomen an den Spindelenden sitzen (Fig. 38—53).
3. Nach der Mitose wird das Zentrosom wieder in dem Kerne, auch bei der letzten Teilung, aufgenommen (Fig. 54, 55, 58 u. 59).
4. In den abgerundeten Spermatiden wird ein Körnchen von der Chromatinmasse abgeschnürt, das nach der Peripherie der Zelle wandert und zum Blepharoplasten wird (Fig. 60—63).
5. Zugleicher Zeit wird ein grosses Stück von der Chromatinmasse abgeteilt und aus dem Kern in das Cytoplasma gestossen. Dies ist der chromatöide Nebenkörper, der nach einigen Veränderungen wieder ganz verschwindet (Fig. 61—69).
6. Vom Blepharoplasten aus, der sich etwas verlängert

- hat, entwickelt sich ein Band, wahrscheinlich aus Cytoplasma, das an den Kern herantritt. Inzwischen hat noch ein Körperchen den Kern verlassen und lagert sich zwischen Band und Kern ein (Fig. 64—71).
7. Im Sporocarp zählt man in den teilenden Zellen 12 Chromosomen. Unter diesen können immer 4 längere, 4 kurze und 4 mittlere Chromosomen unterschieden werden (Fig. 19 u. 20).
 8. In den sich teilenden Zellen der generativen Pflanzen findet man 6 Chromosomen, von denen 2 lange, 2 kurze und 2 mittlere (Fig. 21—29).
 9. Bei den letzten Teilungen in den Antheridien werden die Chromosomen etwas unregelmässiger, sie schieben sich zu Paaren, und jedes Paar verschmilzt der Länge nach (Fig. 30 u. 31).
 10. Darauf zieht nach jedem Tochterkern ein langes, ein kurzes und ein mittleres Chromosom. Die Spermatozoiden enthalten also 3 Chromosomen (Fig. 32—37, 56 u. 57).
 11. Die Eimutterzelle teilt sich in eine Bauch- und eine Eizelle, deren Kerne je 3 Chromosomen: ein langes, ein kurzes und ein mittleres enthalten (Fig. 2A u. B).
 12. Die beiden Zellen kommen frei im Archegoniumbauch zu liegen und sind gleich gross (Fig. 4).
 13. Eine Anzahl Halskanalzellen kommt im Bauch zu liegen. Ei- und Bauchzelle legen sich zu einander.
 14. Die Kerne dieser Zellen verschmelzen mit einander, während der Hals noch geschlossen ist (Fig. 6—11).
 15. Die Eizelle weist endlich einen grossen Kern auf und die Halskanalzellen verschwinden (Fig. 12 u. 13).
 16. Die Eizelle wird von 2 Spermatozoiden befruchtet und ihr Kern verschmilzt mit 2 aus den Spermatozoiden entstandenen Kernen (Fig. 15—18).
 17. Eine Individualität der Chromosomen ist bei *Polytrichum* besonders deutlich ausgeprägt.

ERKLÄRUNG DER ABBILDUNGEN.

- Fig. 1. Eimutterzelle von *Polytr. piliferum* kurz bevor der Teilung. Im Kernkörperchen liegen 6 Stücke, welche wahrscheinlich einen Anfang der Chromosomenbildung andeuten. Ein Zentrosom liegt im Cytoplasma an der Kernmembran $\times 700$.
- Fig. 2A und B. Zwei Schnitte derselben sich teilenden Eimutterzelle von *Polytr. juniperinum*. Eine grosse an beiden Enden abgeflachte Spindel. In 2A liegen zentrosomartige Körner an den beiden Enden, doch auch im Cytoplasma. Die Chromosomen richten sich schon nach den Polen zu und weisen 2 lange, 2 mittlere und 2 kurze (in 2B) an. Die Chromosomen $\times 2500$, das Cytoplasma $\times 1000$.
- Fig. 3. Archegonium von *Pol. piliferum* nach der Teilung der Eimutterzelle. Die beiden Zellen haben eine Wand gebildet, und die Bauchzelle fängt an sich schon etwas abzurunden. Noch keine stark färbare, körnige Masse um den Kernen zu sehen. $\times 600$.
- Fig. 4. *Pol. juniperinum*. Die Bauch- und Eizelle liegen schon wie runde Kugeln im Bauch des Archegoniums, auch die Halszellen sind etwas geschrumpft, doch bestehen die Wände noch. Hier ist eine körnige Masse um die Kerne sichtbar. $\times 600$.
- Fig. 5. *Pol. juniperinum*. Viele Halszellen liegen im Bauch des Archegoniums. Die Bauch- und Eizelle liegen an einander. Keine körnige Masse um die Kernen. $\times 600$.
- Fig. 6. *Pol. juniperinum*. Im Archegoniumbauch liegt nur eine grosse Plasmamasse mit zwei gleich grossen Kernen. $\times 600$.

- Fig. 7. *Pol. piliferum*. Halszellen noch im Halse, oder wieder darein gelangt. Die beiden Kerne liegen an einander, Scheidewand noch deutlich, auch die Körnermasse um die Kerne. $\times 900$.
- Fig. 8. Eizelle der vorigen Figur, mehr vergrössert, zeigt alles deutlicher und auch grosse, nicht ganz runde Punkte im Cytoplasma. $\times 2100$.
- Fig. 9. *Pol. piliferum*. Noch ein Stadium der Kernverschmelzung. $\times 2000$.
- Fig. 10. *Pol. juniperinum*. Hier liegen viele Halszellen im Bauch des Archegomiums. Dicht bei der Eizelle liegt eine schwarzgefärbte Masse (desorganisierte, kernlose Bauchzelle?) $\times 600$.
- Fig. 11. *Pol. juniperinum*. Die beiden Kerne sind schon beinahe ganz mit einander verschmolzen. Es sind zwei Chromatinmassen gut zu sehen, die Scheidewand fast nicht mehr sichtbar. $\times 2000$.
- Fig. 12. *Pol. juniperinum*. Eizelle mit einem Kerne; der Hals noch geschlossen. Eine grosse schwarzgefärbte Zelle (desorganisierte, kernlose Bauchzelle?) $\times 600$.
- Fig. 13. *Pol. juniperinum*. Eizelle vor der Befruchtung, noch stärker vergrössert. Im Cytoplasma liegt ein zentrosomartiger Körper. $\times 2000$.
- Fig. 14. Erstes Stadium der befruchteten Eizelle bei *Pol. piliferum*. Zwei grosse Spermatozoiden. Bei dem linken Spermatozoid sieht man an der Unterseite ein deutliches Zentrosom. Bei dem anderen liegt dieses vielleicht auf dem Kern, ist aber nicht sicher zu unterscheiden. Überall schwarze Stückchen im Cytoplasma. $\times 2000$.
- Fig. 15. *Pol. piliferum*. Am Kern, welcher wie in der vorigen Figur, noch nicht viel Struktur aufweist, sitzen zwei schon dicker gewordene Spermatozoiden. Bei dem oberen Spermatozoid ist ein Zentrosom zu sehen, bei dem anderen nicht vom

Kernteilchen zu unterscheiden. Bei der Befruchtung der Eizelle keine körnige Cytoplasma-ansammlung um die Kerne. $\times 2000$.

Fig. 16. *Pol. juniperinum*. Die zwei Spermatozoiden sind bedeutend angeschwollen und viel kürzer geworden. Sie zeigen die Anfänge einer Struktur. Auch das Chromatin im Eizelkern ist viel deutlicher geworden. Über dem Kern befindet sich noch ein langes Stück (ein drittes Spermatozoid?) $\times 2000$.

Fig. 17. *Pol. juniperinum*. Drei Kerne. Nicht mehr zu sehen, was Eizelkern und was veränderte Spermatozoiden sind. Alle mit deutliche schwarze Klumpen. Eizelle bedeutend vergrößert und viele vakuolenreicher. Darum scheint es hier, als ob eine Körnansammlung um die Kernen liegt, wie bei den jüngern Stadien. Doch ist dieses nur scheinbar so. Zwei Zentrosomen sichtbar. Nicht auszumachen ob sie der Eizelle oder den Spermatozoiden gehören. $\times 1300$.

Fig. 18. *Pol. juniperinum*. Noch ein etwas weiter gerücktes Stadium. Die Kerne schon verschmolzen, Scheidewände undeutlich. Die punktierte Linie über der Eizelle deutet die Grenze des Schleimes an, in dem die nun zurückgezogenen Spermatozoiden liegen. $\times 1300$.

Die Figuren 19, 20, 21 und 25 sind *Pol. piliferum* und *juniperinum* entnommen, die anderen fast alle *Pol. formosum*, wenn es nicht speziell angegeben ist. Sie sind alle in derselben Vergrößerung ($\pm 5000 \times$) gezeichnet. Bei Färbung mit Eisenhaematoxylin sind die Zellwände oft nicht sichtbar. Wir zeichneten sie deuthlichkeitshalber jedoch ungefähr überall hinzu.

Fig. 19. *Pol. piliferum*. Teilende Epidermiszelle der Sporenfrucht. Nur zehn Chromosomen gezeichnet.

- Zwei andere, auf den übrigen liegend, hätte die Zeichnung undeutlich gemacht. Die verschiedenen Länge der Chromosomen zu sehen.
- Fig. 20. *Pol. piliferum*. Sich teilende Zelle aus dem Sporangium Lager. Die Chromosomen liegen in zwei Gruppen, welche je 2 längere, 2 mittlere und 2 kürzere Chromosomen aufweisen. Die zwei kürzere, welche in der Zeichnung punktiert sind, lagen etwas höher als die andern.
- Fig. 21. Antheridienzelle von *Pol. juniperinum*. Sechs Chromosomen, 2 längere, 2 mittlere und 2 kürzere. Noch nicht an Paaren.
- Fig. 22—24. Antheridienzellen von *Pol. formosum*. Die letzte Teilung vor der Reduktionsteilung. Gruppierung der Chromosomen in Paaren von gleich langen Chromosomen. In 24 noch ein Zentrosom, welcher in die Tochterzelle aufgenommen wird.
- Fig. 25. Blattzelle einer weiblichen Blüte von *Pol. piliferum*.
- Fig. 26—29. Chromosomen vor der Reduktionsteilung, zeigen verdickte und dünnere Stellen. Gruppierung in Paaren sehr deutlich. Bei 26 und 27 sind die Chromosomen schon teilweise mit einander verbunden.
- Fig. 30—31. *Pol. juniperinum*. Nur Doppelchromosomen, das kleine Paar unter den beiden anderen fast versteckt.
- Fig. 32. Monaster dieses Stadiums bei *Pol. formosum*. Drei starke Spindelfasern und die Zentrosomen deutlich sichtbar. Die Chromosomen zeigen etwas eingeschnittene Ende. Das grosse, gerade liegende ist, da das Chromosom im Präparat schräg von unten nach oben lief, etwas verkürzt gezeichnet.
- Fig. 33. Etwas weiter vorgerücktes Stadium. Die kleineren und mittleren Chromosomen schon den Spindelenden genähert. Die grösseren hängen noch

- mit ihren Enden zusammen. Zugfasern und Zentrosomen.
- Fig. 34—37. Zellen aus einem sehr fern differenzierten Präparate. Fast nur die Chromosomen gefärbt.
- Fig. 34 und 35. Tochterplatten mit den drei Chromosomen von verschiedener Länge.
- Fig. 36. Diaster mit an beiden Seiten drei Chromosomen, die längeren hängen mit ihren Enden noch zusammen.
- Fig. 37. Wie 34 und 35. Zentrosom noch zu sehen.
- Fig. 38. Zellen eines jüngeren } Antheridium. Kern mit
Fig. 39—40. Zellen eines älteren }
- grossem Kernkörperchen und ein Zentrosom, das noch mit dem Kernkörperchen verbunden ist.
- Fig. 41 und 42. Das Zentrosom liegt im Cytoplasma an der Kernmembran.
- Fig. 43 und 44. Das Zentrosom ist stabförmig geworden und zeigt in
- Fig. 45 eine Einschnürung.
- Fig. 46, 47 und 48 weisen die beiden Zentrosomen an, die mehr und mehr von einander abgewichen sind.
- Fig. 49 und 50. Die beiden Zentrosomen liegen an der Peripherie der Zelle einander gegenüber. Die Chromosomen werden im Kerninnern gebildet.
- Fig. 51. Monaster mit einem Gewirr von Chromosomen in der Aequatorial-platte und ein Zentrosom an beiden Spindelenden.
- Fig. 52. Monaster. Die verschiedenen Längen der Chromosomen ist hieraus schon zu sehen.
- Fig. 53. Die kleineren Chromosomen haben die Spindelenden fast erreicht, während die grösseren noch mit ihren Enden dicht bei einander liegen.
- Fig. 54. Diaster. Zwei kleinen Chromosomen liegen einander gerade gegenüber. Die Zentrosomen liegen an der Innenseite der Spindel.

- Fig. 55. Diaster mit fast verschmolzenen Chromosomen und den beiden Zentrosomen.
- Fig. 56 und 57. Noch ein paar Zellen nach der Reduktionsteilung, wie die Figuren 34—37.
- Fig. 58 und 59. Letzte Teilung der Antheridienzellen. Diaster. Zentrosomen an der Innenseite der Chromosomenmasse. So weit differenziert, dass nichts mehr vom Cytoplasma zu sehen war.
- Fig. 60—71. Spermatozoidbildung.
- Fig. 60. Ein Spermatozoid; ein zentrosomartiges Körperchen wird von der Chromatinmasse abgeschnürt.
- Fig. 61. Das Körperchen ist in das Cytoplasma getreten. Der chromatoide Nebenkörper wird im Kerne abgeschnürt.
- Fig. 62. Der chromatoide Nebenkörper hat von der übrigen Chromatinmasse losgelassen; das zentrosomartige Körperchen wandert nach der Peripherie hin.
- Fig. 63. Der chromatoide Nebenkörper ist aus dem Kerne ausgetreten, das zentrosomartige Körperchen liegt an der Peripherie,
- Fig. 64 verlängert sich und wird zum Blepharoplasten, während der Nebenkörper stabförmig wird.
- Fig. 65. Das Band wird vom Blepharoplasten ausgebildet.
- Fig. 66. Das Band wächst weiter. Der Nebenkörper krümmt sich noch mehr und wird schliesslich
- Fig. 67 kreisförmig.
- Fig. 68. Der Nebenkörper fängt an undeutlich zu werden. Der Kern wandert nach der Peripherie hin. Ein 3^{es} Chromatinkörnchen wird abgeschnürt.
- Fig. 69. Der Nebenkörper ist fast verschwunden, das Band nähert sich dem Kerne.
- Fig. 70. Das 3^e Chromatinkörperchen ist aus dem Kerne gekommen und
- Fig. 71. lagert sich zwischen Band und Kern ein.



