II.

Die Bildung der Massulae von Azolla.

(Mit Tafel XIV und 17 Abbildungen im Text.)

Unsere Kenntnisse über Azolla stammen der Hauptsache nach aus der bekannten Monographie Strasburger's (1873) und einer späteren Publikation desselben Autors in den histologischen Beiträgen II (1889). Vor Strasburger war nur einmal (Griffith, 1846) die Entwicklungsgeschichte untersucht worden, abgesehen von einigen kurzen Bemerkungen hierüber bei Mettenius (Linnaea 1847, II), wo auch die ältere beschreibende Literatur angeführt ist. Strasburger hatte jedenfalls bei seiner Untersuchung, wie es scheint auch bei seinen späteren Nachprüfungen (1898), nur Alkoholmaterial benützt, an dem die feineren Strukturen kaum zu erkennen sind. Den späteren Forschern, Campbell (1893) und Pfeiffer (1907), stand zwar lebendes oder nach neueren Methoden fixiertes Material zur Verfügung, sie berücksichtigten aber die Vorgänge im Periplasma nur nebenbei. Daher kommt es, daß die Entwicklungsgeschichte noch manche Lücken aufweist, daß vor allem die Rolle des Tapetenplasmodiums noch der Klärung bedarf.

Zur Orientierung sei zunächst kurz angeführt, was über die Entwicklung der Sexualorgane durch die Untersuchungen Strasburger's, Campbell's, Goebel's u. a. bekannt geworden ist.

Die vegetativen Blätter der Azollen sind in zwei Lappen geteilt, einen Oberlappen und einen Unterlappen; eine analoge Gliederung kehrt bei den Sporophyllen wieder. Nach Goebel (Organogr; pag. 669) teilt sich der Blattunterlappen sehr früh und jeder der beiden Teile gibt einem Sorus den Ursprung. Der Oberlappen, dessen apikale Partie in eine Anabaenahöhle umgewandelt ist, bildet an seiner Basis einen flügelartigen, einschichtigen Auswuchs, welcher die Sori kapuzenartig überdeckt.

Im allgemeinen stehen niemals mehr wie zwei Sori zusammen, die ohne Regel bald beide männlich oder weiblich, bald männlich und weiblich sind.

Die männlichen Sporokarpien haben Kugelgestalt, ihr Durchmesser ist fast so groß wie die Oberblätter, der flügelartige Auswuchs derselben wird durch sie auf die Seite gedrückt.

Die weiblichen Sporokarpien sind viel kleiner, länglich und flaschenförmig; ihr Längsdurchmesser etwa $^1/_3$ so groß wie derjenige der männlichen Früchte.

Während sich in den männlichen Früchten zahlreiche langgestielte Sporangien springbrunnenartig aus einer zentralen Plazenta abzweigen, kommt in der weiblichen Frucht in der Regel nur ein einziges Sporangium zur Entwicklung. Auch der Inhalt der männlichen und weiblichen Sporangien ist scheinbar sehr verschiedenartig.

In den männlichen Sporangien liegen fünf bis acht rundliche Körper von schaumiger Struktur, die sog. Massulae, so fest eingepreßt, daß sie sich an den Berührungsflächen etwas abplatten. In diesen Schaum sind die Sporen eingebettet und gleichmäßig auf die Massulae verteilt.

Das weibliche Sporangium umschließt nur eine einzige Spore, welche so groß wird, daß sie die Sporangiumwand zu einem verschwindend dünnen Häutchen zusammendrückt. Diese Spore ist von einer kompliziert ornamentierten dicken Hülle umgeben und auf dem Scheitelpol mit einem Aufsatz versehen, dem sog. Schwimmkörper nach Strasburger, der aus drei birnenartigen Körpern, von ähnlich schaumiger Struktur wie die männlichen Massulae besteht.

Werden die Massulae von den männlichen Sporangien befreit, so sieht man, daß von ihrer Oberfläche eine größere Anzahl langgestielter, ankerartig ausgebildeter Körper nach allen Seiten senkrecht emporragen, die sog. Glochidien, während von der Oberfläche der weiblichen Spore, sowohl allseits von der Sporenmembran selbst (an bestimmten Stellen) als auch von dem Schwimmkörper und hier besonders von der Spitze desselben, lange peitschenartige Organe entspringen.

Von den hier in kurzer Übersicht aufgeführten Gebilden fehlt erstens noch vollständig die Kenntnis der Entwicklung der Glochidien und der peitschenförmigen Anhänge der Makrospore; zweitens ist ebenso wie bei Equisetum die Bedeutung des Plasmodiums für die Entwicklung der Sporenhüllen sowohl in den männlichen wie in den weiblichen Sporangien überhaupt noch nicht speziell untersucht worden und schließlich bedarf die morphologische Bedeutung der Sporangien selbst noch der Aufklärung.

Es sollen daher in den folgenden Abschnitten behandelt werden:

1. Bau und Bedeutung der Sporokarpien (pag. 244).
2. Entwicklung des Periplasmodiums (pag. 247).
3. Entwicklung der Massulae in den Mikrosporangien (pag. 249).
4. Entwicklung der Massulae in den Makrosporangien (pag. 266).

1. Bau und Bedeutung der Sporokarpien.

Die Anlagen der Makrosporokarpien und Mikrosporokarpien, die wegen ihres Zusammenhanges mit den Tapetenzellen aufgeführt werden

müssen, sind in den ersten Stadien völlig gleich. Sie beginnen mit der papillenartigen Hervorwölbung einer Zelle, an deren Spitze sich eine zweiseitige Scheitelzelle abschnürt (Fig. 1, 2, 3 bei Pfeiffer, 1907, und 9, 10 und 11 bei Campbell, 1893). Aus der Scheitelzelle entsteht durch tetraedrisch aufeinanderfolgende Wände ein Sporangium, während sich dicht unter dem Sporangium ein Ringwall hervorwölbt (Pfeiffer 1907), der schließlich als zweischichtiger Mantel integumentartig über das Sporangium emporwächst (Textfig. 1). Erst wenn das Indusium sich gerade zu schließen beginnt, entscheidet es sich, ob ein Sporokarp zu einem weiblichen oder männlichen Sorus wird. Es können nämlich in beiden Fällen direkt unter der ersten Sporangiumanlage seitliche Aussprossungen entstehen (Textfig. 2 *a* und *b*) (Pfeiffer, 1907, Fig. 9—11 und

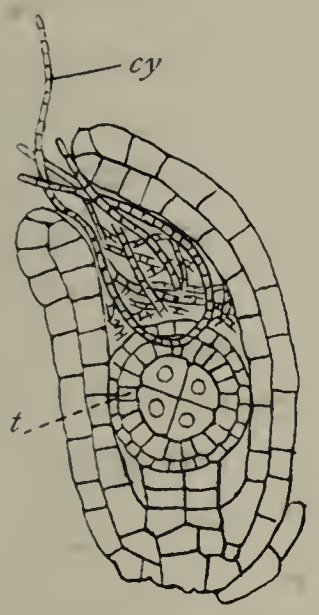
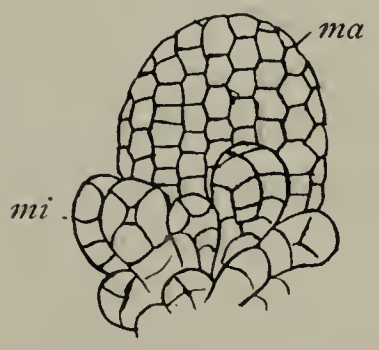
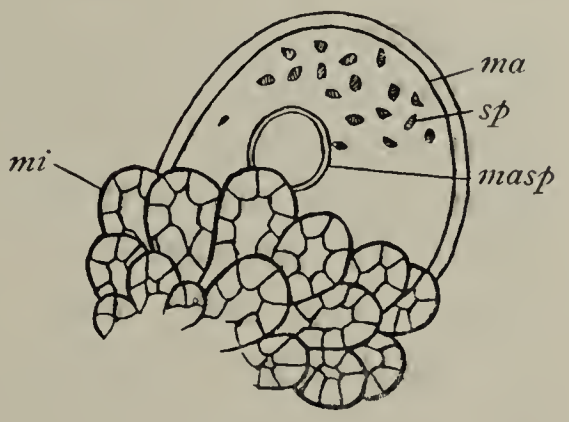


Fig. 1.



a



b

Fig. 2.

Fig. 1. Junges Makrosporangium. *t* Tapetenzellen. *cy* Cyanophyceen.

Fig. 2. Zwei Sori mit je einem terminalen Makrosporangium (*ma*) und zahlreichen lateralen Mikrosporangien (*mi*), *masp* Makrospore, *sp* verkümmerte Makrosporen.

Goebel, Organographie, Fig. 448, vergl. dagegen nebenstehende Fig. 1), die anfänglich der Anlage des ersten Sporangiums durchaus gleichen. Bei der Weiterentwicklung zeigt sich, daß die Anlage des ersten Sporangiums am Scheitel der Kolumella und die neuen seitlich aussprossenden Anlagen in korrelativen Beziehungen zueinander stehen. Entweder entwickelt sich die terminale Sporangiumanlage nicht, dann wachsen die seitenständigen stark und bilden sich in basipetaler Reihenfolge zu langgestielten männlichen Sporangien aus; oder aber das endständige Sporangium kommt zur Entwicklung, dann wird aus ihm ein Makrosporangium und die lateralen Anlagen verkümmern. (Vgl. auch Strasburger 1889, pag. 8 und Goebel, Organogr., pag. 669).

Campbell (1893) faßt allerdings die Verhältnisse anders auf. Seiner Ansicht nach sind die Sporangien alle eingeschlechtig. Die nicht entwickelte soeben beschriebene erste Sporangienanlage ist nach ihm

ein Mikrosorus, das sterile Ende eine Kolumella, und die seitlichen unentwickelten Sporangienanlagen in dem Makrosorus entsprechen verkümmerten weiblichen Sporangien. In Wirklichkeit ist aber, wie Pfeiffer gezeigt hat, in dem Mikrosorus keine sterile Kolumellaspitze, sondern eine richtige Makrosporangiumanlage vorhanden, und nur dadurch, daß oft in den Hohlraum desselben von der Kolumella aus konfervoide Fäden einwachsen, wird der Anschein eines soliden Gewebes erweckt. Wenn dem aber, wie ich bestätigen kann, so ist, dann fällt auch für Campbell der Grund weg, die Makrosori für einhäusig zu erklären. Denn Campbell gibt selbst an (1893, pag. 159), daß der Zellteilungsmodus für alle seitlichen Anlagen derselbe ist. Als weiteres Argument gegen Campbell kann ich noch hinzufügen, daß ich zwei reife zwittrige Sori gefunden habe; eines mit einem terminalen Makrosporangium und einigen lateralen Mikrosporangien und ein zweites mit zwei vollentwickelten Makrosporangien und einem gestielten männlichen Sporangium. Da das eine dieser beiden Makrosporangien terminal, das andere lateral war, darf man annehmen, daß die seitlichen Sporangienanlagen zu männlichen und zu weiblichen Sporangien auswachsen können. Das heißt aber mit anderen Worten, daß der jetzige eingeschlechtlige Zustand aus einem einhäusigen hervorgegangen ist. Dazu kommt nun noch, daß die Makro- und Mikrosporangien in den Jugendstadien ziemlich weitgehend — bis zur Bildung des Tapetenplasmodiums (s. unten) — übereinstimmen, so daß auch diese beiden Organe auf gemeinsamen Ursprung weisen.

Wir haben somit den interessanten Fall, daß wir bei einer Farnpflanze aus den morphologischen Verhältnissen nachweisen können, daß

1. ursprünglich nur einerlei Sporangien vorhanden waren, daß dann im Laufe der phylogenetischen Entwicklung
2. später die Differenzierung in Mikrosporangien und Makrosporangien innerhalb eines Sporangiums stattfand, und daß schließlich
3. eine weitere Trennung in Sporangien mit nur weiblichen und nur männlichen Soris eintrat.

In ähnlicher Weise hat sich neuerdings Goebel, auf Grund vergleichender Untersuchungen, über die Geschlechtsverhältnisse von Azolla ausgesprochen (1910), und Shattuck (1910) hat bei Marsilia experimentell festgestellt, daß Mikrosporangien dazu veranlaßt werden können eine ihrer Sporenanlagen zu einer Makrospore umzubilden, die übrigen verkümmern zu lassen und die Makrosporen dazu, die Mehrzahl ihrer Sporenanlagen zu Mikrosporen zu entwickeln.

2. Entwicklung des Periplasmodiums.

Das Sporangium entsteht, wie schon erwähnt, aus einer dreiseitigen Scheitelzelle, von welcher durch eine der Oberfläche parallel laufende Wand eine flache Zelle nach dem Scheitel zu abgeschnitten wird. Aus letzterer und den übrigen flachen, die ursprüngliche Scheitelzelle begrenzenden Zellen wird die Wand des Sporangiums gebildet. Nacheinander treten nun in der tetraedrischen Zentralzelle der Sporangiumanlage perikline Wände auf, welche eine einfache Zellschicht zwischen die Sporangiumwand und die Zentralzelle einschalten. Diese Schicht zerfällt weiterhin durch eine Anzahl antikliner Wände in die eigentlichen Tapetenzellen (Textfig. 1 *t*). Letztere liegen also im Gegensatz zu Equisetum in regelmäßiger einfacher Schicht, die scharf von der Sporangiumwand und von den Sporenmutterzellen abgesetzt ist (Campbell 1893, Pfeiffer 1907).

Die Sporenmutterzellen gehen aus der Zentralzelle des Sporangiums hervor. Diese zerfällt zuerst durch zwei aufeinander senkrecht stehende Wände in vier Kugelquadranten; letztere bleiben aber nur kurze Zeit im Verband, dann lösen sich die Mittellamellen und die isolierten Protoplasten runden sich ab.

Fusion der Tapetenzellen.

Gleichzeitig mit den Wänden der Sporenmutterzellen werden auch die Wände der Tapetenzellen aufgelöst. Damit beginnt der Prozeß, der für das Folgende von besonderer Wichtigkeit ist, nämlich die Bildung des Periplasmodiums. Zunächst ist bei der Untersuchung von Schnitten durch dieses Stadium bloß festzustellen, daß mit der Auflösung der Tapetenzellenmembranen die Grenzen zwischen den einzelnen Tapetenprotoplasten nach und nach ganz verschwinden. Aus den zahlreichen Individuen entsteht somit durch Fusion ein einziger neuer Protoplast, der die Sporenmutterzellen mantelförmig umhüllt. Daß dieser Protoplast nicht nur lebend, sondern auch in spezifischer Weise tätig ist, wird aus zahlreichen später anzuführenden Beobachtungen hervorgehen. Zunächst sei nur bemerkt, daß das jugendliche Plasmodium von wasserheller Beschaffenheit ist, also das Bild eines normal lebenden Plasmas bietet. An fixiertem Material kann man weiter feststellen, daß das Tapetenplasma sich von dem Plasma der Tapetenmutterzellen unterscheidet. Jenes speichert Hämatoxylin nur schwach, erscheint daher stark graublau, während sich das Plasma der Sporenmutterzellen und der Sporangiumwand als intensiv blaugefärbte Masse scharf von ihm absetzt (Taf. XIV, Fig. 1). Aus dieser Verschiedenheit der Färbung

läßt sich folgern, daß die beiden Protoplasmaarten in bezug auf ihre chemischen Eigenschaften schon voneinander abweichen, obwohl beide sehr jungen Ursprungs sind. In dem Maße als die Archesporzellen sich bei der Weiterentwicklung voneinander lösen, drängt sich das Plasmodium von allen Seiten her zwischen die abgerundeten Sporenmutterzellen. Die Kerne beteiligen sich vorerst nicht an dieser Wanderung, sondern bleiben im peripherischen Plasmodium zerstreut liegen. Bis zu diesem Jugendstadium stimmen Makro- und Mikrosporangien, soweit äußerlich erkennbar, in ihrer Entwicklung miteinander überein.

Vermehrung der Plasmodiumkerne.

Nach dem Verhalten von Equisetum, wo eine bedeutende Zunahme der Kerne durch Fragmentation festzustellen war, konnte auch bei Azolla eine Vermehrung der Plasmodienkerne erwartet werden. Nach Ausbildung der Massulae ist dies nun nicht mehr festzustellen, da die übrigbleibenden Kerne in dünne Plasmaplatten eingeklemmt und schon zum größten Teile zerfallen sind. Vergleicht man aber ein Stadium, in dem eben das Plasmodium gebildet ist und anfängt zwischen die Sporenmutterzellen einzudringen, mit einem Sporangium, in dem die Tapetenzellen noch regelmäßig nebeneinanderliegen, so lehrt schon der Augenschein, daß Kernvermehrung stattgefunden hat. Zählungen der Kerne in einem Mikrotompräparat ergaben für das jugendliche Stadium ungefähr 34, 36 bzw. 42 Kerne, für das Plasmodium zur Zeit der Sporenmutterzellbildung dagegen 130, 148 bzw. 172 Kerne. Die Kerne der Tapetenzellen sind übrigens außerordentlich charakteristisch und können weder mit denjenigen der Sporangiumwand noch mit den Sporenmutterzellkernen verwechselt werden. Sie zeichnen sich dadurch aus, daß sie aussehen wie große Bläschen mit dunkler Kontur, aber ohne Inhalt, abgesehen von einigen zarten Gerinnseln, und zwei bis drei Nukleolen. Sie haben ungefähr den vierfachen Durchmesser der Kerne der Sporangiumwand und unterscheiden sich von denen der Sporenmutterzellen besonders durch ihre Chromatinarmut. Nach der Vermehrung haben die Plasmodiumkerne etwa den halben Durchmesser der Tapetenkerne, machen also einen ganz bedeutend kleineren Eindruck. Während vorher mehrere Nukleolen vorhanden waren, ist jetzt stets nur noch einer übrig, also umgekehrt wie bei dem Equisetumplasmodium; der Inhalt der Kerne dagegen ist ebenso blaß wie vorher.

Ob diese Plasmodienkerne aus den Tapetenkernen durch karyokinetische Teilung oder durch Fragmentation entstanden sind, gelang nicht festzustellen. So viele Präparate auch durchmustert wurden, niemals

kam eine Karyokinese oder eine Fragmentation zur Beobachtung, übrigens auch keine langausgezogenen Kerne, wie sie sich bei Equisetum so häufig finden. Trotzdem ist es wahrscheinlich, daß die Kerne sich auf direktem Wege vermehren, und zwar nicht nur aus Analogie mit den Plasmodiumkernen der Equiseten, sondern auch, weil in den Stadien, in welchen die Plasmodiumbildung beginnt und die Tapetenzellen anfangen sich voneinander zu trennen, mehrere Kerne in den Tapetenzellen gefunden wurden, die so dicht beieinander lagen, wie man es sonst nur bei amitotischer Teilung findet.

3. Entwicklung der Massulae in den Mikrosporangien.

Bei den Mikrosporangien bleiben nun die Archesporzellen noch eine zeitlang miteinander verbunden, bis sie durch weitere Teilungen in 16 Spormutterzellen zerfallen. Zwischen diese dringt dann das Periplasma mehr und mehr ein und umschließt bald sämtliche, manchmal noch in Gruppen zusammenhängende Sporenmutterzellen. Die ganze Nahrungsaufnahme für die Sporenmutterzellen wird von nun ab durch das Periplasmodium vermittelt. Die Weiterbildung der Sporen beginnt damit, daß die Sporenmutterzellen durch Tetradenteilung in je vier Sporen zerfallen, so daß in einem Mikrosporangium im ganzen 64 Sporen zur Anlage kommen. Die Sporen liegen nach ihrer Isolierung zuerst vollständig gleichmäßig im Plasmodium verteilt (Textfig. 3 *a* u. *b*). Man wird annehmen müssen, daß die Verteilung der Sporen durch die Regulierung der Lage der Vakuolen geschieht, in denen die Sporen liegen, daß also durch besondere Bewegungsvorgänge innerhalb des Periplasmas die Regelmäßigkeit der räumlichen Anordnung herbeigeführt wird. Die Sporenvakuolen sind in den frischen Präparaten als scharfe

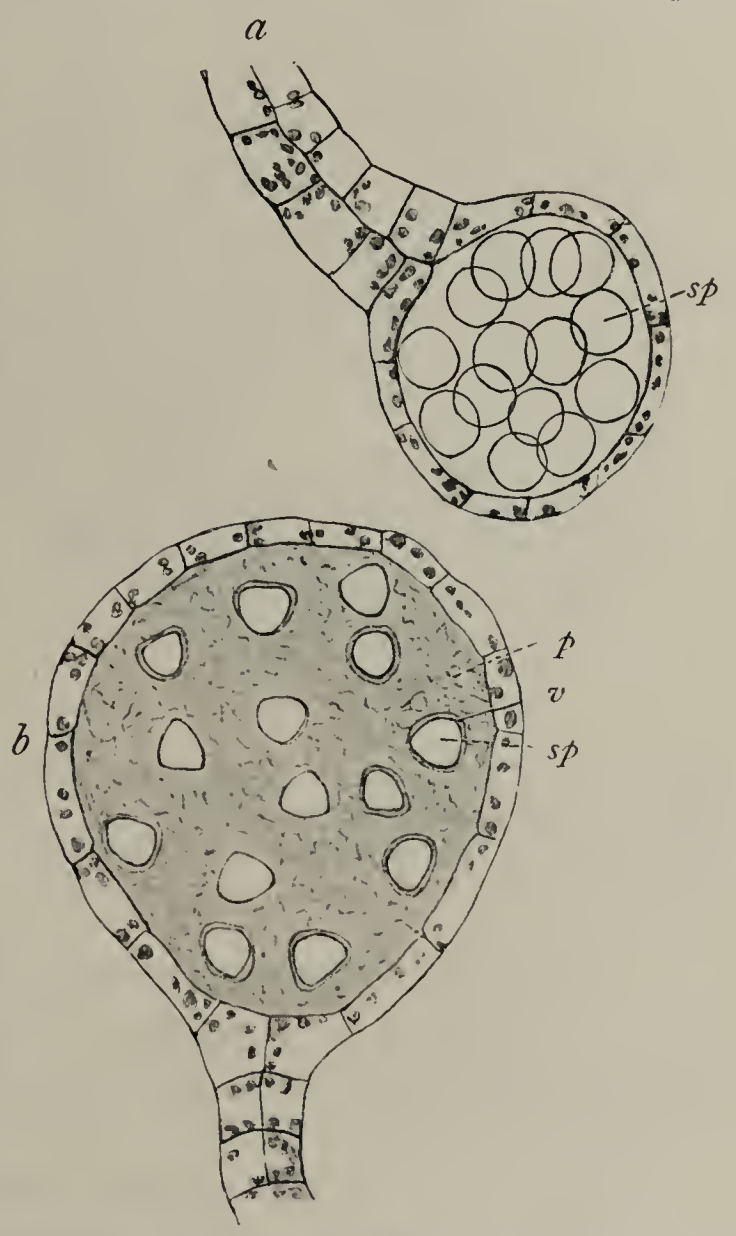


Fig. 3. Zwei junge Mikrosporangien. *sp* Sporen. *v* Vakuolen, in denen die Sporen liegen. *p* Periplasmodium.

zarte Konturen zu erkennen, die sich von den tetraedrischen Sporen hier und da etwas abheben (Textfig. 6). In dem fixierten Material haben sich letztere stark kontrahiert und zu kleinen Tetraedern zusammengezogen, während sich die Sporenvakuolen als große runde Blasen von den Sporen absetzen (Textfig. 2). Die Sporenmembranen sind dann schon teilweise hellgelb gefärbt, fangen also an, die spätere orangegelbe Farbe der Membranen auszubilden. Zur selben Zeit wie die Sporen werden auch die Kerne gleichmäßig durch das Plasmodium verteilt (Textfig. 4), eine Bewegung, bei der wahrscheinlich auch das Plasmodium der aktive, die Kerne der passive Teil sind. Man findet zwar ausnahmsweise Kerne, die spindelartig ausgezogen sind, diese Deformation hängt aber mit den Teilungsvorgängen zusammen — wie das bei Equisetum gezeigt wurde — und kann nicht als Zeichen amöboider Bewegung gedeutet werden. Auch hier ließ sich an lebendem Material der Vorgang nicht beobachten, da die Kerne in diesem Zustand ebenso klar und wasserhell sind, wie das intakte Plasma und daher erst nach dem Absterben oder Fixieren erkennbar werden.

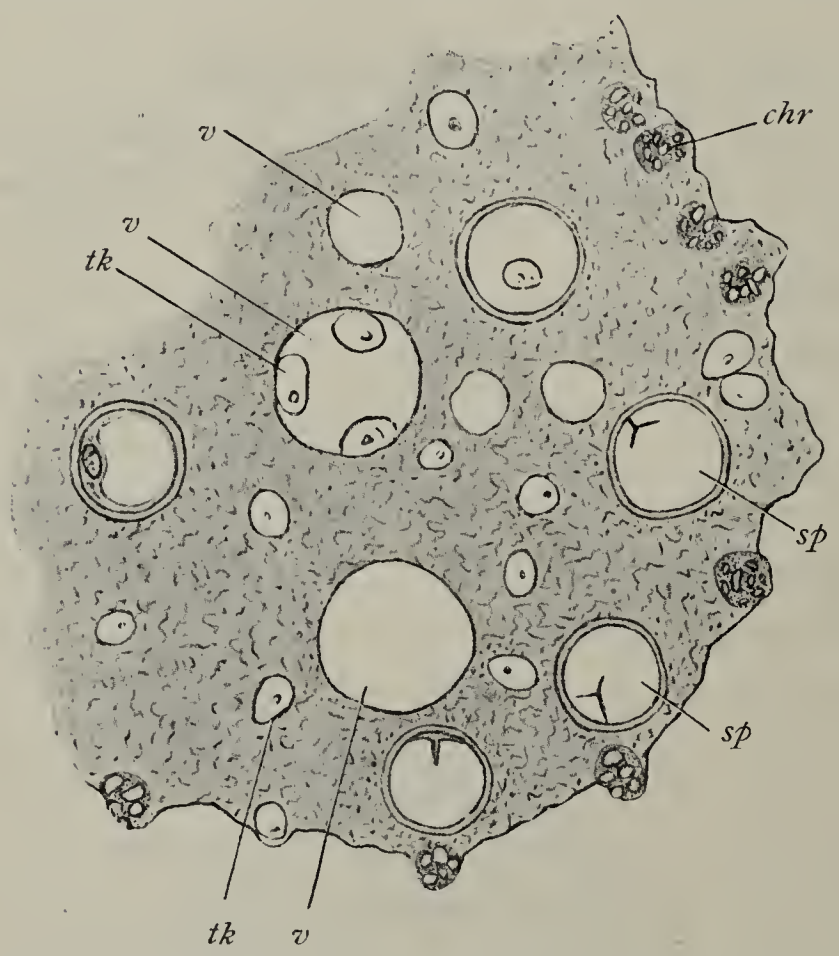


Fig. 4. Junges, durch Zerdrücken des Mikrosporangiums freigelegtes Periplasmodium. *sp* Sporen. *tk* Kerne des Periplasmodiums. *v* Vakuolen, die beim Befreien des Periplasmodiums entstanden sind.

Die Sporenmembranen nehmen währenddessen intensivgelbe Färbung an, d. h. sie sind sehr resistent, vielleicht auch schwer durchlässig geworden und liegen wie Fremdkörper in dem Plasmodium.

Bildung der Massulavakuolen.

Die Massulae werden in Vakuolen gebildet, die wir als Massulavakuolen bezeichnen wollen. Die Entstehung dieser Vakuolen wird durch weitere Bewegungen im Plasmodium eingeleitet, die im wesentlichen vom Zentrum nach der Peripherie zu gerichtet sind und dazu führen, daß die Sporen aus ihrer zerstreuten Anordnung schließlich

alle an der Perpherie des Plasmodiums in ziemlich gleichen Abständen voneinander liegen (Textfig. 5 *b* u. Taf. XIV, Fig. 3). Mit diesen zentrifugalen Bewegungen stehen wahrscheinlich radial verlaufende faserartige Strukturen in Beziehung, die noch nach Abschluß der peripheren Verlagerung der Sporen in dem zentralen Plasma fixierter Sporangien aufgefunden werden. Auch die Plasmodiumkerne lassen in diesem Stadium die zentrifugal gerichtete Plasmabewegung erkennen. Sie sind in radialer Richtung in die Länge gezogen und nach dem Zentrum zu ein wenig spindelartig verlängert, während das dicke abgerundete Ende nach außen gewendet ist (Taf. XIV, Fig. 4).

Der kugelartige Raum, den das Plasmodium einnimmt, vergrößert sich im Laufe der Entwicklung ganz bedeutend (Taf. XIV, Fig. 4), sein Durchmesser wächst von ca. 0,05 mm auf ca. 0,20 mm, dem Volumen nach also ungefähr um das 600 fache. Es geht daraus hervor, daß eine außerordentlich lebhafte Stoffaufnahme und ein bedeutender Stoffumsatz in dem Plasmodium stattfindet. Dieser Stoffwechsel steht zweifellos zum Teil im Dienste der sehr merkwürdigen formativen Tätigkeit, die sich weiterhin in dem Plasmodium abspielt.

Die Sporen, die ursprünglich im Plasma gleichmäßig verteilt waren (Textfigur 5 *a*, Taf. XIV, Fig. 2), wandern, wenn das Sporangium eine gewisse Größe erreicht hat, nach der Peripherie des Periplasmodiums, wo sie dicht an der Sporangiumwand, in annähernd gleichen Abständen verteilt sind, und anfangs in Vakuolen liegen, die eng an die Sporen

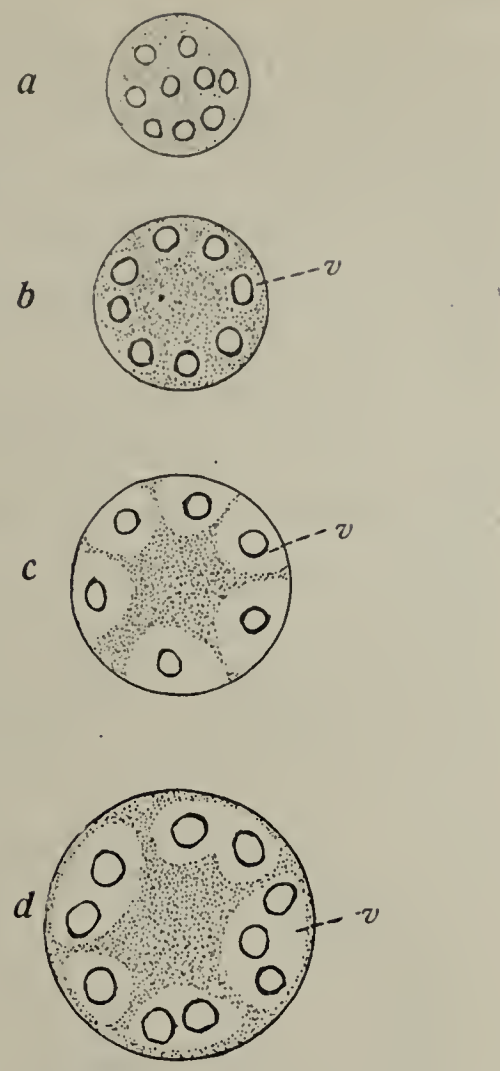


Fig. 5. Schema der Massulabildung. *v* Vakuolen, in denen d. Sporen liegen. *mv* Massulavakuol. *w* Massulawaben.

anschließen (Textfig. 5 *b*, Taf. XIV, Fig. 3). Allmählich sammelt sich um die einzelnen Sporen eine Flüssigkeit, die in lebenden Sporangien glashell und homogen erscheint. Infolgedessen wachsen die Vakuolen um die einzelnen Sporen beträchtlich, bis sie schließlich nur noch durch dünne Plasmalamellen voneinander getrennt sind (Textfig. 6, Taf. XIV, Fig. 4).

Diese Vakuolen verschmelzen zuerst zu zweien, dann zu dreien usw. miteinander (Textfig. 5 *d*), bis schließlich nur noch 5—8 große ellipsoidische Vakuolen übrig bleiben, deren jede 8—12 Sporen umschließt (Textfig. 5 *e* und *f*). Eine Vakuolenbildung hat schon Strasburger beobachtet und in ähnlicher Weise geschildert. Er schreibt in seiner Abhandlung über die pflanzlichen Zellhäute, in der er gerade auf die Bildung der Azolla-Massulae besonderes Gewicht legt (1898, S. 545) folgendes: „Während das Mikrosporangium an Größe zunimmt, beginnen unbestimmte Waben des alveolar gebauten Zytoplasmas des Plasmodiums sich zu vergrößern und schwellen zu mehr oder weniger ansehnlichen Kammern an. Im kleinwabigen Zytoplasma zwischen diesen Kammern liegen die Zellkerne verteilt (Fig. 17, Taf. XV). Dann beginnt das Plasmodium um die einzelnen Sporen eine glashelle Flüssigkeit auszuscheiden. Da sich diese Flüssigkeit nicht tingiert, so kommt jede Spore in eine farblose Blase zu liegen. Diese Blasen nehmen an Größe zu, stoßen aufeinander, verschmelzen in Mehrzahl, verdrängen das Plasmodium an die Mikrosporangiumwand sowie den zwischen ihnen zurückbleibenden Raum. In dem so verdrängten Plasmodium schwinden die großen Kammern und es läßt sich annehmen, daß es ihr Inhalt war, der sich in den Blasenräumen sammelte. Die Verschmelzung der um die einzelnen Sporen angelegten hellen Räume schafft so viel größere Blasen, als Massulae in dem Mikrosporangium ersetzt werden sollen“.

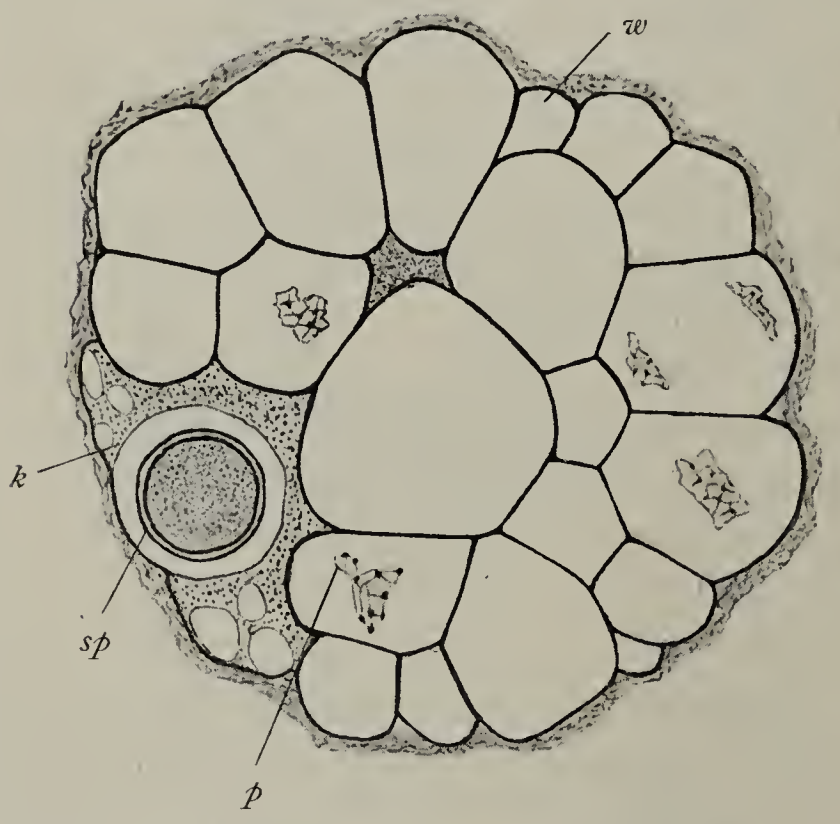


Fig. 6. Querschnitt durch eine reife Massula. *sp* Spore in einer körnigen Masse *k*. Bei *p* in den Waben plasmatische Inhaltsreste.

Wenn wir vorerst nur die Tatsache betrachten, daß jede Vakuole gleich viele Sporen enthält, so erscheint diese an sich schon sehr merkwürdig. Man fragt sich vergeblich, welcher Art die Kräfte und Regulationen in den Plasmodien sind, die das Gleichgewicht in der Verteilung von solchen „Fremdkörpern", wie es die Sporen für das Plasmodium sind, bewirken. Das sind Vorgänge, bei denen es sich nur um Bewegungs- oder Gleichgewichtserscheinungen handeln kann. Über die dabei wirksamen, treibenden und regulierenden Kräfte der Protoplasten lassen sich keinerlei morphologische Anhaltspunkte gewinnen. Es steht aber fest, daß die Kerne des Periplasmas nicht beteiligt sind. Denn erstens werden die Plasmodiumkerne selbst passiv um die entstehenden Vakuolen herumgeführt. Sie finden sich anfangs alle in dem zentralen Plasma zusammengehäuft, werden von dort aus, wie schon geschildert, teilweise nach der Peripherie gezogen und liegen zuletzt nach allen Richtungen hin durch das Plasma zerstreut, teils außerhalb der Massulavakuolen, teils in dem zentralen Plamodiumzwickel zwischen denselben. Zweitens ist die Anordnung der Tapetenkerne in dem Periplasmodium völlig regellos. Da sie sich also fortwährend verschieben und dabei niemals eine regelmäßige Gruppierung zeigen, können sie schlechterdings nicht die zeitlichen oder räumlichen Stützpunkte sein, von denen die raumordnenden Kräfte des Plasmodiums ausgehen.

Beim Öffnen eines jugendlichen lebenden Sporangiums in physiologischer NaCl-Lösung zeigt sich, daß eine verhältnismäßig sehr dicke Lage Plasma um die Massulae vorhanden ist. Dies Plasma erscheint grobkörnig und umschließt außer den Periplasmakernen noch eine Anzahl blaßgrüner Chloroplasten (Textfig. 4), die mehrere Stärkekörner enthalten. Die Körner geben mit Chlorzinkjod weinrote Färbung, sind also nicht reine Stärke, sondern eine Art Amylodextrin. Obgleich dies Periplasma den einzelnen Massulis eng anliegt, ist es doch nicht etwa in soviel selbständige Teile geteilt, als Massulae vorhanden sind, sondern besteht nur aus einer einzigen, einheitlichen Plasmamasse. Dies zeigt sich beim Befreien des lebenden Sporangieninhalts. Hierbei tritt in physiologischer Kochsalzlösung das Plasmodium des Mikrosporangiums als zusammenhängende, turgeszente, von scharf abgegrenztem Häutchen umgebene Masse aus. Die Einheitlichkeit des Periplasmodiums ergibt sich auch aus fixierten älteren Objekten. Wenn sich hier die jungen Massulae unter dem Einfluß des Fixierungsmittels stark kontrahiert haben, läßt sich leicht feststellen, daß der umhüllende Periplasmamantel, der weit von den Massulis absteht, eine einzige Plasmamasse bildet, die in ihrem inneren Bau keinerlei Abgrenzungen aufweist.

Bildung der Vakuolenmembran.

Die formative Tätigkeit des Periplasmas kommt nun weiter darin zum Ausdruck, daß es um die Massulaevakuolen eine zwar sehr feine, aber doch feste Membran ausscheidet, die man als Vakuolenmembran bezeichnen muß. Werden die Vakuolenblasen nach dem Herauspräparieren aus dem Sporangium verletzt, so können die Sporen durch Wasserzusatz zum Teil aus der Blase herausgeschwemmt werden, ohne daß die Blasenwand zusammenfällt. Die Wand ist scharf konturiert, läßt aber mit Immersion eine feinkörnige Beschaffenheit erkennen, d. h. die Kontur der Blase scheint aus lauter aneinander gereihten Körnchen zu bestehen. Aus der eben angeführten Festigkeit der Membran ergibt sich, daß diese Körnchen fest miteinander verbunden sein müssen, daß also die Vakuolenhaut aus einer homogenen Grundsubstanz besteht, die durch feinste Körnchen dicht punktiert ist. Mit Chlorzinkjod färbt sich die Membran anfangs genau in derselben Weise gelblich wie der plasmatische Inhalt. Man hat danach die Membran als Plasmamembran aufzufassen.

Innerhalb der Vakuole wird nun im Verlauf der weiteren Entwicklung das Netzwerk schaumartiger Struktur, in dem die Sporen eingebettet sind, die Zwischenmasse Strasburger's, gebildet.

In dem lebenden Sporangium erscheint der Vakuoleninhalt wasserklar und vollständig homogen und läßt auch mit Immersion keinerlei Trübung erkennen. Auch gallertiger Inhalt, den Strasburger (1898, pag. 546) nach dem Zerdrücken der Blasen in Wasser auftreten sah, konnte nicht direkt nachgewiesen werden; dagegen fehlen zweifellos, entgegen den Angaben Strasburger's, innerhalb der Vakuolen stets die Kerne und die Stärkekörnchen. Der Inhalt der Vakuolen dürfte danach aus gelösten Substanzen bestehen. Daß sich unter diesen eine Menge eiweißartiger Stoffe befinden, zeigt sich bei der Fixierung. Hierbei bilden sich nämlich feinflockige Gerinnsel, die mindestens zweierlei Kolloide enthalten. Eines derselben scheidet sich in Form feiner netzartig aneinanderhängender Fäden aus, das zweite in Gestalt feiner körnchenartiger Einschlüsse in diesen Fäden (Textfig. 3 und Taf. XIV, Fig. 4). Die Fäden selbst speichern Hämatoxylin nur schwach, während die Körnchen den Farbstoff sehr fest zurückhalten. Diese Inhaltsbestandteile der Vakuolen hat Strasburger übersehen, und ist wohl dadurch zu der Annahme geführt worden, daß das Zytoplasma, wenn ich die Angabe recht verstehe, direkt als geformte schaumige Masse event. in Form der späteren Massulaewaben von dem Periplasmodium her einwandert. Strasburger schreibt (1898, pag. 546): „Die Einwanderung vollzieht sich der Haupt-

sache nach von dem stärkeren plasmodialen Belage aus, der sich an der Mikrosporangiumwand befindet. Die Waben der an die Blase angrenzenden Zytoplasmaschicht schwellen dann zu noch bedeutenderer Größe an, als es diejenige war, welche die Kammern des Plasmodiums zwischen den Sporen vor Beginn der Blasenbildung zeigten, und dringen gleichzeitig in die wenig konsistente Gallertmasse der Blasen vor. Sie nehmen so den Blaseninhalt, den sie zuvor ausgeschieden hatten, jetzt wieder in sich auf. Man kann die Zytoplasmakammern solchermaßen in den Blasenraum vorrücken sehen, oder richtiger gesagt, in den Präparaten verschiedener Stadien auffinden, welche die Blasen mehr oder weniger tief von den Zytoplasmakammern durchsetzt zeigen".

Ein solcher Einwanderungsprozeß von schaumigem Zytoplasma ist unwahrscheinlich, weil die Massulablasen, wie oben gezeigt, von einer ziemlich derben Vakuolenhaut umgeben sind. An dieser Haut sind sogar schon die Anlagen der Glochidien vorhanden, wenn noch von Maschen innerhalb der Blasen nichts zu sehen ist, ein Zeichen dafür, daß tatsächlich die Massulablase schon eine Struktur und beträchtliche Dichte besitzt, so daß man ohne zwingenden Grund nicht annehmen kann, daß geformte Zytoplasmateile in großen Mengen durch sie hindurchwandern. Ein zwingender Grund ist aber keineswegs vorhanden und auch sonst keinerlei Andeutung dafür, daß wirklich strukturiertes Plasma einwandert. Dagegen kann man wohl annehmen, daß die Substanzen, welche die Fäden und die Körnchen bilden, in gelöster Form durch die Wand der Massulavakuole diffundieren, zumal in dem Maße, als die Vakuolen sich vergrößern, das Periplasma außerhalb der Vakuolen verschwindet.

Entstehung der Zwischenmasse.

Die Entstehung der Zwischenmasse ließ sich nicht an lebenden Sporangien verfolgen, weil hierin der Inhalt der jüngeren Massulae so gleichartig erscheint, daß überhaupt keine Differenzierungen wahrzunehmen sind. An fixiertem Material kann man feststellen, daß der eiweißartige Inhalt der Massulae anfangs in dicken, gerinnselartigen Flocken koaguliert und spärlich über den ganzen Innenraum der Massulablase verteilt ist. Die Flocken werden dann allmählich feiner und gleichmäßiger und nach einiger Zeit ist statt ihrer ein unregelmäßiges aber engmaschiges Netzwerk aus ziemlich dünnen Fäden zu sehen, die zahlreiche mit Hämatoxylin stark färbbare dicke Körnchen enthalten. Sehr auffallend ist dann der Unterschied zwischen diesem Plasmanetz und der Schaumstruktur des Periplasmodiums. Denn dieses

besteht, im Gegensatz zu dem eben geschilderten Bau der Massulagerinnsel, aus einem sehr zart spinnwebigen Gerüst mit kleineren und größeren Vakuolen und einer Menge äußerst feiner, nicht sehr stark färbbarer Körnchen (vgl. Taf. XIV, Fig. 4). Dieser Gegensatz bildet übrigens ein weiteres Indizium gegen die Annahme Strasburger's, daß das Zytoplasma des Periplasmodiums in die Gallerte der Massulablase zur Bildung der Wabenwände in geformtem Zustande einwandert.

An Stelle der feinen Massulagerinnsel entsteht nun eine Art grobschaumigen Gerüstes, dessen Kammern den späteren Waben entsprechen. Die Kammerwände dieses Gerüstes scheinen aus homogener protoplasmatischer Substanz aufgebaut (sie färben sich mit Jod gelb, mit Hämatoxylin blau). Bei starker Vergrößerung (Immersion bei Hämatoxylinpräparat) zeigt sich aber, daß die Maschen der Wände aus sehr feinen Fäden von heller gefärbter Substanz zusammengewebt sind, in denen dunklere Partieen liegen, die nicht oder kaum dicker sind als die Fäden (Textfig. 6). Aus diesen fädigen Kammerwänden entstehen dann die späteren homogenen scharf umrissenen Wabenwände. Eine restlose Umwandlung der ganzen Wabenwände, wie Strasburger angibt (pag. 547), findet dabei aber nicht statt. Denn es bleibt in den alten Massulis mit fertig ausgebildeten Waben noch plasmatischer Inhalt in jeder Wabe zurück, der bei schwacher Vergrößerung aussieht wie ein kontrahierter Protoplasmaschlauch in einer abgetöteten Zelle (Textfig. 6), der dagegen in Wirklichkeit aus einem feinen fädigen Netzwerk gebildet wird, das den Wabenwänden dicht anliegt. Zwischen solchen Fadensystemen liegt also die junge Wabenwand als anfangs homogene Lamelle. Später treten aber in dieser Lamelle Differenzierungen auf. Die fertige Wabenwand ist nicht homogen, sondern sie ist aus zwei sehr feinen und scharfen Lamellen zusammengesetzt, zwischen denen sich eine äußerst feinkörnige Substanz befindet. An manchen Stellen, besonders in der Umgebung von Sporen, weichen die beiden Lamellen auseinander. Dann geht die feinkörnige Mittelschicht in eine körnige Ausfüllungsmasse über, die bei relativ größerer Ausdehnung größere Schaumblasen und Vakuolen aufweist (Textfig. 6). Diese feineren Strukturen wären nicht der Erwähnung wert, wenn wir ihnen nicht bei den Makrosporen, dort aber in viel mächtigerer Ausbildung, wieder begegneten.

Aus dem Angeführten geht also hervor, daß die Massulablasen in ziemlich beträchtlichen Mengen eiweißartigen Inhalt aufnehmen und daß durch Vermittlung dieser Substanz das schaumartige Wabenwerk gebildet wird.

Bezüglich der chemischen Natur der Wabenwände sei nur folgendes bemerkt: In jüngeren Entwicklungsstadien gibt die Maschensubstanz eine Zeitlang Zellulosereaktion. Allerdings ist die Reaktion leicht zu übersehen, denn wenn man die Blasen mit Chlorzinkjod behandelt, erhält man nur eine dunkelgelbbraune Färbung. Erst wenn man nach einiger Zeit ein solches Präparat mit Wasser auswäscht tritt eine, und zwar eine sehr intensiv violette Färbung auf.

Die ausgewachsenen Wabenwände zeigen dann, wie auch Strasburger angibt, mit Jod oder Chlorzinkjod, auch nach vorheriger Behandlung mit KOH stets nur noch Gelbfärbung und erweisen sich gegen H_2SO_4 sehr widerstandsfähig. Sie bestehen somit aus einer kutinartigen Substanz.

Wachsen die Maschen der Massulae?

Die bisher beschriebenen Bewegungsvorgänge innerhalb des Plasmodiums, die Bildung der Massulaevakuolen, sowie der Wabenwände in deren Innern und schließlich die Kernvermehrung in den Periplasmodien lassen keinen Zweifel mehr darüber bestehen, daß das Periplasmodium einen lebenden, einheitlich funktionierenden Protoplasten darstellt. Zu diesen Feststellungen kommt nun als weitere Lebensäußerung die Tatsache, daß die Massulae im Laufe der Entwicklung eine beträchtliche Vergrößerung erfahren, d. h. daß sie wachsen. Schon der bloße Vergleich von jungen und alten Massulis legt die Vermutung sehr nahe, daß Wachstum stattfindet. Sicherheit ergab sich dann bei Messung der Maschengröße. Diese wurden an verschiedenen Massulis in der Weise vorgenommen, daß in annähernd isodiametrischen Maschen der kürzere Durchmesser gemessen wurde. Ich führe einige Zahlen an:

4	4	7	6	5	3	8
8	5	7	8	8	8	8
8	11	10	8			
12	11	14	12	10		
11	12	11	11	12	14	
14	12	11	13	15	10	

Maschen mit außergewöhnlich großem Durchmesser (20) wurden nicht gemessen. Ferner wurden Massulae zur Messung herausgesucht, die sich nicht merkbar kontrahiert hatten. Denn bei schlechter Fixierung an jungen Massulis zeigte sich oft starkes Zusammenschrumpfen, das an einer Zerknitterung der Wabenwände zu erkennen war.

Die Zahlen der beiden ersten Reihen — jüngere Massulae mit schon ganz scharfen Konturen der Maschen — zeigen, daß bis zur

Reife — die beiden letzten Reihen — die Durchmesser der Maschen sich fast verdoppeln.

Damit ist also ein Wachsen der Wabenwände festgestellt, das in keiner Weise dem Wachstum normaler Zellwände, sondern höchstens einem Wachstum von Wänden kernloser Zellen mit spärlichem plasmatischem Inhalt vergleichbar wäre.

Die Glochidien.

Wir haben bisher gesehen, daß das Wabenwerk der Massulae sich innerhalb einer großen Vakuole, der Massulavakuole entwickelt, die im Periplasmodium liegt. Auf der Außenseite dieser Vakuolen, die Produkte des Periplasmodiums sind, entstehen nun die für die Pflanzenwelt ganz ungewöhnlichen ankerförmigen Anhänge, die Glochidien. Mit der Bildung dieser Organe erreicht die formative Tätigkeit des Periplasmodiums ihren Höhepunkt. In gewisser Beziehung ist diese Tätigkeit derjenigen bei Bildung der Massulawaben analog, denn in beiden Fällen handelt es sich um Neubildung von Membrankörpern innerhalb des Periplasmodiums durch Vermittlung eines hautschichtartigen Organs.

Bau der Glochidien.

Der Bau der Glochidien ist von Strasburger folgendermaßen beschrieben worden (pag. 58): „Sie sind der Haut schmal inseriert ohne stets deutliche Beziehungen zu den unter ihr liegenden Hohlräumen . . . Diese Glochidien sind bei Azolla filiculoides einkammerig, bei A. filiculoides var. rubra im oberen Teile zwei bis dreimal septiert, wobei häufig die untersten Scheidewände unvollständig, nur als einseitige Leisten in das Lumen der Glochide vorspringen. Die Membran der Glochide ist farblos durchsichtig. An der Basis und am Scheitel sind die Glochidien einseitig zusammengedrückt, in ihrer Mitte etwas bauchig angeschwollen, an ihrer Spitze enden sie in einem ankerförmigen Köpfchen. Das Köpfchen und der flachgedrückte Fuß sind ihrer ganzen Masse nach fast ohne Lumen. Die Glochidien besitzen eine erstaunenswerte Elastizität. Solchen Pflanzen, die viele Dezennien lang getrocknet aufbewahrt worden waren, entnommen und ins Wasser gebracht, werden sie sofort turgeszent und stellen sich mehr oder weniger senkrecht auf die Massulae“.

Diese Beschreibung ist noch an zwei Punkten zu ergänzen: erstens in bezug auf den Ansatz an die Massulae, den Fuß, zweitens in bezug auf die chemische Reaktion.

Bau des Glochidienfußes.

Bei der auffallenden Erscheinung des Aufstehens der Glochidien mußte dem Bau des Glochidienfußes besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Man sieht zuweilen Bilder, aus denen hervorzugehen scheint, daß die Glochidien durch ein langes stielrundes Fußstück mit der Zwischenmasse verbunden sind. Sorgfältige Untersuchung an gefärbten Präparaten — besonders Saffraninfärbung eignet sich dazu — ergaben mit Sicherheit, daß die Bilder nur die Profilansicht der Glochidien geben (Strasburger). Die Verbindung des Glochidienkörpers mit der Zwischenmasse wird durch eine bandförmige Fortsetzung der Glochide hergestellt, die nur von der Seite fadenförmig dünn erscheint. Wenn die Glochidien innerhalb des Sporangiums der Massula angedrückt sind, liegen sie stets mit der flachen Seite an. Die außerordentliche Elastizität kann man leicht feststellen, wenn man viel Wasser unter das Deckglas gibt, dann zittern die Glochidien senkrecht zur Fläche des Fußes auch ohne besondere Erschütterung lebhaft hin und her.

Chemische Beschaffenheit der Glochidien.

Um die Leistung des Periplasmodiums bei der Bildung der Glochidien richtig einschätzen zu können, müssen wir auch die chemische Natur dieser Anhänge genauer analysieren. Ihrer chemischen Beschaffenheit nach bestehen die Glochidien im großen und ganzen aus einer kutinartigen Substanz. Sie färben sich mit Sudanglyzerin schwachrötlich, mit Chlorzinkjod gelb, auch nachvorheriger Erwärmung mit KOH, während Jod allein nur sehr schwache Reaktion gibt. In ganz jungen Stadien werden die Glochidien, wie die Zwischenmasse, mit Chlorzinkjod noch gelb, sind also noch eiweißartiger Natur. Später konnte, wie bei der Zwischenmasse, vorübergehend Zellulosereaktion erhalten werden, wenn das Präparat nach Behandlung mit Chlorzinkjod mit Wasser ausgewaschen wurde; erst die erwachsenen Massulae zeigen überall Kutinreaktion. Übrigens gibt auch Mettenius (Linnaea 1897, pag. 271) an, daß sich die Glochidien mit $J + H_2SO_4$ konz. violett färben, während Strasburger (1873, pag. 60) wohl häufig, bei der Zwischenmasse aber nicht bei den Glochidien nach Zusatz dieser Reagentien violette Färbung auftreten sah.

Strasburger schreibt ferner, „daß sich die Glochidien . . . . besonders die verdickte Spitze mit Chlorzinkjod hellgelb färben“, und „daß nach Erwärmen mit KOH die Glochidien an den Spitzen hellbräunlich gefärbt“ wurden.

Der Unterschied zwischen Kopf und Körper der Glochidien ist in der Tat vorhanden und zwar ganz scharf ausgebildet. Bei eben fertiggestellten Glochidien erhält man mit Jodjodkalium schwach hellgelbe Färbung des Körpers und braungelbe des Stückes, das zwischen den beiden Ankerzähnen gelegen ist (Textfig. 7). Das letztgenannte Stück nimmt Hämatoxylin gar nicht auf, während die Ankerzähne blaßblau, die übrigen Teile dunkler werden; mit Saffranin färben sich Körper und Fuß intensiv rot, der Anker dagegen nur sehr schwach. In den leisen Anschwellungen der Ankerzähne bleiben zwei Stellen ungefärbt und erscheinen stark lichtbrechend, so daß der Eindruck erweckt wird, als sei dort ein luftleerer Raum vorhanden.

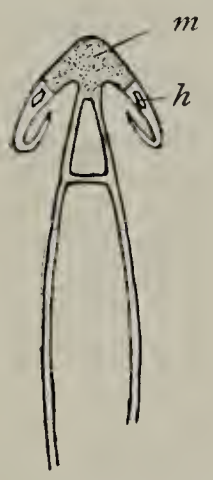


Fig. 7. Köpfchen einer Glochidie. *m* Mittelstück. *h* Hohlraum (?).

Wir erwähnen diese Differenzierungen absichtlich, obwohl sie an sich wenig Interesse beanspruchen, weil sie zeigen, daß die Glochidien nicht nur morphologisch, sondern auch chemisch mehrfach differenziert sind.

Entwicklung der Glochidien.

Sehr viel Schwierigkeit bereitete die Untersuchung der Entwicklung der Glochidien. Bei fixiertem und eingebettetem Material konnte niemals irgend ein jüngeres Entwicklungsstadium aufgefunden werden, auch nicht nachdem die Entwicklung bekannt war; ebensowenig gelang es, die Bildung der Glochidien an Alkoholmaterial festzustellen. Deshalb haben auch weder Strasburger, der anscheinend nur Alkoholmaterial untersuchte, noch Campbell oder Pfeiffer, die nur Mikrotomschnitte durchmustert haben, die Entstehung der Glochidien beobachten können. Auch bei frischem Material kostete es viele vergebliche Mühe, ehe es gelang, der jüngeren Entwicklungsstadien habhaft zu werden.

So oft man Sporangien untersucht, in deren Zwischenmasse, auch wenn sie noch so jugendlich ist, das Maschenwerk deutlich zu erkennen ist, findet man nur vollständig fertig gegliederte Glochidien, so daß es den Anschein gewinnen könnte — und Strasburger hat auch diese Ansicht ausgesprochen — als ob die Gebilde sich in ihrer endgültigen Gestalt mit einem Male fertig aus dem Periplasma entwickelten. Auf den Gedanken kann man um so eher kommen, als die Glochidien stets an die Oberfläche der Massulae angelegt und somit in dem die Masssulae einhüllenden Plasma eingebettet sind. Diese Lage der Glochidien ergibt sich daraus, daß die Massulae den Raum des Sporangiums so sehr ausfüllen, daß gar kein Platz für nur einigermaßen abstehende

Anhangsorgane vorhanden ist. Erst wenn die Massulae aus dem Sporangium befreit werden, richten sich die Glochidien auf, und zwar geht bei reifen Sporangien die Aufrichtung so schnell vor sich, daß man glauben könnte, man habe die Glochidien vorher übersehen, und diese seien von vornherein senkrecht zur Massulaoberfläche gestellt gewesen. Nur bei jüngeren frischen Massulis findet man beim Öffnen der Sporangien die Glochidien noch durch die Periplasmahülle festgehalten und mehr oder weniger an die Massulae angedrückt. Das Aufrichten der Massulae findet in lebenden und in fixierten reifen Massulis mit gleicher Schnelligkeit statt, hängt daher nicht vom osmotischen Druck oder anderen Vorgängen, die an lebendes Plasma gebunden sind, ab, sondern nur von der elastischen Beschaffenheit und dem Bau des Glochidienfußes, der vermöge seiner hohen Elastizität federartig aufschnellt.

Um die Entwicklung der Glochidien verfolgen zu können, muß man Sporangien aufsuchen, in denen zwar die Massulavakuolen schon vorhanden, die Massulae aber noch ganz jung sind und keine Schaumstruktur zeigen. Die Oberfläche der Massulae, die wir schon als Vakuolenhaut bezeichnet haben, erweist sich darum bei Betrachtung mit homogener Immersion als äußerst fein punktiertes plasmatisches Häutchen, während das Innere der Massulavakuole, wie schon hervorgehoben, noch vollständig homogen und wasserhell erscheint.



Fig. 8. Vakuolenhaut einer jungen Massula-Vakuole, an der die Anlagen der Glochidien als schlauchartige Ausstülpungen zu sehen sind.

Gelingt es eine solche Blase im richtigen Stadium in physiologischer Kochsalzlösung zu isolieren, dann erkennt man bei Anwendung starker Vergrößerungen, daß sich aus der Vakuolenwand schlauchartige Ausstülpungen hervorheben. Die jüngsten beobachteten Stadien sind stets etwas flaschenförmig aufgetrieben (Textfig. 8); ältere zeigen die Anfänge des Kopfes als ungefähr spatelförmige Erweiterungen mit beginnenden Aussackungen nach unten, aus denen die Ankerhaken ent-

stehen (Textfig. 9). Der Kopf ist schon gleich von Anfang an seitlich etwas zusammengedrückt, nicht kugelig, wenn auch in seitlicher Ansicht etwas angeschwollen.

Die Anlagen der verschiedenen Glochidien entstehen an einer Massulablase, ungefähr, aber nicht genau zu gleicher Zeit, so daß man immer verschiedene, wenn auch nahe beieinanderliegende Entwicklungsstufen findet. Die ursprünglichen stumpfen Widerhaken schärfen sich schnell zu und biegen sich schließlich noch nach innen zurück. Dann erst tritt die Querwand auf, welche das Köpfchen von dem Ankerstiel abtrennt (Textfig. 13). Die jugendlichen Schläuche entstehen aus der Substanz der Vakuolenmembran und erscheinen als äußerst feinkörniges Plasmahäutchen, das sich bei Zusatz von Jod in gleicher Weise gelb färbt wie der übrige plasmatische Inhalt des Sporangiums. Anfangs sind sie noch ganz weich, so daß sie sehr leicht beim Präparieren deformiert werden (Textfig. 10). Sie müssen aber mit dem unter hohem Druck stehenden Inhalt der Vakuole gefüllt sein. Denn die einzelnen Massulablasen liegen innerhalb des Sporangiums so dicht aneinander, daß auch die Glochidienanlagen an die Oberfläche der Blase angedrückt wachsen. Trotzdem richten sich diese Anlagen bei Befreiung der Massulae sofort auf, was nur durch Zuhilfenahme eines hydrostatischen Druckes im Innern der Blase zu erklären ist, da der Fuß in diesem Stadium noch aus protoplasmatischer Substanz besteht. Ein solcher Druck ist hier um so leichter zu verstehen, als die Massulavakuole noch keine Maschen aus-

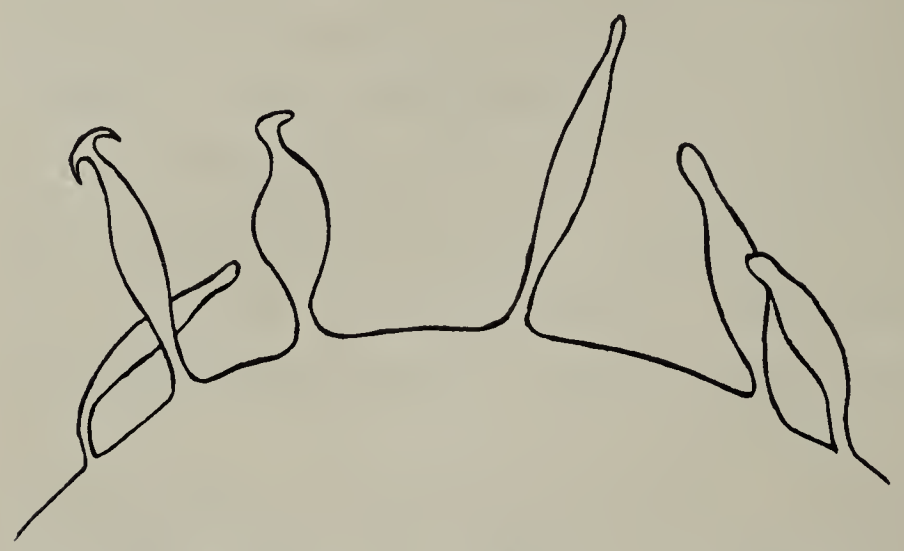


Fig. 9. Vakuolenhaut einer Massula in etwas älterem Stadium wie Textfig. 8.

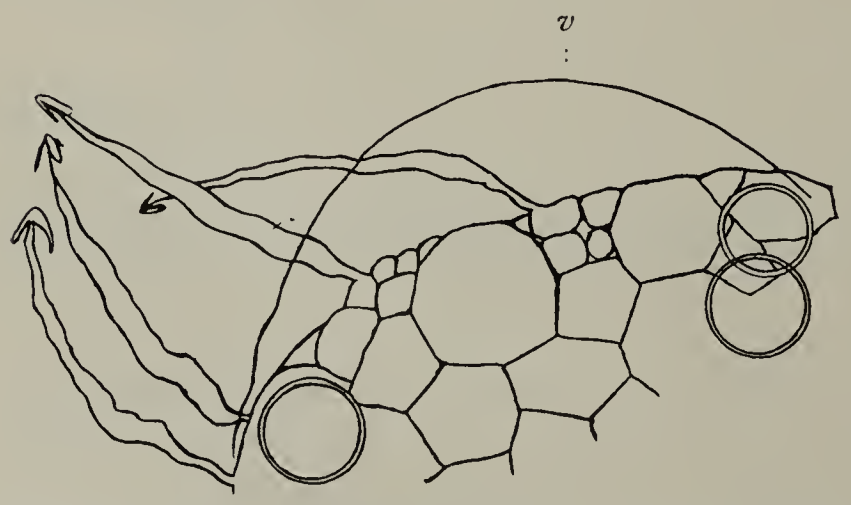


Fig. 10. Junge Massula mit Glochidien, deren Membranen noch nicht fest sind. *v* Hautschicht der Vakuole, in der die Massula liegt.

gebildet hat, also noch ganz mit Flüssigkeit angefüllt ist. Auch wenn die Anker am Köpfchen der Glochidien schon fertiggestellt und die Maschen schon ausgebildet sind, erweisen sich die Glochidien noch als

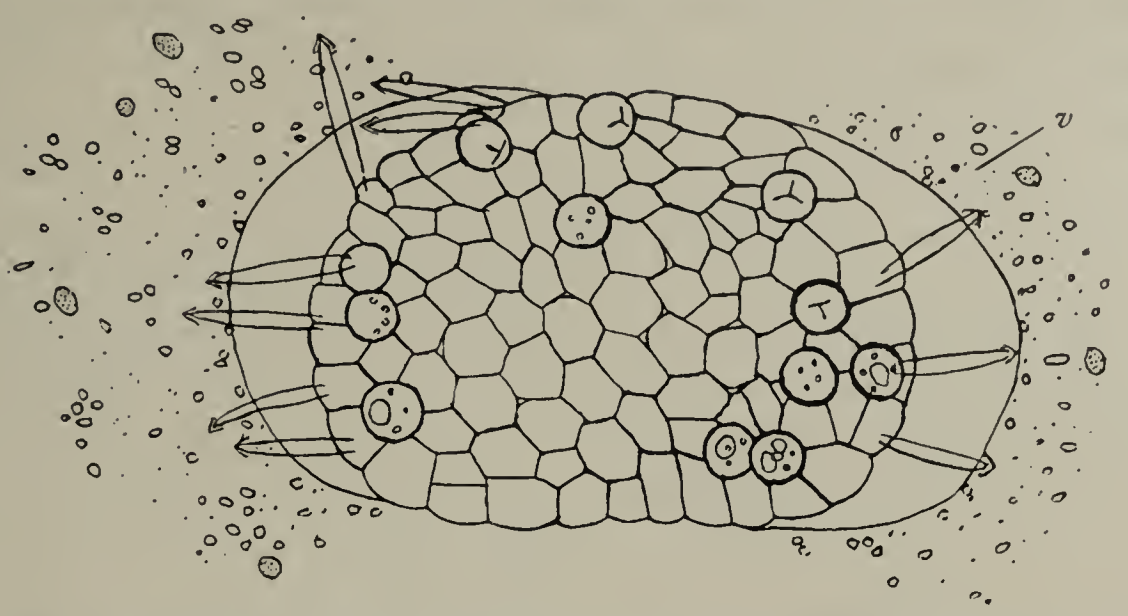


Fig. 11. Junge Massula. *v* Die Vakuolenhaut des Periplasmodiums, in der die Massula liegt, hat sich in Wasser weit abgehoben.

sehr weich und zeigen infolge der Präparation oft wellige Verbiegungen des Stieles oder der Widerhaken des Ankers (Textfig. 10).

Ursprünglich sind die Glochidien freie Ausstülpungen der großen Massulavakuolenhaut, die gebildet werden, wenn vom Netzwerk der Zwischenmasse noch nichts zu sehen ist. An den fertigen Massulis aber scheinen die Glochidien aus einer Schaumblase der Zwischenmasse hervorgewachsen zu sein (Textfig. 12). Diese Schaumblasen werden erst später durch Verbindungsstücke gebildet, die sich zwischen die Massulavakuolenhaut und die angrenzenden Waben einschieben. In einem Präparat ließ sich sehr schön beobachten, daß die äußerste Wabenschicht zuletzt gebildet wird. Die freigelegte Massulablase zeigte ein zartes feines Netzwerk im Innern als Anlage des Wabenwerkes, das noch nicht

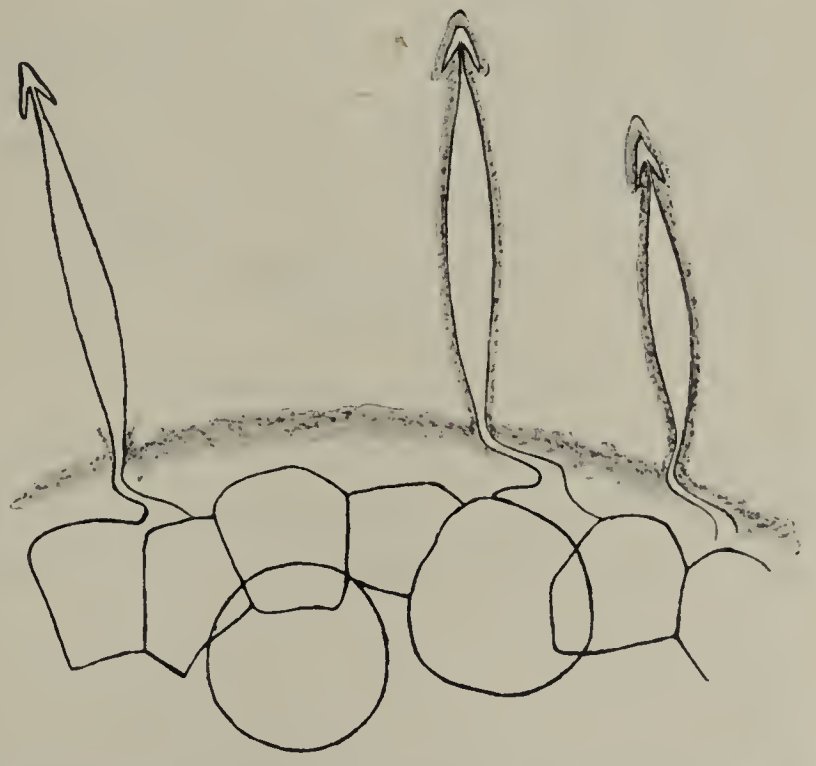


Fig. 12. Ältere Glochidienanlagen, die den Ansatz der Glochidien an die Waben zeigen.

bis an die Oberfläche der Massula reichte (Textfig. 13). Durch Druck des Deckglases wurde nun die äußere Massulablase aufgerissen, der Inhalt herausgedrückt und die Vakuolenhaut samt den Glochidienanlagen freigelegt. Der vorher sichtbare Teil der Netzwerke ging dabei übrigens vollständig zugrunde, war also in leicht zerstörbarer Form ausgeschieden gewesen.

Wachsen die Glochidien?

Um diese Frage zu entscheiden, wurden Massulae verschiedenen Alters mit Saffranin gefärbt, wobei die Glochidien besonders scharf hervortraten, in Kanadabalsam eingeschlossen und dann die Glochidien der verschiedenen Massulae gemessen.

jüngere Glochidien		23	19	28	22	23
		26	29	27	28	23
ältere	„ „	33	32	36	34	
		31	37	33	35	

Daraus geht hervor, daß die Glochidien, nachdem sie ihre ankerförmige Gestalt erreicht haben, sich noch beträchtlich verlängern. Die Verlänge-



a *b*

Fig. 13. *a* Junge Massula mit Glochidien und Wabenwänden. *b* Die Vakuolenhaut derselben Massula nach dem Zerdrücken im Wasser; stärker vergrößert. Die Waben sind verschwunden, in den Glochidien ist noch ein plasmatisches Häutchen sichtbar.

Fig. 13.

rung ist insofern verständlich, als die Glochidien nicht nur nach außen hin ganz in das Periplasma eingebettet sind, sondern auch noch lange Zeit feinkörnigen homogenen Inhalt führen, welcher den Rest des Plasmahäutchens, aus dem sie entstanden sind, darstellen dürfte und den plasmatischen Substanzen entspricht, die in den Waben der Zwischenmasse übrig bleiben. Meist sieht man im Innern der Glochidien auch noch tropfige Inhaltsbestandteile, die den alten Glochidien fehlen, also wohl beim Wachstum aufgebraucht werden.

Verhalten der Mikrosporen.

In der Zwischenmasse nahe der Oberfläche der Massula sind die Mikrosporen eingebettet. Strasburger gibt an, daß sie „eine einfache

ziemlich stark verdickte Membran" besitzen und daß sie meist auf der einen Seite noch drei Leisten erkennen lassen, die von ihrer tetraedrischen Teilung herrühren (1873, pag. 58). Ob die Mikrosporenmembranen später noch eine weitere Differenzierung erfahren, ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen, ist auch für unsere Zwecke nicht von Wichtigkeit. Erwähnt zu werden verdient aber, daß auch die Sporen, nachdem die Massulawaben fertig gestellt sind, noch wachsen. Es geht dies aus den folgenden Messungen hervor (die Zahlen jeder Serie stammen von Sporen verschiedener Sporangien):

1. Massulae noch ohne Waben	54	52	55	60	58	52	54	54
2. jüngere Massulae mit Waben	62	60	60	65	60	58	60	65
3. alte Massulae mit Waben	80	82	78	82	80	85	80	82

Nach Anlage der Massulawaben vergrößern sich also die Durchmesser der Sporen noch um ca. 30 %.

Hier interessiert nun noch die Frage, woher die Baustoffe für dieses Wachstum stammen. Eine ganz sichere Entscheidung ließ sich nicht treffen. Wahrscheinlich aber wird das Baumaterial von dem Plasmodium geliefert. Dieses enthält nämlich viel Stärkekörner, die erst spät verschwinden, während die jungen Sporen in den Massulis, welche eben ihre Waben geschlossen haben, sehr arm an Reservestoffen sind. Sie besitzen wasserklares Plasma und eine zentrale Vakuole, die fast den ganzen Sporenraum einnimmt. In älteren Stadien dagegen lassen sich in den Sporen verhältnismäßig reichlich Stärkekörner und Fettropfen nachweisen. Da zudem die Sporen stets an der Peripherie der Massulae liegen und hier nicht in einer Wabe, sondern zwischen den Waben in einer schaumartigen Masse von plasmaähnlichen Farbreaktionen, kann man sich vorstellen, daß aus dem Periplasmodium Nährstoffe in die Sporen einwandern. Allerdings wäre der Vorgang insofern auffällig, als die Nährstoffe nicht nur durch die kutisierte äußere Wand der Massulae, sondern auch durch die dicken Sporenmembranen, die ebenfalls längst Kutinreaktion zeigen, hindurchdiffundieren müßten.

Zerfall des Periplasmodiums.

Im Gegensatz zu den Equisetumsporangien wird bei Azolla das Periplasmodium nicht vollständig aufgebraucht. Auch um ganz reife Massulae findet man noch ein dünnes mit Hämatoxylin färbbares Häutchen von unregelmäßig netzartiger Struktur.

Das Plasmodium stirbt zweifellos nicht gleich nach Bildung der Glochidien ab. Es enthält nach Fertigstellung dieser Gebilde noch

längere Zeit Chlorophyllkörner und Stärke, die erst allmählich aufgebraucht werden. Ferner scheidet es nach der Bildung der Glochidienhautschicht eine neue Hautschicht gegen die einzelnen Massulae ab, die sich oft sehr weit von den Massulis abhebt, wenn man ein Mikrosporangium in der ersten Zeit nach Ausbildung der Glochidien in physiologischer Kochsalzlösung zerdrückt (s. Textfig. 11).

Die Plasmodiumkerne, die anfangs chromatinreich sind, fangen nach der Bildung der Glochiden an chromatinarm und blasig zu werden. Später zeigen sie nur noch undeutliche Konturen und zerfallen schließlich vollständig.

Makrosporen.

Der Bau der Makrosporen von Azolla ist mindestens ebenso merkwürdig, wie derjenige der Mikrosporen und ihrer Anhangsgebilde und scheint auf den ersten Blick von dem der Mikrosporen sehr stark abzuweichen. Die Entwicklung der Makrosporangien wurde nun zwar nicht lückenlos verfolgt, aber doch so weit als nötig war, um die Homologieverhältnisse zwischen Mikro- und Makrosporangien feststellen zu können.

Bau der Makrosporen.

In dem reifen Makrosporangium, das wesentlich kleiner ist als das Mikrosporangium, wird reichlich die untere Hälfte von einer einzigen großen kugeligen Makrospore eingenommen, die von einem gelben, sehr kompliziert gebauten Perispor[1]) umhüllt ist. Auf dem Scheitel der Spore sitzen drei annähernd eiförmig gebaute Körper, die sich gegenseitig berühren und an den Berührungsflächen so abflachen, daß die Trennungsflächen einen Winkel von 120° miteinander bilden. Die Schnittlinie dieser drei Flächen fällt in die Längsachse des Sporangiums und stößt gerade an der Stelle auf die Membran der Makrospore, wo drei Leisten unter einem Winkel von 120° ausstrahlen. Diese drei Leisten rühren von der tetraedischen Teilung der Sporenmutterzelle her, die der Makrospore und ihren verkümmerten Schwesterzellen den Ursprung gegeben hat.

Von den Scheiteln der drei birnförmigen Körper (Schwimmapparate nach Strasburger) entspringt ein dichtes Büschel äußerst feiner

1) Bezüglich der Einzelheiten muß auf die Ausführungen und Abbildungen in Strasburger's Werk (1873) verwiesen werden.

peitschenförmiger Anhänge, die innerhalb des Sporangiums nach rückwärts gerichtet und der Oberfläche der Anhänge dicht angedrückt sind, da, ähnlich wie bei den Glochiden, in den Mikrosporangien kein Raum verfügbar ist, in dem die Peitschen sich ausdehnen könnten. Ebensolche peitschenförmige Anhänge finden sich auf der Oberfläche des Perispors der Makrospore, nur entspringen sie hier nicht büschelweise, sondern sind einzeln und gleichmäßig über die ganze Oberfläche der Spore verteilt. Diese drei birnförmigen Körper hängen mit der Makrospore zusammen, aber nicht so fest, daß man sie nicht mit einiger Geschicklichkeit ohne weitere Beschädigung von der Makrospore und voneinander abtrennen könnte.

An den Sporenmembranen sind zwei Hauptschichten zu unterscheiden, die eigentliche Sporenmembran, Exospor, und das Perispor. Das Exospor läßt sich leicht von dem Perispor ablösen und ist bei fixiertem und geschnittenem Material sogar stets mehr oder weniger aus dem Perispor herausgerissen. Es stammt von der ursprünglichen Membran der Sporenzelle und zeigt während seiner Entwicklung nichts außergewöhnliches. Da sein Schicksal mit dem Periplasmodium nicht direkt in Zusammenhang steht, brauchen wir in folgendem auf diese Membran nicht einzugehen.

Das Perispor läßt, abgesehen von den peitschenförmigen Anhängen, zwei Teile erkennen:

1. zu innerst eine schaumartige Masse, die Zwischenmasse (nach Strasburger);
2. eine derbe gelb gefärbte Außenschicht.

Die schaumartige Masse (Textfig. 14) ist für uns von besonderer Wichtigkeit. Sie erinnert in ihrem Aussehen an die Waben der Massulae in den Mikrosporen und stimmt auch in ihrem chemischen Verhalten mit diesen überein. An dem apikalen Pol der Spore, wo die Zwischenmasse ziemlich mächtig ist, sind die Waben verhältnismäßig regelmäßig, nach unten zu dagegen, wo das Perispor die walzenförmigen Erhebungen aufweist, sind sie nach Form und Größe unregelmäßiger. Große, aber ziemlich unregelmäßige Waben weisen die Ausfüllungen der kraterartigen Erhebungen auf. Hier stoßen die Waben nicht unmittelbar aneinander, sondern sind an manchen Stellen durch Partien der nicht vakuolisierten Grundmasse getrennt, die eine dichte feine Körnelung zeigt. Diejenigen Teile der Zwischenmasse, die in den dünnen Feldern zwischen den Kratern liegen, zeigen im allgemeinen dieselbe feinkörnige Grundsubstanz, die nur vereinzelte kleine Vakuole ausgebildet hat und sich scharf gegen die großvakuolige Füllung der Kraterhohlräume ab-

setzt (Textfig. 14). Die derbe Außenschicht ist ungefähr ebenso dick wie die eigentliche Sporenmembran, dabei aber auf ihrer ganzen Innenseite mit unregelmäßig tropfigwarziger Körnelung versehen, und macht etwa den Eindruck einer ursprünglich sirupartigen, plötzlich erstarrten Hülle.

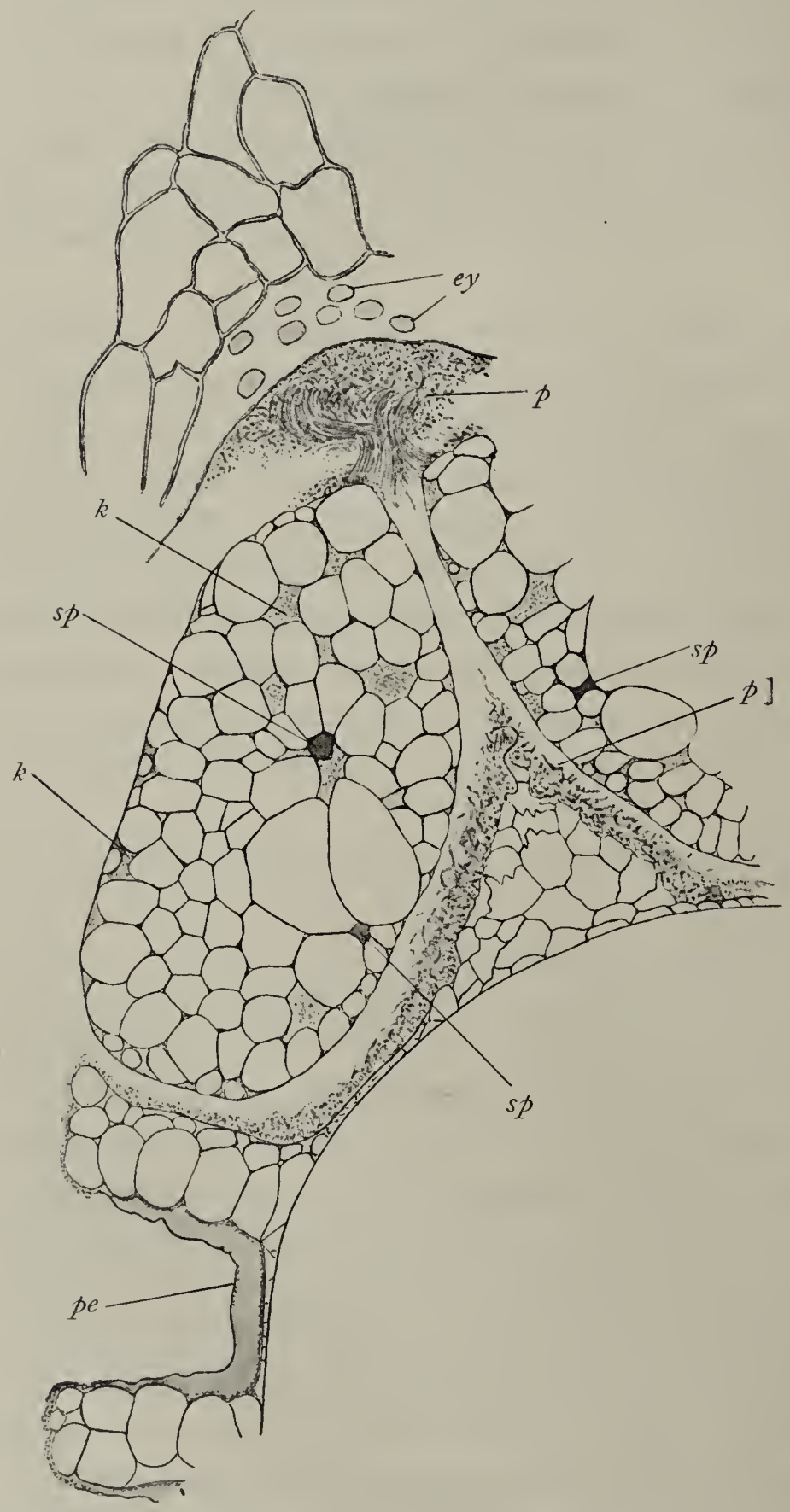


Fig. 14. Seitlich geführter Längsschnitt durch die Spitze eines Makrosporangiums. *sp* Gelbe Einschlüsse, die Reste der verkümmerten Sporen. *p* Peitschenförmige Anhänge. *pe* Äußere derbe Schicht des Perispors.

An welcher Stelle des Perispors die peitschenförmigen Anhänge entspringen, ist sehr schwer festzustellen. Auch Strasburger scheint darüber nicht klar gewesen zu sein, denn an einigen seiner Schnittbilder läßt er die Peitschen an der derben Außenschicht anfangen, und zwar an der Oberfläche der warzenförmigen Krater; an anderen Figuren setzen sie an die wabige Zwischenmasse an, welche die Krateröffnungen umgibt. Man sollte glauben, daß die Frage nach dem Ursprung der Peitschen leicht zu entscheiden wäre. Es ist mir aber trotz vieler Mühe nicht gelungen, ganz sicher die Ansatzstelle festzustellen; doch halte ich es für wahrscheinlich, daß die Peitschen nicht auf der derben gelben Schicht, sondern auf der Oberfläche der Wabenmasse entstehen.

Von besonderer Wichtigkeit ist nun noch

die Frage nach dem Bau der Peitschen. Einstweilen ist es das wahrscheinlichste, daß sie hohle Schläuche darstellen, die also den Glochidienschläuchen homolog wären. Man kann an saffraningefärbten Präparaten bei starker Vergrößerung (ca. 1500) mit Sicherheit feststellen, daß die Peitschen auf dem Querschnitt innen ungefärbt sind, während die Peripherie einen dunkelroten Ring bildet. Ebenso sind auf den Längsbildern zwei dunkle Außenkonturen und ein ungefärbter mittlerer Streifen zu erkennen. Diese Bilder stimmen mit der Annahme, daß die Peitschen Schläuche sind, überein; denn es gibt kaum eine Zellstruktur, die sich mit Saffranin nicht färben läßt. Immerhin ist bei den winzigen Dimensionen des Peitschenquerschnittes der Beweis dafür, daß den ungefärbten Stellen tatsächlich ein Hohlraum entspricht, nicht direkt zu erbringen.

Die Schwimmkörper unterscheiden sich von dem Perispor dadurch, daß bei ihnen die derbe gelbe Außenschicht fehlt, und daß sie vollständig aus großen Waben aufgebaut sind, die ungefähr ebenso gleichmäßig erscheinen, wie die Waben der Mikrosporenmassulae. Die körnige Grundmasse, die wir bei dem Perispor fanden, fehlt hier; die peitschenförmigen Anhänge entspringen alle dichtgedrängt an dem zugespitzten Pol der Schwimmkörper.

Makrosporangium und Tapetenbildung.

Für die ersten Entwicklungsstadien der Tapetenzellen im Makrosporangium gilt, wie schon erwähnt, genau das von den Mikrosporangien Gesagte.

Es wird auch hier eine scharf von dem Komplex der Sporenmutterzellen abgegrenzte Tapetenschicht gebildet, deren Zellen ursprünglich durch Querwände voneinander getrennt sind, dann aber durch Auflösung dieser Membranen zu einem Plasmodium verschmelzen.

Zwischen die Sporenmutterzellen dringt das Plasmodium in derselben Weise ein wie beim Mikrosporangium und wandert nach vollendeter Teilung der Sporenmutterzellen auch überall zwischen die einzelnen Sporen, bis diese ganz gleichmäßig im Plasmodium verteilt sind. Während bei den Mikrosporangien 16 Spormutterzellen gebildet werden, hören die Zellteilungen im Makrosporangium schon nach Bildung von acht Sporenmutterzellen auf. Die acht Zellen zerfallen dann durch Tetradenteilung in je vier Sporen, so daß im Makrosporangium im ganzen 32 Sporenzellen angelegt werden gegenüber den 64 Sporen des Mikrosporangiums.

Das Verhalten der Sporenzellen ist schon von Strasburger, Pfeiffer und Campbell dahin klargestellt worden, daß von den 32 Sporen nur eine sich entwickelt, die zukünftige Makrospore, während alle übrigen verkümmern. Diese eine Spore liegt stets zentral im unteren Teile des Sporangiums (Textfig. 15 *a* u. *b*).

Pfeiffer bildet Sporangien ab, in denen die drei Schwesterzellen der auserwählten Spore größer sind als die verkümmerten übrigen Sporen, woraus hervorgeht, daß nicht nur die eine Spore, sondern die ganze Sporenmutterzelle vor den übrigen bevorzugt sein kann.

Das Schicksal der verkümmerten Sporen. Das Verhalten der zugrunde gehenden Sporenanlagen ist von den genannten Autoren nicht genauer verfolgt worden. Alle begnügen sich damit anzugeben, daß sie anfangs im Periplasma gleichmäßig verteilt sind (s. Abb. von Campbell und Pfeiffer) und später zugrunde gehen. Nur Mettenius spricht die Ansicht aus, daß die gelben Einschlüsse, die man später in dem Schwimmkörper der Makrospore findet (s. pag. 268, Textfig. 14),

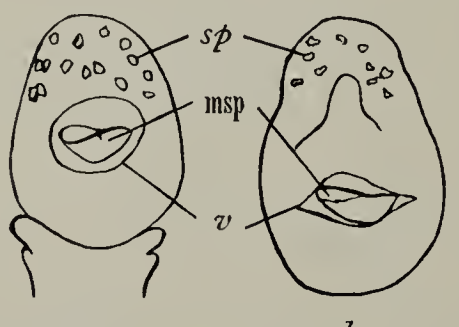


Fig. 15.

Fig. 15. Zwei Makrosporangien. *msp* Makrosporen. *v* Vakuolen, in denen die Makrosporen liegen. *sp* Verkümmerte Makrosporen.

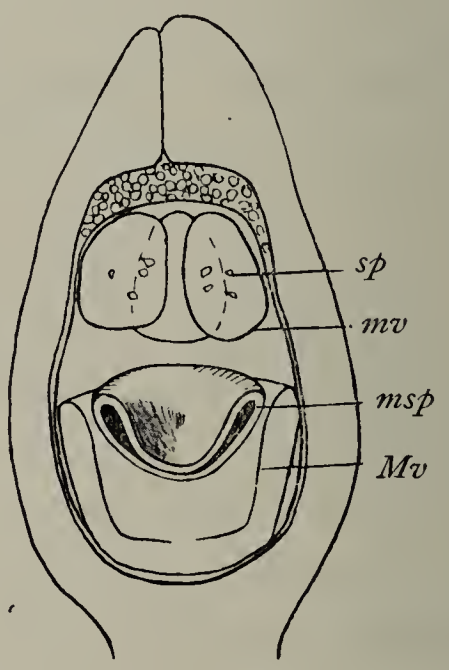


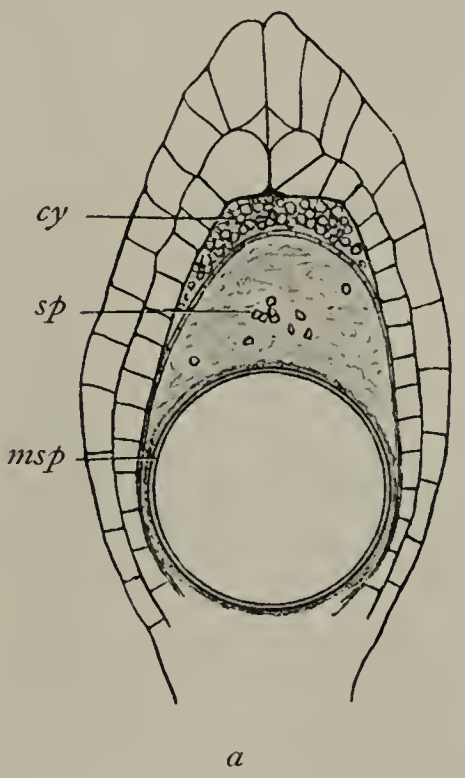
Fig. 16.

Fig. 16. Junge Makrospore. *mv* Massulavakuolen, in denen die Schwimmkörper entstehen. *Mv* Vakuole um die Makrospore, geplatzt und zurückgeschlagen. *sp* Verkümmerte Sporen in den Massulavakuolen. *msp* Makrosporen.

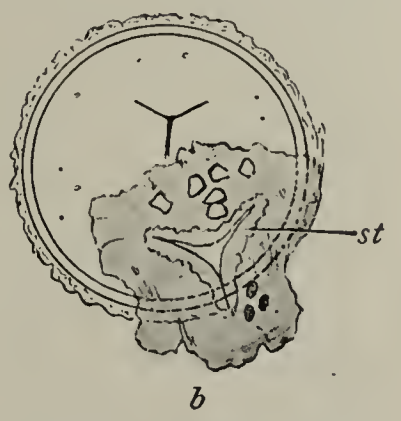
mit diesen verkümmerten Sporen gleich seien, eine Ansicht, die Strasburger als unbegründet zurückweist, die aber, wie sich gleich zeigen wird, zu Recht besteht.

Daß die verkümmerten Sporen ursprünglich ebenso wie die Tapetenkerne gleichmäßig um die weiterwachsende große Spore herumliegen, ist an jungen Sporangien sehr leicht festzustellen. Das Periplasmodium solcher Sporangien scheint an fixierten Präparaten durch das ganze Sporangium hin die gleiche Struktur zu besitzen. Etwas später

aber treten in dem Plasmodium Bewegungsvorgänge und Strukturveränderungen auf. Wenn die junge Makrospore einen Durchmesser von $^1/_4$ Durchmesser des Sporangiums erreicht hat, besteht die innere Zone des Periplasmodiums aus dichtem kernlosem Plasma, während die äußere sehr lockere, schaumige Struktur zeigt und die sämtlichen Kerne nebst den verkümmerten Sporen enthält. Bei etwas größeren Sporangien findet man dann, daß die Hauptmasse des Plasmodiums sich an dem apikalen Ende des Sporangiums angesammelt und diese verkümmerten Sporen, die ebenso wie die reifende Spore gelb gefärbte Membranen besitzen, mitgenommen hat (Textfig. 15 *a* und *b*), während stets ein Teil der Plasmodiumkerne in dem dünnen seitlichen und basalen Plasmamantel zurückgeblieben ist. Die geschilderte Plasmabewegung fällt ungefähr mit einer bemerkenswerten Drehung der großen Makrospore zusammen. Diese Spore läßt nämlich sehr deutlich die drei Kanten erkennen (Textfig. 17 *b*), an denen sie in der Sporenmutterzelle mit ihren Schwesterzellen zusammenstieß, es ist das die Stelle, an der später bei der Keimung der Makrospore das Prothallium durchbricht. Die Orientierung dieses Dreistrahls ist ursprünglich dem Zufall unterworfen (vgl. Fig. 9, Taf. XXXII bei Pfeiffer); wenn die Spore aber größer geworden ist, findet sich der Dreistrahl stets nach der Öffnung des Sporokarps zu orientiert. Die Drehung der Makrospore ist notwendig, weil bei der Keimung dem ganzen Bau des Perispors nach die Öffnung nur an dieser Stelle erfolgen kann. Rein mechanisch aus den Raumverhältnissen und der Gestalt der Spore läßt sich die Drehung nicht erklären, da die Spore ja kugelförmig ist und der Dreistrahl aus sehr niedrigen Leisten besteht. Da ferner die Sporenmembran schon in diesem Stadium sehr derb ist, kann die Drehung wieder nur auf eine nicht näher definierbare Aktivität des Plasmodiums zurückgeführt werden. Je mehr die Spore sich vergrößert, desto vollständiger füllt sie den



a



b

Fig. 17 *a*. Makrosporangien. *msp* Makrospore *sp* Verkümmerte Makrosporen. *cy* Cyanophyceen.

Fig. 17 *b*. Die herausgedrückte Makrospore mit einem Teil des Periplasmodiums, das bei *st* die Wülste über dem Dreistrahl der Spore erkennen läßt.

Raum des Makrosporangiums aus. Man könnte denken, die wachsende Spore drängte das Plasma nach dem apikalen Ende des Sporangiums. Das ist aber nicht der Fall; vielmehr muß das Plasma sich im wesentlichen aktiv an das apikale Ende bewegen. Denn 1. beginnt die Anhäufung des Plasmas schon, wenn die Spore noch kaum den halben Durchmesser des Sporangiums besitzt, und 2. sind apikales und basales Ende des Sporangiums der Gestalt nach ganz gleich, so daß kein mechanischer Grund für die Verschiebung des Plasmas nach der einen oder der anderen Seite vorliegt. Die Bewegung des Periplasmas endet damit, daß eine große Plasmakappe über der Spore liegen bleibt, während nach den übrigen Seiten hin nur ein verhältnismäßig dünner Plasmaschlauch die Spore umgibt (Textfig. 17 *a*). In diesem letzteren sind nur noch Tapetenkerne enthalten, während alle verkümmerten Sporen im Verlauf der weiteren Entwicklung nach der Kappe abgeschoben sind. Rein mechanisch läßt sich diese Bewegung nicht erklären, denn sonst müßten auch die Tapetenkerne dorthin gedrängt werden.

In der unteren dünnen Plasmahülle wird das Perispor der Makrospore in der oberen Plasmakappe der sog. Schwimmapparat (Angelapparat), gebildet.

Die weitere Entwicklung, die im wesentlichen an fixiertem Material studiert wurde, ergab, daß trotz der großen äußerlichen Verschiedenheiten eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Makro- und den Mikrosporen besteht. Die Unterschiede ergeben sich sozusagen von selbst, wenn man den Bau des reifen Makrosporangiums kennt. Die eine Spore, die in dem Makrosporangium entwickelt wird, liegt allein in einer großen Vakuole (Textfig. 16, wo die Vakuole geplatzt und nach unten zurückgeschlagen ist und Textfig. 15 *a* und *b*). Die 31 verkümmerten Sporen dagegen verteilen sich annähernd gleichmäßig auf die drei birnförmigen Vakuolen über der großen Spore (Textfig. 16), ein Vorgang, bei dem, ähnlich wie bei dem Mikrosporangium, Kräfte des Periplasmas wirksam sein müssen, welche die Verteilung der verkümmerten Sporen regulieren.

In diesen Vakuolen bildet das Periplasmodium die bekannten Schaumkörper des Angelapparates aus. Man kann diese Entwicklungsstadien am besten an fixierten, mit Eau de Javelle durchsichtig gemachten Sporangien feststellen. Die drei Vakuolen des Angelapparates liegen dann in dem oberen Teil der Makrospore so zusammen, daß sie in der Richtung der Längsachsen des Sporangiums etwas gestreckt sind

und sich außerdem gegenseitig ein wenig abflachen. Das Periplasmodium bildet aber diese Vakuolen in viel regelmäßigerer Anordnung als dies in den Mikrosporangien der Fall war. Es tritt um die Makrospore eine große Vakuole auf, die fast den ganzen unteren Teil des Sporangiums einnimmt. In der Plasmakappe über dieser Makrosporenvakuole entstehen gleichzeitig drei Vakuolen, die sich gegenseitig so abplatten, daß ihre gemeinsame Berührungskante in der Längsachse des Sporangiums auf der Makrospore senkrecht steht, also eine ähnliche Anordnung wie bei der Teilung gewisser Sporenmutterzellen in Kugelquadranten. Diese Anordnung kehrt ausnahmslos bei allen Makrosporangien wieder, ist somit keine zufällige. Die gegenseitige Abflachung und die glatte Einfügung in das Sporangium sind ja nun zweifellos durch die Raumverhältnisse verursacht, aber die regelmäßig polare Anordnung und die Regelmäßigkeit in den Größenverhältnissen können, wie oben bei den Mikrosporangien, wieder nur durch eine räumlich regulierende Tätigkeit des Periplasmodiums bedingt sein.

Die Vakuolen sind anfangs gerade wie bei den Mikrosporangien mit wasserklarem Inhalt gefüllt und liegen wie dort, wenigstens anfangs, dicht unter der Oberfläche der Massulablasen. In diesen Blasen treten beim Fixieren ähnliche Gerinnsel auf, wie in den Blasen des Mikrosporangiums und lassen sich sogar in den fast fertig ausgebildeten Waben besonders gut beobachten. Wenn auch die Beziehungen dieser Gerinnsel zu den Waben nicht in ihren Einzelheiten verfolgt werden konnten, so kann doch kein Zweifel darüber bestehen, daß die Schaumstruktur der Schwimmkörper auf ähnliche Weise entsteht wie die Waben der Mikrosporenmassulae. Die Homologie der drei Teile des sog. Schwimmapparates mit den Massulis der Mikrosporangien liegt so auf der Hand, daß wir sie als Massulae der Makrosporangien bezeichnen müssen.

Das Gleiche gilt auch für die Hülle, welche die Makrospore umschließt, d. h. für das Perispor der Makrospore. Verfolgen wir bei dieser die Entwicklung weiter, dann zeigt sich, daß sie in ihrer Vakuole so lange wächst, bis nur noch ein schmaler Saum zwischen ihr und der sie umschließenden Vakuolenwand freibleibt. Hier sammeln sich im Gegensatz zu den Mikrosporangien dichte körnige Plasmamassen an, aus welchen das Perispor entsteht, während aus der Oberfläche der Vakuolenmembran die peitschenförmigen Anhänge vorsprossen. Bilder, die mit Sicherheit als Entwicklungsstadien der Peitschen hätten angesprochen werden können, ließen sich aber an fixiertem Material nicht auffinden. Auch an lebendem Material habe ich vergebens nach Anfangs-

stadien gesucht. Wenn schon die verhältnismäßig großen Glochidien der männlichen Massulae nur äußerst schwierig zu erkennen waren, läßt sich begreifen, daß die Entwicklung dieser Peitschen eher durch einen Glücksfall, als durch mühsames Suchen gefunden werden kann. Da aber, wie oben (s. 269) ausgeführt wurde, die Peitschen wahrscheinlich Schläuche darstellen, ist auch anzunehmen, daß sie, wie die Glochidien, als schlauchförmige Ausstülpungen aus den Massulamembranen entstehen.

Innerhalb der Vakuolenhaut, zwischen dieser und der schon intensiv gelben Sporenmembran bildet sich nun ein feinkörniges Plasma aus. Die Oberfläche dieser Plasmahülle ist ursprünglich ziemlich gleichmäßig dick. Dann entstehen Einkerbungen und an dem apikalen Pol der Wulst, welcher später die Anhangskörper trägt, sowie ein dreispaltiger Wulst über der dreistrahligen Verdickung des Exospors (Textfig. 17 *b*). Die Wülste und Vorsprünge sind bald verhältnismäßig solide, sie bleiben auch erhalten, wenn man das ganze Periplasmodium aus dem Sporangium herausdrückt. Sie treiben infolgedessen auch die Vakuolenmembran mit vor, so daß diese mit ihren Peitschenanhängen überall dicht anliegt. Unterdessen entstehen in dem Massulaplasma kleine und große Vakuolen, welche der ganzen Hülle eine schaumige Struktur verleihen, die aber sehr viel unregelmäßiger ist wie diejenige der apikalen Massulae. Außerdem bleibt ein großer Teil einer körnigen Substanz übrig (Textfig. 14), die in den Mikrosporenmassulis, wie oben erwähnt, nur in geringer Menge hie und da um die Sporen herum gefunden wurde. An der Oberfläche dieser Perispormasse entstehen dann die auffallend massiven Verdichtungen, aus denen die homogene, aus kutinartiger Substanz bestehende äußere Membran gebildet wird, die der Oberfläche der Massulae zwar homolog, aber im Vergleich zu jener außerordentlich stark entwickelt ist. Im ganzen unterliegt es keinem Zweifel, daß das Perispor um die Makrospore entsprechend dem Schwimmkörper gebaut und gebildet worden ist, daß somit das Perinium der einen Makrospore den Massulis des Schwimmkörpers und ebenso den Massulis der Mikrosporangien homolog ist.

Die Kerne des Periplasmodiums.

Was für die Kerne der Mikrosporangien ausgeführt wurde, gilt in gleicher Weise für die Entwicklungsvorgänge im Makrosporangium. An denjenigen Umlagerungen im Gesamtplasmodium, die eine bestimmte Orientierung erkennen lassen, können sie nicht beteiligt sein, da alle Kerne im Periplasma regellos zerstreut liegen. Und für die

Vorgänge der Maschenbildung in den Massulis kommen sie schon deswegen nicht in Betracht, weil die Tapetenkerne alle außerhalb der Massulavakuolen liegen. Auch diese Kerne haben sich übrigens, wie die Zählung an jungen Stadien beweist, nachträglich vermehrt. Ob eine Fragmentation oder eine mitotische Teilung stattfindet, konnte ebensowenig entschieden werden wie bei den Mikrosporangien. Ihrem Aussehen nach verhalten sich die Kerne ähnlich wie dort. Sie sind nach der Fragmentation blasig, hell und bis auf einen dunklen Nukleolus scheinbar inhaltsleer. Wenn die Makrospore so groß geworden ist, daß sie die Sporangien annähernd ausfüllt, was schon sehr früh eintritt, sind die Kerne stark zusammengeschrumpft und unregelmäßig, oft auch zusammengedrückt und lassen erkennen, daß sie nicht mehr normal zu funktionieren vermögen.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Die jetzigen eingeschlechtigen Sporangien haben sich phylogenetisch aus einhäusigen entwickelt.
2. Die Periplasmodien entstehen aus einer scharf differenzierten Tapete und erfahren eine starke Vermehrung ihrer Kerne (durch Fragmentation?).
3. Die Periplasmodiumkerne liegen ursprünglich an der Sporangiumwand und verteilen sich dann durch passive oder aktive Bewegung annähernd gleichmäßig in dem Protoplasma.
4. Das Periplasmodium erfährt eine bedeutende Volumzunahme durch Wachstum, assimiliert und speichert Stärke.
5. Es bildet im Mikrosporangium eine bestimmte Anzahl Vakuolen, die in regelmäßiger Anordnung an der Peripherie des Plasmodiums liegen.
6. In jeder dieser Vakuolen ist ungefähr die gleiche Anzahl Sporen eingeschlossen.
7. Die Sporen werden in den Vakuolen dicht unter der Vakuolenhaut ungefähr gleichmäßig verteilt.
8. Innerhalb der Vakuolen entstehen zwischen den Maschen eines feinen Plasmanetzwerkes die Wabenwände der Massulae.
9. Die Maschen der Massulae erfahren nach ihrer Ausscheidung noch eine Vergrößerung ihres Durchmessers um ca. $^1/_3$.
10. Aus der Wand der Wabenwände stülpen sich handschuhfingerförmige Fortsätze aus, die zu den hochdifferenzierten Glochidien ausgebildet werden.

11. Auch die Glochidien wachsen noch nach Fertigstellung ihrer Ankergestalt.
12. Ebenso vergrößern sich die Mikrosporen noch nachdem sie in die Massulawaben eingeschlossen sind.
13. Die 31 verkümmerten Makrosporen liegen als unregelmäßige gelbliche Einschlüsse in den Maschen der „Schwimmkörper“ der Makrospore verteilt.
14. Die zur Entwicklung kommende Makrospore, die ursprünglich in dem Sporangium eine zufällige Lage einnimmt, wird zu einer gewissen Zeit in dem Periplasmodium stets so gedreht, daß die dreistrahlige Erhebung an ihrer Oberfläche der Mikropyle zugewendet wird. Diese Drehung muß durch das Periplasma aktiv herbeigeführt werden.
15. Die Schwimmkörper der Makrospore entstehen ebenso wie die Massulae der Mikrospore aus Periplasmodiumvakuolen, müssen daher ebenfalls als Massulae bezeichnet werden.
16. Auch die Makrospore liegt in einer Vakuole und die derbe Makrosporenhülle mit ihren zum Teil wabenartigen Strukturen entsteht innerhalb dieser Vakuole, ist also ebenfalls der Mikrosporenmassula homolog.
17. Das Perispor der Azollamakrospore ist also eine Massula.
18. Die peitschenartigen Anhänge des Schwimmapparates und des Perispors entstehen wahrscheinlich auch durch Ausstülpung aus der Oberfläche der Massulavakuolen; ihre Entstehung konnte aber nicht mit Sicherheit festgestellt werden.
19. Die Periplasmodiumkerne können weder im Mikro- noch im Makrosporangium an den Orientierungsvorgänge beteiligt sein, da sie selbst passiv bewegt werden und eine unregelmäßige Lagerung haben.
20. Im ganzen ergibt sich, daß das Periplasmodium ein lebender Protoplast ist, der die Fähigkeit besitzt, gewisse Einschlüsse (Sporen, Vakuolen, Kerne [?]) in seinem Innern in bestimmter Weise räumlich anzuordnen und außerdem eine ganz eigenartige formative Tätigkeit (Bildung der Massulawaben, Glochidien usw.) auszuüben.

Literatur.

Campbell, D. H., On the development of Azolla filiculoides. Ann. of bot. 1893, Vol. VII, pag. 155.

Ders., The structure and development of Mosses and Ferns. New York 1905.

Goebel, K., Beiträge zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Sporangien. Bot. Zeitg. 1880, Bd. XXXVIII, pag. 545, 1881, Bd. XXXIX, pag. 681.

Ders., Organographie der Pflanzen. Jena 1898—1901.

Ders., Über sexuellen Dimorphismus bei Pflanzen. Biol. Zentralbl. 1910, Bd. XXXVIII, pag. 657.

Griffith, W., On Azolla and Salvinia. Calcutta 1844, Vol. VIII, pag. 49.

Heinricher, E., Die näheren Vorgänge bei der Sporenbildung von Salvinia natans, verglichen mit den übrigen Rhizocarpeen. Sitzungsber. d. k. k. Ak. d. Wiss., Wien 1882.

Mettenius, G., Beiträge zur Kenntnis der Rhizocarpeen. Frankfurt a. M. 1846.

Ders., Über Azolla. Linnaea 1847, Bd. IV, pag. 259—282.

Pfeiffer, W. M., Differentiation of sporocarps in Azolla. Bot. gaz. 1907, Vol. XLIV, pag. 445.

Pringsheim, H., Zur Morphologie von Salvinia natans. Jahrb. f. wiss. Bot. 1853, Bd. III, pag. 484.

Russow, E., Vergleichende Untersuchungen usw. Mém. ac. St. Pétersb. 1872 [Ser. 7], Bd. XIX.

Sadebeck, R., Salviniaceae. Engler u. Prantl, Natürl. Pflanzenfamilien, 1900.

Shattuck, Ch. H., The origin of heterospory in Marsilia. The bot. Gaz. 1910, Vol. XLIX, pag. 19—40.

Strasburger, E., Über Azolla. Jena 1873.

Ders., Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. Jena 1882.

Ders., Über das Wachstum vegetabilischer Zellhäute. Jena 1889.

Ders., Die pflanzlichen Zellhäute. Jahrb. f. wiss. Bot. 1898, Bd. XXXI, pag. 543.

Ders., Apogamie bei Marsilia. Flora 1907, Bd. XCVII, pag. 176.

Figurenerklärung zu Tafel XIV.

Alle Figuren sind in gleichem Maßstab gezeichnet.

Fig. 1. *Azolla filiculoides*. Junges Sporangium mit Archespor, dessen Zellen sich zu trennen beginnen. Bei × dringt das Periplasmodium zwischen die Archesporzellen ein.

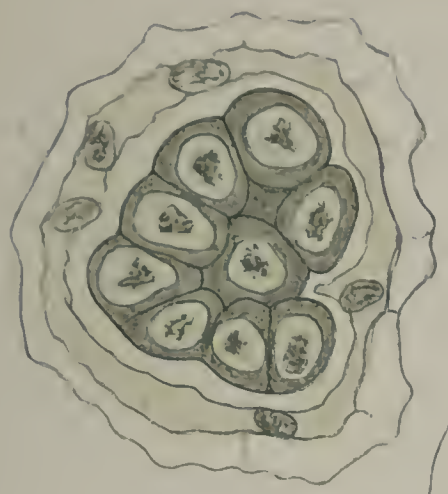
Fig. 2. Desgl. Älteres Sporangium, die Sporen (*sp*) liegen noch gleichmäßig im Periplasmodium verteilt.

Fig. 3. Desgl. Die Sporen sind an die Wand gerückt, das Periplasma hat sich etwas kontrahiert und läßt die Vakuolen um die Sporen erkennen; die Periplasmodiumkerne liegen in der Mitte.

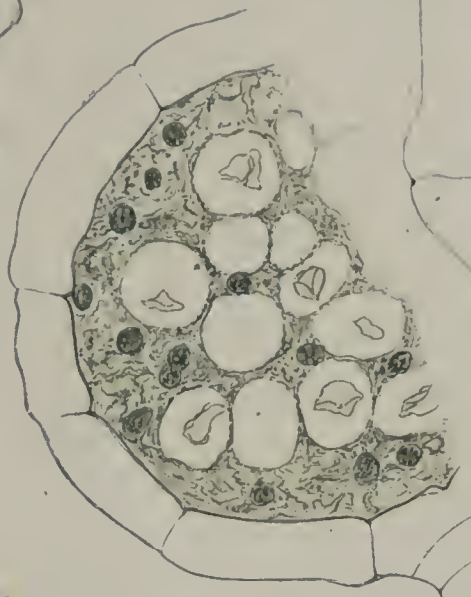
Fig. 4. Desgl. Um die einzelnen Sporen haben sich die Vakuolen stark vergrößert; sie liegen in einer wasserklaren Flüssigkeit, in der beim Fixieren unregelmäßig angeordnete helle Fäden und dunkle Körnchen ausgefallen sind.

Fig. 5. Desgl. Erste Anlage der Massulawaben (*w*). Die Waben sind erst in der Mitte erkennbar und noch weich, so daß sie beim Fixieren stark schrumpfen und zusammenfallen. Vorwiegend außerhalb der Waben liegen noch dieselben fädigen und körnigen Ausfällungen wie in den kleinen Vakuolen (Fig. 4).

Fig. 6. Desgl. Älteres Stadium. Die mittleren Waben haben schon starre Wände, die äußeren z. T. noch nicht. Die Körnchen in der Mitte liegen über, nicht in den Waben.



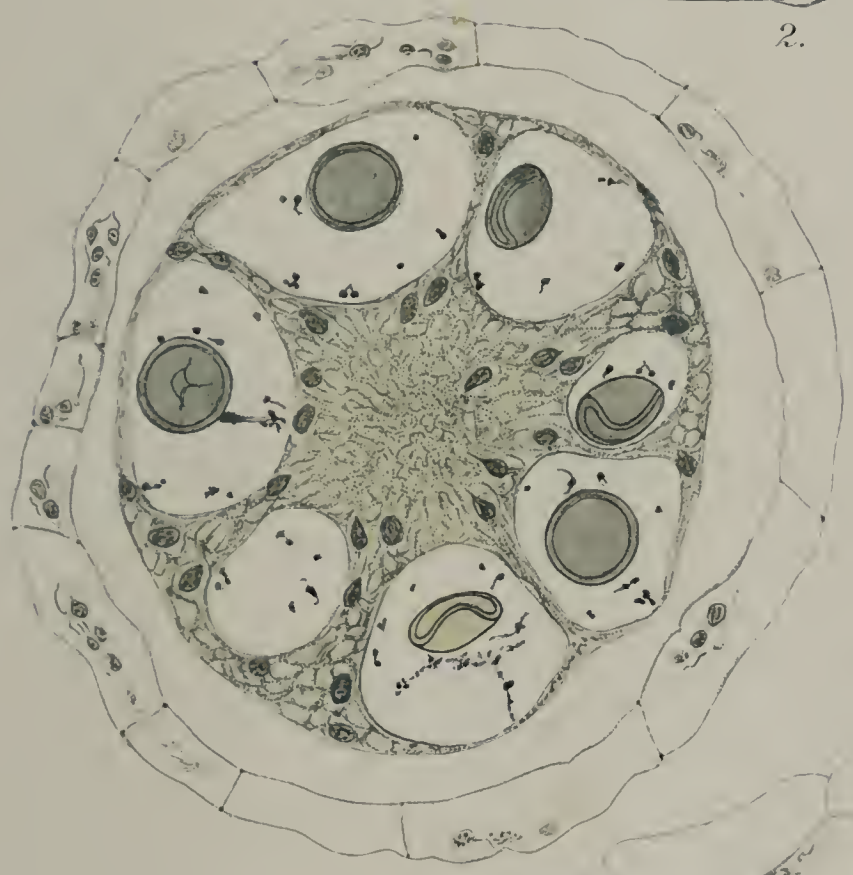
1.



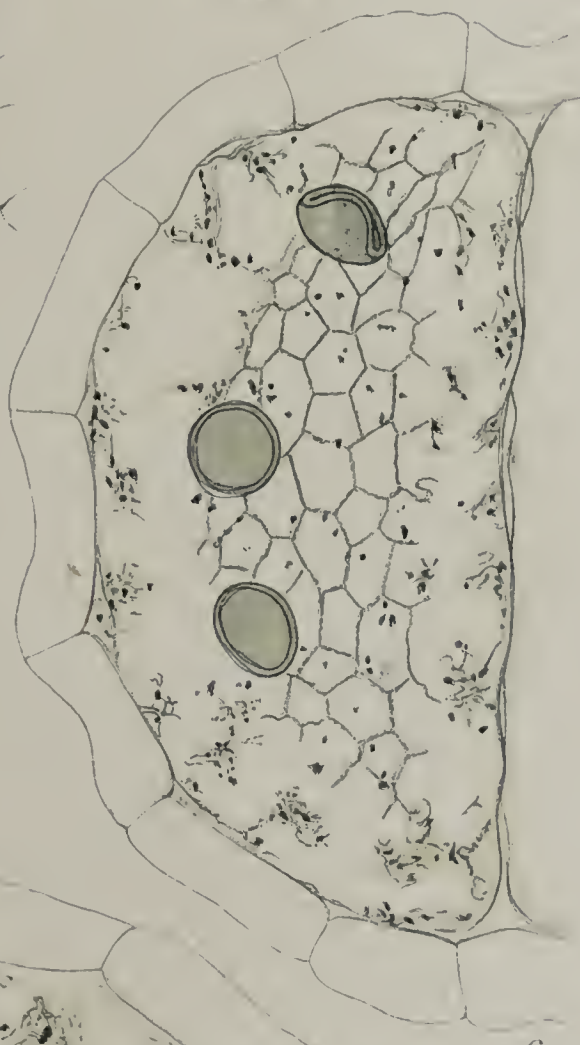
2.



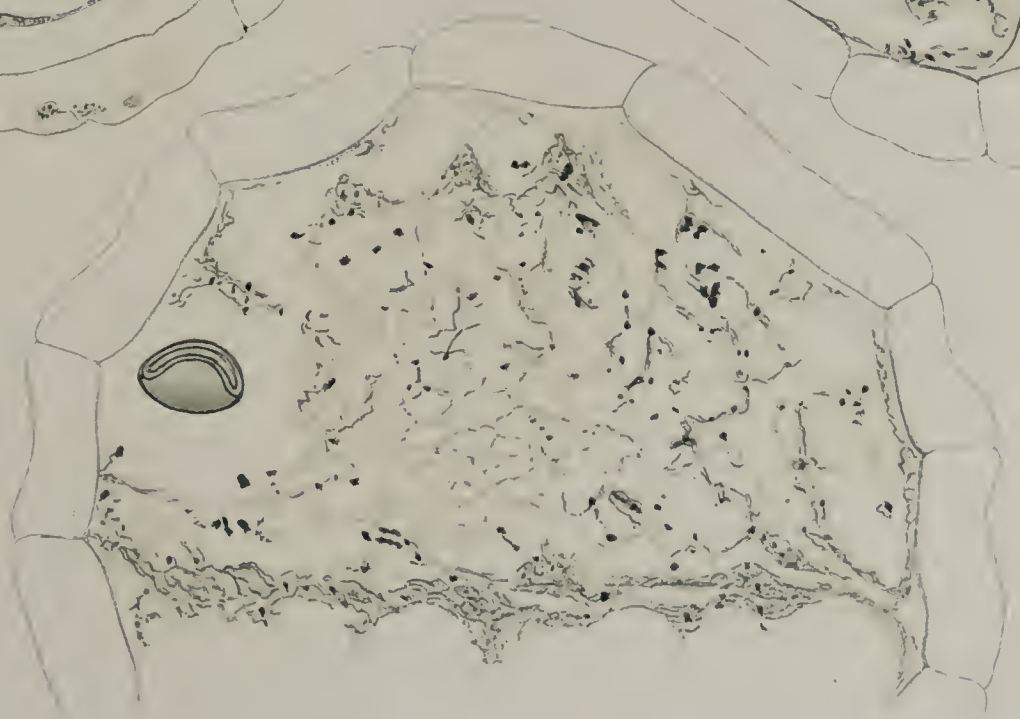
3.



4.



6.



5.

Hannig.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. v. K. Wes[illegible], Jena

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1911

Band/Volume: 102

Autor(en)/Author(s): Hanning E.

Artikel/Article: Die Bildung der Massulae von Azolla 243-272