Die Doppelbefruchtung bei Monotropa uniflora L.

Von

K. Shibata.

Hierzu Tafel I.

Die Entdeckung der sog. Doppelbefruchtung bei einigen Liliaceen durch Nawaschin und Guignard[1]) hat unter den Biologen ein reges Interesse erweckt wegen ihrer grossen Bedeutung für die Aufklärung der Endospermbildung von Angiospermen, sowie für die Lehre von der Befruchtung überhaupt. Dank den unermüdlichen Bemühungen beider genannter Forscher und einiger anderer wurde der nämliche Vorgang noch bei einer Anzahl von Monocotylen und Dicotylen nachgewiesen. Bis jetzt hat man sie bei etwa 22 Pflanzen festgestellt, worunter sich acht Liliaceen, sieben Orchideen, zwei Ranunculaceen, vier Compositen und eine Monotropee befinden. Dass die Zahl der bisher erwiesenen Fälle so beschränkt ist, erklärt sich wohl aus den grossen Schwierigkeiten, die mit derartigen Arbeiten verbunden sind; aber schon heute hat sich die Ansicht weit verbreitet, dass jene Erscheinung unter den Angiospermen eine allgemeine sei.

Inzwischen gelang es Strasburger[2]), den Vorgang der Doppelbefruchtung bei *Monotropa hypopitys* am lebenden Material zu beobachten. Bei uns vertritt die Stelle dieses klassischen Untersuchungsobjectes eine andere Art, *Monotropa uniflora L.*, die auf schattigem Waldboden in der Umgebung Tokyos ziemlich häufig vorkommt. Ich unternahm, auf Veranlassung Herrn Prof. Miyoshi's[3]) bei Gelegenheit von cytologischen Untersuchungen über verschiedene Mycorhiza-Formen, auch das Studium des Befruchtungsvorgangs bei dieser Pflanze und es ist mir geglückt, hier ebenfalls die Doppelbefruchtung festzustellen. An dieser Stelle will ich einen kurzen Bericht über die erhaltenen Resultate erstatten.

---

1) Vgl. die interessante Zusammenstellung von Ethel Sargant: Recent Work on the Results of Fertilisation in Angiosperms. Annals of Botany, Vol. XIV, No. LVI pag. 689 ff., und ferner Land, Botanical Gazette. Vol. XXX, No. 4.

2) Strasburger, Einige Bemerkungen zur Frage nach der doppelten Befruchtung bei den Angiospermen. Bot. Ztg. 1900, Nr. 19/20, pag. 298.

3) Die Hauptergebnisse dieser Studien, die *Podocarpus-*, *Alnus*arten, *Myrica, Pyrola, Psilotum, Yucca* und *Monotropa* umfassen, beabsichtige ich demnächst a. a. O. mitzutheilen.

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0065-5

Mein Material stammte aus zwei verschiedenen Quellen. Die ersten Objecte waren Mitte April in Hakone auf einer Excursion gesammelt und die zweiten Mitte Mai in Omiya bei Tokyo. Der mässig grosse Stock mit zahlreichen, eben aus der Erde hervortretenden Knospen wurde stets sammt den ganzen Mycorhizenmassen vorsichtig ausgegraben und im Laboratorium unter Glasglocke weiter cultivirt. Die Pflanze lebte monatelang ganz gesund in diesem Zustand fort und blühte reichlich. In dieser Weise war es mir möglich, alle wichtigen Vorgänge genau zu controliren. Die Knospen der ersten Reihe entfalteten sich fast gleichzeitig Ende April, worauf ich am 3. Mai die künstliche Bestäubung vorgenommen habe. Nachher wurden täglich die Samenanlagen aus einigen Fruchtknoten lebend untersucht, um den Zustand des Embryosackinneren festzustellen. Erst am 13. Mai wurde das erste Zeichen von Befruchtung kenntlich, weshalb ich während einiger der folgenden Tage zahlreiche Fruchtknoten in die Fixirungsflüssigkeiten einlegte. Die zweite Reihe wurde künstlich bestäubt am 1. Juni und in diesem Falle wurden die ersten Zeichen der Befruchtung schon am 7. Juni beobachtet.

Die Untersuchung des frischen Materials bei dieser Pflanze ist nicht allzu leicht, aber man kann nach einiger Uebung den Bau des Embryosacks, der im Wesentlichen mit demjenigen der von Strasburger beschriebenen *M. hypopitys* übereinstimmt[1]), klar erkennen. Die Samenanlagen erhielten sich 2—3 Stunden lang ganz gesund in Brunnenwasser. Ich konnte jedoch keine lebhafte Strömung in den Plasmasträngen, die den Embryosackkern mit dem Eiapparat, Embryosackwand u. s. w. verbinden, wahrnehmen. Die Synergiden werden beim Eintritt des Pollenschlauches undurchsichtig und stark lichtbrechend. Trotz der Anwendung stärkerer Immersionssysteme unter günstigen Beleuchtungsverhältnissen, wurde die Erkennung des männlichen Kernes, der mit dem Embryosackkern copulirt, dadurch sehr erschwert, dass sich seine optische Beschaffenheit kaum vom umgebenden Cytoplasma unterscheidet und es wollte mir anfangs überhaupt nicht gelingen. Aber die Erfahrung bei dem eingehenden Studium mit den fixirten Präparaten leitete mich schliesslich dahin, den Vorgang der Befruchtung auch am lebenden Material unzweideutig wahrzunehmen (Fig. 11 u. 12).

Die Fixirung geschah theils in der Flemming'schen stärkeren Lösung, theils in Sublimatessig. Die in Paraffin eingebetteten Stücke der Fruchtknoten wurden meist in 15 μ dicke Schnitte zerlegt, da die

1) Vgl. Strasburger, Das botanische Practicum. 3. Aufl. pag. 554.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0066-0

dünneren 10—5 μ dicken Schnitte in unserem Falle keinen besonderen Vortheil ergeben haben. Zur Färbung der Mikrotomschnitte wurde vornehmlich ein etwas modificirtes Safranin-Gentiana-Orange-Verfahren benutzt; aber bei den mit Sublimat fixirten Objecten leistete das Fuchsin-Jodgrün-Gemisch gute Dienste.

Das Studium der Fruchtknoten von *Monotropa* in Mikrotomschnitten ist ziemlich mühsam, wie Strasburger schon bemerkte[1]), da die kleinen Samenanlagen sich nur selten in richtiger Lage schneiden lassen, aber ich vermochte durch Musterung recht zahlreicher Präparate die beiden Spermakerne in verschiedener Lage innerhalb des Embryosacks nachzuweisen. Die eben in den Embryosack eingedrungenen Spermakerne besitzen einen locker gebauten und porös aussehenden Körper, wie es von Nawaschin[2]), Land[3]) u. A. für einige Dicotylen angegeben ist. Die Spermakerne sind dabei schwach färbbar und verhalten sich cyanophil im Fuchsin-Jodgrün-Gemisch. Die Gestalt der Spermakerne beim ersten Moment des Eindringens ist meist länglich-wulstförmig, etwa fünf Mal länger als breit. Sie sind verschiedentlich, oft sogar hufeisenförmig gekrümmt, aber niemals schraubig (sp_1, sp_2 Fig. 1, 2, 5, 6, 7 u. 8). Nach dem Anschmiegen an den weiblichen Kern bekommen sie bald eine rundlichere Gestalt und zwar schneller bei demjenigen Spermakerne, der mit dem Embryosackkerne sehr rasch verschmolz. Die Färbbarkeit der Spermakerne nimmt gleichzeitig zu und erscheinen in ihnen die Nucleolen (Fig. 3 *a, b* u. Fig. 4). Nach Strasburger[4]) besitzen die Spermakerne von *Monotropa hypopitys* eine ellipsoidische Gestalt, wie es sonst bei *Endymion nutans* der Fall ist. In unserem Falle erinnerten jedoch die länglichen und stark gekrümmten Spermakerne vielmehr an die von Guignard für *Tulipa* gegebenen Bilder.[5]) Ob diese Verschiedenheit, wenn auch gering, auf die Artdifferenz oder auf anderweitige Umstände zurückzuführen ist, muss dahingestellt bleiben. Bei Untersuchung des lebenden Materials konnte ich sogar nur die schon mehr oder minder abgerundeten Spermakerne, ihrer stärkeren Lichtbrechung

1) Strasburger, Bot. Ztg. 1900 Nr. 19, 20 pag. 301.

2) Nawaschin, Ueber die Befruchtungsvorgänge bei einigen Dicotyledonen. Ber. d. d. bot. Gesellsch. Bd. 18 pag. 224.

3) Land, Double Fertilisation in Compositae. Bot. Gaz. Vol. XXX Nr. 4 pag. 252.

4) Strasburger, loc. cit. pag. 298.

5) Guignard, L'Appareil sexuel et la double Fecondation dans les Tulipes. Ann. d. Sc. nat. Bot. 1900 T. XI pag. 375—376, Taf. X Fig. 13—21.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0067-6

halber, deutlich wahrnehmen. Der in Wanderung begriffene zweite Spermakern liegt, übereinstimmend mit den Angaben Strasburger's ganz in dem dicken Plasmastrang eingebettet[1]), der den Eiapparat mit dem Embryosackkern verbindet (sp_2 Fig. 1, 5, 7 u. 11). Ob die Spermakerne eine selbständige Beweglichkeit besitzen oder nicht, bleibt noch eine Sache der Discussion. Meine Beobachtungen an lebenden Objecten konnten leider keine Entscheidung darüber bringen; die gekrümmte Gestalt der Spermakerne kann ebensowohl als ein plastisches Nachgeben, als wie ein Zeichen activer Beweglichkeit betrachtet werden.

Was den Zeitpunkt, in welchem der Spermakern den Embryosackkern erreicht, anbetrifft, so hat meine Beobachtung eine merkwürdige Thatsache ergeben. Bekanntlich copulirt bei den von Nawaschin und Guignard untersuchten Liliaceen-Arten der Spermakern mit einem der beiden Polkerne bevor die Ausbildung des secundären Embryosackkernes vollendet ist und folglich ist das Zusammentreffen von drei Kernen stets wahrzunehmen. Bei den meisten anderen Pflanzen dagegen ist die Verschmelzung beider Polkerne schon lange vor der Befruchtung vollendet, so dass der zweite Spermakern mit dem daraus entstehenden secundären Embryosackkern copulirt.[2]) So gibt Strasburger auch für *Monotropa hypopitys* nur die Verschmelzung des männlichen Kernes mit dem secundären Embryosackkern an.[3]) Bei meinen Untersuchungen mit *M. uniflora* zeigte das Material der ersten Reihe, bei welchem ein Zeitintervall von mehr als zehn Tagen von der Bestäubung bis zur Befruchtung erforderlich war, ausnahmslos die nämlichen Verhältnisse, d. h. die Verschmelzung beider Polkerne fand schon 2—3 Tage vor der Befruchtung statt und der grosse secundäre Embryosackkern empfing den Spermakern (Fig. 1 u. 2). Aber bei der zweiten Reihe, wo die Bestäubung unter sonst gleicher Bedingung bei einer höheren Zimmertemperatur vorgenommen wurde, war die Sachlage eine ganz andere. Wie schon bemerkt, dauerte in diesem Fall das Hineinwachsen der Pollenschläuche durch die Griffel nur 6—7 Tage. Die meisten Präparate zeigten nun, dass der schon befruchtete Embryosack noch völlig isolirte Polkerne besitzt oder eben mit einander verschmelzende. Mitunter copulirt der zweite Spermakern mit dem oberen Polkerne, wobei der untere noch ganz isolirt liegt

1) Strasburger, loc. cit. pag. 298.
2) Vgl. z. B. Guignard, Ann. d. Sc. nat. Bot. 1900 T. XI pag. 366—367.
3) Strasburger, loc. cit. pag. 298, 299 u. 301.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0068-2

und in anderen Fällen schmiegt der Spermakern sich dem oberen der beiden verschmelzenden Polkerne an, die noch durch eine scharfe Linie anscheinend getrennt sind (Fig. 5, 6, 8, 10 u. 11). So können wir in diesem Falle das Zusammentreffen von drei Kernen beobachten [1]), ganz wie es bei den Liliaceen der Fall war. Das verschiedene Verhalten unserer beiden Culturen beruht augenscheinlich auf äusseren Bedingungen, zumal der Temperatur. Es ist meine Ansicht, dass derartige Erscheinungen nicht als eine Eigenthümlichkeit dieser oder jener Pflanze oder Pflanzengruppe betrachtet werden können und ferner, dass noch mannigfaltigere Erscheinungen sich bei einer und derselben Pflanze einstellen werden, wenn man sich einmal auf diesem Gebiete experimentell einzuarbeiten bemüht.

Der befruchtete Embryosackkern theilt sich sofort unter Bildung einer schönen karyokinetischen Figur, die sich sowohl in frischem wie in fixirtem Material sehr gut studiren liess.[2]) Ich konnte dabei keinen centrosomenähnlichen Körper auffinden. Der befruchtete Eikern theilt sich nicht, bevor vier Endospermkerne schon gebildet waren. Meine Aufmerksamkeit wurde auch auf die eigenthümlichen stark färbbaren Körper gelenkt, die im entleerten Pollenschlauchende stets in Zweizahl vorhanden sind. Die Gestalt dieser Körper ist ziemlich unregelmässig, bald rundlich, bald länglich und dann wird man sie leicht mit den Spermakernen verwechseln. Sie färben sich jedoch sehr intensiv und ganz homogen mit Safranin oder Fuchsin (*x* Fig. 8 u. 9). Land[3]) beobachtete ganz ähnliche Körper, die sich mit Cyanin stark färbten, auch in Pollenschlauchenden von *Silphium* und *Erigeron* und äusserte die Vermuthung, dass diese Körper aus der Theilung des vegetativen Kernes des Pollenschlauches hervorgegangen seien. Die Natur und Herkunft dieser Körper bleiben noch künftigen Untersuchungen vorbehalten.

Ich will an dieser Stelle nicht auf eine nähere Discussion der Bedeutung der sog. Doppelbefruchtung eingehen. Wenn man aber mit Strasburger[4]) annehmen will, dass die Verschmelzung des zweiten Spermakernes mit dem Embryosackkern keinen eigentlichen Sexualact, sondern nur ein Signal oder einen Reiz für die Wiederaufnahme der zeitweilig sistirten Thätigkeit der Prothalliumbildung

1) Es ist zu bemerken, dass die beiden copulirenden Polkerne sich oft schon in der Prophase befinden.

2) Strasburger, loc. cit. pag. 300.

3) Land, Bot. Gaz. Vol. XXX Nr. 4 pag. 255, 256.

4) Strasburger, loc. cit. pag. 808.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0069-0

darstellt, so wäre es von Interesse zu untersuchen, ob durch etwaige experimentelle Eingriffe thermische, chemische Reize u. s. w. der Embryosackkern ohne Befruchtung („parthenogenetisch") zur Endospermbildung veranlasst werden kann.[1])

Damit könnte eine scharfe Trennung von zwei Phasen der Befruchtungsvorgänge, nämlich die Uebertragung des Idioplasmas und der Wachsthumsreiz[2]), wohl erzielt werden.

Zum Schlusse sage ich Herrn Prof. Miyoshi meinen besten Dank für das rege Interesse, das er meiner Arbeit zu theil werden liess.

Botanisches Institut Tokyo, Juni 1901.

Figurenerklärung.

Tafel I.

Die sämmtlichen Figuren sind mit Hilfe von Seibert Hom. Imm. $^1/_{12}$ × Ocul. Periscop. II (Vergr. ca. 800) und Abbe's Zeichenapparat gezeichnet.

Fig. 1—4. Fixirung in Flemming's Flüssigkeit und Färbung mit Safranin-Gentiana-Orange.

„ 1. Ein Embryosack mit dem zweiten Spermakerne *(sp_2)*, der eben den secundären Embryosackkern *(se)* erreicht und noch zum Theil im Cytoplasmastrang *(cyt)* einliegt.

„ 2. Embryosack im Querschnitt. Der hufeisenförmig gekrümmte Spermakern neben dem secundären Embryosackkern sichtbar. sp_2 Spermakern; *se* der secundäre Embryosackkern.

„ 3a und b. Verschmelzung des Spermakernes mit dem Eikern. *ei* Eikern; sp_1 starkgefärbter Spermakern; *kp* Kernkörperchen.

„ 4. Verschmelzung des zweiten Spermakernes mit dem secundären Embryosackkern. *se* der secundäre Embryosackkern; sp_3 Spermakern; *kp* Kernkörperchen.

„ 5—12. Fixirung mit Sublimatessig und Färbung mit Fuchsin-Jodgrün-Gemisch.

„ 5. Ein eben befruchteter Embryosack im Längsschnitt. sp_1 der erste Spermakern; sp_2 der zweite Spermakern; *ei* Eikern; p_1, p_2 beide Polkerne; *syn* ein Synergidenkern.

„ 6. Ein Embryosack im Querschnitt. *sp*, zweiter Spermakern; p_1, p_2 Polkerne.

„ 7. Ein Embryosack mit dem in Wanderung begriffenen zweiten Spermakern *(sp_2)*. *ei* Eikern; *pol* Pollenschlauchende.

„ 8. Ein Embryosack im Längsschnitt. *ei* Eikern; *syn* ein Synergidenkern; sp_1, sp_2 Spermakerne; p_1, p_2 Polkerne; *pol* Pollenschlauchende mit zwei stark färbbaren Körpern *(x)*.

„ 9. Das obere Theil eines Embryosacks. sp_1, sp_2 Spermakerne; *ei* Eikern p_1 das obere Polkern; *pol*, *x* wie oben.

„ 10. Zusammentreffen dreier Kerne in einem späteren Stadium. p_1, p_2 Polkerne; sp_2 schon abgerundeter Spermakern.

„ 11. Ein Embryosack im optischen Längsschnitt. Lebendes Material. sp_1, sp_2 Spermakerne; p_1, p_2 Polkerne; *cyt* Cytoplasmastrang.

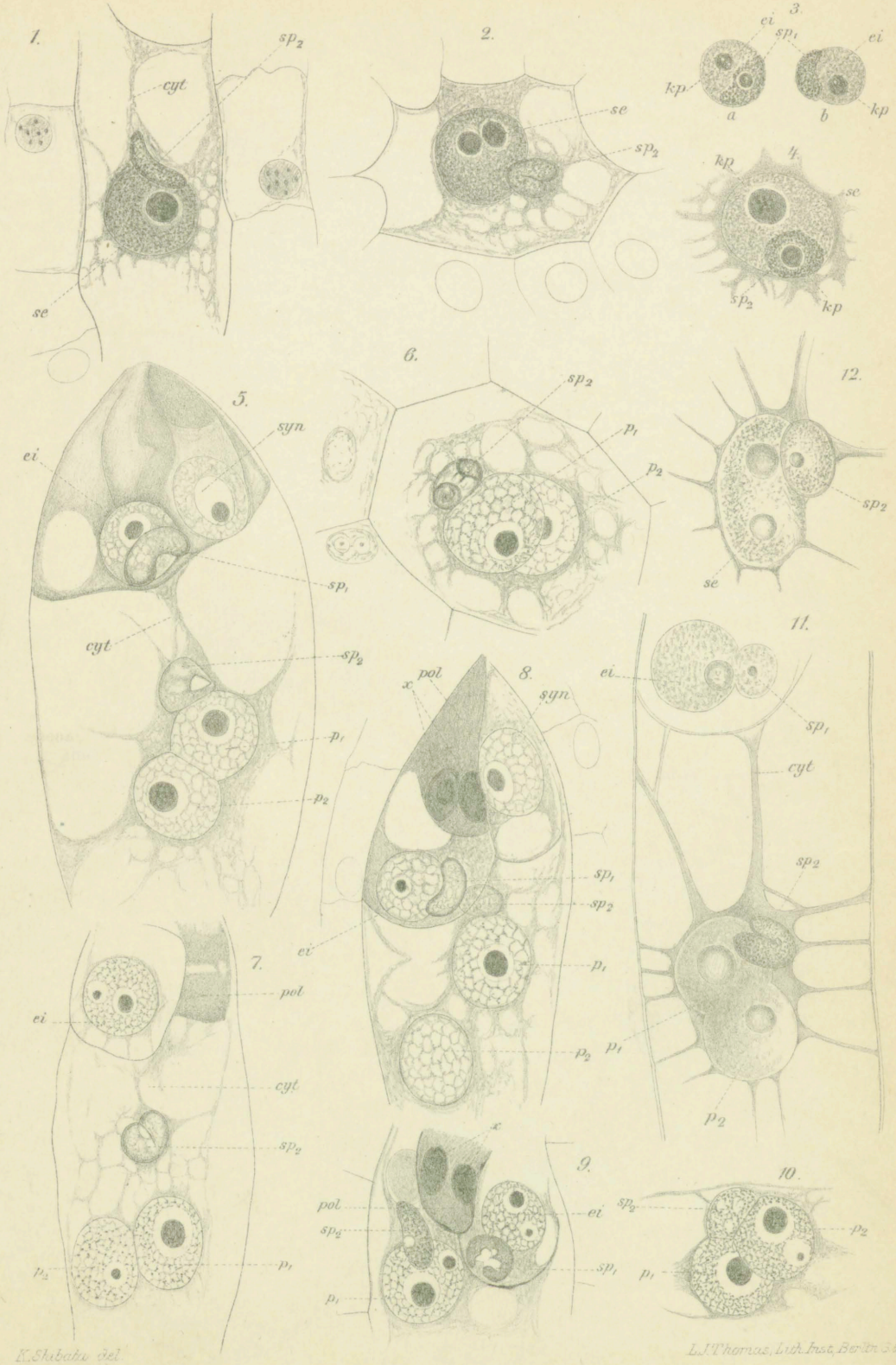
„ 12. Dasselbe Präparat gezeichnet nach etwa zwei Stunden. *se* eben verschmolzene Polkerne; sp_2 Spermakern mit einem deutlich sichtbaren Kernkörperchen.

---

1) Zwar beobachtete Coulter einmal, dass bei *Ranunculus multifidus* die Endospermbildung auch im unbefruchteten Embryosack stattfand. (The Life History of *Ranunculus*. Bot. Gaz. Vol. XXV pag. 83). Vgl. ferner Webber, Xenia u. Juel, Bot. Ctrb. Bd. 74 pag. 371. Neuerdings gelang es Nathansohn sogar, die Eizelle von *Marsilia* durch höhere Temperatur zur parthenogenetischen Entwickelung zu veranlassen.

2) E. Zacharias erblickt darin die Einführung von Nuclein mit dem männlichen Kerne. (Verhandl. d. naturw. Vereins Hamburg 1901.)

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0070-1



K. Shibata del. L. J. Thomas, Lith. Inst. Berlin S.42.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05173-0498-5

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1902

Band/Volume: 90

Autor(en)/Author(s): Shibata Keita

Artikel/Article: Die Doppetbefruchtung bei Monotropa uniflora L. 61-66