

Morphologisch-Physiologische Untersuchungen über die Entwicklung von *Ardisia*.¹⁾

von

Naoyuki KUME

Mit 11 Textabbildungen und 6 Tafeln.
(Eingegangen am 21. Januar 1959.)

Inhaltverzeichnis

I. Einleitung.	1
II. Einige Bemerkungen über die Morphologie und Ökologie unserer Versuchspflanzen.	3
III. Zytologie der Pollen- und Embryosackentwicklung.	6
IV. Ist zur Frucht- und Embryobildung Bestäubung nötig?	11
V. Keimfähigkeit des Pollens.	14
VI. Befruchtung und Embryoentwicklung.	17
VII. Ist bei verschiedenen <i>Ardisia</i> -Arten stets Polyembryonie vorhanden?	22
VIII. Die Samenanlagenzahl und die Anomalität der Zahl sowie der Anordnung von Blütenorganen.	25
IX. Bakteriensymbiose bei <i>Ardisia crispa</i>	32
X. Zusammenfassung.	35

Literaturverzeichnis.

1) Die vorliegende Arbeit wurde teils unter der Hilfe der Stiftung für die wissenschaftliche Untersuchungen aus dem Erziehungsministerium durchgeführt.

I. Einleitung.

Die Arbeiten über die Pflanzen der Gattung *Ardisia*¹⁾ sind bisher ausser den systematischen verhältnismässig spärlich. Diese in Japan als Zierpflanze bekannte Gattung bietet jedoch viele botanisch aufzuklärende Probleme dar.

Bei verschiedenen Arten von *Ardisia* kommt, nach A. BRAUN (1859), oft Polyembryonie vor. O. JAENSCH (1905) hat, in seiner Inaugural Dissertation, *Ardisia crispa* A. DC.²⁾ embryologisch untersucht und gibt an, „.....dass der Embryo aus Zellen des inneren Integuments und der Chalaza hervorgeht,“ hält aber auch eine Weiterentwicklung der Eizelle nicht für ausgeschlossen. Den äusserlich gut ausgebildeten Pollen konnte er nicht zur Keimung bringen, fand auch weder im Griffel noch in der Mikropyle Reste von Pollenschläuchen.

In seiner Monographie fand O. DAHLGREN (1916) bei derselben Art in der Embryosackmutterzelle Reduktionsteilung (S. 42), so dass, wenn eine solche auch in dem von JAENSCH beobachtete Falle stattgefunden hatte, hier vielleicht gamophasige Parthenogenesis vorläge. Darüberhinaus merkt DAHLGREN: „Vielleicht jedoch stammt der betreffende zweizellige Embryo gar nicht von der Eizelle“ (l. c. S. 42). Leider fehlen der Arbeit von JAENSCH Zeichnungen, und DAHLGREN gab auch bloss drei Figuren an. Diese beiden Arbeiten von JAENSCH und DAHLGREN erregte die Aufmerksamkeit SCHNARFS (1936), so dass er in seiner berühmten Arbeit betont: „Jedenfalls ist *Ardisia crispa* ein Fall, der Aufklärung bedarf.“ (S. 499).

H. MIEHE (1911) hat in Buitenzorg, Java, Blattknötchen von *Ardisia crispa* ausführlich untersucht, und festgestellt, dass in ihr Blattgewebe eine Bakterie, *Bacterium foliicola*, eingesiedelt ist. Der vollständige Ablauf des symbiotischen Zusammenlebens der Bakterie und *Ardisia* ist zu MIEHE's Zeit nicht klar geworden.

Das ist also folgendes aufzuklären:

- 1) Ist zur Frucht- und Embryobildung Bestäubung nötig?
- 2) Keimungsbedingungen des Pollens.
- 3) Zytologie von Pollen- und Embryosackentwicklung.
- 4) Ist bei *Ardisia*-Arten stets Polyembryonie vorhanden? Wie und woraus entstehen die Embryonen?
- 5) Wie verläuft der Symbiosekreis von *Bacterium foliicola* in *Ardisia crispa*?

1) In seiner Monographie „Ardisiaceae“ nennt Prof. Dr. T. NAKAI (1942) diese Gattung „*Bladhia*.“

2) Japanischer Name: まんりゃう, *Bladhia lentiginosa* (KER) NAKAI nach T. NAKAI (l. c. S. 99)

Die Untersuchungsergebnisse über solche Aufgabe und zugleich einige merkwürdige Tatsachen, die im Laufe meines Versuchs geklärt wurden, werde ich hier mitteilen.

Die vorliegende Arbeit wurde im Wintersemester 1937 im Institut für Allgemeine Botanik der Hansischen Universität Hamburg unter Leitung des inzwischen verstorbenen Herrn Professor Dr. Hans WINKLER angefangen. Bevor ich sie fertig machen konnte, musste ich Anfang September 1939 wegen des Ausbruchs des Weltkrieges in grosser Eile Deutschland verlassen, so dass ich mein Gepäck¹⁾ kaum einpacken konnte. Nach meiner Rückkehr war Herr Prof. WINKLER auch noch lange so liebenswürdig, solange der Postverkehr noch möglich war, mir schriftlich Ratschläge zu geben.

Nach zwanzigjährigen Unterbrechung und durch mühsame Untersuchungswiederholungen gelang es mir endlich die Ergebnisse jetzt zu veröffentlichen.

Nach seinem emeritierten Rücktritt von Hamburger Universität 1944 ist Herr Prof. WINKLER am 22. November 1945 in seiner Heimat Sachsen gestorben. Hoffentlich nähme der Geist meines Lehrers meinen alleraufrichtigsten Dank an!

Mein besonderer Dank gilt auch den Herren Kustos Dr. E. MANSHARD und Dr. K. HOLTHUSEN für ihre bereitwillige Hilfe bei den Untersuchungen während meines Aufenthalts in Hamburg. Meinem Bruder Kunitake KUME, damaliger Direktor an der Yokohama Specie Bank Hamburg, und seiner Frau Takako danke ich auch an dieser Stelle herzlichst für ihre warme Unterstützung sowie Anregung, wodurch sie mir ermöglichten, in Hamburg bei ihnen ohne Sorge zu wohnen.

Herr Prof. Dr. S. IMAMURA, Leiter des Instituts für Angewandten Botanik hiesiger Universität, hat freundlicherweise das Manuskript vorliegender Arbeit durchgelesen. Für seine Bemühungen, seine Freundschaft und wertvollen Ratschläge möchte ich auch hier herzlich danken.

1) Meine Arbeitsmaterialien und sonstige Dinge sind nachher von Herrn Dr. Ch. HORIOKA, damals Lektor am Japan-Institut der Hamburger Universität, nachgesandt worden. Ihm bin ich hierbei zu herzlicher Dankbarkeit verpflichtet.

II. Einige Bemerkungen über die Morphologie und Ökologie unserer Versuchspflanzen.

Die Pflanzen der Gattung *Ardisia*, die der verhältnismässig grossen Familie Myrsinaceae gehören, verbreiten sich vom tropischen bis auf subtropischen Gebiete der Welt. In Ostasien sind etwa 40, darunter ungefähr 10 Arten in Japan zu Hause.

Ardisia crispa A. DC. (Fig. 1) wird mit *A. japonica* ganz allgemein in unseren Gärten gezogen. Wie man im Bild sieht, stellt sie etwa einen 30 bis 80 cm. hohen Strauch dar. In der tropischen Heimat würde diese Pflanze von etwa 1,70 bis auf 2 Meter hoch wachsen. Die dunkelgrüne, kurz gestielten, elliptisch-lanzettlichen, ledrigen Blätter werden 8~10 cm. lang und 2,5~3,5 cm. breit, in der tropischen Heimat etwas grösser, und besitzen in sehr geringer Entfernung vom Rand in regelmässigen Abständen 30~50, etwa 0,5 mm. dicke Knötchen, welche auf der Blattoberseite als glänzende Höcker etwas hervorragen und einem zierlichen Perlenornament gleichen.

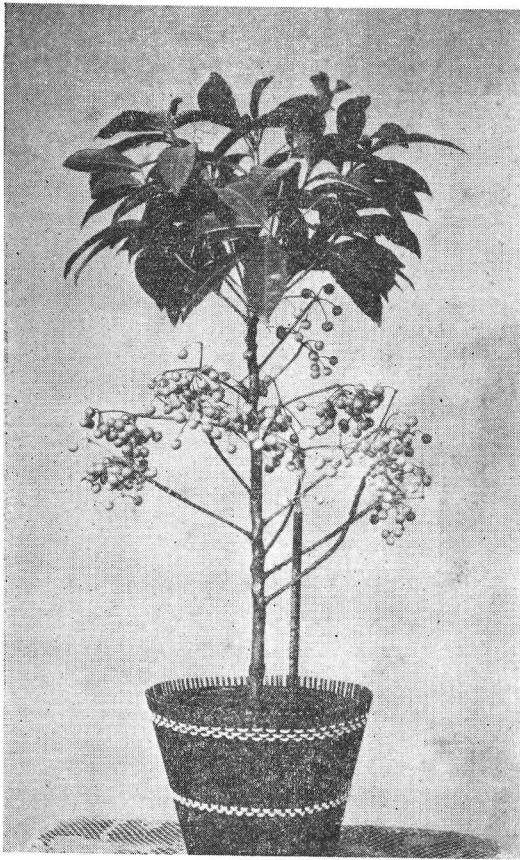


Fig. 1. *Ardisia crispa* A. DC.
Die Höhe des nebenstehenden Bleistifts
ist ca. 17 cm.

Diese "Blattknötchen" sind von v. HÖHNEL (1882) entdeckt; entgegen seiner Deutung an Hydathoden oder Drüsen hat H. MIEHE (1911) festgestellt, dass diese Knötchen von einer Bakterie, *Bacterium foliicola*, besiedelt sind.

In japanischen Gärten im Sommer trägt *Ardisia crispa* 5 zählige, weisse, sympetale Blüten doldenartig am Ende des Blättertragenden Kurztriebes, deren Blütenformel

$$K_{(5)} \quad C_{(5)} \quad A_5 \quad G_1$$

lautet (Fig. 2). Wegen ihrer schönen Belaubung, ihrer sehr lange, manchmal bis in den nächsten Frühling, am Stock verbleibenden, prächtig roten Beeren, und im Ganzen ihrer lieblichen Gestalt wird diese Pflanze bei uns als unentbehrlich für die

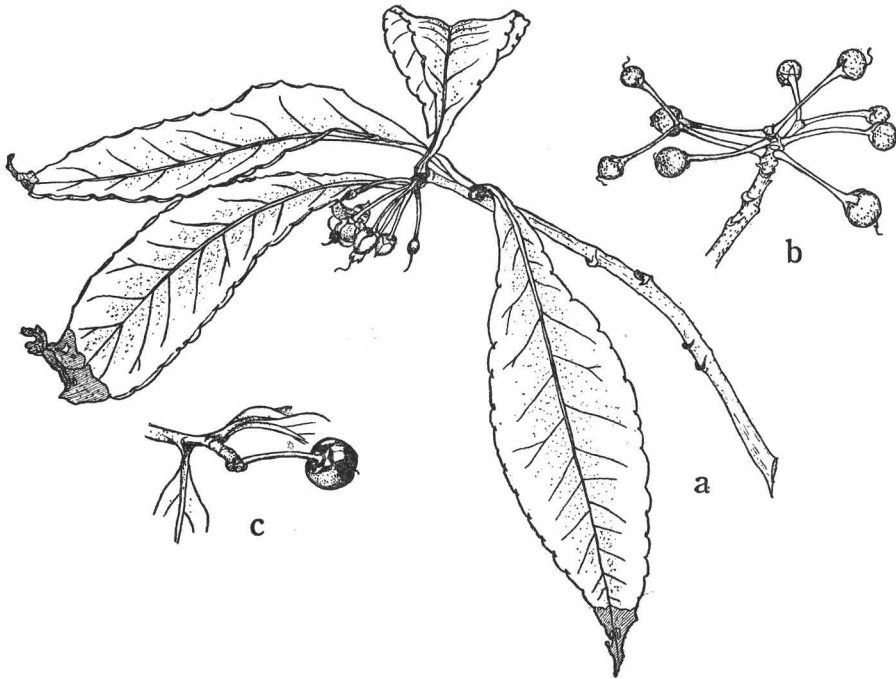


Fig. 2. *Ardisia crispa* aus Hamburg.

Zweige mit a : Blüten, b : jungen Früchten, und c : reifer Frucht. ca. 3/4.

japanischen Gartenlandschaft sowie als Zimmergewächs geschätzt.

Gegen Ende 18. Jahrhundert wurde in Japan die Zucht der *Ardisia crispa* bzw. *A. japonica* schwärmerisch beliebt, und infolge dessen wurden über 30 jener sowie 60 dieser Varietäten geschaffen; doch sind danach leider beinahe alles verschwunden, zur Zeit werden nur noch einige davon von Pflanzenfreunden gezogen (NAKAI, 1943).

Die im Institutsgewächshaus¹⁾ der Hamburger Universität gezogene fünf Topf-

1) Institut für allgemeine Botanik der Hansischen Universität Hamburg steht in der Nordwestecke des ca. 16 Hektar grossen Botanischen Gartens, der in der Mitte von Stadt Hamburg liegt. In diesem Botanischen Garten standen ungefähr 10 Gewächshäuser in Gruppen, in denen zahlreiche, aus beinahe allen Gebieten der Erde eingesammelten, tropische sowie subtropische Pflanzen gezogen waren. Z. B. im Viktoria-Haus blühen verschiedene *Viktoria*- und *Nymphaea*-Arten im 28°C.-Becken. In diesem Gewächshaus blühte auch oftmals *Amorphophallus Titanum* BECC. als der höchsten Breitengrad der Welt, der sie mal blühte. Andere Häuser heissen das Farnenhaus, das Mangrovenhaus, das Kakteenhaus, das Orchideenhaus, das Chimären-Burdonenhaus, usw., alles so reguliert sind, dass verschiedene ökologische Wachstumsbedingungen zu erhalten. Das Vermehrungshaus, dessen Minimallufttemperatur im Winter auf 26°C. am Tage und 24°C. in der Nacht gehalten wird, das Palmenhaus, gleichfalls 16°C. tags, 14°C. nachts, und Kalt-haus, Glashaus ohne Heizung, befanden sich dazwischen.

pflanzen von *Ardisia crispa* wurden bei meinen Untersuchungen benutzt. Diese Pflanzen wurden aus den Samen gezogen, die von Herrn Prof. WINKLER am 9. Februar 1905 in Buitenzorg, Java, eingesammelt wurden. Ihre Höhe war zu meiner Zeit 30 ~ 50 cm.

Prof. WINKLER gab mir liebenswürdigerweise 55 im Paraffin eingebettete Materialien der verschiedenen Entwicklungsstadien, von Knospen bis junge Früchte, die er selbst in Buitenzorg mit dem FLEMMING-Stärkeren Fixiermittel fixiert hat. Im Vergleich mit den Hamburger Materialien haben diese zu meinen Untersuchungen viele Beiträge gegeben.

Nach meinem Rückkehr im Jahre 1940 habe ich einige Materialien von den 10 Topfpflanzen der *Ardisia crispa* eingesammelt, die ich von einer Gärtnerei erhalten habe.

Im Hamburger Gewächshaus wurde noch eine andere Art *Ardisia compressa* H. B. K. (aus Mexiko) in zwei Töpfen gezogen, deren Grösse ca. 1,5 bzw. 1,8 Meter hoch waren. (Fig. 3). Im Vergleich mit *A. crispa* ist *A. compressa* etwas rauher, mehr verzweigt, grob blättriger, und daher minderwertig als Zierpflanze. Sie blüht reichlich, doch wenig befruchtet.

Für den embryologischen Zweck wurden also folgenden Materialien benutzt:

Von Blütenknospen bis auf Früchten der verschiedenen Entwicklungsstadien von *Ardisia crispa* A. DC.

aus Buitenzorg 1905 (von Herrn Prof. WINKLER fixiert) 55

aus Hamburger Gewächshäusern (von derselben Herkunft mit den Buitenzorger Materialien) mehr als 700

aus Kyoto 34

Ardisia compressa H. B. K.



Fig. 3. *Ardisia compressa* H. B. K.
aus Hamburger Palmenhaus.

aus Hamburger Gewächshaus (Palmenhaus)

ca. 300

An *Ardisia compressa* konnte ich nur eine einmalige Blütezeit benutzen, konnte daher nur wenige Materialien bekommen.

Ausserdem bekam ich noch in Hamburg Samen von folgenden Arten aus verschiedenen Botanischen Gärten und Instituten der Welt; ich möchte hierbei den Herrschaften jeder Organisation herzlich danken:

A. sanguinolenta, *A. umbellata* und *A. humilis* aus Washington, U.S.A.

A. humilis VAHL und *A. marteana* MIQ. aus Kopenhagen, Dänemark.

A. humilis VAHL aus Göttingen.

A. colorata aus Freiburg.

A. Sieboldii MIQ. aus Taihoku, Formosa.

A. japonica BLUME aus Tokyo (von Herrn Prof. Dr. H. NAKANO).

III. Zytologie der Pollen- und Embryosackentwicklung.

Obwohl der Beitrag von JAENSCH sowohl die Entstehung der Plazenta und der Samenanlage als auch ihre Biologie sehr ausführlich darstellt, sind die Beobachtungen an Pollen- und Embryosackentwicklung leider nicht genügend.

Als Fixierungsmittel wurde hauptsächlich CARNOY's Gemisch, zuweilen wurden auch FLEMMING-Stärkere, JUEL, und NAWASCHIN benutzt; die Präparate wurden mit Haematoxylin nach HEIDENHAIN sowie Safranin gefärbt. Obwohl die Safraninfärbung zu diesem Zweck nicht besonders geeignet ist, ist sie doch verwendbar. Für die Chromosomenzählung spielt das Hämatoxylin besser als das Safranin seine Rolle.

A. Entwicklung des Pollens.

Bei *Ardisia crispa* und *A. compressa* wird der Pollen ganz normal ausgebildet, und zwar: Nachdem die Konstituenten der Blüten in der verhältnismässig jungen Knospe differenziert wurden, fangen die im Antherengewebe in grösseren Zahl befindlichen Pollenmutterzellen Reifungsteilungen an. Diese Teilung verläuft beinahe parallel mit der Embryosackentwicklung.

Bei der ersten der beiden Reifungsteilungen reduziert sich die Chromosomenzahl, deren Haploidezahl $n=23$ ist (Fig. 3, Taf. I). Dies stimmt mit den Ergebnissen von DAHLGREN (1916) und von NEGODI (1938) vollkommen überein. Der Zeit der Entstehung der Pollentetrade in einer Anthere entspricht in der Samenanlage gerade

der Zustand des 4 oder 8 kernigen Embryosacks. Durch die simultane Membranbildung wird die Pollentetrade in tetraedischer Anordnung ausgebildet, und in jeder Tetradenzellen findet nochmalige Kernteilung zu den Pollenkorn- und Generativkern statt.

Das einzelne ausgebildete Pollenkorn besitzt die Form einer etwas geschwollenen Tetraede, an deren Scheiteln sich die Keimporen befinden, aus deren einer sich des Pollenschlauch entwickeln wird.

Der Pollen von den beiden Arten *Ardisias*, *A. crispa* und *A. compressa*, keimt ausgezeichnet sowohl auf dem Nährboden als auch auf der Narbe, und im letzteren Falle lässt er den Schlauch in den Griffel eindringen, während der generative Kern sich in die beiden Spermakerne teilt. Die Keimfähigkeit des Pollens werde ich im Artikel V eingehend beschreiben.

B. Embryosackentwicklung.

Die Entstehung und Morphologie der Plazenta von *Ardisia crispa* wurde von JAENSCH genau beobachtet, jedoch ist das sich in der Samenanlage vollziehende Verhalten des Makrospors in grossen und ganzen übergangen. Es würde ja etwas von Bedeutung sein, die Entwicklungsweise der Samenanlage und des Embryosacks, die Beobachtungen von JAENSCH nachprüfend, zu beschreiben.

In der Fruchtknotenöhle der *Ardisia crispa*, sie fast vollständig ausfüllend,

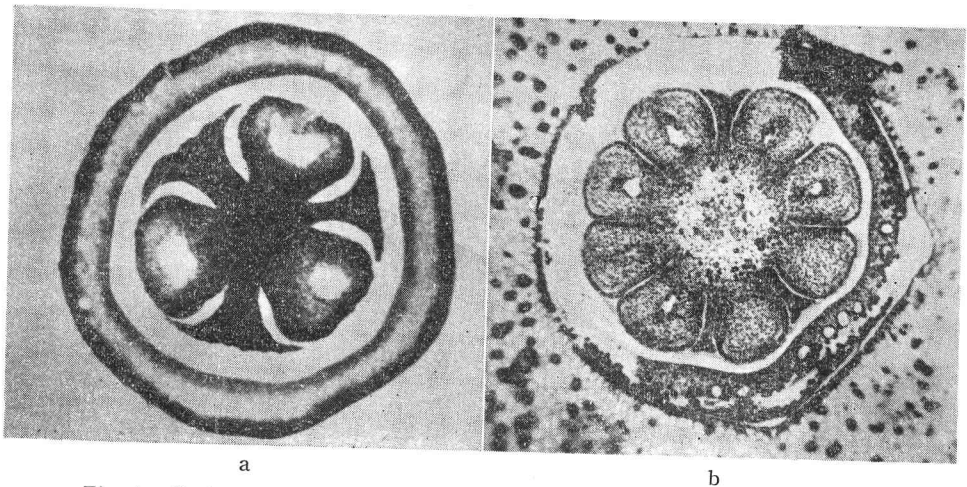


Fig. 4. Horizontaler Schnitt durch den Äquator der Plazenta von *A. crispa*.
a : mit 3 Samenanlagen aus Hamburg, b : mit 8 Samenanlagen
aus Buitenzorg. Erklärung im Text. Vergr. 60mal.

liegt basilär die freie axile Zentralplazenta. Sie stellt zur Blütezeit ein kurz gestieltes, apfelförmiges Gebilde dar, dessen Scheitel leicht abgeflacht ist. Bei *Ardisia compressa*, dagegen, ist die Zentralplazenta fast kugelförmig und erscheint in eine Spitze ausgezogen, obwohl nicht so auffallend wie bei den Primulaceen (Fig. 1, Taf. I).

Bei *Ardisia crispa* werden die Samenanlagen (zwei bis acht¹⁾), einem Kreise entsprechend, auf dem Äquator der Plazenta ausgebildet (Fig. 4, a u. b).

Für die Angiospermen gibt es zwei Typen von Samenanlagen, d. h. mit einem Integument als monochlamydäischer und mit zwei Integumenten als Dichlamydäischer Typus. Während zum letzteren Typus die Monokotyledonen und die archichlamydäischen Dikotyledonen gehören, zeigen die sympetalen Dikotyledonen den monochlamydäischen Typus, wobei aber, nach WARMING (1878), die Primulaceen, Myrsinaceen, Plumbaginaceen und Cucurbitaceen eine Sonderstellung einnehmen. Also unterscheidet die Myrsinaceen (zu dieser Familie gehört die Gattung *Ardisia*) sich vom Typus der Sympetalen durch den Besitz zweier Integumente. *Ardisia crispa* besitzt also zwei Integumente, die mit dem Nuzellus gleichzeitig verhältnismässig früh festgelegt werden.

Die ausgebildete Samenanlage liegt tief in die Plazenta eingesenkt, und ihr Mikropylende zeigt sich ein wenig, wobei die Samenanlage von den Plazentenoberfläche nicht emporragt. Daher sieht man im horizontalen Schnitte eine Aussicht dar, dass die zwei bis achtzähligen Samenanlagen vom garbenförmigem Plazentengewebe umschlossen sind. Bei *Ardisia compressa* liegen die 14 bis 23 zähligen Samenanlagen, hierbei auch tief in die Plazenta eingesenkt, die ganze Oberfläche der Plazenta umhüllend in der spiralen Anordnung (Fig. 5). Infolgedessen, müsste die von MEZ (1902) als *A. crispa* abgebildete Plazenta von der *A. compressa* oder aber von den anderen Arten sein.

Unabhängig von ihrer Zahl ist die Samenanlage atrop an der Plazenta befestigt, und die Mikropyle wird durch die beiden Integumente in die radiale Richtung geöffnet.

Die Initiale der Samenanlage wird nicht als ein Höcker der Plazenta gebildet, obwohl es bei vielen Fällen ganz allgemein so erscheint, sondern, schon im sehr frühzeitigen Fruchtknoten, erscheint die Initiale der Samenanlage als eine mit Hämatoxylin prächtig verfärbbare, plasmareiche Zellgruppe, und lässt zugleich als eine sehr kleine Auswölbung des entsprechenden Randes in der Plazenta ihre Anlage bereits deutlich erkennen. Die Makrosporenmutterzelle stammt aus einer der subepidermalen Zellen des Nuzellus (Fig. 2, Taf. I).

Wie in den Figuren von 2 bis 11, Taf. I u. II, gezeigt ist, vollzieht sich bei den beiden Arten von *Ardisia*, *A. crispa* und *A. compressa*, die Entstehungsfolge des Em-

1) Die Zahl der Samenanlagen in einem Fruchtknoten variiert sehr zwischen den beiden Materialien aus Hamburg und aus Java, worüber ich im Artikel VIII mehr erwähnen werde.

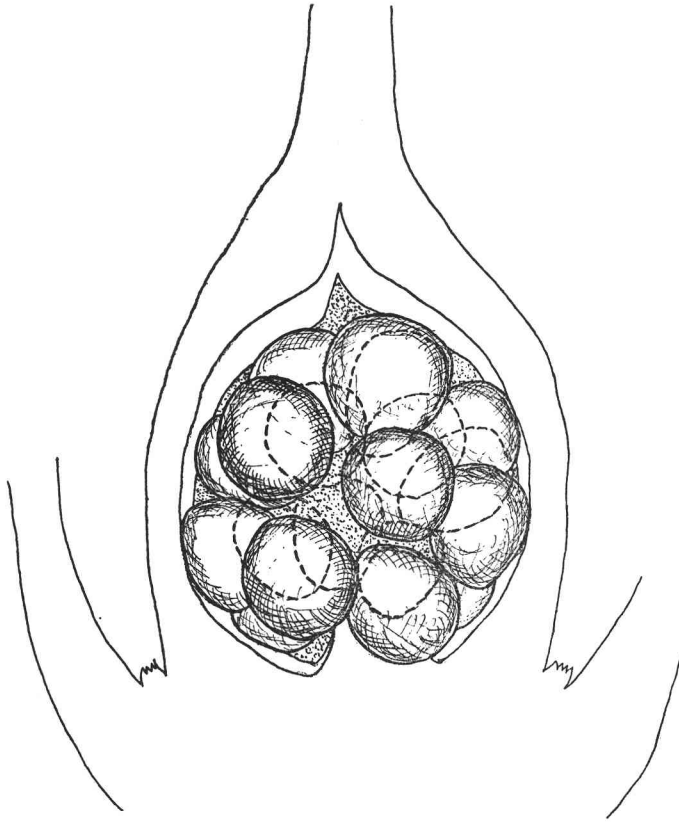


Fig. 5 Anordnung der Samenanlagen an der Plazenta von *A. compressa*. Schematisch. Erklärung im Text.

bryosackes nach der allgemeinen Regel. Durch doppelte Teilungen, in deren erster die Reduktion der Chromosomenzahl erfolgt, bildet die Embryosackmutterzelle eine Tetrade, deren vier haploiden Zellen hintereinander liegen. Von ihnen wird nur unterste Zelle zum Embryosack, während die drei anderen bald zugrunde gehen (Fig. 8, Taf. I.).

Der zunächst 1 kernige Embryosack beginnt bald stark zu wachsen, und gleichzeitig teilt sich sein Kern durch drei Teilungsstufen in 8 Kerne, 8 kerniger Embryosack. Die drei Kerne an der Mikropyle bilden eine Eizelle und zwei Synergidenzellen, die anderen drei Kerne am Chalazateil werden die Antipodezellen, während die zwei restliche Kerne sich zum Polkern, nämlich zum I. Endospermkern, verschmelzen (Fig. 14 u. 15, Taf. II). Die Koppelung zweier Embryosackkerne zum Polkern findet zunächst in der Mitte des Embryosackes statt. Dann wird der Polkern an die Mikropylenseite herangezogen bis er der Eizelle nebenan seine Lage findet.

Bei der 4 zelligen Makrospore liegen die Zellen in der Regel linear hintereinander, doch zuweilen nehmen sie eine T-förmige Lage ein (Fig. 9, Taf. I), d. h. die beiden mikropylaren Makrosporen nebeneinander, die chalazalen hintereinander liegend. Dieser Fall, den Dr. MANSARD (1936) an dem in Japan einheimischen Holzgewächs *Styrax obassia* als einziges Mal beobachtete, scheint mir auch nicht oft zu begegnen.

Die Nuzelluszellen, mindestens die mit dem Embryosack sich berührende Schicht, gehen, früher oder später, gegen die Zeit des 4 oder 8 kernigen Embryosackes, zugrunde. Die Antipodenzellen degenerieren meistens sehr früh, sobald der Embryosack ausgebildet ist. Nach JAENSCH seien bei *A. crispa* die Antipoden in keinem Falle festgestellt; er konnte weder einen vollständig ausgebildeten Embryosack noch ein Eiapparat an der Mikropyle beobachten. Daher deutet er, dass der Embryosack im Gange seiner Entwicklung keine bestimmte Gesetzmässigkeit beobachten lasse, und dass aus dem Embryosack niemals die üblichen acht Kerne hervorgingen. Meinen Beobachtungen nach scheint es offenbar uns ein leichtes Übersehen JAENSCHS sein. Da die Antipoden frühzeitig degenerieren, sogar unter dem sorgfältigen Auge, kommen sie manchmal überhaupt nicht oder sonst nur als die Reste ins Gesichtsfeld. Meine Ansicht über die Embryosackentwicklung stimmt mit der von HOFMEISTER (1886) an *Ardisia crenulata*¹⁾ überein.

Bei *Ardisia compressa*, die entgegen ihrer verhältnismässig grossen Samenanlagenzahl, von 14 bis etwa 23, immer ausnahmslos einsamig bleibt, sieht es so aus, als ob in einigen von den vielen Samenanlagen ihre Embryosackentwicklung schon vor dem 8 kernigen Zustand unterbrochen wird. Ich glaube, in meinen Präparaten solche Gebilde manchmal beobachtet zu haben. Aber an *Ardisia crispa*, die auch unabhängig von der Zahl der Samenanlagen einsamig ist, wird ein vollständiger Embryosack in jeder Samenanlage ausgebildet.

Je weiter die Entwicklung des Embryosackes fortschreitet, desto grösser wird die Samenanlage, aber sowohl die erst pflaumenförmige als auch die später feigenartige Gestalt ragt nicht über den Rand der Plazenta empor.

Am Ende seines Wachstums wird der Embryosack vakuolenreich, an der Mikropyle leicht gespitzt und am Chalazateil gerundet, infolgedessen gewinnt er eine Gestalt, die mit einem Kahn verglichen wird.

1) Ein Synonym mit *Ardisia crispa*.

IV. Ist zur Frucht- und Embryobildung Bestäubung nötig?

Wie ich schon erwähnt habe, konnte JAENSCH den gut ausgebildeten Pollen von *A. crispa* nicht zur Keimung bringen, fand auch an der Narbe keinen gekeimten Pollen.

Im allgemeinen befruchtet diese Pflanze sehr leicht und trägt mehrere hundert Früchte (Fig. 1). Durch künstliche Bestäubung kann man die Blüten beinahe 100%ig zur Befruchtung bringen. Die Frucht ist ausnahmslos einsamig mit einem einzigen Embryo. Wenn bei dieser Pflanze eine Parthenogenese oder Apogamie stattfinden würde, müsste es möglich sein, sie trotz Kastration noch gut zur Samenreife zu bringen.

A. Kastrationsversuche¹⁾ an *Ardisia crispa*.

Für die Operation der Kastrierung wird besonders feine Geschicklichkeit erfordert. Weil die Blütenknospe sowohl klein als auch leicht abfallend ist, ist ihre Behandlung sehr schwierig und mühsam. Ich habe aus einer ins Ende eines Holzessstäbchen eingeklemmten Nähnadel, an der Spitze geschliffen, ein sehr kleines Mikromesser gemacht, damit konnte ich einen fabelhaften Erfolg erzielen. Nach der Vollendung der Operation wird der kastrierte Fruchtknoten mit einer Tüte aus Glaspapier bedeckt (Fig. 3). Um eine Blüte zu bestäuben wird ein ganz dünner Haarpinsel der japanischen Miniaturmalerei erfolgreich benutzt.

Kastriert wurden:

(1). am 26. Oktober 1937 4 Knospen, und (2). ~ (5). zwischen 27. Juni und 11. Juli 1938 über 50 Knospen.

Die operierten Fruchtknoten blieben durchschnittlich etwa 25 Tage nach erfolgten Kastration am Ast; im Laufe dieser Zeit wurden die Fruchtknoten verhältnismässig gross (bis ungefähr 1,5~2,0 mm. Durchmesser), während sie zur Blütezeit nur einen Durchmesser von ungefähr 0,7 mm. aufwiesen. Eine durch Befruchtung normalerweise entwickelte Frucht hat ungefähr 10~12 mm. Durchmesser, während ihre Same etwa 6~8 mm. misst. Ob man im Vergleich hierzu die Vergrösserung des kastrierten Fruchtknotens eine „Parthenokarpie“ nennen darf, kann ich nicht beurteilen, doch in den Präparaten von kastrierten Materialien kann man einige Merkwürdigkeiten

1) Am Anfang dieses Versuches hat meine Kollegin Frl. Doktorandin A. HÄUSLER wertvolle Ratschläge mir gegeben, darüber ich hiermit ihr herzlich danken möchte.

finden. Z.B. am Präparat von einem 17 Tage nach Kastration am 25. Juli 1938 fixierten Material zeigten seine dreier Samenanlagen sich gleichmässig vergrössert (Fig. 17, Taf. III). Jede Samenanlage wurde ungefähr 1,7 mal länger und 2 mal breiter als normale Samenanlagen zur Blütezeit. In einem anderen operierten Fruchtknoten mit 5 Samenanlagen, 24 Tage nach erfolgter Kastration, wuchsen alle Samenanlagen ebenfalls im gleichen Tempo.

An bestäubten Fruchtknoten, dagegen, wird die einzige befruchtete Samenanlage allein in grossem Tempo entwickelt, während die restlichen unbefruchteten Samenanlagen zugrunde gehen.

Es gibt daher einen grossen Unterschied zwischen den beiden Samenanlagen, der kastrierten und der befruchteten.

Dieses Wachstum des kastrierten Fruchtknotens im letzt beschriebenen Versuch erfolgte aber viel langsamer als das der bestäubten, und zwar: er wuchs in 24 Tagen bis auf 3,0 bis 3,3 mm. Durchmesser.

Bei mehreren kastrierten Fruchtknoten im Palmenhaus bleibt der Eiapparat und der Polkern bis zu 10~14 Tagen nach dem Eingriff unverändert, während dessen alle im Fruchtknoten vorhandenen Samenanlagen sich gleichmässig mehr oder weniger vergrösserten.

Einer der am 26. Oktober 1937 kastrierten 4 Fruchtknoten ist nach 35 Tagen nach Operation, zwei sind erst am 31. Dezember, und der letzte ist gar erst am 17. Januar 1938 abgefallen. Der letzte Fruchtknoten blieb also 84 Tage lang am Ast hängen, und ist während dieses Zeitraumes auf 2,8 mm. Durchmesser angewachsen. Dieser Fruchtknoten wurde gleich nach dem Abfallen fixiert; dessen Präparat zeigte unter dem Mikroskop folgendes: Dieser Fruchtknoten, der drei Samenanlagen besass, zeigte keine Samenbildung. Die Prothalliumzellen waren spurlos verschwunden; die Integumente dreier gleichmässig vergrösserter Samenanlagen waren in die Samenanlagenhöhlen eingefaltet, als ob mit dem Daumen an die Mikropyle hinein gedrückt wäre, während die Gewebezellen der Integumente schon zum grössten Teil abgestorben waren (Fig. 18, Taf. III).

In allen kastrierten Materialien konnte ich weder Embryobildung noch Endosperm-bildung beobachten. Obwohl ich ja zuweilen ein wenigzelliges Gebilde am Chalazateil des Embryosackes beobachtete, das so aussah, als ob es von der inneren Integumente herstammte, würde ich diesen Auswuchs nicht „Proembryo“ nennen, sondern ihn für Reste der degenerierenden Nuzelluszellen halten, würde also eine Weiterentwicklung auf einen Embryo garnicht erwarten. Wenn in einem Fruchtknoten bis nach etwa 100 Stunden nach dem Ausblühen die Bestäubung nicht erfolgt ist, gehen die Samenanlagen ausnahmslos zugrunde und der Fruchtknoten fällt früher oder später ab.

B. Kastrationsversuche an *Ardisia compressa*.

In Hamburger Gewächshaus gab es nur zwei manneshohe *Ardisia compressa*-Pflanzen, und daher konnte ich nicht reichlich Materialien bekommen. Zwischen dem 31. Dezember 1937 und 3. Februar 1938 habe ich im ganzen 94 Knospen kastriert, die im Laufe von 15 bis 28 Tagen sämtlich abfielen. Da diese beiden Exemplare von *A. compressa* erst am 23. Januar 1938 zur Blüte kamen, wäre es wohl möglich, dass die anfänglichen Kastrationen etwas zu früh erfolgt sind.

Obwohl diese Pflanze auch im Palmenhaus verhältnismässig viele Knospen entwickelt, fallen sie aber zum grössten Teil kurz nach Blüte ab, und nur wenige entwickeln sich zur Samenreife. Das Klima im Palmenhaus schien für *A. compressa* ganz ungünstig gewesen zu sein. 8 Fruchtknoten von insgesamt 9 zeigten 21 Tage nach Operation eine ähnliche Degeneration wie bei *Ardisia crispa*. Wenn auch die Eiapparate nicht zugrunde gingen, so hatte doch auch keine Endosperm Bildung stattgefunden.

Nur der eine Fruchtknoten verhielt sich etwas anders. In einer Samenanlage konnte ich einwandfrei Endosperm Bildung (Freikernstadium) beobachten! Wie ich im folgenden Artikel erwähne, tritt Endosperm Bildung bei *Ardisia compressa* verhältnismässig früh ein. Dagegen scheint bei diesen Material der Eintritt der Endosperm Bildung sehr spät zu erfolgen. Diese einmalige Endosperm Bildung darf aber als Ausnahme oder trotz der Möglichkeit eines Operationsfehlers nicht aus der Frage ausgeschlossen werden, besonders wenn man an die Tatsache des Vorkommens von Polyembryonie bei dieser Art denkt. Ob die Phase des Kerns dieses Endosperms Diploide oder Triploide war, konnte ich im Präparat nicht feststellen.

Von den Ergebnissen der Kastrationsversuche, obwohl sie nicht befriedigend genug sind, und von der Tatsache, dass bei dem bestäubten Fruchtknoten eine einzige Samenanlage zum Wachstum kommt, während die anderen unbefruchteten degenerieren, würde man folgenderweise schliessen können: dass bei *Ardisia crispa* (und vielleicht auch bei *A. compressa*) ohne Bestäubung keine Samenbildung stattfindet. Und zwar: Zur Frucht- und Embryoentwicklung ist die Bestäubung unbedingt notwendig!

V. Keimfähigkeit des Pollens.

Wie ich schon im Artikel III erwähnt habe, entwickelt der Pollen sich im Pollensack vollkommen normal und zeigt sich keine Anomalität. Dies hat JAENSCH auch deutlich bemerkt, dennoch sagt er: „Trotz dieser ganz normalen Ausbildung fielen die vielen Kulturversuche negativ aus.“ Er setzt fort: „Von unzähligen Pollenkörnern erwiesen sich schliesslich nur zwei als gekeimt. Das eine beobachtete ich in 12% Zuckerlösung nach 110 Stunden, das andere in nur 5% Lösung nach 160 Stunden.“ Dann schliesst er: „.....auch im Griffel und an der Samenanlage sich keine Keimschläuche zeigten, zu dem Urteil führen, dass die Keimfähigkeit der Pollenkörner so gut wie erloschen ist.“

Entgegen diesem negativen Ergebnis von JAENSCH zeigten die von mir untersuchten Pollenkörner von *Ardisia crispa* sowie *A. compressa* eine ausgezeichnete Keimfähigkeit. Ich habe sie folgenderweise untersucht:

A. Methode.

Die Nährlösungen wurden durch Auflösen von Rohrzucker (käuflicher Feinzucker) in dest. Wasser bereitet. In folgenden Konzentrationen der Nährlösung wurde das Wachstum der Pollenschläuche untersucht: 20, 15, 12 (wie nach JAENSCH), 10, 8, 5 (wie nach JAENSCH) und 3 %. Ausserdem wurde noch Leitungswasser als Keimungsmedium verwendet.

Nachdem ich die Keimfähigkeit in den angeführten Nährlösungen festgestellt hatte, habe ich den Pollen auf 8%igen Gelatinenährböden, die den Zucker in den obigen Konzentrationen enthielten, auf seine Keimfähigkeit geprüft. Ich habe nach dieser Methode Präparate von keimenden Pollenkörnern angefertigt. (Präparatenbereitung und -färbung wurde nach DAHLGREN (1916), etwas modifiziert von mir, angewendet).

Die Versuche wurden mit *Ardisia compressa* zwischen 19. Februar und 11. März 1938, und mit *A. crispa* vom 21. bis 27. Juni desselben Jahres durchgeführt. Pollenkörner wurden von eben geöffneten Blüten gleichmässig auf die Nährböden oder -lösungen ausgesät. Die Lufttemperaturen im Versuchszimmer waren:

beim Versuch mit *Ardisia compressa*

Max. 21,0 °C. Min. 17,2 °C.

beim Versuch mit *Ardisia crispa*

Max. 24,8 °C. Min. 19,5 °C.

B. Versuchsergebnis in den Zuckerlösungen mit *Ardisia crispa*.

Die zweimaligen Versuche zeigen folgendes Ergebnis wie in Tabelle 1 (s. auch Fig. 12 u. 13, Taf II).

Tabelle 1. Keimfähigkeit des Pollens von *Ardisia crispa*.

Zuckerkonz. %	Stunden nach der Aussaat	Gesamte Pollenkörner	Gekeimte Pollenkörner	Keimungs- verhältnis %	Durchschn. Keimungs- verhältnis
20	18 66	403 820	82 266	20,3 32,3	26,4
15	18 68	378 860	241 602	63,8 70,3	66,9
12	19 68	300 565	205 296	68,3 52,4	60,4
10	21 69	580 741	528 673	91,0 90,8	90,9
8	19 46	854 993	488 548	57,1 55,2	56,2
5	21 71	571 778	538 746	94,2 95,9	95,1
3	21 47	884 815	781 615	88,3 75,5	81,9
Leitungs- wasser	22	425	11	2,6	2,6

Der Pollen von *Ardisia compressa* zeigt 50 Stunden nach der Aussaat, obwohl nicht so auffallend wie bei *A. crispa*, doch noch die Keimfähigkeit wie in der Tabelle 2.

Tabelle 2. Keimfähigkeit des Pollens von *Ardisia compressa*.

Pollen Konz. d. Lösung	Gesamte Pollenkörner	Gekeimte Pollenkörner	Keimungsverhältnis %
Leitungswasser	243	19	8,1
5 %	263	23	8,7
10 %	385	167	42,7
15 %	404	77	19,0
20 %	861	11	1,3

Im Vergleich mit der Tatsache, dass *Ardisia compressa* in Hamburg verhältnismässig geringe Fruchtreife gegen die reichlichen Blüten zeigte, muss dieses Ergebnis einige Aufmerksamkeit hervorrufen.

Die Keimungs- und Entwicklungsgeschwindigkeit der Pollenschläuche scheint unabhängig zu sein vom Licht. Zwei Kulturen auf 8%igem Gelatineboden mit 5 % Zucker, von denen eine im Dunkeln und die andere im Licht gehalten wurden, zeigten 19 Stunden nach der Aussaat keinen Unterschied.

Versuche mit *Ardisia crispa*, die eine chemotropische Krümmung oder Neigung der Pollenschläuche auf Narbengewebe oder Samenanlagen erwiesen sollten, zeigten keine wesentlichen Ergebnisse. Als ich auf den Zucker-Gelatine-Nährboden, der auf einen Objektträger in dünner Schicht ausgestrichen wurde, ein Stückchen gequetschten Griffel brachte, die Pollenkörner darauf zerstreut und so im Dunkeln 24 Stunden liegen liess, zeigten die ausgekeimten Pollenschläuche keine chemotropische Krümmung. Auf einen gequetschten Fruchtknoten reagierten die Pollenschläuche auch nicht.

Die Auskeimungsgeschwindigkeit des Pollens von *Ardisia crispa* ist sehr gross. Auf dem 8%igen Gelatineboden mit 8 % Zucker zeigten sich die Pollenkörner schon nach 2 Stunden als ausgekeimt.

Ich habe auch bei den beiden *Ardisia*-Arten keimende Pollen auf der Narbe, Pollenschläuche im Griffel und in der Fruchtknotenhöhle deutlich beobachtet (Fig. 19, 20 u. 22, Taf. III u. 29, Taf. IV). JAENSCH konnte bei *Ardisia crispa* weder keimenden Pollen auf der Narbe noch Pollenschläuche im Griffel beobachten.

Die vollkommen negativen Ergebnisse des Keimungsversuches nach JAENSCH scheint mir auf dem zu langen Zwischenraum zwischen Beobachtung und Aussaat zu beruhen. In meinem Versuch zeigten sich die Pollen von *Ardisia compressa* auf dem Nährboden bei 23°C. Lufttemperatur schon nach 1,5 Stunden als gekeimt, und in 2,5 Stunden wuchsen ihre Pollenschläuche das 3 bis 5 fache des Pollendurchmessers (Fig. 21, Taf. III). „110 sowie 160 Stunden nach der Aussaat“ sind sowieso zu lang; in diesem Zeitraum würden alle männlichen Gametophyten (Pollenschläuche) zugrunde gehen. Aber ich kann mir doch noch nicht vorstellen, dass JAENSCH auf der Narbe keinen keimenden Pollen gesehen hätte.

VI. Befruchtung und Embryoentwicklung.

A. *Ardisia crispa*.

a. Befruchtung.

Ich habe bis jetzt mehrere Tatsachen angeführt, die die Entstehung des Embryo nach normaler Befruchtung wahrscheinlich machen. Z. B. 1. Die Entwicklung des Embryosackes findet in normaler Weise statt; die drei Antipodenzellen gehen aber so früh zugrunde, dass sie manchmal gar nicht ausgebildet zu sein scheinen. 2. Bei der ersten Teilung der Embryosack- sowie der Pollenmutterzelle wird die haploide Chromosomenzahl, $n=23$, hergestellt. 3. Der Pollen wird auch normal ausgebildet. 4. Die Reifungsteilungen des Pollens und des Embryosackes erfolgen beinahe gleichzeitig. 5. Die Ausbildung der Synergiden und der Eizelle, sowie die Verschmelzung der beiden primären Embryosackkerne, wurden bei den meisten Samenanlagen beobachtet. 6. Falls die Bestäubung oder Befruchtung innerhalb von etwa 4 Tagen nach der Blüte nicht stattfindet, wird der Embryosack garnicht weiterentwickelt. 7. Gekeimte Pollen an der Narbe und Pollenschläuche im Griffel konnte ich oftmals feststellen. 8. Ohne Bestäubung findet keine Samenbildung statt.

Nun muss ich beweisen, ob der Embryo wirklich durch Verschmelzung weiblicher und männlicher Gametenkerne hervorgerufen wird, oder ob der Embryo, wie nach JAENSCH, aus einer Nuzelluszelle entsteht, und gleichzeitig ob die Endospermkerne durch die Doppelbefruchtung triploide Chromosomenzahl besitzen.

Die Eiapparate befinden sich ausnahmslos am Mikropylende, primäre Embryosackkerne, die von der Mitte des Embryosackes zur Seite des Eiapparates verschoben werden, werden sich hier in den Polkern (primären Endospermkern) verschmelzen (Fig. 14 u. 15, Taf. II). In allgemeinen besitzt der Kern von *Ardisia crispa* 1 Nukleolus; der Polkern dagegen, nach der Verschmelzung zweier Embryosackkerne, 2 Nukleolen. In mehreren Präparaten, die zwischen 46 und 96 Stunden nach erfolgter Bestäubung angefertigt wurden, glaube ich die Doppelbefruchtung, die Verschmelzung von zwei männlichen Kernen mit dem Ei- und dem Polkern, beobachtet zu haben. Einige Beispiele davon zeige ich in Figuren 16, Taf. II, und 25 u. 26, Taf. IV.

Ich habe auch in mehreren bestäubten Fruchtknoten beobachtet, dass ihr Polkern zwei normale und eine etwas kleinere Nukleolen besitzt (Fig. 27 u. 28, Taf. IV).

Die Tatsache, dass in mehreren „bestäubten“ Präparaten eine von den zwei Synergiden oft zerstört wird, gibt den Hinweis, dass der Pollenschlauch durch eine

Synergidenzelle zur Befruchtung eingeführt wird. Der Befruchtungsmodus ist also eine Akrogamie.

An einem sich teilenden Endospermkern konnte ich wenigstens 62 Chromosomen zählen. Das scheint, da $n=23$ und $3n=69$, die triploide Chromosomenzahl zu sein.

Nach den bisher beschriebenen Tatsachen kann man an *Ardisia crispa* bestätigen, dass eine typische Doppelbefruchtung in den 2~4 Tagen nach erfolgter Bestäubung stattfindet.

b. Endosperm- und Embryoentwicklung.

Die Embryoentwicklung bei *Ardisia crispa* scheint zu den *Onagrad*-Typus (JOHANSEN 1950: S. 111) zu gehören. Und zwar: Die Zygote zur ersten Entwicklungsteilung wird durch eine Querwand geteilt. Die Terminalzelle teilt sich in der zweiten Teilung durch eine Längswand und wird sich zum Embryo entwickeln. Die basale Zelle spielt keine oder nur unwesentliche Rolle für die Entstehung des Embryos an sich.

In Fig. 30, Taf. IV zeige ich einen zweizelligen Proembryo an der Mikropyle, dessen Terminalzelle sich viel grösser als die basale erweist. In einem Material aus dem Vermehrungshaus, das 24 Tage nach erfolgter Bestäubung untersucht wurde, habe ich an der Mikropyle einen 16 zelligen Embryo mit einem 4 oder 8 zelligen Suspensor gesehen. Zu dieser Zeit erfüllt das Endosperm durch lebhafteste freie Kernteilung die Samenanlagenhöhle, während die restlichen zwei Samenanlagen vollkommen degeneriert sind und der Gesamtdurchmesser der Frucht ca. 2,5 mm. betrug.

Nachdem die Befruchtung erfolgt war, scheint der Endospermkern einige Tage zu ruhen, ohne sich sofort weiterzuteilen. In einem Präparat wurde 164 Stunden nach der Bestäubung eine lebhafteste, freie Endospermkernteilung beobachtet.

Der Entwicklungsmodus des Endosperms gehört zu dem allseitigperipherischen Typus des nuklearen Endosperms (SCHNARF 1936: S. 334). Und zwar: Die Endosperm-bildung wird durch freie Kernteilung eingeleitet; Kerne und Plasma sammeln sich zuerst dicht am Chalazateil (das „ruminierende Endosperm“ nach DAHLGREN 1916), während in den übrigen Teilen der Samenanlagenhöhle die Kerne im wandständigen oder in dem velamenartig in die Höhle ausgestreckten Plasma liegen. Diese Anordnung beruht wahrscheinlich darauf, dass vom Chalazateil die Nährstoffe zufließen. Mit der Vergrößerung der Samenanlage vermehren sich das Plasma und die Kerne mehr und mehr bis sie die ganze Samenanlagenhöhle ausfüllen. Erst dann tritt die Membranbildung peripherisch nach Innen ein (Fig. 37, Taf. VI).

Zu Beginn der Endosperm-bildung teilen sich die einzelnen Endospermkerne fast gleichzeitig, und zwar habe ich in einem Präparate über 50 Kerne beobachtet, die

sich beinahe alle in Meta-Anaphase Stadien befanden (Tabelle 3).

Tabelle 3.
In einer Samenanlage sich in der Teilung befindliche
Endospermkerne in den Phasen von:

Phase	Ruhe	Spätpro- phase	Meta-Ana- phase	Ana- phase	Telo- phase
Zahl der Kerne	(1)?	7	43	0	0

Dass es in allgemeinen schwierig ist, den sich in Teilung befindlichen Endospermkernen zu begegnen, kommt deswegen, dass die Teilung auf einen Schlag stattfindet. Darüber hinaus würde diese Eigenschaft zeigen, dass alle Endospermkerne aus einer einzigen Mutterzelle hervorgekommen sind. Dieses Präparat wurde von einer Frucht mit 3 Samenanlagen hergestellt, deren Grösse ca. 2,0 mm. Durchmesser betrug, deren Griffel schon in Degeneration begriffen war. Dazu ist noch merkwürdig, dass die Polachsen der teilenden Kerne zum grössten Teil der Samenanlagenwand parallel sind.

Die befruchtete Eizelle verbleibt, ohne sich zu teilen, ruhig an der Mikropyle, bis die Endospermkernteilung sich ihrem Ende nähert. Ich habe in mehreren Präparaten einen 1 oder 2 zelligen Embryo (Proembryo) in dieser Lage beobachtet. Erst wenn die Wandbildung des Endosperms einsetzt, tritt auch eine lebhaftere Weiterentwicklung des Embryos ein. Erst wenn die Frucht die Grösse von 2,5 bis 3,0 mm. Durchmesser erreicht, das ist ungefähr 3~4 Wochen nach Bestäubung im Vermehrungshaus, kann man in ihr einen 16~64 zelligen Embryo feststellen. In dieser Hinsicht hat DAHLGREN (S. 42) die Meinung von JAENSCH sehr scharfsichtig beurteilt: „Andernfalls würde ja eine echte Parthenogenese nach STRASBURGER's Auffassung dieses Begriffes vorliegen, was mir unwahrscheinlich ist. Die Embryobildung scheint sehr spät einzutreten.“

Der ausgebildete Embryo liegt stets an der Stelle, wo sich ehemals die Mikropyle befand (Fig. 38~40, Taf. VI). Der scheinbare Auswuchs von Integumentzelle der sogenannte „Proembryo“ nach JAENSCH, wurde zuweilen gesehen, aber es ist mir sehr zweifelhaft, ob man ihm den Name „Proembryo“ beilegen darf. Er ist sozusagen ein Rest der degenerierenden Nuzelluszelle.

Zum Schluss möchte ich eine merkwürdige Beobachtung kurz erwähnen. Trotz der Tatsache, dass die Frucht der *Ardisia crispa* stets einsamig ist (s. S. 10), findet manchmal eine Endospermkernteilung zuerst in 1~3 Samenanlagen statt! Tabelle 4 zeigt dieses Verhältnis.

Tabelle 4.
Das Verhältnis der Zahl der Samenanlagen, worin Endosperm-
kernteilung stattfindet, gegen die Zahl der Samenanlagen,
die in einem Fruchtknoten enthalten sind.

Samenanlagen, in denen Endosperm Bildung stattfindet	Samenanlagen in einem Fruchtknoten			Summe
	2	3	4	
1	1	40	7	48
2	1	25	10	36
3	—	15	2	17
4	—	—	0	0

Die erste Reihe zeigt die Zahl der Samenanlagen, worin die Endospermkernteilung stattfindet; in der 2.~4. Reihe wird die wesentliche Zahl der Fruchtknoten, die sie enthalten, je nach der Samenanlagenzahl in jedem Fruchtknoten, angegeben. Also z. B. die 1. Zeile zeigt die Endosperm Bildung in nur einer Samenanlage, unabhängig von ihrer Zahl in einem Fruchtknoten; und auf der 2. Zeile zeigen 36 Fruchtknoten in den 2 Samenanlagen Endospermkernteilung. In der gleichen oder etwas höheren Häufigkeit als bei einer Samenanlage (53 : 48 in dieser Tabelle) tritt die Endospermkernteilung in mehreren Samenanlagen ein. Aber wenn auch in mehreren Samenanlagen die Endosperm Bildung stattgefunden hätte, wird die einzige, die zum Samen wachsen würde, deutlich erkennbar, weil an ihrem Mikropylende die befruchtete Eizelle bleibt, und weil die Endosperm Bildung in ihr am kräftigsten fortschreitet.

Die Endosperm Bildung geht nicht in allen Samenanlagen weiter, sondern nur die, die befruchtete Eizelle besitzt, entwickelt sich wirklich zum Samen; die übrigen entwickeln sich höchstens bis zum ruminierenden Endosperm und gehen bald zugrunde. Warum in mehreren Samenanlagen Endosperm gebildet, obwohl nicht vollzogen wird, ist mir noch nicht klar.

Aus den bisherigen Beobachtungen an *Ardisia crispa* ergibt sich folgendes: Für die Samenbildung ist Bestäubung unbedingt erforderlich. Der Embryo sowie das Endosperm werden durch die erfolgreiche Doppelbefruchtung ausgebildet. Die befruchtete Eizelle liegt an der Mikropyle, bis die Endospermkerne sich vollständig ausgebildet haben. Eine Erklärung der Tatsache, dass in mehreren Samenanlagen Endosperm Bildung stattfindet, kann noch nicht gegeben werden. Die Endospermkerne in der weiterwachsenden Samenanlage besitzen die triploide Chromosomenzahl.

B. *Ardisia compressa*.

Die Entwicklung der Mikro- und Makrosporen bis zur Befruchtungsreife ist fast übereinstimmend mit *A. crispa*. Manchmal wird zwischen beiden Integumenten eine Zelle ausgebildet, die mit einer Embryosackmutterzelle grosse Ähnlichkeit besitzt (Fig. 23 u. 24, Taf. III). Diese Zelle enthält manchmal zwei Kerne, die sich aber nie weiter teilen. In den meisten Fruchtknoten gibt es mehrere Samenanlagen mit diesen von mir sogenannten „Nebenembryosäcken“. Welche Bedeutung man diesem „Nebenembryosack“ zuerkennen soll, kann ich mir zur Zeit nicht vorstellen; er scheint mir kaum irgendeine besondere Rolle zu spielen. Der Embryo oder die Embryonen entstehen stets im ordentlichen Embryosack.

Keimender Pollen auf der Narbe, Pollenschläuche im Griffelkanal und in der Fruchtknotenhöhle sind noch deutlicher als bei *A. crispa* erkennbar. In einer Fruchtknotenhöhle an der Basis des Griffels habe ich einmal wenigstens drei Pollenschläuche beobachtet (Fig. 29, Taf. IV). Den Vorgang der Befruchtung konnte man ebenfalls deutlicher als bei *A. crispa*, und zwar habe ich in einem Material 96 Stunden nach Bestäubung die Meta-Anaphase der II. Teilung der Endospermkerne beobachtet. In einem anderen, 95 Stunden alten Embryosack konnte ich ebenfalls ein 8~16 kerniges Endosperm erkennen.

Bei dieser einsamigen Pflanze kann freie Kernteilung des Endosperms in 1~7 Samenanlagen stattfinden. Tabelle 5 zeigt die Verhältnisse zwischen der Zahl der Samenanlagen, in welchen Endospermkernteilung auftreten, und ihrer Häufigkeit überhaupt.

Tabelle 5.

Samenanlagenzahl, in denen Endo- spermbildung auf- tritt	1	2	3	4	5	6	7
Häufigkeit	4	4	8	5	2	1	1

Wie im nächsten Artikel gezeigt wird, ist bei dieser Art Polyembryonie vorhanden. Diese mehrere Embryonen stammen sowohl aus Nuzelluszellen wie auch aus der befruchtete Eizelle. Ich habe in einem Material zwei sich entwickelnde Embryonen beobachtet, einen davon ohne Suspensor am Chalazateil liegend, den anderen mit Suspensor an der Mikropyle (Fig. 38 u. 42, Taf. VI).

Mit den beschränkten Materialien, die ich bei dieser einzigen Gelegenheit in Hamburg behandeln konnte, war es mir leider unmöglich, in alle vorliegenden Fragen ausführlich einzudringen.

VII. Ist bei verschiedenen *Ardisia*-Arten stets Polyembryonie vorhanden?

Bei der Gattung *Ardisia* scheint Polyembryonie eine recht gewöhnliche Erscheinung zu sein. A. BRAUN (1859) hat bei folgenden *Ardisia*-Arten Polyembryonie beobachtet:

- A. serrulata* SW.
- A. coriacea*
- A. humilis* VAHL
- A. japonica* BLUME
- A. polytoca* A. BRAUN u. BOUCHÉ.

Bei *Ardisia crispa* (nach A. BRAUN: *A. crenulata*) ist aber stets nur ein einziger Embryo gefunden worden.

An *A. crispa*, *A. compressa* und noch mehreren Arten hatte ich Gelegenheit, die Polyembryonie mikro- und makroskopisch zu untersuchen. Meine Beobachtungsergebnisse sind folgendes:

1) *Ardisia martiana* MIQ.

7 Samen ergaben: 1 Same mit 2 Embryonen, die restliche 6 Samen mit je nur einem Embryo.

2) *Ardisia japonica* BLUME.

Über die Frucht und den Samen von *Ardisia japonica* beschrieb A. BRAUN: „Die hochrote Frucht dieser Art verdient den Namen einer Steinfrucht nur wenig, das längliche, an beiden Enden etwas zugespitzte Endocarpium dünn und von kaum mehr als papierartiger Consistenz ist. Der Same ist eiförmig, am Grunde abgeflacht und etwas eingedrückt, an oberen Ende in ein kleines stumpfes Spitzchen vorgezogen. Er ist mit einer membranösen Samenhaut umgeben, welche bei Entfernung des weisslichen Endocarpiums, wenn man nicht besondere Vorsicht anwendet, zugleich mit diesem abgeschält wird. Der dadurch entblösste, noch von einer feineren, schwer ablösbaren hellbräunlichen Haut bekleidete Endospermkörper zeigt an der Seite, bald mehr den Spitze, bald mehr der Basis zu, einen oder mehrere, bald genäherte, bald in beliebiger Richtung weit von einander abstehende braune Pünktchen, welche auf kaum bemerkbaren kreisförmigen Erhabenheiten sich befinden. Diese Punkte sind die Ausgangs- oder Ansatzstellen ebensovieler Keimlinge, deren abgerundetes Wurzelende nur durch eine sehr dünne Endospermschicht von der Oberfläche getrennt ist, während das schlankere, die äusserst kleinen Cotyledonen

tragende Ende des Stengelchens mehr oder weniger weit ins Innere des Endosperms hineinragt. Sind mehrere Keimlinge vorhanden, so sind sie meist von verschiedener Grösse, jeder vom anderen durch zwischenliegendes Endosperm getrennt, oder seltener 2 bis 3 in einer gemeinsamen Höhlung des Endosperms vereinigt, welchen Fall man schon von aussen an dem Zusammenstossen der Ausgangspunkte erkennt“ (vgl. Fig. 43, Taf. VI).

Er zählte bis zu 4 Embryonen in einem Samen, und zwar:

2 Samen	mit	4 Embryonen,
10 "	"	3 " ,
16 "	"	2 " ,
20 "	"	1 Embryo,
und 2 "	ohne	Embryo.

Also mehr als die Hälfte der 50 Samen (aus dem Leipziger Botanischen Garten) zeigten Polyembryonie.

Meine Zählungen (Tabelle 6) stimmt mit BRAUN's Ergebnis beinahe überein:

Tabelle 6.

Die Häufigkeit der Polyembryonie bei *Ardisia japonica* BLUME

Embryonenzahl	0	1	2	3	4	5	6	7	Summe
Häufigkeit	8	102	69	21	7	3	0	1	211
%	3,8	48,3	32,7	10,0	3,3	1,4	0,0	0,5	100

Auch hier zeigte beinahe die Hälfte der gesamten Samen Polyembryonie. Über die zwei, in seiner Beobachtung gefundene, Samen ohne Embryo bemerkt A. BRAUN: „....., endlich in 2 Samen konnte ich keine Keimlinge finden, die jedoch wahrscheinlich nicht fehlen, sondern wegen geringer Entwicklung der Beobachtung entgingen.“ Das ist natürlich wohl möglich, aber trotz meiner sorgfältigen Beobachtung fand ich auch 8 Samen, die keine Spur eines Embryo aufwiesen. Darüber könnte man ja die Möglichkeit der Existenz einer Parthenokarpie annehmen. Es bleibt doch als eine künftige Aufgabe, die noch eingehend untersucht werden muss!

3) *Ardisia compressa*.

Wie schon bemerkt wurde, trugen die im Palmenhaus gezogene 2 Pflanzen nur sehr wenige Früchte, also 17 Samen im Frühling 1938 und 13 Samen im 1939, insgesamt nur 30 Samen konnte ich untersuchen.¹⁾ *A. compressa* zeigt, wie man in der Tabelle 7 sieht, auch die Erscheinung der Polyembryonie.

1) Selbstverständlich sind von diesen 2 Pflanzen ungefähr 300 Knospen sowie junge Früchte als Versuchsmaterialien weggenommen, trotzdem fielen zahlreiche verblühte Blüten ab, ohne sich weiterzuentwickeln.

Tabelle 7. Polyembryonie bei *A. compressa*.

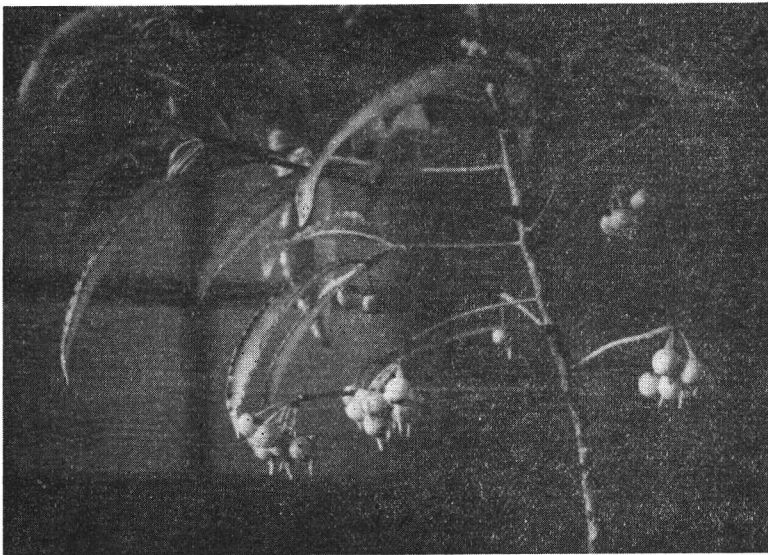
Embryonen- zahl	0	1	2	3	4	5	Summe
Häufigkeit	0	18	10	1	1	0	30

4) *Ardisia humilis* VAHL

A. BRAUN bemerkt: „Unter drei untersuchten Samen befand sich einer mit 2 Keimlingen.“ Entgegen seinem positiven Ergebnis zeigte mein Material niemals Polyembryonie. 369 (!) untersuchte Samen enthielten ausnahmslos je nur einen einzigen Embryo.

5) *Ardisia crispa* (Fig. 43, Taf. VI).

Der reife Samen dieser Art enthält ebenfalls auch nur einen Embryo. 143 Samen, die ich im Winter 1937/38 im Palmenhaus eingesammelt habe, herbrachten diese Ergebnis. Seitdem habe ich bei allen Gelegenheiten unzählige Samen von *A. crispa* untersucht, und alle Samen blieben ohne Ausnahme einembryonisch.

Fig. 6. Vivipare Früchte von *A. crispa*. Erklärung im Text.

Im März 1939 bekam ich von einem Bekannten in Berlin eine *Ardisia crispa* im Topf als Zierpflanze, deren 251 reife Samen ebenfalls nur je einen einzigen Embryo enthielten; merkwürdig war alledrings, dass alle diese Samen Viviparie zeigten, während die Hamburger Exemplare sich niemals als Vivipar erwiesen. Neuerdings habe ich in Kyoto an den Topfpflanzen von *A. crispa*, die im Gewächshaus gezogen

wurden, alle Samen als Vivipar gefunden (Fig. 6). Ob diese Erscheinung erbfaktorisch bestimmt ist oder aber von irgend welchen Kulturbedingungen hervorgerufen wird, wird eine Aufgabe für die Zukunft sein müssen.

In Bezug auf die Polyembryonie kann man die verschiedenen Arten von *Ardisia* in zwei Gruppen abteilen; zur ersten Gruppe gehören die Arten mit einem Embryo: *A. crispa*, *A. humilis*, usw., und zur zweiten gehören die Arten mit mehreren Embryonen: *A. japonica*, *A. compressa*. u. a. m. Damit kommt man zu dem Schluss, dass bei *Ardisia*-Arten Polyembryonie nicht eine allgemeine Erscheinung ist.

VIII. Über die Samenanlagenzahl, die Anomalität und Missbildung der Zahl sowie der Anordnung von Blütenorganen.

A. Über die Samenanlagenzahl.

Nach JAENSCH sollen bei *Ardisia crispa* die Samenanlagen in der 3 oder 4 Zahl vorhanden sein, wobei ihm die erste Zahl mehr als doppelt so oft begnete als die zweite. DAHLGREN schreibt bloss : „3 bis 5 in jedem Fruchtknoten.“ Meine Beobachtungen an dem Material aus dem Palmenhaus vom Herbst 1937 sind in der folgenden Tabelle (Tabelle 8) verzeichnet.

Tabelle 8.
Samenanlagenzahl in einem Fruchtknoten
von *Ardisia crispa* aus dem Palmenhaus zu Hamburg.

Zahl der Samenanlagen	1	2	3	4	5	Summe
Häufigkeit	0	9	143	39	0	191
%	0,0	4,7	74,9	20,4	0,0	100

Dagegen zeigte das Material, das von Herrn Prof. WINKLER am 9. Februar 1905 in Java eingesammelt worden war, ein sehr merkwürdiges Ergebnis (Tabelle 9).

Wie man sieht, liegt zwischen den beiden Tabellen ein grosser Sprung : in Hamburger Fruchtknoten befinden sich 2 bis 4 Samenanlagen, während das Javanische Material 6~9!

Tabelle 9.
Samenanlagenzahl in einem Fruchtknoten
der *Ardisia crispa* aus Buitenzorg, Java.

Zahl der Samenanlagen	5	6	7	8	9	10	Summe
Häufigkeit	0	5	12	9	1	0	27
%	0,0	18,5	44,5	33,3	3,7	0,0	100

Um die Ursache dieser grossen Verschiedenheit, die in der Zahl der Samenanlagen in beiden Materialien besteht, aufzudecken, habe ich folgende Versuche gemacht. Unter der Annahme, dass die beiden Versuchspflanzen aus Java und Hamburg¹⁾ selbstverständlich derselben Art, nämlich *Ardisia crispa* A. DC. angehören, vermutete ich, dass die Hauptursache der Abweichung in den verschiedenen Temperaturen des Standortes zu suchen sei. Nun habe ich einige Töpfe vom Palmenhaus, worin diese Pflanzen seit etwa 30 Jahren gezogen waren, ins Vermehrungshaus versetzt. Wie schon angegeben wurde, werden die minimalen Temperaturen der beiden Gewächshäuser im Winter so reguliert, dass im Palmenhaus 14° und 16°C., im Vermehrungshaus 24° und 26°C. bei Nacht bzw. Tag gehalten werden. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 10 verzeichnet.

Tabelle 10.
Die Veränderlichkeit der Samenanlagenzahl
von *Ardisia crispa* durch die Wachstumsbedin-
gungen der Gewächshäuser.

	Samenanlagen- zahl Materi- alien aus :	2	3	4	5	Summe
I	dem Palmenhaus im Sommer 1938	14 9,5%	115 77,7%	18 12,1%	1 (?) 0,7%	148 100%
II	dem Vermehrungshaus in der Übergangs- periode 1938	3 2,6%	77 67,5%	33 28,9%	1 1,0%	114 100%
III	dem Vermehrungshaus nach der Übergangs- periode 1938	0 0,0%	58 54,7%	46 43,4%	2 1,9%	106 100%
IV	dem Vermehrungshaus im April 1939	0 0,0%	24 43,6%	28 50,9%	3 5,5%	55 100%

1) Wie schon erwähnt wurde (s. S. 5), sind die Hamburger Pflanzen auch Javanischer Herkunft, da sie aus den am 9. Feb. 1905 von Prof. WINKLER eingesammelten Samen gewachsen sind.

Zeile I zeigt das Ergebnis der Zählung des Materials aus dem Palmenhaus im Sommer 1933, die Zeilen II und III die Ergebnisse der Materialien, die am 23. Mai 1938 aus dem Palmenhaus ins Vermehrungshaus gebracht worden waren, und die Zeile IV zeigt das Ergebnis von den am 24. Januar 1939 ins Vermehrungshaus gebrachten und im April 1939 eingesammelten Materialien.

Diese Ergebnisse geben den Eindruck, dass die erhöhte Temperatur der Umgebung die Samenanlagenzahl an der Plazenta vermehrt. Die Zahlen der Zeilen II und III lassen erkennen, dass die erhöhte Temperatur auch noch auf ein verhältnismässig spätes Entwicklungsstadium der Knospen einwirken. Diese Versuchspflanze ist am 23. Mai 1938 ins Vermehrungshaus gebracht worden; zu dieser Zeit waren die Blütenknospen schon ausgebildet, aber noch geschlossen, einige davon standen dicht vor der Befruchtungsreife. Die in der von mir genannten „Übergangsperiode“ (15 bis 23 Tage nach Umsetzung) eingesammelten Materialien enthalten daher einige Knospen, deren Samenanlagen schon im Palmenhaus festgelegt worden war. Es ist auch interessant, dass die Materialien in den Zeilen II und III von einer einzigen Mutterpflanze eingesammelt worden waren.

In der nächsten Tabelle (Tabelle 11) werden die Ergebnisse an den Materialien aus Kyoto und Yamada, Miye Präfektur, im Jahre 1942 angegeben.

Tabelle 11.
Samenanlagenzahl von *Ardisia crispa* der
Japanischen Heimat.

Material aus :		Samenanlagen- zahl	2	3	4	5	6	7	Summe
I	Kyoto	Häufig- keit	0	6	26	15	0	0	47
		%	0,0	12,8	55,3	31,9	0,0	0,0	100
II	Yamada	Häufig- keit	0	39	73	59	4	0	365
		%	0,0	10,7	72,0	16,2	1,1	0,0	100

Die Materialien der Zeile I stammen von den seit dem Feb. 1940 im Gewächshaus der Universität zu Kyoto gezogen, am 23. Juli 1942 eingesammelten 8 Topfpflanzen, während die der Zeile II von den im Privatgarten gezogenen Pflanzen eingesammelt. Weil Yamada südöstlich von Kyoto und in der Nähe der Küste am Stillen Ozean liegt, scheint es mir in Yamada klimatisch etwas günstiger als in Kyoto für diese Pflanze zu sein. Dass es in den Materialien aus Yamada 4 Fruchtknoten mit 6 Samenanlagen gibt, dieser Zahl bei Hamburger Materialien niemals begegnet wurde, wäre daher etwas von Bedeutung.

In Japan blüht *Ardisia crispa* im Freien im Sommer (Juni~August), in Hamburger Palmenhaus etwas später (Ende Juni~September); wenn man die Pflanze ins Vermehrungshaus versetzt hatte, blühte sie im April. In den Materialien, die am 9. Feb. 1905 von Herrn Prof. WINKLER fixiert worden waren, befinden sich Knospen verschiedener Entwicklungsstadien, Blüten und junge Früchte, so dass es damals gerade auch Blütezeit gewesen sein muss.

Die Beobachtungsergebnisse dieser kleinen Versuche würden einige Hinweise darauf geben, dass das Temperaturklima des Standorts, sowohl auf die Samenanlagenzahl als auch auf die phänologische Eigenschaft, einen besonderen Einfluss ausübt. Wie ich nachher erwähne, scheint die Temperatur gleichzeitig die Zahl der Kelch- und Blütenblattzipfel und auch die Zahl und Form der Staubfäden zu beeinflussen.

Wie schon angegeben wurde (s. S. 8) sind die Samenanlagen von *Ardisia crispa* aus dem Äquator der Zentralplazenta in einem Kreise angeordnet, während bei *Ardisia compressa* 14~23 Samenanlagen traubenförmig auf der ganzen Oberfläche der Zentralplazenta liegen. Tabelle 12 zeigt die Samenanlagenzahl und ihre Verteilung in einem Fruchtknoten.

Ob hierbei auch ein Einfluss der Temperatur auf die Zahl der sich entwickelnden Samenanlagen vorliegt, konnte ich während meines Aufenthalts in Hamburg leider nicht verfolgen.

Tabelle 12.

Die Samenanlagenzahl und ihre Häufigkeit bei *Ardisia compressa*.

Samenanlagen- zahl in einem Fruchtknoten	Häufigkeit	%	Samenanlagen- zahl in einem Fruchtknoten	Häufigkeit	%
13	0	0,0	19	40	23,1
14	7	4,1	20	10	5,8
15	10	5,8	21	1	0,6
16	23	13,3	22	3	1,6
17	40	23,1	23	1	0,6
18	38	22,0	24	0	0,0
			Summe	173	100

B. Die Anomalität der Zahl der Blütenorgane und ihre leichte Veränderlichkeit in Bezug auf ihre Anordnung innerhalb der Blüte bei *Ardisia crispa*.

Ardisia crispa A. DC. hat normalerweise die Blütenformel:

$$K_{(5)} \quad C_{(5)} \quad A_5 \quad G_{\underline{1}} \quad (1)$$

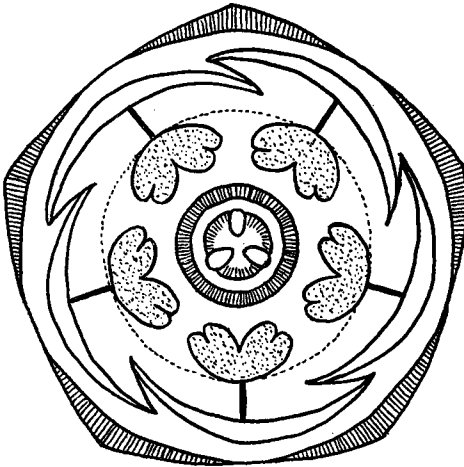


Fig. 7. Blütendiagramm von *A. crispa*.

Ihr Blütendiagramm ist in Fig. 7 abgebildet. Im Gange meiner Untersuchungen habe ich in der Zahl der Kelch- und Blütenblattzipfel und in der Zahl der Staubfäden verschiedene Unregelmässigkeiten beobachtet. Auch in der gegenseitigen Deckung der einzelnen Blütenblätter in der Knospe habe ich häufig Abweichungen gefunden.

Die verschiedenen gegenseitigen Deckungsmodi der Blütenblätter und ihre Häufigkeiten sind in der Fig. 8 sowie in der Tabelle 13 angegeben.

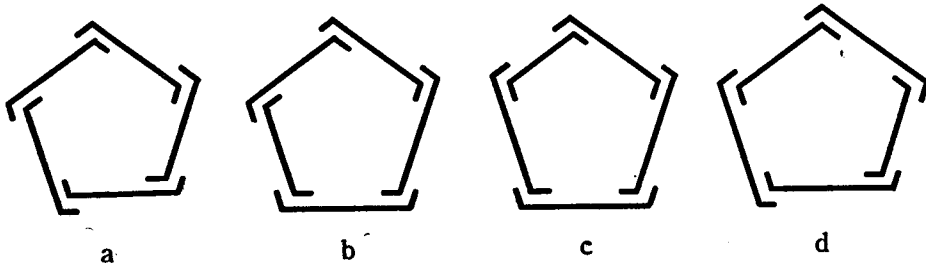


Fig. 8. Deckungsweise der 5-zähligen Blütenblätter (*A. crispa*).

Tabelle 13.

Deckungsmodi der Blütenblätter und ihre Häufigkeiten.

Deckungsmodus wie in Fig. 8	a	b	c	d	Summe
Häufigkeit	91	51	2	3	147
%	62,0	34,6	1,4	2,0	100

Wenn eine Blüte 5 Blütenblätter ausbildet, zeigt sie ausnahmslos die Blütenformel (1); zugleich entwickelt auch eine normale Blüte stets fünf Kelchblätter und

die gleiche Zahl Staubblätter. In vielen Blütenknospen aber, wie Tabelle 14 zeigt, habe ich weniger als 5 Blütenblätter gezählt.

Tabelle 14.

Zahl der Blüten- blattzipfel	5	4	3	Summe
Häufigkeit	147	69	3	219
%	67,1	31,5	1,4	100

Gleichzeitig haben die Knospen mit 4 Blütenblättern fast alle nur 4 Staubblätter, dagegen aber 5 oder 4 Kelchblätter. Die Verhältnisse verschiedener Blütenanomalitäten zeigt Tabelle 15.

Tabelle 15
Anomale Blüten und ihre Häufigkeiten.

Blütenformel der anomalen Blüten	$K_{(5)} C_{(4)} A_4 \underline{G_1}$	$K_{(4)} C_{(4)} A_4 \underline{G_1}$	$K_{(?) } C_{(4)} A_4 \underline{G_1}$	Summe
Häufigkeit	16	35	18	69
%	23,2	50,7	25,1	100

Die gegenseitige Deckung der 4 Blütenblätter kann wiederum von einander abweichen, wie Fig. 9 und Tabelle 16 zeigen.

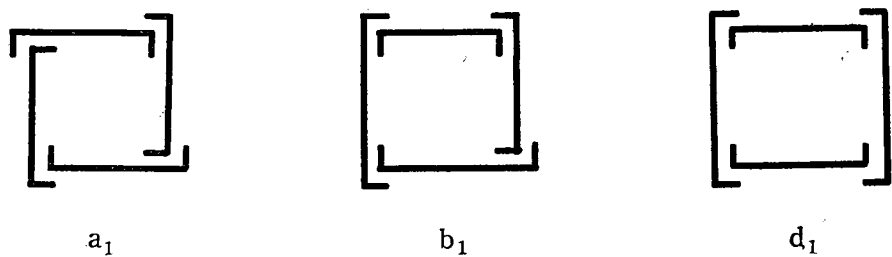


Fig. 9. Deckungsweise der 4 zähligen Blütenblätter (*A. crispa*).

Tabelle 16.
Deckungsmodi der 4 blättrigen Blüten und ihre Häufigkeiten.

Deckungs- modus	a ₁	b ₁	d ₁	Summe
Häufigkeit	38	30	1	69
%	55,0	43,5	1,5	100

In den zahlreichen Blüten wurden die drei Exemplare mit nur 3 Blütenblättern gefunden, die die folgenden Blütenformeln besitzen:

- $K_{(5)} C_{(3)} A_5 \underline{G_1}$(2)
- $K_{(3)} C_{(3)} A_4 \underline{G_1}$(3) (Fig. 44, Taf. VI)
- $K_{(5)} C_{(3)} A_{4,5} \underline{G_1}$(4).

Bei der letzten Blüte sind zwei von den ausgebildeten 5 Staubgefäßen an der Antheren und am Filament verwachsen, und zwar folgendermassen:

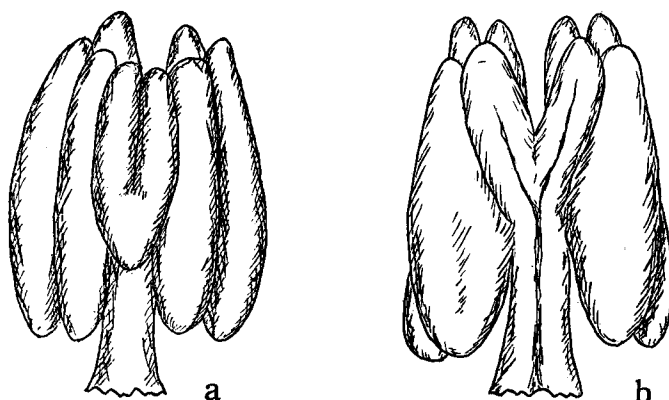


Fig. 10. Verwachsene Staubgefäße. a : vorne und b : hintere Ansicht. Erklärung im Text.

Es ist interessant, dass diese Anomalität von der Umgebungsbedingungen, hauptsächlich von der Temperatur, beeinflusst zu werden scheint, denn zwischen den Materialien aus dem Palmenhaus und dem Vermehrungshaus besteht ein bemerkenswerter Zusammenhang in den Anomalitätsverhältnissen (Tabelle 17).

Tabelle 17.
Zusammenhang zwischen den anomalen Blüten
und ihren Wachstumsbedingungen.

Blüten		Normale Blüten	4 blättrige Blüten	3 blättrige Blüten	Summe
Materi- alien aus:					
Palmenhaus		25 36,2%	41 59,4%	3 4,4%	69 100%
Vermehrungs- haus	1938	80 82,5%	17 17,7%	0 0,0%	97 100%
	1939	43 78,2%	12 21,8%	0 0,0%	55 100%

Wie diese Tabelle zeigt, ist es sehr auffallend, dass bei dem Material aus dem Palmenhaus mehr anomale Blüten ausgebildet sind als normale.

Für diese tropische Pflanze ist das Klima im Palmenhaus (die minimalen Temperaturen im Winter: 14°C. nachts, 16°C. tags) weit unter ihrem Optimum. Dieser ungünstige Einfluss der Temperatur muss die Ursache der beobachteten Anomalität sein; im Vermehrungshaus (minimale Temperaturen im Winter: 24°C. nachts, und 26 °C. tags) ist das Verhältnis normaler Blüten zu anomalen schon beträchtlich verbessert worden!

IX. Bakteriensymbiose bei *Ardisia crispa*.

Im Botanischen Garten zu Buitenzorg, Java, wurde H. MIEHE's Aufmerksamkeit durch eigentümliche, knotige Verdickungen an den Blatträndern von *Ardisia crispa* erregt. Es war im Wintersemester 1909/10, und nach seiner Rückkehr beschrieb er in seinen „Javanischen Studien“ (Leipzig 1911) eine Bakterie, *Bacterium foliicola*¹⁾, die mit der Mutterpflanze in Symbiose lebt. MIEHE's Beschreibungen nach war der Kreislauf der Symbiosekette beinahe ganz geschlossen. Aber trotz seiner sorgfältigen Untersuchungen gelang es ihm nicht, folgende Frage zu beantworten: Wie und wann erreichen die in der Fruchtknotenhöhle vorhandenen Bakterien in die Samenanlagenhöhle?

Auch ich kann diese Frage noch nicht vollständig beantworten, doch können verschiedene Beobachtungen in meinen Präparaten Aufschluss geben, über die wahrscheinliche Art des Eindringens der Bakterien in die Samenanlage.

Die Bakterien zeigen sich immer in Form schleimiger Zoogloen, sowohl in der Blattknotenhöhle als auch in den anderen Pflanzenteilen, die sie bewohnen, z. B. auf dem Vegetationspunkt oder in der Fruchtknotenhöhle (Fig. 31, Taf. V).

Die Blattbakterie ist von Hämatoxylin stark färblich, insbesondere ihre chromatinartige Körperchen stärker, während von Safranin sehr schlecht gefärbt. Der Schleim, der die Bakterien schwemmen lässt, verhält sich dagegen genau umgekehrt, und zwar mit Safranin stark und mit Hämatoxylin schlecht färblich.

Schon im früheren Entwicklungsstadium der Blütenknospe sind der untere Griffelkanal und die Fruchtknotenhöhle von den Bakterien in wechselnder Üppigkeit besiedelt (Fig. 34 u. 35, Taf. V). Wenn der Pollenschlauch den Griffelkanal oder die Fruchtknotenhöhle durchwächst, ist es daher wohl möglich, dass die Bakterienzoogloen seiner Oberfläche anklebend in die Samenanlage übertragen wird. Im Mikropylenkanal ausgebildeter Samenanlagen habe ich mehrfach Bakterien beobachtet.

Wie MIEHE erwähnt hat, sind die Bakterien sowohl in den Knospen als auch in der Früchten nur in den Interzellularräumen zu finden, niemals dagegen im Zellinneren. Eine einzige Ausnahme erwähne ich später.

Während der Entwicklung der Embryosackmutterzelle zum Embryosack sind niemals Bakterien in der Samenanlage zu beobachten. In den Samenanlagen, in denen schon eine mehr oder weniger starke Endosperm Bildung eingetreten ist, sind immer

1) Zwei weitere Beiträge über den gleichen Gegenstand wurden von MIEHE in den Jahren 1913 und 1917 in den Jahrbüchern für wissenschaftlichen Botanik veröffentlicht.

Bakterien zu finden. Die Bakterienkolonien sind nur in einer Samenanlage zu beobachten.

Nun werde ich eine unter dem Mikroskop gefundene, bemerkenswerte Figur beschreiben. Im Plasma des ausgebildeten Embryosackes, gleich nach der Befruchtung, finden sich einige, manchmal etwa zehn, bräunliche, lichtbrechende Kügelchen, deren Grösse etwa 1μ beträgt, zeigen sich verstreut, einzeln oder manchmal wie Diplokokken zu Paaren dicht einander gekoppelt, in Berührung mit dem Plasma oder von ihm umschlossen (Fig. 25, Taf. IV; Fig. 32, 33 u. 36, Taf. V). Sie sind nur in den Samenanlagenhöhlen zu beobachten; niemals während der früheren Entwicklungsstadien des Embryosackes, sondern immer erst beim ausgebildeten, eben befruchteten Embryosack. Solange sie in den Präparaten zu beobachten sind, sind niemals Bakterien in den Samenanlagen aufzufinden. In den Samenanlagen, in denen eine Bakterienvermehrung stattfindet, sind diese braunen Kügelchen schon verschwunden. Diese sonderbaren Kügelchen, die nur zu bestimmten Zeiten, nur in einem Ort —im Embryosack—, und dann stets bei Abwesenheit der Bakterienzoogloen auftreten, sind höchstwahrscheinlich für den Kreislauf der Symbiose irgendwie von Bedeutung. Weder MIEHE (1911 u. 1913) noch RIPPEL-BALDES (1952) hat an *Bacterium foliicola* Sporenbildung bemerkt.

In der Annahme, dass diese Kügelchen im Lebenszyklus der Blattbakterien eine Rolle spielen, scheint es mir sehr merkwürdig, dass sie sich nur in diesem Stadium intrazellulär in der Embryosackzelle befinden. Weitere Untersuchungen an diesen interessanten Kügelchen habe ich bis jetzt leider noch nicht durchführen können.

Zum Schluss dieses Artikels über die Blattbakterien, möchte ich auf die Aufgabe: „wie und wann gelangen die Bakterien in ihrem Lebenszyklus in die Samenanlagenhöhle?“ eine weder von MIEHE noch RIPPEL-BALDES vorgebrachte Ansicht äussern (vgl. das Schema in Fig. 11). Bei der Bildung einer Blütenanlage auf der Mutterpflanze ist schon der Vegetationspunkt von der Bakterienzoogloen bewohnt (a)¹⁾, die mit der Differenzierung der Blütenorgane in die Fruchtknotenhöhle eingeschlossen werden (b); dann dringen die Bakterien in die Mikropyle (c). Gegen die Zeit der Ausbildung des Embryosackes fängt der Nuzellus an zu degenerieren, sodann führt die Mikropyle direkt an den Embryosack, infolgedessen werden die Bakterien mit dem Embryosack in Berührung kommen (d). Beim Eindringen des Pollenschlauchs durch die Synergide zur Befruchtung werden die Bakterien dem Schlauch aufklebend in den Embryosack eingeführt; erst hiermit gelangen die Bakterien ins Zellinnere (e). Dort bilden sie Sporen und machen eine Ruheperiode durch (f). Die Sporen ruhen

1) Dies entspricht das Alphabet in der Fig. 11.

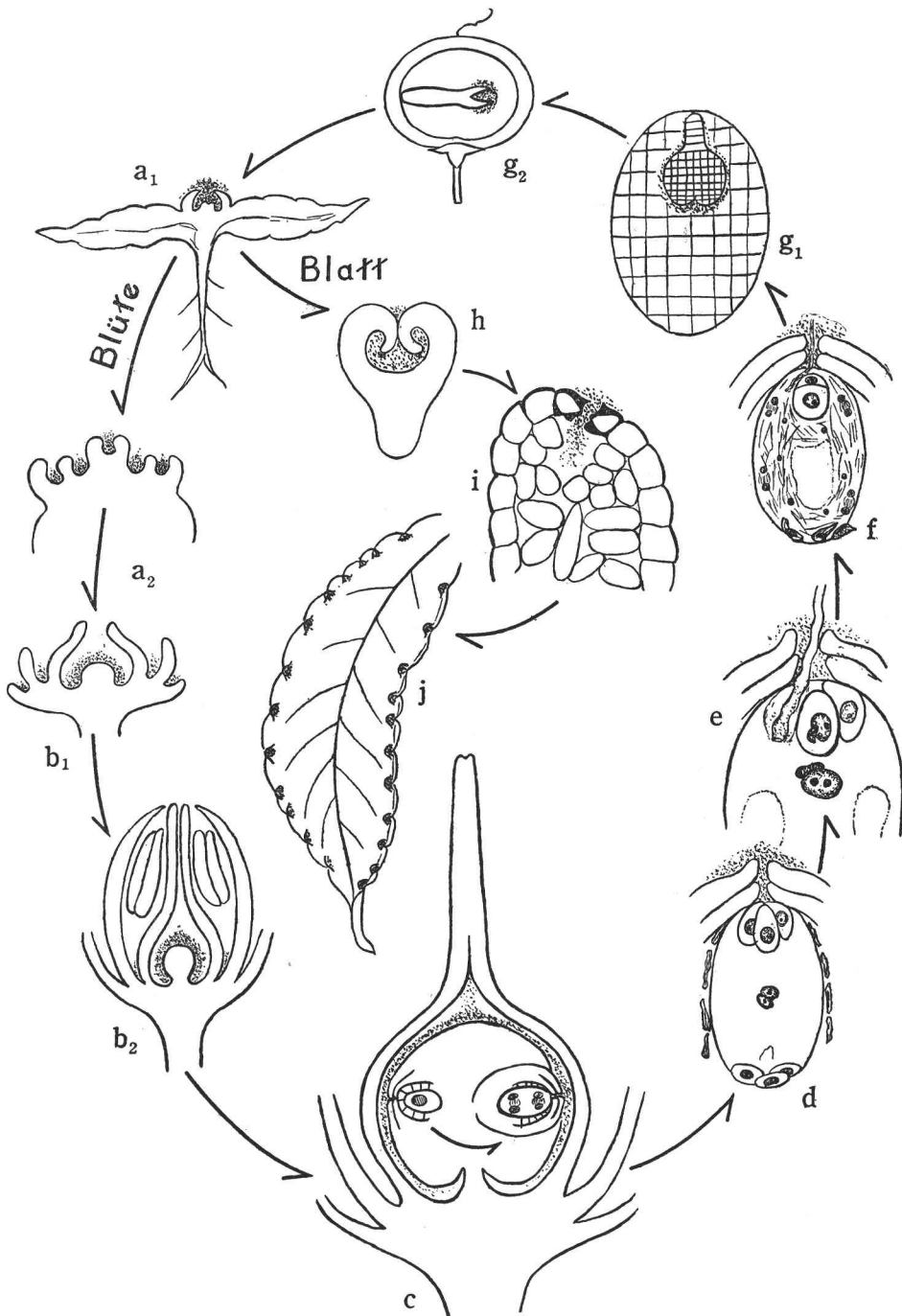


Fig. 11. Schematische Darstellung des Symbiosezyklus von Blattbakterien mit *A. crispa*. Erklärung im Text.

während der Periode der Emdospermkernteilung, keimen etwa beim Eintritt der Embryoentwicklung (g_1), und sammeln sich um die ausbildenden Kotyledonen, und zwar am Vegetationspunkt der nächsten Generation (g_2).

Bei *Ardisia compressa* habe ich weder im Blatt noch in der Blüte oder Frucht symbiotische Bakterien gefunden.

X. Zusammenfassung.

1. Die entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an *Ardisia*, besonders an *A. crispa* und *A. compressa*, die im Hamburger Institut für allgemeine Botanik unter Leitung des verst. Herrn Prof. H. WINKLER durchgeführt wurden, sind angegeben.
2. Die Mikro- und Makrosporenbildung verläuft bei den beiden Arten ganz normal. Der Embryosack wird durch die 8 kernige Phase ausgebildet, obwohl seine Antipodenzellen, sobald sie ausgebildet sind, zugrunde gehen.
3. Die haploide Chromosomenzahl wurde bei *A. crispa* $n=23$ in der Reifungsteilung bei der Mikro- sowie Makrosporenbildung festgestellt.
4. Bei *A. crispa* findet ohne Bestäubung keine Samen- und Embryobildung statt, es muss daher Bestäubung als unbedingt notwendig angesehen werden.
5. Entgegen JAENSCH's negativem Ergebnis zeigte der Pollen von den beiden Arten, sowohl auf dem Nährboden als auch an der Narbe eine ausgezeichnete Keimfähigkeit.
6. Der Embryo und das Endosperm werden durch die normale Doppelbefruchtung ausgebildet. Ich konnte in den sich teilenden Endospermkernen bis zu mindestens 62 Chromosomen zählen, d. h. ziemlich sicher triploide. Der Embryo entwickelt sich etwas später, der ein- oder zweizellige Proembryo ruht an der Mikropyle bis die Endospermbildung sich ihrem Ende nähert.
7. Obwohl die verschiedenen Arten von *Ardisia* mehrere bis viele Samenanlagen in einem Fruchtknoten tragen, erweisen sie sich ausnahmslos als einsamig.
8. Der Samen von *Ardisia crispa* enthält nur einen einzigen Embryo, weder Nuzellusembryonie noch Parthenogenese wurde bei dieser Art beobachtet. Ihr Vorkommen muss als unwahrscheinlich angesehen werden. Jedoch ist es interessant, dass manchmal in mehreren Samenanlagen „ruminierende“ Endospermbildung stattfindet, deren Ursache ich mir nicht erklären kann.
9. In Bezug auf die Embryonenzahl in einem Samen, zerfallen die Arten von *Ardisia* in zwei Gruppen; d. h. in die immer einembryonisch bleibende und in die

sich manchmal als polyembryonisch erweisende Gruppe. Vom embryologischen Standpunkt aus wäre die letzte Gruppe sehr viel interessanter als die erste. Weil, z.B. *Ardisia japonica* bis zu 7 Embryonen aufweist, werde ich deshalb in den folgenden Beiträgen darauf näher eingehen.

10. Bei *A. crispa* beobachtet man verschiedene Anomalitäten und Missbildungen an Samenanlagenzahl, sowie Zahl und Anordnung der Blütenorgane. Solche leichten Veränderlichkeiten oder Anomalitäten der Blütenorgane schienen, meinen Versuchen nach, hauptsächlich von dem ungünstigen Temperaturklima der Hamburger Gewächshäuser verursacht zu sein.

11. Im Plasma des eben befruchten Embryosackes fand ich mehrere sonderbare, lichtbrechende Kügelchen, die, von verschiedenen Hinweisen unterstützt, höchstwahrscheinlich Sporen der Blattbakterie darstellen. Wenn dies wirklich so ist, würden diese Kügelchen zwei neue Erkenntnisse über die Blattbakterie liefern, und zwar: dass erstens die Blattbakterie Sporen bildet und zweitens sie zur Sporenzeit „intrazellulär“ in der Mutterpflanze, *A. crispa*, wohnt. Diese beiden Eigenschaften sind von MIEHE deutlich abgelehnt worden.

Literaturverzeichnis.

- BRAUN, A. Über Polyembryonie und Keimung von Caelebogyne. Abhandlungen d. Königl. Akad. d. Wissensch. zu Berlin. S. 109~263. 1859.
- DAHLGREN, K.V.O. Zytologische und Embryologische Studien über die Reihen Primulales und Plumbaginales. Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar. **56**, Nr. 4. 1916.
- v. HÖHNEL, F.R. Anatomische Untersuchungen über einige Sekretionsorgane der Pflanzen. Sitzungsber. d. math.-naturwissensch. Klasse d. Kais. Akad. d. Wissenschaft, Wien. **84**, I. Abtlg., S. 583, 1882.
- JAENSCH, O. Beitrag zur Embryologie von *Ardisia crispa* A. DC. Inaugural Dissertation, Breslau, 1905.
- JOHANSEN, D. A. Plant Embryology. Embryogeny of the Spermatophyta. Chronica Botanica: New Series of Plant Science Books, **24**, 1950.
- KORIBA, K. Morphologie der Pflanze. (auf Japanisch). Tokyo, 1951.
- MANSHARD, E. Embryologische Untersuchungen an *Styrax obassia* SIEB. et ZUCC. Planta, **25**, 3. H., 1936.
- MIEHE, H. Javanische Studien. V. Die Bakterienknoten an den Blatträndern von *Ardisia crispa* A. DC. Abhandl. d. math.-phys. Klasse d. Königl. Sächsisch. Ges. d. Wissenschaften. **32**, S. 399~431, 1911.
- Weitere Untersuchungen über die Bakteriensymbiose bei *Ardisia crispa*. I. Die Mikroorganismen. Jahrb. f. wissensch. Botanik, **53**, 1. H., 1913.
- NAKAI, T. Ardisiaceae. (auf Japanisch). Nova Flora Japonica, No. 9, Tokyo, 1943.
- NEGODI, G. Contributo alla cariologia della Myrsinaceae. Atti della Società dei Naturalisti e Matematici di Modena, **69**. S. 7~9, 1938. (Deutsche Übersetzung von Hn. Prof. WINKLER.)
- PAX, Monographische Übersicht über die Arten der Gattung Primula. Englers Bot. Jahrb. **10**, S. 115,
- PENZIG, O. Pflanzen-Teratologie. Bd. I~III, Berlin, 1921.
- RIPPEL-BALDES, A. Grundriss der Mikrobiologie. 2. Aufl. SPRINGER-Verl., Berlin, 1952.
- SCHNARF, K. Embryologie der Angiospermen. LINSBAUERS Handb. d. Pflanzenanatomie, Bd. **X/2**, 1~689, Gebr. BORNTAEGER, 1927/29.
- WINKLER, H. Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. Jena, G. FISCHER, 1908.
- Fortpflanzung der Gewächse. 7. Apomixis. Handwörterb. d. Naturwissenschaften. II. Aufl., 4, S. 451, Jena, G. FISCHER, 1934.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Längsschnitt eines Fruchtknoten von *Ardisia compressa*. 5 von den 19 Samenanlagen in der gespitzten Zentralplazenta zu beobachten. Vergr. 40mal.

Fig. 2-11. Embryosackentwicklung, darunter Fig. 10 : von *Ardisia compressa*.

Fig. 2. Prophase der I. Teilung. Vergr. 900mal.

Fig. 3. Diakinese. Haploide Chromosomenzahl $n=23$ ist deutlich abzählbar. Vergr. 900mal.

Fig. 4. Frühe Anaphase der I. Teilung. Vergr. 900mal.

Fig. 5. Zweizelliges Stadium. Vergr. 900mal.

Fig. 6. Meta-Anaphase der II. Teilung. Vergr. 900mal.

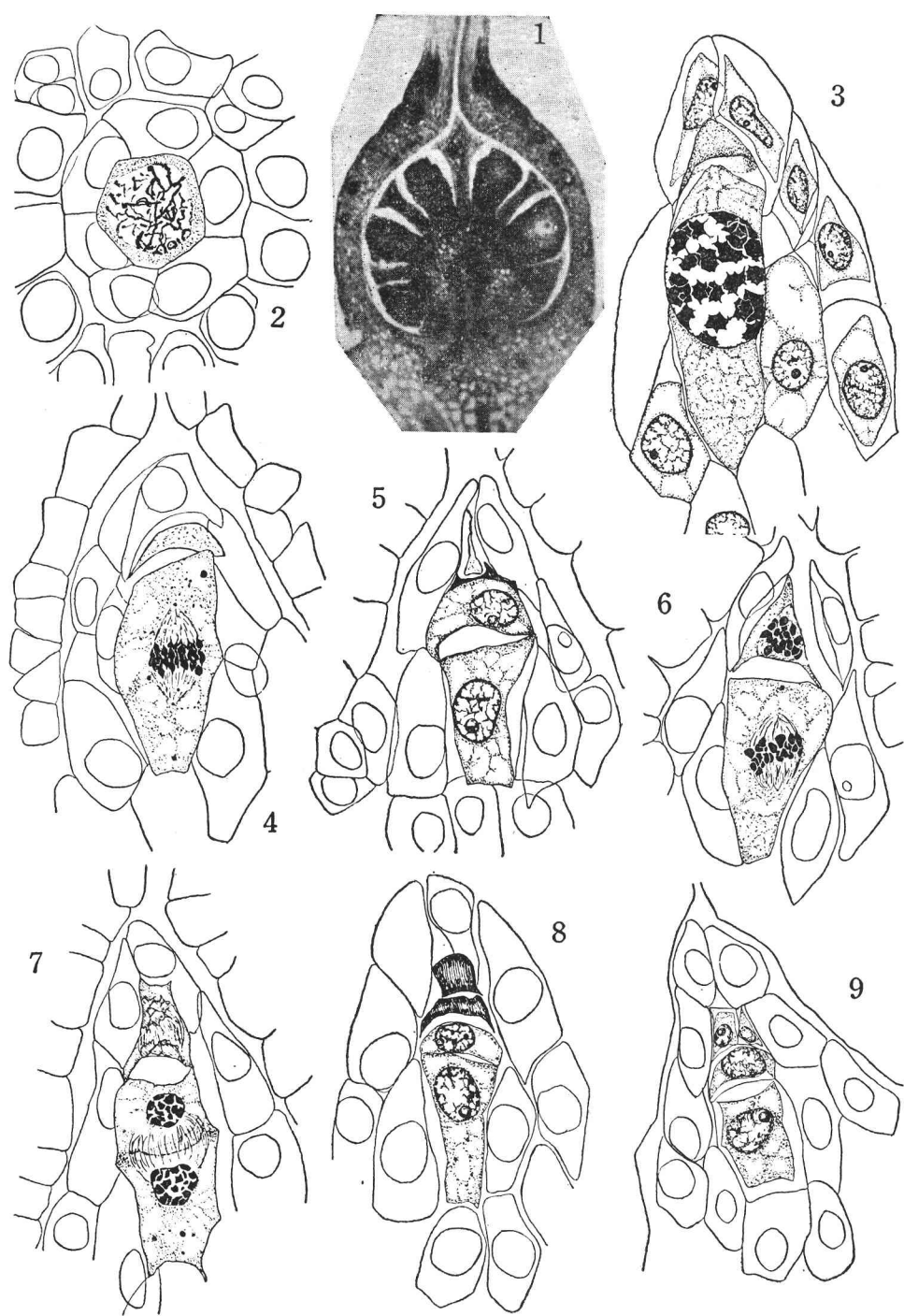
Fig. 7. Telophase der II. Teilung. Vergr. 900mal.

Fig. 8. Zellentetrade von Makrosporen. Vergr. 900mal.

Fig. 9. T-förmige Makrosporentetrade. Vergr. 900mal.

Entwicklung von *Ardisia*

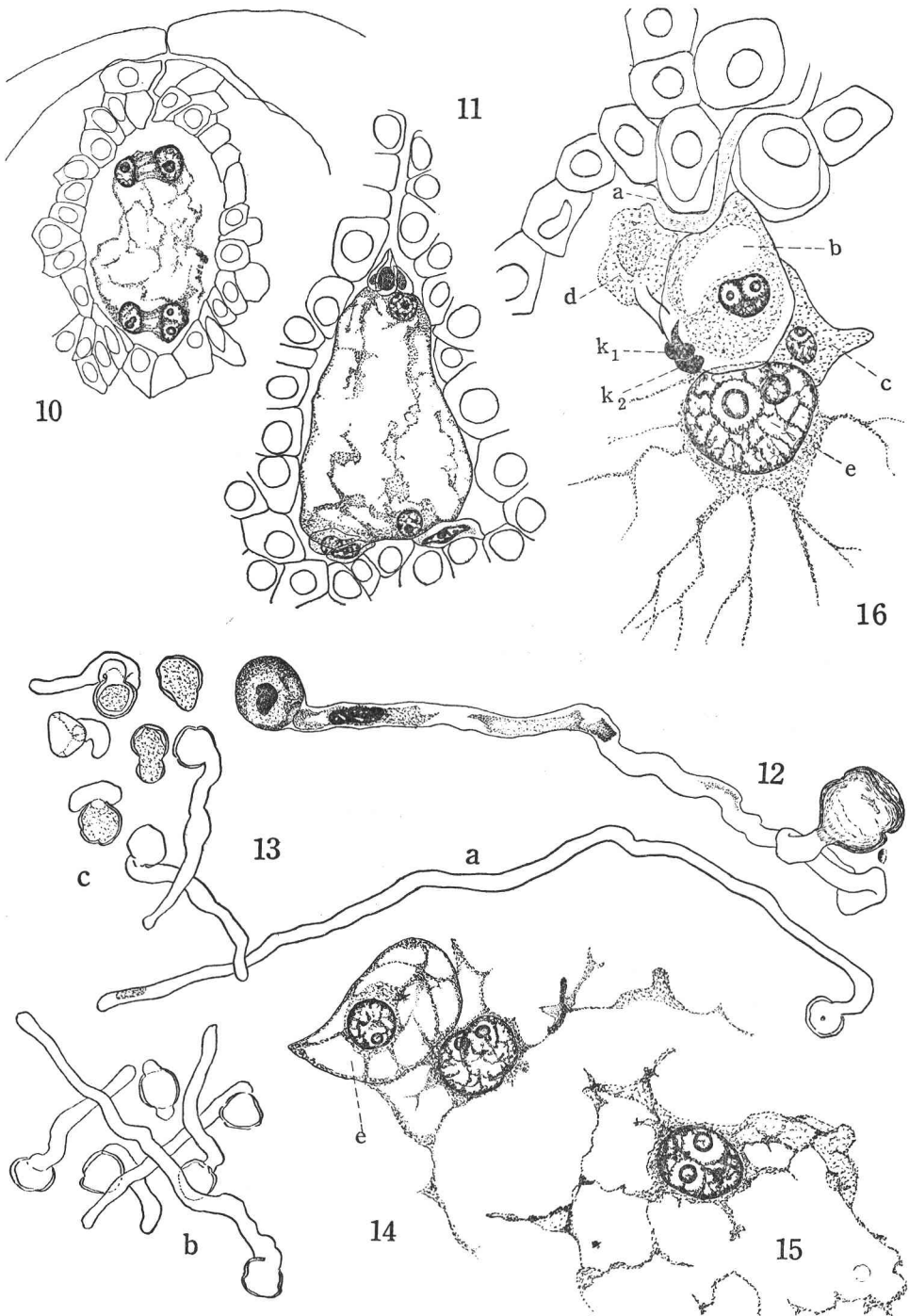
Tafel I.



Tafel II.

- Fig. 10. Vierkerniger Embryosack von *A. compressa*. Vergr. 600mal.
- Fig. 11. Ausgebildeter Embryosack von *A. crispa*. Zwei Embryosackkerne sind noch nicht verschmolzen. Vergr. 600mal.
- Fig. 12. Auf dem 8%igen Gelatineboden mit 5%igem Zucker gekeimtes Pollen von *A. crispa*, 24 Stunden nach der Aussaat, d. 28. Juni 1938. Zimmertemperatur: 21,7 °C. Max., 19,6 °C. Min. Fixierung : Carnoy, Färbung : Safranin. Der ganze Inhalt des Pollens ist schon in den Schlauch ausgeflossen, vegetativer Kern in der abgerundeten Spitze, generativer Kern dahinter noch ungeteilt bleibend. Vergr. 600mal.
- Fig. 13. Pollenkeimung auf den 8%igen Gelatineböden verschiedener Zuckerkonzentrationen. a: 5%, b: 15%, und c: 20% Rohrzucker. 25 Stunden nach der Aussaat, d. 22. Juni 1938, Zimmertemperatur: 24,1 °C. Max., 19,5 °C. Min. Färbung und Fixierung wie Fig. 12. Vergr. 250mal.
- Fig. 14 u. 15. Zwei Embryosackkerne in Verschmelzung. e. Eizelle. Vergr. 900mal.
- Fig. 16. Die soeben aus dem Pollenschlauch sich herausgetretenen männlichen Kerne (k_1 u. k_2 von *A. compressa*. a. Pollenschlauch, b. Eizelle, c. Synergide, d. die vom Pollenschlauch durchgeborene Synergidezelle, e. Polkern. Vergr. 1000mal.

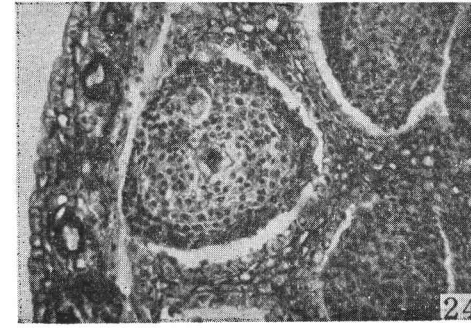
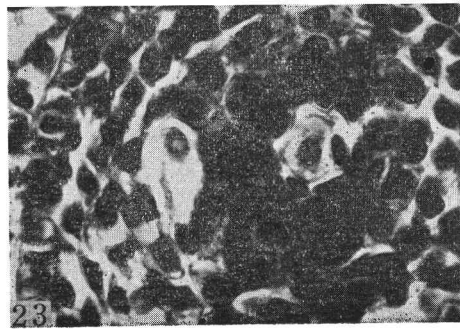
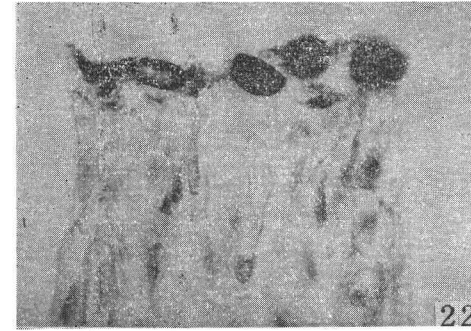
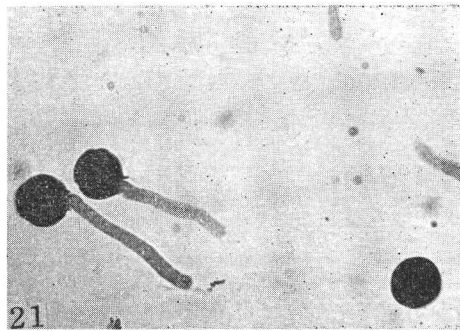
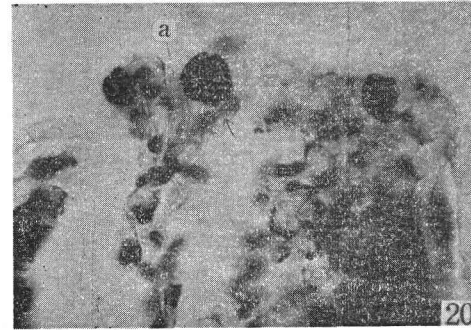
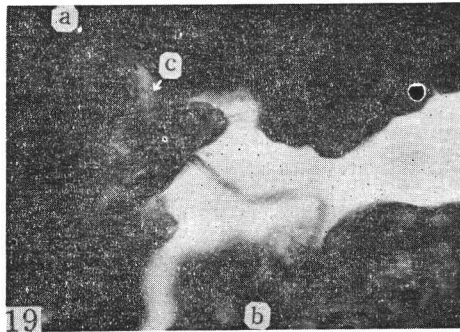
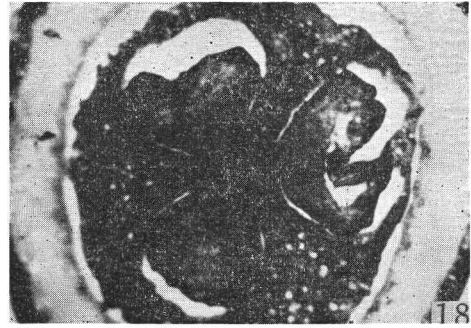
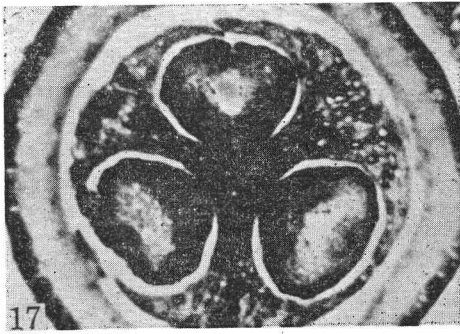
Tafel II.



Tafel III.

- Fig. 17. Gleichmässig gewachsene drei Samenanlagen 17 Tage nach der Kastration. *A. crispa*. (vgl. mit Fig. 4-a, S. 7).
- Fig. 18. Eingefaltete, zugrunde gehende Samenanlagen des kastrierten Fruchtknotens. 28 Tage nach der Operation. Vergr. Fig. 17 u. 18: 45mal.
- Fig. 19. Pollenschlauch in der Fruchtknotenhöhle von *A. crispa*. a. Griffelkanal, b. Plazenta, c. Bakterien. Vergr. 480mal.
- Fig. 20. Pollenkeimung auf der Narbe von *A. crispa*, 24 Stunden nach Bestäubung. 3 von insgesamt 7 Pollen auf derselben Narbe sind im Gesichtsfeld. Der Schlauch vom Pollen in der Mitte ist gut erkennbar. a. Ein Schlauch aus dem anderen Pollen in nächsten Schnitt. Vergr. 600mal.
- Fig. 21. Auf dem 8% igen Gelatineboden mit 10% igem Zucker gekeimte Pollen von *A. compressa*, 150 Minuten nach der Aussaat, bei 23 C°. Zimmertemperatur, d. 28. II. '38. Vergr. 480mal.
- Fig. 22. Ausgekeimte Pollen von *A. compressa* auf der Narbe, 68 Stunden nach Bestäubung. Beinahe alle Pollen, von den insgesamt 19, sind schon ausgeleeret und geschrumpft. Vergr. 480mal.
- Fig. 23 u. 24. Zwei Embryosäcke in einer Samenanlage bei *A. compressa*. Fig. 23. Prophase der I. Teilung von „Haupt-“ Embryosackmutterzelle. Vergr. 480mal. Fig. 24. Der „Hauptembryosack“ ist beinahe ausgebildet (nur der Polkern sichtbar), während der „Nebenembryosack“ ohne weitere Entwicklung einkernig bleibt. Vergr. 130mal.

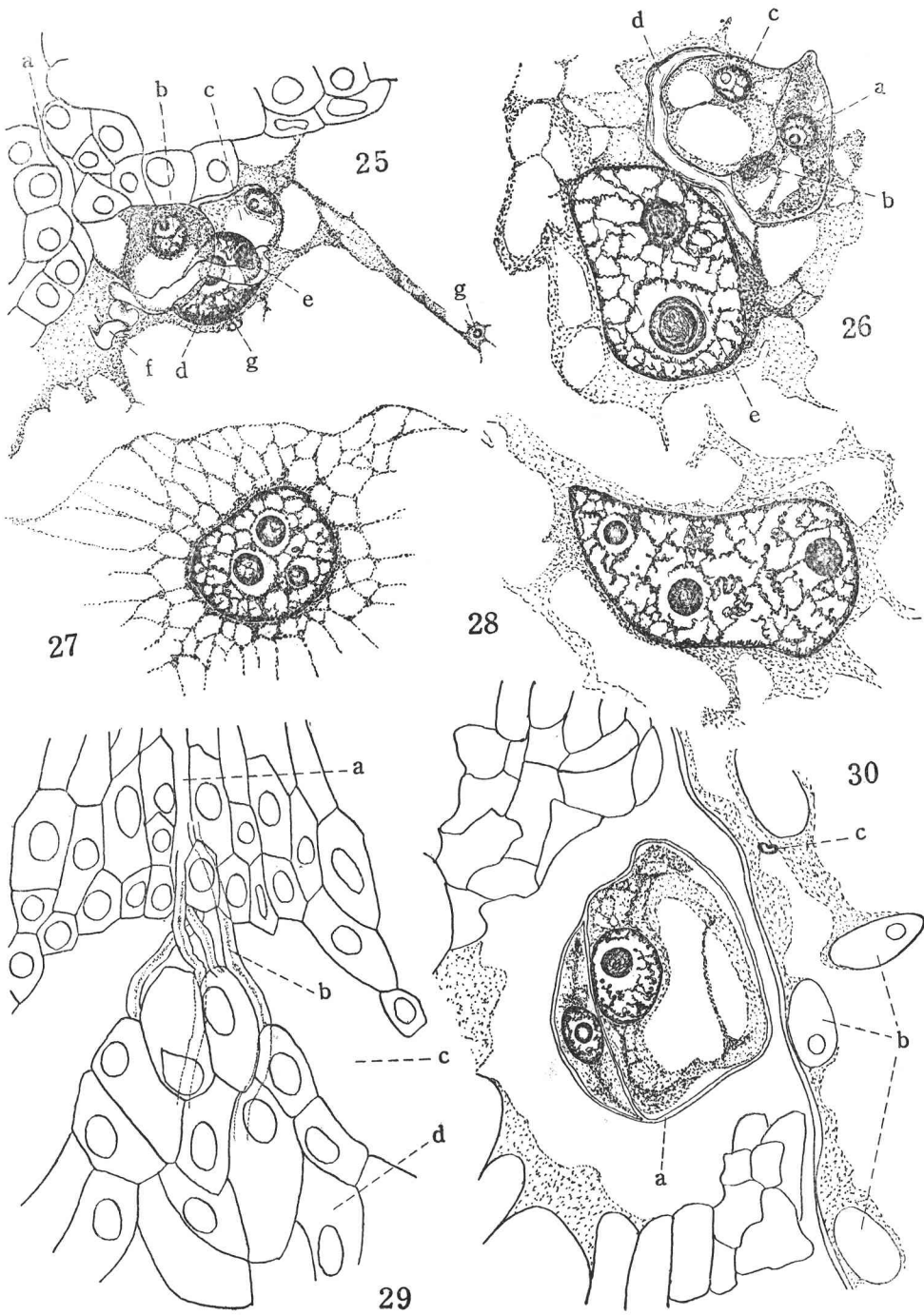
Tafel III.



Tafel IV.

- Fig. 25. Befruchtung und Sporen bei *A. crispa*. a. Mikropyle, b. befruchtete Eizelle=Proembryo, c. Synergide, d. befruchteter Polkern=Endospermkern, e. eben eingedrungener männlicher Kern, f. Pollenschlauchreste, g. Sporen von Blattbakterie. Wie man sieht, wird das sporenartige Kügelchen erst hier dem Eiapparate nebenan in Embryosackplasma erscheinen. Vergr. 900mal.
- Fig. 26. Befruchtung von *A. crispa*. a. Eizelle, b. Spermakern, c. Synergide, d. Reste des Pollenschlauchs, e. Polkern. Vergr. 1200mal.
- Fig. 27 u. 28. Der befruchtete Polkern=Endospermkern, der zwei normale und einen etwas kleineren Nukleolen besitzt. Vergr. 1200mal.
- Fig. 29. Pollenschläuche in der Fruchtknotenhöhle von *A. compressa*. a. Griffelkanal, b. Pollenschlauch, c. Fruchtknotenhöhle, d. Plazenta. Vergr. 600mal.
- Fig. 30. Zweizelliger Proembryo an der Mikropyle bei *A. crispa*. a. Proembryo, b. Freikernstadium des Endosperms, c. Spor der Blattbakterie. Vergr. 1200mal.

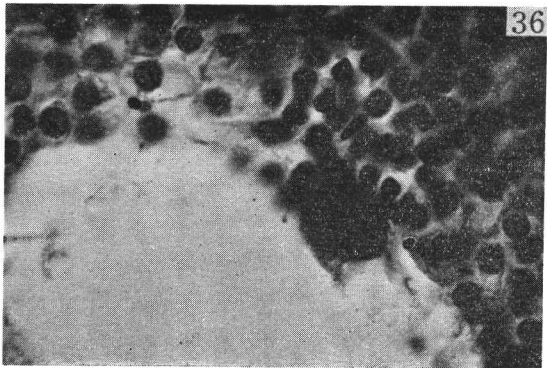
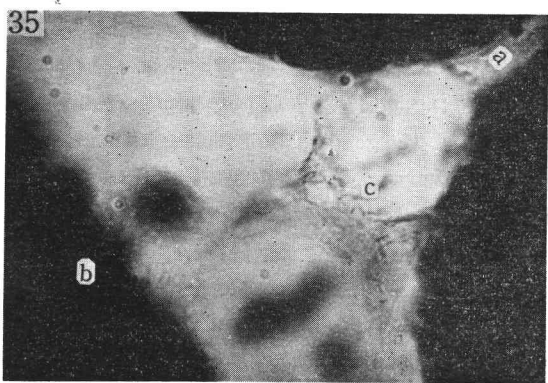
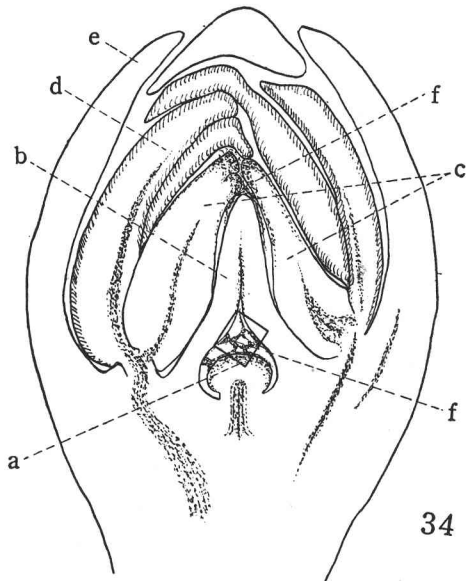
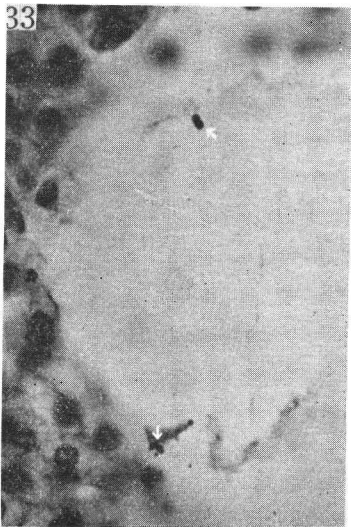
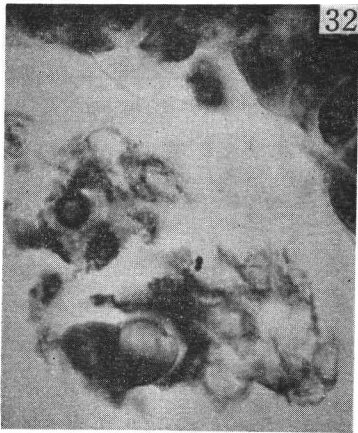
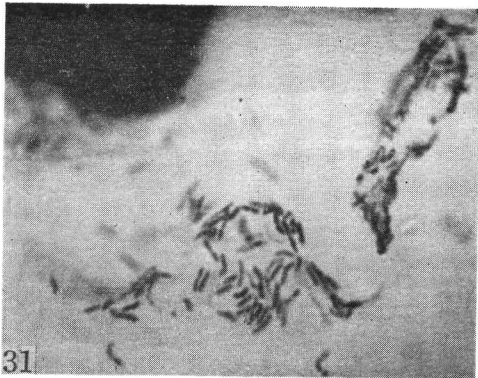
Tafel IV.



Tafel V.

- Fig. 31. Bakterienzooglye in der Fruchtknotenhöhle von *A. crispa*. Vergr. 1600mal.
- Fig. 32. Diplokokkenartige Kügelchen, die nach der erfolgten Befruchtung am Eiapparate eintreten. Vergr. 720mal.
- Fig. 33. Diplokokkenartige Kügelchen im Plasma des sich bildenden Endosperms. Vergr. 720mal.
- Fig. 34. Sehr junge Knospe, deren Fruchtknotenhöhle schon von Blattbakterien besiedelt. a. Plazenta, in der Samenanlage noch nicht differenziert ist. b. Griffel, c. Antheren, in deren Zwischenräumen mit dem Griffel sich auch Bakterien befinden. d. Korolle, e. Kelch, f. Bakterienzooglye.
- Fig. 35. Die rechteckige Zone in der Fig. 35 ist photographisch vergrößert. a. Griffelkanal, b. Plazenta, c. Bakterienzooglye. Vergr. 1100mal.
- Fig. 36. Ähnliches Gebilde wie in der Fig. 33 mit dem Proembryo (a) an der Mikropyle. b. Endospermkern. Vergr. 720mal.

Tafel V.



Tafel VI.

- Fig. 37. Peripherischen Membranbildung des Endosperms bei *A. crispa*. a. Zellwände sind schon ausgebildet, b. Freikernstadium, c. Integument, d. Plazenta. Vergr. 45mal.
- Fig. 38. Embryo mit Suspensor an der Mikropyle bei *A. compressa*. (s. auch Erklärung der Fig. 42). Vergr. 85mal.
- Fig. 39. Derselber Embryo bei starker Vergrößerung. Vergr. 480mal.
- Fig. 40. Embryo mit Suspensor an der Mikropyle bei *A. crispa*. Vergr. 130mal.
- Fig. 41. Nuzellusembryo von *A. compressa*. Er liegt in der Nähe, doch nicht an, der Mikropyle. Diese Samenanlage sieht aber degenerierend. Vergr. 85mal.
- Fig. 42. Nuzellusembryo von *A. compressa*. Er liegt am Chalazateil. Das Endosperm ist im Gange der Wandbildung. Dieser Adventivembryo befindet sich in derselben Samenanlage mit der in Fig. 38. Vergr. 85mal.
- Fig. 43. Längsschnitt einer reifen Frucht von *A. crispa*. (etwas schematisch.) a. Embryo, b. Endosperm, c. Samenschale, d. Reste der degenerierten, nicht befruchteten Samenanlage, e. Endokarp, f. Ansatzpunkt des Embryo, g. Fruchtfleisch, h. Fruchtwand, i. Reste des vertrockneten Griffels. Vergr. 10 mal.
- Fig. 44. Querschnitt der Knospe von der Blütenformel: $K_{(3)} C_{(3)} A_4 G_1$.

Entwicklung von *Ardisia*

Tafel VI.

