

welche durch WENT¹⁾ speciell als vollkommen glycosefrei angegeben wurden, so dass eine Correlation zwischen dem Auftreten der Oxydase-reaction und der Localisation der Glycose hier nicht zweifelhaft ist.²⁾

Weitere Reductionsmittel kann man den Oxydasen künstlich verschaffen durch die Beimischung von Schwefelwasserstoff, Cyanwasserstoff, Pyrogallolsäure, Haematoxylin und Brasilin. Schwache Säure beeinträchtigt die Oxydasereaction auch; nach Neutralisation erfolgt die Blaufärbung mit Guajaktinctur wieder.

Buitenzorg, Mai 1901.

46. E. Zacharias: Beiträge zur Kenntniss der Sexualzellen.

Mit 5 Holzschnitten.

Eingegangen am 20. Juni 1901.

In der Botanischen Zeitung habe ich vor Kurzem eine Zusammenstellung der neueren Arbeiten über die Spermatozoen der Pflanzen mitgetheilt³⁾. Die ältere Litteratur, insoweit sie nicht schon von SCHACHT⁴⁾ behandelt worden war, ist in meiner Arbeit über die Spermatozoiden⁵⁾ berücksichtigt worden.

Allgemein hat die chemische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchung der Spermatozoen von bestimmten Pflanzen und Thieren eine weitgehende Uebereinstimmung in dem Verhalten bestimmter Formbestandtheile klargelegt. Cilien und Schraubenbänder der pflanzlichen Spermatozoen entsprechen den Schwänzen und Köpfen der thierischen. Schraubenbänder und Köpfe sind in chemischer Hinsicht namentlich durch ihren Gehalt an Nuclein⁶⁾ ausgezeichnet, welcher den Cilien und Schwänzen fehlt.

1) WENT, Onderzoekingen omtrent de chemische physiologie van het suikerriet. Archief voor de Java-suikerindustrie 1896, Deel IV. 1. helft, pag. 525—608.

2) Ich will nicht vergessen zu erwähnen, dass GRÜSS in 1895, bloss hypothetisch, eine Theorie aufstellte, wonach ein hoher Dextrosegehalt die hydrolytische Kraft der Diastase unwirksam macht. Berichte der Deutschen Botan. Gesellschaft 1895, Bd XIII, S. 12.

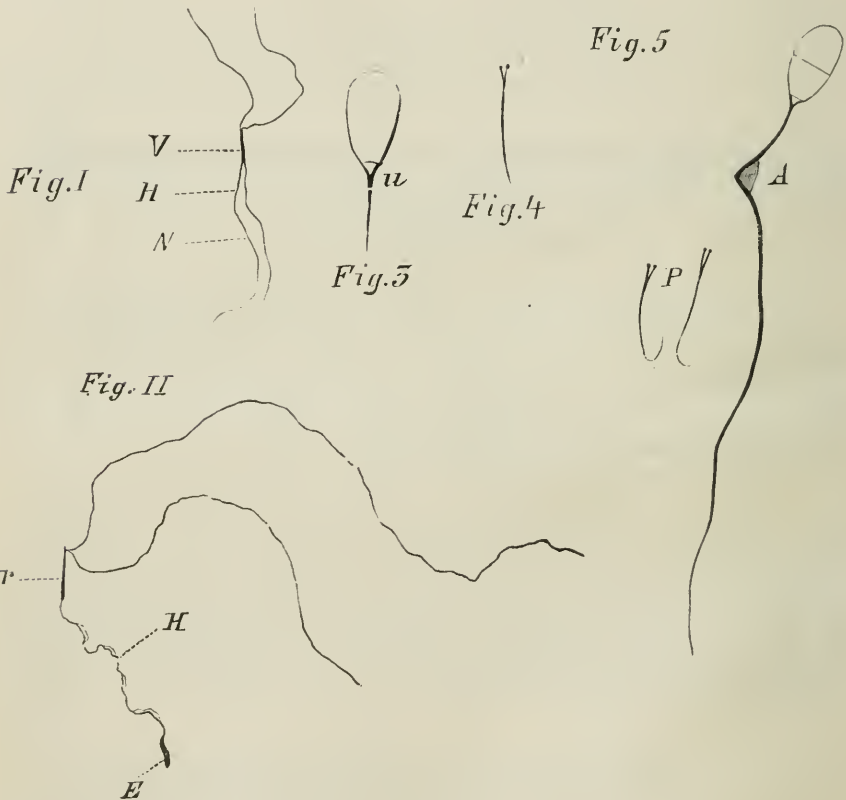
3) F. ZACHARIAS, Ergebnisse der neueren Untersuchungen über die Spermatozoen. Bot. Ztg. 1899, II, Nr. 1.

4) SCHACHT, Die Spermatozoiden des Pflanzenreichs. 1864.

5) F. ZACHARIAS, Ueber die Spermatozoiden. Bot. Ztg. 1881.

6) Das Wort „Nuclein“ wird hier in demselben Sinne verwendet, wie in meiner Abhandlung über die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1893. Diejenigen Theile der Spermatozoen werden in der vorliegenden Abhandlung als nuclein- oder kernnucleinhaltig bezeichnet, deren Reactionen (insoweit sie festgestellt worden sind) die Eigenschaften zeigen, welche ich l. c. und a. a. O. als charakteristisch für das „Nuclein“ angeführt habe.

Durch die Verwendung einer Glaubersalzlösung (10 g Glaubersalz „pro analysi“ von MERCK und 1 g Eisessig auf 100 g Wasser), welcher etwas Fuchsin S. zugesetzt worden war, ist es mir neuerdings gelungen, die nucleinhaltigen Theile der Spermatozoen scharf von den nucleinfreien zu sondern und das mikrochemische Verhalten von Köpfen und Schraubenbändern im Gegensatz zu den Schwänzen und Cilien bestimmter pflanzlicher und thierischer Spermatozoen übersichtlich zu demonstrieren.



Die Wirkung einer Glaubersalzlösung von der angegebenen Zusammensetzung, welche aber anstatt des Fuchsin S. Methylgrün enthielt, auf die Spermatozoen des Lachses ist bereits früher von mir geschildert worden¹⁾. Die nucleinhaltigen Köpfe verquollen, während Schwänze und Mittelstücke scharf hervortraten, ohne sich zu färben. Durch eine Fuchsin S.-haltige Lösung lässt sich eine gute Färbung der letzteren Theile erzielen. Nach längerer Einwirkung dieser Lösung

1) E. ZACHARIAS, Ueber Nachweis und Vorkommen von Nuclein. Ber. der Deutsch. Bot. Gesellsch. 1898, S. 194.

auf Alkoholmaterial bleiben äusserst zarte Gebilde als Reste der übrigens verquollenen Köpfe zurück, welche möglicher Weise einer sehr zarten Hüllhaut entsprechen.

Sperma von *Triton taeniatus* (Alkoholmaterial) zeigte nach der Einwirkung von Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung sehr scharf contourirte, durchaus ungequollene Schwänze, Kopfspitzen und Mittelstücke (letztere waren besonders intensiv gefärbt). Der Kopf war gequollen und sehr schwach gefärbt, man erhielt den Eindruck, als sei er von einer sehr zarten, stärker gefärbten Hülle umgeben¹). Möglicherweise war das nucleinhaltige Innere des Kopfes gar nicht gefärbt, der Eindruck einer schwachen Färbung desselben nur durch das Vorhandensein einer zarten gefärbten Hüllhaut bedingt. Entsprechende Beobachtungen hinsichtlich der Einwirkung von Glaubersalzlösung auf die Spermatozoen von *Salamandra maculosa* sind vor Kurzem von NEUMANN²) mitgetheilt worden. — Von pflanzlichen Spermatozoen behandelte ich zunächst diejenigen von *Nitella* mit der fuchsinhaltigen Glaubersalzlösung: Die Cilien, das Vorderende (Fig. 1, 2) des Schraubenbandes lebend in die Lösung eingetragener Spermatozoen, sowie das Hinterende (E Fig. 2) des Schraubenbandes blieben ungequollen und färbten sich, besonders intensiv das nach rückwärts scharf abgesetzte Vorderende. Der nucleinhaltige mittlere Theil des Schraubenbandes (N Fig. 1) quoll stark an, ohne sich zu färben, während eine feine, nicht quellende, gefärbte Hüllhaut (H Fig. 1) kenntlich wurde. Der quellende Theil des Schraubeubandes schien schliesslich gelöst zu werden, die Hüllhaut sank indessen faltig zusammen (Fig. 2).

Die Spermatozoen von *Chara* verhielten sich wie diejenigen von *Nitella*.

Bei *Ceratopteris thalictroides* quoll der innere, nucleinhaltige Theil des Schraubenbandes³) lebender Spermatozoen, ohne sich zu färben

1) Vergl. E. ZACHARIAS, Ueber die Spermatozoiden, l. c. S. 833, 834. Ueber Chromatophilie. (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1893). — AUERBACH, Spermatozoologische Mittheilungen (Jahresbericht der schlesischen Gesellsch. für vaterländische Cultur. Sitzung vom 1. März 1894).

2) E. NEUMANN, Eine Notiz über Trockenpräparate von Spermatozoen. VIRCHOW'S Archiv für pathol. Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin. Bd. 159, Heft 1, 9. Juni 1900.

3) Vergl. E. ZACHARIAS, Ueber den Nucleolus. Bot. Ztg. 1885, S. 290, Anm. 1; Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen. Bot. Ztg. 1887, S. 354. Da die Kenntniss des Verhaltens der Spermatozoen gegen die concentrirte Salzsäure für die Beurtheilung ihrer chemischen Beschaffenheit von Wichtigkeit ist, mag hier das Folgende meinen früheren Mittheilungen hinzugefügt werden: Lebende Spermatozoen von *Pteris* gelangten zunächst in 0,28 procentige Salzsäure. Die Cilien verquollen, während vom Schraubenbande ein glänzendes Band von sehr geringer Dicke sichtbar blieb. Auf Zusatz concentrirter Salzsäure (1 Vol. HCl pur., spec

(er schien gelöst zu werden), während eine sehr scharf begrenzte, schliesslich intensiv gefärbte Hülle in die Erscheinung trat. Die Cilien quollen nicht und färbten sich gut. Lebende Spermatozoen von *Pellia epiphylla* zeigten starke Quellung des Schraubenbandes, während die Cilien durchaus ungequollen erhalten blieben und gefärbt wurden. Bei *Polytrichum* färbten sich die Cilien lebender Spermatozoen und blieben in ihrer Gestalt vortrefflich erhalten. Im Schraubenbande schien sich ein ungefärbter centraler Theil von einer gefärbten Hülle zu sondern, doch ist das Object zu klein, um eine sichere Feststellung der Thatsachen zu gestatten¹⁾. Dasselbe gilt von den Schraubenbändern bei *Marchantia polymorpha*²⁾. Auch hier färbten sich die Cilien gut und blieben unverändert erhalten.

Ebenso wie die Cilien der Spermatozoen blieben auch diejenigen von *Volvox aureus* nebst den Plasmaverbindungen vortrefflich in der Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung erhalten und färbten sich schliesslich intensiv. Sehr gut wurden auch die Pyrenoide fixirt und gefärbt.

Mesocarpus- und *Spirogyra*-Fäden, welche lebend in die Lösung gelangt waren, zeigten nach einiger Zeit die Pyrenoide intensiv ge-

Gew. 1,19 von MERCK + 1 Vol. Wasser) verblasste das glänzende Band langsam, die Cilien traten wieder scharf hervor, und nach 24stündiger Einwirkung der Säure blieb von dem gesammten Schraubenbande des Spermatozoon ein sehr zarter, geschrumpfter, nicht gequollen ausschender Rest zurück, der bei dem Auswaschen mit 0,28 procentiger Salzsäure etwas verblasste. In ihm glaube ich die Hülle des durch die concentrirte Salzsäure zerstörten glänzenden Bandes erkannt zu haben. (Vergl. STRASBURGER, Histol. Beitr. IV, 1892, S. 119). Die längere Einwirkung der concentrirten Salzsäure erfolgte auf dem Objectträger unter Deckglas. Um eine Concentrationsänderung der Säure möglichst zu verhüten, wurde der Objectträger in eine kleine Glasdose eingeschlossen, deren Verschluss durch Knochenöl gedichtet wurde.

An Spermatozoen, welche mit verdünnter Salzsäure vorbehandelt worden waren, färbte sich auf Zusatz von Methylenblau-Fuchsin S. [Gemisch von Lösungen der Farbstoffe zu gleichen Theilen. Die Lösungen wurden durch Eintragen von 0,25 g Farbstoff in 250 *ccm* destillirten Wassers hergestellt]. (Vergl. E. ZACHARIAS, Ueber die Cyanophyceen. Sep.-Abd. aus Bd. XVI der Abh. aus dem Gebiete d. Naturw. Herausgeg. vom Naturw. Verein, Hamburg 1900, S. 45, 46), das glänzende Band blau, die stark verwirrt Cilienmasse wurde roth. Letztere verdeckte das Verhalten der Hülle. Nach THOM (The process of fertilization in *Aspidium* and *Adiantum* Transact. Acad. of Science of St. Louis, IX, 1899) soll das Chromatinband einen centralen Körper von abweichendem Verhalten gegen Farbstoffe umschliessen. THOM verweist auf ähnliche, allerdings recht sonderbare Angaben von FRANZE (Bot. Centralblatt, Bd. LIII, 1893) in Betreff der Spermatozoiden von *Chara*.

1) An Spermatozoen, welche in Alkohol aufbewahrt worden waren, erschien nach Einwirkung von 0,28 procentiger Salzsäure das Schraubenband als ungemein dünnes, glänzendes Gebilde.

2) Die Einwirkung von 0,28 procentiger Salzsäure auf lebende Spermatozoen von *Marchantia polymorpha* entsprach der früher (Ueber die Spermatozoiden I. c.) von mir geschilderten Wirkung von Pepsinlösung auf die Spermatozoen von *Fegatella conica*. Nach ruckweiser Quellung restirte ein kleines glänzendes, vielfach stabförmiges Körperchen, welchem die gequollenen Cilien ansassen.

färbt und anscheinend nicht gequollen, während die Chloroplasten bräunliche Färbung angenommen hatten.

Wie für verschiedene Fälle festgestellt wurde, quollen auch die Nucleolen (z. B. der lebenden Prothallien von *Ceratopteris thalictroides*) nicht in der Glaubersalzlösung und färbten sich intensiv.

Besonderes Interesse haben in neuerer Zeit die von BELAJEFF¹⁾ u. A. beschriebenen Cilien tragenden Organe (Blepharoplasten) der pflanzlichen Spermatozoen erregt, welche von BELAJEFF den Mittelstücken der thierischen Spermatozoen an die Seite gestellt werden.

Die Bezeichnung „Mittelstück“ ist jedoch auf Gebilde von sehr verschiedenartigem Ursprung angewendet worden, welche nur das gemeinsam haben, dass sie hinter dem aus dem Kern der Mutterzelle hervorgegangenen Theile des Spermatozoons liegen²⁾. Für bestimmte Mittelstücke oder Theile von solchen ist der Nachweis erbracht worden, dass sie aus Centrosomen hervorgehen. Nur in so weit das Mittelstück thierischer Spermatozoen sich von Centrosomen ableiten lässt, ist es den pflanzlichen Blepharoplasten nach Massgabe unserer heutigen Kenntnisse an die Seite zu stellen³⁾.

Der Annahme, dass nicht nur morphologische Beziehungen zwischen diesen Mittelstücken und den Blepharoplasten bestehen, sondern dass auch die chemische Beschaffenheit beider in bestimmten Fällen gleich sei, stehen die namentlich für die Blepharoplasten allerdings recht dürftigen Resultate der mikrochemischen Untersuchung nicht entgegen.

Für die mikrochemische Untersuchung bilden die grossen Mittelstücke von *Triton* und *Salamandra* besonders geeignete Objecte.

Für *Salamandra* hat MEVES⁴⁾ festgestellt, dass derjenige Theil der Spermatozoen, welchen man als Mittelstück bezeichnet, ganz aus Centrankörpersubstanz gebildet wird.

Das Mittelstück der Spermatozoen von *Triton taeniatus*⁵⁾ bleibt in

1) Vergl. E. ZACHARIAS, Ergebnisse etc. I. c. — Ferner: BELAJEFF, Ueber die Centrosomen in den spermatogenen Zellen. Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1899. — MEVES und KORFF, Zur Kenntniss der Zelltheilung bei Myriapoden. Arch. für mikr. Anat., Bd. 57, 1901.

2) WILSON, The Cell in development and in heritance. Second Edition. New-York 1900, pag. 170—175.

3) Eine Erörterung der einschlägigen Ausführungen STRASBURGER's (Ueber Reductionstheilung etc. im Pflanzenreich. 1900) soll später a. a. O. erfolgen.

4) MEVES, Ueber Structur und Histogenese der Samenfäden von *Salamandra maculosa*. Arch. für mikr. Anat. 50. 1897.

5) Nähere Angaben über die mitgetheilten Reactionen von *Triton*, *Salamandra* und *Rana* finden sich bei E. ZACHARIAS, Ueber die Spermatozoiden I. c., Ueber Nachweis und Vorkommen von Nuclein (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1893, Heft 7), Ueber die Cyanophyceen (S.-A. aus Bd. XVI der Abhandl., herausgeg. vom naturw. Verein, Hamburg, S. 45). E. NEUMANN I. c.

reiner Salzsäure erhalten, von 0,28 pCt. Salzsäure wird es nicht gelöst, in Essigsäure schwillt es etwas an, in künstlichem Magensaft wird es bis auf eine feine äussere Hülle gelöst. Die mehrfach genannte Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung färbt das Mittelstück intensiv, ohne eine Quellung desselben zu veranlassen.

Eine Mischung von Methylenblau und Fuchsin S. färbt bei vorher mit 0,2 pCt. Salzsäure behandelten Spermatozoen die Köpfe rein himmelblau, die übrigen Formbestandtheile roth und zwar das Mittelstück besonders intensiv.

Bei *Triton cristatus* wird das Mittelstück durch künstlichen Magensaft bis auf eine zarte Hülle gelöst.

Bei *Salamandra maculata* färben sich in Alauncarmin nur die Köpfe, nicht Mittelstück und Schwanz. In $\frac{1}{2}$ —5 pCt. Kochsalzlösung bleibt das Mittelstück erhalten. Auch bei *Rana temporaria* quillt es in Kochsalzlösung nicht (NEUMANN). Wie Kochsalzlösung wirken nach NEUMANN auf die Spermatozoen von *Salamandra maculata* und *Rana temporaria* auch Lösungen von Natron sulphuricum, Magnesia sulphurica, Borax, Natron bicarbonicum, Jodkalium.

Ueber das Mittelstück der Spermatozoen des Lachses¹⁾ fehlt es, insoweit ich das habe ermitteln können, an entwicklungsgeschichtlichen Angaben. Von künstlichem Magensaft wird es gelöst, in concentrirter Salzsäure (1 Vol. 40 pCt. Salzsäure, spec. Gew. 1,09 auf 1 Vol. Wasser) bleibt es erhalten, desgl. in 10 pCt. Kochsalzlösung und auf Zusatz einer Methylgrün- oder Fuchsin S.-Lösung, welche auf 100 g Wasser 10 g Glaubersalz und 1 g reine concentrirte Essigsäure enthält.

Die aus Centrosomen hervorgehenden, dem Mittelstücke bei *Salamandra* entsprechenden Knöpfchen der Säugethierspermatozoen²⁾ sind der mikrochemischen Untersuchung wegen ihrer geringen Grösse schwer zugänglich. Für das Meerschweinchen konnte ich ermitteln, dass die drei dem Spermatozoenkopf anliegenden Knöpfchen der Fig. 50, Taf. XXI von MEVES nach der Behandlung frischen Materials mit der Fuchsin S.-haltigen Glaubersalzlösung in einzelnen Fällen gut gefärbt zu erkennen waren. Nach der Behandlung frischen Materials mit 0,28 procentiger Salzsäure traten die Knöpfchen in einem Falle auf Zusatz einer Mischung von Methylenblau und Fuchsin S. in rother Färbung sehr deutlich hervor.

1) F. MIESCHER, Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere (S.-A. aus den Verhandl. der naturf. Gesellsch. in Basel, VI, Heft 1, 1874, S. 3, 13). — E. ZACHARIAS, Ueber einige mikrochemische Untersuchungsmethoden (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1896). Ueber Nachweis und Vorkommen von Nuclein (Ebenda 1898). Ueber die Cyanophyceen l. c.

2) FR. MEVES, Ueber Structur- und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. für mikr. Anat., Bd. 54, 1899.

An den Spermatozoen des Schweines (Alkoholmaterial) konnte ich in einzelnen Fällen nach Zusatz der Fuchsin S.-haltigen Glaubersalzlösung Knöpfchen erkennen, beim Stiersperma (Alkoholmaterial) gelang dies nicht.

Sperma vom Stier und Schwein enthielt nach der Einwirkung von künstlichem Magensaft vielfach von den Köpfen getrennte Residua der Schwänze (Fig. 4, 5). Diese zeigten dann (nach Färbung mit Glaubersalz-Fuchsin S.) an demjenigen Ende, welches dem Kopfe angesessen hatte, eine Gabelung. Jeder Gabelast endete mit einer minimalen Verdickung. Ob diese Verdickungen den Knöpfchen entsprachen, welche vor der Magensaftwirkung erkannt werden konnten, oder etwa nur einer Hülle dieser Knöpfchen, liess sich nicht entscheiden. Ferner erscheint es unter Berücksichtigung der Untersuchungen SCHOENFELD's¹⁾ zweifelhaft, ob die von mir beim Stier und Schwein beobachteten Knöpfchen centrosomalen Ursprungs sind.

Auch die mikrochemische Untersuchung der pflanzlichen Blepharoplasten wird durch die geringe Grösse dieser Körper wesentlich behindert. Nur für *Nitella* und *Chara* ist hier einiges ermittelt worden.

Nach BELAJEFF²⁾ stellt der Blepharoplast von Characeen ein fadenförmiges Gebilde dar, welches in dem Vorderende des Spermatozoenbandes liegt und nach den Abbildungen BELAJEFF's³⁾ zu schliessen, die Hauptmasse dieses Vorderendes bildet. Wie BELAJEFF mittheilt, werden durch künstlichen Magensaft die Cilien gelöst, während das Vorderende des Schraubenbandes feinkörnige Beschaffenheit annimmt; dass es dabei eine Einbusse an Substanz erleidet, welche auf eine Herauslösung des Blepharoplastenfadens zurückzuführen ist, scheint aus Fig. 40 (l. c.) hervorzugehen.

Ich habe seiner Zeit⁴⁾ das „zarte, substanzarme Residuum“, welches nach der Behandlung der Spermatozoen mit künstlichem Magensaft am Vorderende des nucleinhaltigen, glänzenden und scharf contourirten Theiles des Schraubenbandes zurückbleibt, für einen Cilienrest gehalten.

Concentrirte, rauchende Salzsäure, welche auf Spermatozoen nach ihrer Fixirung durch Osmiumsäure-Dämpfe oder absoluten Alkohol einwirkt, verändert nach STRASBURGER⁵⁾ auch nach längerer

1) SCHOENFELD, La spermatogénèse chez le taureau (Bibliographie anatomique. Fasc. 2. 1900).

2) BELAJEFF, Ueber die Spermatogenese bei den Schachtelhalmen (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1897), Ueber die Aehnlichkeit einiger Erscheinungen in der Spermatogenese der Thiere und Pflanzen (Ebenda).

3) BELAJEFF, Ueber Bau und Entwicklung der Spermatozoen der Pflanzen (Flora, Ergänzungsband. 1894).

4) E. ZACHARIAS, Ueber die Spermatozoiden l. c.

5) STRASBURGER, Histologische Beiträge IV, S, 113.

Zeit den vorderen Abschnitt der Spermatozoen meist garnicht. In Jodjodkalium bleiben die vorderen Abschnitte sammt Cilien nach STRASBURGER völlig unverändert, während die hinteren Abschnitte sowie die den Zellkern führenden mittleren Theile verquollen und körnig erscheinen.

Das Verhalten des Vorderendes der Spermatozoen von *Nitella* und *Chara* gegen eine Glaubersalzlösung von bestimmter Zusammensetzung ist bereits geschildert worden.

Aus den angeführten Reactionen ergibt sich, dass die Blepharoplasten von Characeen ebenso wie die Mittelstücke von Triton und Lachs kein Nuclein enthalten. Auch Plastin scheint den Blepharoplasten zu fehlen, wie das für die Mittelstücke von Triton und Lachs feststeht, wenn man die zarte, in künstlichem Magensaft unlösliche Hülle bei Triton der Substanz des Mittelstückes nicht hinzurechnet. Mittelstücke und Blepharoplasten der genannten Organismen dürften wesentlich aus in Magensaft löslichen Eiweissstoffen bestehen. Die Reactionen, welche für die „Knöpfchen“ beim Meerschweinchen festgestellt werden konnten, lassen die Möglichkeit offen, dass diese Gebilde in ihrer chemischen Beschaffenheit dem Mittelstücke von Triton und Lachs entsprechen.

Der aus dem Kern hervorgegangene Theil der genauer untersuchten Säugethierspermatozoen verhält sich anders als der gleiche Antheil der Spermatozoen von Triton, Salamandra, Lachs¹⁾, Characeen, Farnen und Moosen. Dies zeigt in den besser bekannten Fällen schon das morphologische Verhalten der chromatischen Kernbestandtheile während der Ausbildung des Kopfes oder Schraubenbandes.

Bei Salamandra wandelt sich nach den von MEVES²⁾ bestätigten Beobachtungen FLEMMING's nur der chromatische Theil des Spermakerns in den Kopf um. Während dieser seine definitive Gestalt erreicht, verdichtet sich das chromatische Fadengerüst mehr und mehr unter Ausscheidung von Kernsaft, bis der „ganze Kopf vollständig compact“ wird. Ebenso wird bei Farnen das Kerngerüst des Spermakerns während der Ausgestaltung des Schraubenbandes immer engmaschiger, schliesslich gewinnt das Band ein homogenes Aussehen³⁾. Beim Meerschweinchen hingegen „durchsetzt das Chromatin den ganzen Binnenraum des Spermakerns in Form eines Ge-

1) Ich halte die Annahme für zulässig, dass die „Kopfhüllen“ MIESCHER's den Kernantheil der Lachsspermatozoen darstellen.

2) F. MEVES, Ueber Structur und Histogenese der Samenfäden von *Salamandra maculosa*. Arch. für mikr. Anat. Bd. 50. 1897, S. 121. Ueber die Samenfäden des Meerschweinchen l. c. S. 362.

3) CARNOY, Biologie cellulaire. 1884, S. 226. E. ZACHARIAS, Beiträge zur Kenntn. des Zellkernes und der Sexualzellen. Bot. Ztg. 1887. S. A. S. 20. Vergl. auch GILSON, Spermatogénese des Arthropodes. La Cellule IV, 1887, pag. 48. D. a.

rüstwerkes, dessen Balken (während der Ausbildung des Spermatozoenkopfes) feiner und feiner werden; schliesslich nimmt der Kern ein homogenes Aussehen an.“ (MEVES, l. c. S. 362.) Betrachtet man die Abbildungen von MEVES (Taf. XX), so erhält man den Eindruck einer allmählichen Auflösung, eines Verschwindens des chromatischen Kerngerüsts. Möglicherweise spielen sich bei der Entwicklung der Spermatozoen von *Ginkgo* und Cycadeen ähnliche Vorgänge ab. Wenigstens scheinen mir die Abbildungen von HIRASE¹⁾ und IKENO²⁾ einige Anhaltspunkte für eine derartige Vermuthung darzubieten.

In chemischer Hinsicht schliessen sich die aus dem Kern hervorgehenden Theile der Spermatozoen von Salamandra, Triton, Farnen, Moosen, Characeen, wie ich mehrfach gezeigt habe³⁾, an die von MIESCHER makrochemisch untersuchten sogenannten „Hüllen“ der Spermatozoenköpfe des Lachses an, insofern erstere zu einem wesentlichen Theil ihrer Masse aus Substanzen bestehen, welche (soweit untersucht) die Reactionen dieser „Kopfhüllen“ zeigen. Makrochemische Untersuchungen von MATTHEWS⁴⁾ haben ergeben, dass die von MIESCHER in den Spermatozoenköpfen des Lachses nachgewiesene Nucleinsäure auch im Sperma des Seeigels (*Arbacia*) und Herings vorkommt. Das Chromatin der Spermatozoenköpfe von *Arbacia* besteht nach MATTHEWS „wahrscheinlich wenigstens theilweise, aus einer Verbindung der Nucleinsäure mit Arbacin, das Chromatin des Spermatozoenkopfes des Herings aus einem nucleinsäuren Protamin.“ Dieses Protamin ist indessen verschieden von dem Protamin, an welches die Nucleinsäure in den Lachsspermatozoen gebunden ist⁵⁾.

Die gegenwärtig bekannten Untersuchungsergebnisse sind mit der Annahme vereinbar, dass dem mikrochemischen Verhalten der makrochemisch nicht untersuchten Kernantheile der Spermatozoen von Characeen, Farnen, Moosen, Salamandra und Triton ein Gehalt an Nucleinsäure zu Grunde liegt.

Dass der Kernantheil der Säugethierspermatozoen in seinen Reactionen von demjenigen der vorstehend genannten Spermatozoen

1) HIRASÉ, Études sur la fécondation et l'embryogénie du *Ginkgo biloba*. Journal of the college of science imp. Univ. Tokyo. Vol. XII, Bd. II. 1898.

2) IKENO, Untersuchungen über die Entw. der Geschlechtsorgane und den Vorgang der Befruchtung bei *Cycas revoluta*. Pringsh. Jahrb. XXXII, 1898.

3) Vergl. auch CARNOY, Biologie cellulaire 1884, pag. 225.

4) MATTHEWS, Zur Chemie der Spermatozoen. Zeitschr. für physiol. Chemie 1897.

5) KOSSEL, Ueber die einfachsten Eiweisskörper (Sitzungsberichte der Gesellsch. zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg, Nr. 5, Juli 1897) und a. a. O.

abweicht, kann schon aus den Angaben KÖLLIKER's¹⁾ erschlossen werden.

Salzsäure verändert in der Kälte nach KÖLLIKER die Samenfäden des Stieres nicht, auch „caustische Alkalien wirken in der Kälte fast nicht, mag man 1 pCt. oder 50 pCt. Lösungen anwenden. Bei erhöhter Temperatur lösen sich erst die Fäden und viel später die Köpfe, letztere jedoch selbst in 50 pCt. KO und NaO-Solutionen langsam.“ Dem entsprechend sagt MIESCHER²⁾: „Die gewebusbildende Grundlage der Stier-Spermatozoen gehört bekanntlich zu den resistentesten Gewebssubstanzen. Die Schwänze erblassen noch in kalter Kalilauge und lösen sich langsam. Die Köpfe zergehen nur in warmen Lösungen fixer Alkalien.“

Durch die freundliche Beihülfe des Thierarztes Herrn Dr. BORGERT ist es mir neuerdings möglich geworden, das mikrochemische Verhalten der Spermatozoen von Stier, Eber und Widder zu prüfen.

Stiersperma gelangte zunächst frisch auf 24 Stunden in 0,28procentige Salzsäure und wurde darauf in dieser untersucht. Köpfe und Schwänze (erstere von der Fläche gesehen) erschienen gleichmässig blass und glanzlos; ebenso nach der Einwirkung der verdünnten Säure auf Alkoholmaterial. Gleichzeitig mit dem letzteren in die Säure eingelegtes Alkoholmaterial von Lachssperma zeigte das mehrfach beschriebene glänzende, scharf contourirte Aussehen der Kopfhüllen.

Auch MIESCHER hat Stiersperma in verdünnter Salzsäure (0,1 pCt.) untersucht und meint (l. c. p. 43), „es bleibe keine andere Deutung des Gesehenen übrig, als die Annahme einer stärker lichtbrechenden, ziemlich dicken Kopfhülle (der Kopfhülle des Lachses entsprechend). Diese ist mit der „Kopfkappe“ der neueren Autoren nicht zu verwechseln), welche eine platte, wahrscheinlich sehr dünne Einlage einer optisch und chemisch differenten Substanz umschliesst.“ Ich habe mich von dem Vorhandensein der Kopfhülle MIESCHER's beim Stier nicht überzeugen können. Allerdings erkannte ich am Kopfe einen „Saum“ (so wird a. a. O. von MIESCHER die Hülle bezeichnet), der sich in der Flächenansicht der Kopfscheibe in seinem Aussehen nur sehr wenig von dem übrigen Kopfe unterschied. Sieht man die Kopfscheibe in der Kantensicht, oder in schräger Stellung, so scheint sie von einem glänzenden, sehr dünnen Reifen oder Rande umspannt zu sein. Ich halte es für möglich, dass das Bild dieses

1) KÖLLIKER, Physiologische Studien über die Samenflüssigkeit (Zeitschr. für wissenschaftl. Zoologie, 1856). Auch auf die chemischen Beziehungen der Spermatozoen zu den Zellkernen hat KOELLIKER (l. c., S. 260) bereits hingewiesen.

2) l. c.

Saumes oder Randes lediglich durch die äussere Gestaltung des scheibenförmigen Kopfes hervorgerufen wird.

Einem Präparat, welches Lachs- und Stiersperma (Alkoholmaterial) enthielt, wurde nach Einwirkung von 0,28 procentiger Salzsäure concentrirtere Salzsäure zugesetzt (1 Vol. HCl pur., spec. Gew. 1,19 von MERCK + 1 vol. Aq. dest.). Die Köpfe der Lachsspermatozoen verblassten und verschwanden nach einiger Zeit, während diejenigen des Stierspermas anscheinend nicht verändert wurden. Nach 24 Stunden waren Köpfe und Schwänze der Stierspermatozoen noch wohl erhalten.

Von den Lachsspermatozoen waren nur die Schwänze, und zwar scharf und deutlich zu erkennen. Auswaschen mit 0,28 procentiger Salzsäure verursachte eine Quellung der letzteren, von den Köpfen trat nichts wieder hervor. Auch reiner concentrirter Salzsäure widerstanden die Köpfe des Stiersperma. In zwei gesonderte Gefässe mit HCl pur., spec. Gew. 1,19 g von MERCK, gelangte aus Alkohol Sperma vom Lachs und Stier nach dem Abpressen des Alkohols zwischen Fliesspapier. Das Lachssperma färbte sich alsbald rein violett, während das Stiersperma zunächst farblos blieb, um dann eine bräunlich violette Färbung anzunehmen. Nach 24 stündigem Verweilen in der Säure bildete das Lachssperma eine gelatinöse Masse, in welcher keine geformten Theile zu erkennen waren, das Stiersperma hingegen hatte sich als feines Pulver in der Flüssigkeit vertheilt. Die Köpfe waren anscheinend unverändert, scharf contourirt und glänzend. Von den Schwänzen war entweder nichts zu erkennen, oder nur ein kurzes, sehr blasses, der Kopfbasis ansitzendes Stück.

Die Einwirkung von künstlichem Magensaft ergab das Folgende¹⁾: Nach 24 stündiger Einwirkung der Verdauungsflüssigkeit auf frisches Sperma bei Zimmertemperatur erschienen die Köpfe wie nach der Einwirkung von 0,28 procentiger Salzsäure, die Schwänze waren blass und glanzlos. Nach weiteren 24 Stunden hatte sich das Bild nicht verändert. Fuchsin S. (0,25 g in 250 *ccm* Wasser) färbte Kopf und Schwanz nunmehr sofort roth. Nur an der Ansatzstelle des Schwanzes (bei *U* in Fig. 3) blieb eine Stelle ungefärbt, von welcher aus sich eine sehr feine, hellere Linie in den Schwanz hineinzog.

Nach dem 48 stündigen Verweilen der Spermamasse bei Zimmertemperatur in der Verdauungsflüssigkeit wurde letztere erneuert und darauf für 24 Stunden die Temperatur auf 18—22° R. gesteigert. Sehr viele Köpfe lagen dann von den Schwänzen getrennt, letztere waren blass und oft schwer erkennbar, das Aussehen der Köpfe aber

1) Es wurde die auch bei meinen früheren Versuchen benutzte Verdauungsflüssigkeit aus Schweinemagen verwendet. Vergl. E. ZACHARIAS, Ueber Nachweis und Vorkommen von Nuclein. (Ber. der Deutschen Bot. Ges. 1898.)

hatte sich nicht verändert. Der Spermamasse beigemischte Kerne, deren Herkunft nicht ermittelt wurde, zeigten Gerüste von dem durchaus charakteristischen, glänzenden und scharf contourirten Aussehen, welches nucleinhaltigen Theilen nach der Behandlung mit künstlichem Magensaft eigenthümlich ist. Die Spermamasse wurde nun noch weiter 24 Stunden bei der angegebenen Temperatur in der Verdauungsflüssigkeit belassen, ohne dass eine weitere Veränderung bemerkbar wurde. In einer Fuchsin S.-Lösung der oben mitgetheilten Concentration färbten sich Kopf und Schwanz sofort, aber nicht intensiv. Der Rand des Kopfes schien sich nicht zu färben. Vollkommen farblos blieben während der Beobachtungsdauer (etwa $\frac{1}{4}$ h.) die dem Sperma beigemischten Kerne. Das lange, sehr feine Ende des Schwanzes schien durch die Pepsinlösung gelöst worden zu sein, nur der dickere, an den Kopf angrenzende Theil war in dem gefärbten Präparate zu erkennen.

Methylenblau (0,25 g in 250 ccm Wasser) färbte die Gerüste der beigemischten Kerne sehr schön blau, während sich gleichzeitig das Sperma so gut wie garnicht färbte. Das mit Verdauungsflüssigkeit behandelte Sperma wurde nun auf mehrere Tage in absoluten Alkohol eingelegt und sodann unter Alkohol mit frisch in Alkohol eingelegtem Sperma verglichen. An den Köpfen konnte kein Unterschied wahrgenommen werden, während die Schwänze des verdauten Materials substanzärmer erschienen, als diejenigen des nicht verdauten. Die mehrfach genannte Fuchsin S.-haltige Glaubersalzlösung brachte selbst bei dreitägiger Einwirkung auf das frische Sperma keine Quellung der Köpfe hervor; sie erhielten eine zarte Färbung. Auch die Schwänze quollen nicht. Sie färbten sich gut in ihrer ganzen Ausdehnung. Dort, wo sich der Schwanz an den Kopf ansetzt, war eine helle Stelle kenntlich, sie schien aber kleiner zu sein, als in dem weiter oben beschriebenen Verdauungspräparat oder in Präparaten, welche nach 48 stündiger Behandlung frischen Materials mit Magensaft durch Färbung mit Fuchsin S. gewonnen worden waren.

In Fig. 5 A ist ein Spermatozoon (Alkoholmaterial) nach Behandlung mit Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung dargestellt. Man erkennt am Kopfe eine zarte Querlinie. Es handelt sich hier um den hinteren Rand der beim Stier sehr zarten Kopfkappe¹⁾. An Präparaten, welche frisch mit Verdauungsflüssigkeit, darauf mit Alkohol und schliesslich mit Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung behandelt worden waren, erkannte ich die Grenze der Kopfkappe nicht.

In Fig. 5 P sind von den Köpfen getrennte Schwänze dargestellt²⁾. Alkoholmaterial, 48 Stunden in der Wärme mit Verdauungsflüssigkeit

1) Vergl. SCHOENFELD, l. c.

2) Die Figuren 5 A und 5 P sind bei gleicher Vergrößerung gezeichnet.

behandelt, dann in Alkohol eingelegt und endlich mit Glaubersalz-Fuchsin S. gefärbt. Ein Vergleich mit dem Schwänze des in Fig. 5 A abgebildeten, nicht verdauten, übrigens aber gleichartig behandelten Spermatozoon ergibt, dass die Schwänze durch die Verdauung erheblich an Substanz verloren haben. Uebrigens wird das Schwanzende der verdauten Objecte äusserst dünn, so dass man mit der Möglichkeit rechnen muss, es sei noch ein weiterer ungelöster Schwanztheil vorhanden, aber nicht mehr erkennbar.

Nach MIESCHER (l. c. S. 48) gelingt es durch Behandlung mit künstlichem Magensaft „in der Regel die Köpfe vollständig zu isoliren, feine, zerbröckelnde Fädchen als Reste der Schwänze widerstehen hartnäckig, lösen sich aber doch schliesslich auf.“ (Vergl. auch l. c. S. 53, ferner die histochemischen und physiologischen Arbeiten von F. MIESCHER, 1897, I. Bd. Briefw., S. 73).

Auf Grund des Vergleiches von Phosphorbestimmungen im verdauten und nicht verdauten Sperma ist MIESCHER der Meinung, dass ausser dem Schwänze auch Theile des Kopfes durch die Verdauungsflüssigkeit gelöst werden. MIESCHER möchte „verdauliche Substanz im Innern des Kopfes vermuthen“. MIESCHER's Vermuthung mag begründet sein. Jedenfalls scheint mir hier aber auch die Kopfkappe in Betracht zu kommen, deren Abgrenzung sich nach der Verdauung in meinen Präparaten nicht mehr erkennen liess. Hinsichtlich der grösseren, der Beobachtung leichter zugänglichen Kopfkappe beim Meerschweinchen liess sich die Löslichkeit in 0,28 procentiger Salzsäure feststellen.

Ueber die Einwirkung von Farbstoffen auf das Stiersperma mag hier noch das Folgende mitgetheilt werden:

In Präparaten, welche durch 48 stündige Behandlung frischen Materials mit 0,28 procentiger Salzsäure gewonnen worden waren, färbte Fuchsin S.-Lösung sofort die ganzen Spermatozoen roth mit Ausnahme einer kleinen Stelle an der Schwanzbasis. Zusatz von Methylenblau-Lösung färbte nach 24 stündiger Behandlung frischen Materials mit 0,28 procentiger Salzsäure die Schwänze nicht, auch die Köpfe erschienen von der Fläche gesehen farblos, nur in der Ansicht von der Kante erkannte man eine zarte Färbung. Dasselbe Ergebniss hatte ein Methylenblau-Zusatz zu Sperma, welches frisch auf 48 Stunden bei Zimmertemperatur in Verdauungsflüssigkeit eingelegt worden war. Auf Zusatz einer Mischung von Fuchsin S. und Methylenblau¹⁾ zu frisch auf 24 Std. in 0,28 procentige Salzsäure eingelegtem Sperma

1) 1 Vol. Fuchsin S.-Lösung mit 1 Vol. Methylenblaulösung der oben angegebenen Concentration vermischt. Eine geringe Trübung, welche nach der Mischung entstand, wurde abfiltrirt.

färbten sich, abgesehen von derselben Stelle an der Schwanzbasis, welche farblos blieb, die ganzen Spermatozoen intensiv roth.

Ein vergleichender Färbungsversuch mit Spermatozoen von *Triton taeniatus* und vom Stier verlief wie folgt:

Die Objecte gelangten aus Alkohol auf 48 Stunden in 0,28 procentige Salzsäure, darauf wieder auf einige Tage in Alkohol, sodann auf einen Objectträger in Wasser. Als nun Fuchsin S.-Methylenblau-Mischung hinzugefügt wurde, färbte sich bei den Triton-Spermatozoen Schwanz und Mittelstück roth, der Kopf blieb zunächst farblos, um dann intensiv blaue Färbung anzunehmen. Die Spermatozoen des Stieres färbten sich gleichzeitig in ganzer Ausdehnung roth¹⁾.

Die Spermatozoen des Ebers zeigten gegen Salzsäure, Verdauungsflüssigkeit, die Fuchsin S.-haltige Glaubersalzlösung, Methylenblau und Fuchsin S.-Lösungen, diejenigen des Widders gegen Salzsäure, Methylenblau-Fuchsin S.-Lösung und Glaubersalz-Lösung dasselbe Verhalten wie die Spermatozoen des Stieres.

Die Spermatozoen des Meerschweinchens besitzen eine stark entwickelte Kopfkappe (vergl. MEVES l. c.). Werden sie frisch in Glaubersalz-Fuchsin S.-Lösung gebracht, so schrumpft die Kopfkappe, verliert ihre homogene Beschaffenheit und färbt sich. Der Kerntheil des Kopfes bleibt unverändert. Er zeigt keine Quellung. Zuweilen löst sich die Kopfkappe ab. Der Kopf erscheint dann völlig glatt contourirt, homogen, ganz schwach rosa gefärbt, mit einem Saume versehen, wie die Köpfe des Stiersperma. Der Schwanz färbt sich, sein „Endstück“ setzt sich deutlich gegen das „Hauptstück“ ab. Vom „Hals“ aus zieht sich eine helle Linie in den Schwanz hinein. Ueber das Verhalten der „Knöpfchen“ ist schon berichtet worden.

Auf Zusatz von 0,28procentiger Salzsäure zu lebenden Spermatozoen verschwinden die Kopfkappen. Der Kerntheil des Kopfes bleibt glatt contourirt und homogen zurück, von der Fläche gesehen glanzlos wie der Schwanz, von der Kante gesehen mit starkem Glanz gegen den blassen Schwanz abgesetzt. Behandelt man nun mit Methylenblau-Fuchsin S.-Lösung, so färbt sich alsbald alles roth, die Kopfkappen werden nicht wieder sichtbar.

Eine Notiz bei NEUMANN (l. c.) scheint mir darauf hinzudeuten, dass die Spermatozoen des Menschen sich in ihren Reactionen an die untersuchten Säugethierspermatozoen anschliessen werden. Be-

1) Hinsichtlich der Bedeutung der Farbenreactionen vergl. E. ZACHARIAS, Ueber die Cyanophyceen (S.-A. aus Bd. XVI der Abh. aus dem Gebiet der Naturw., herausgeg. vom naturw. Verein, Hamburg. 1900. S. 10, 11). Für die weitere Ausnützung der Färbungen zu mikrochemischen Zwecken ist PAPPENHEIM's Buch von wesentlicher Bedeutung (Grundriss der Farbchemie zum Gebrauch bei mikroscopischen Arbeiten. Berlin 1901).

züglich ihres Verhaltens gegen Methylenblau - Fuchsin S. konnte Herr Dr. E. DELBANCO dieses bestätigen (briefliche Mittheilung).

Die Köpfe der untersuchten Säugethierspermatozoen zeigen, wie die vorstehenden Angaben darthun, nicht die Reactionen von Gebilden, welche „Kernnuclein“ enthalten.

Dass es auch pflanzliche Zellkerne giebt, welche die für „kernnucleinhaltige“ Körper charakteristischen Reactionen zum Theil nicht zeigen, beweist das Verhalten der Kerne in den Pollenmutterzellen von *Larix*. Hier reagiren die Chromosomen auf Fuchsin S.-Methylenblau-Mischung, Essigsäure-Methylgrün, Glaubersalz, 0,28 procentige Salzsäure, Verdauungsflüssigkeit wie die Chromosomen der sonstigen bisher untersuchten Pflanzenzellen, während sie gegen concentrirtere Salzsäure eine grössere Resistenz zeigen.

Ob etwa das besondere Verhalten der Chromosomen in den Pollenmutterzellen von *Larix*, sowie der Kernantheile im Sperma von Säugethieren den Kernen aller Gewebe der betreffenden Organismen zukommt, bleibt zu untersuchen¹⁾.

Aus dem Verdauungsrückstand der Stierspermatozoen konnte MIESCHER durch Lösung in warmer Natronlauge und Ausfällen mit Salzsäure ein Nuclein gewinnen (MIESCHER l. c., S. 50), welches frisch gefällt leicht löslich in Sodalösung und Ammoniak war, beim Stehen aber bald wieder schwer löslich wurde. „Die Darstellung selbst geht offenbar mit einer chemischen Umwandlung einher, aus der unlöslichen Modification (Anhydrid?) in eine löslichere (Hydratation?)“²⁾.

Setzt man diesen Befund MIESCHER's mit den Resultaten der mikrochemischen Untersuchungen des Stierspermats und der Plastinkörper in Verbindung, so erhält die Annahme des Vorhandenseins von Beziehungen der Plastine zu den Nucleinen eine weitere Stütze³⁾.

Bezüglich der aus Hefe dargestellten Nucleinpräparate habe ich⁴⁾ ausgeführt, dass die Nucleinsäure dieser Präparate „bei den mit ihrer Darstellung verbundenen Manipulationen aus dem Plastin des Zellinhaltes“ gewonnen worden sein könne. Neuerdings hat MACALLUM⁵⁾ im Cytoplasma der Hefezellen und in gewissen Gebilden, welche er im Gegensatz zu anderen Autoren nicht für Zellkerne hält, eine „dem

1) Vergl. CARNOY, Biologie cellulaire. 1884. S. 227.

2) Vergl. A. KOSSEL, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Nucleinsäure (Verhandl. der Physiol. Gesellsch. zu Berlin. 2. Februar, 1894, S. 6).

3) E. ZACHARIAS, Ueber die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1893).

4) l. c., pag. 301.

5) MACALLUM, Cytology of non-nucleated organisms, pag. 67. (Transactions of the Canadian Institute, vol. VI, 1899.)

Chromatin höherer Organismen nahe verwandte Substanz“ gefunden. Dieselbe färbt sich jedoch nicht mit Essigsäure-Methylgrün und ist in künstlichem Magensaft löslich. Sie ist also vom Kernnuclein und Plastin verschieden. Nach MACALLUM enthält sie Phosphor und Eisen und wird daher von ihm dem Chromatin höherer Organismen an die Seite gestellt. Indessen würden auch für den Fall, dass der Nachweis von Phosphor und Eisen in der fraglichen Substanz durch die mikrochemischen Untersuchungen MACALLUM's thatsächlich erbracht sein sollte, ihre Zugehörigkeit zum Chromatin (wenn mit diesem Wort ein Nucleinkörper bezeichnet werden soll) noch nicht als erwiesen zu betrachten sein.

Für bestimmte Fälle habe ich ausgeführt, dass derjenige Theil der männlichen Sexualzellen, der aus dem Zellkern ihrer Mutterzellen hervorgegangen ist, procentisch sehr viel reicher an Kernnuclein ist, als der Kern der weiblichen Sexualzellen¹⁾.

1) E. ZACHARIAS, Ueber das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen. Flora 1895, Ergänzungsband, S. 253—260. Der Anm. 2, S. 257 ist aus der neueren Litteratur noch beizufügen: FARMER and WILLIAMS, Contributions to our knowledge of the Fucaeae: Their life-history and cytology (Philosophical Transactions of the R. Soc. of London, Ser. B, Vol. 190, 1898, Tab. 21, Fig. 20—22). SHAW, The fertilization of *Onoclea* (Ann. of Bot., Vol. XII, Sept. 1898); vergl. E. ZACHARIAS, Ergebnisse etc. (Bot. Ztg. 1899, II, Nr. 1). KLEBAHN, Die Befruchtung von *Sphaeroplea*, Fig. 16—19 (Festschrift für SCHWENDENER). CHARLES THOM, The process of Fertilization in *Aspidium* and *Adiantum* (Transactions of the Academy of Science of St. Louis, Vol. IX, No. 8, 1899). ETHEL N. THOMAS, Double fertilization in a Dicotyledon *Caltha palustris* (Ann. of Bot., Vol. XIV, 1900, p. 531, Fig. 5, 8).

Sehr wünschenswerth erscheint eine mikrochemische Untersuchung der Sexualkerne der Gymnospermen. Die Angaben der neueren Arbeiten über Befruchtung bei Gynnospermen gewähren keinen Aufschluss hinsichtlich der chemischen Beschaffenheit der Kerne. Vergl. ARNOLDI, Beiträge zur Morphologie der Gymnospermen III (Flora 1900, S. 53—60), und die hier citirte Litteratur.

Es mag an dieser Stelle bemerkt werden, dass die „Keimbläschen“ oder „HOFMEISTER'schen Körperchen“ im Abietineenei (von STRASBURGER irrthümlich als Vacuolen bezeichnet), welche nach ARNOLDI (Beitr. IV. Flora 1900, 2. Heft; vergl. jedoch CAVARA, Osservazioni morfologiche sulle Gimnosperme. Bull. della Soc. bot. Italiana. Sede di Firenze 9. Dicembre 1900, p. 319) veränderte, „aus den Deckschichtzellen in das Eiprotoplasma eingedrungene“ Kerne sind, in ihrer chemischen Beschaffenheit von Zellkernen abweichen. In meiner Arbeit „Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen“ (Bot. Ztg. 1887, p. 319) heisst es: „Aus den mitgetheilten Reactionen ergibt sich, dass die HOFMEISTER'schen Körper aus verdaulichen Eiweissstoffen bestehen und aus unverdaulichen Substanzen, welche jedoch die Eigenschaften des Nucleins nicht besitzen.“ Nach ARNOLDI (l. c. S. 10) „dienen die HOFMEISTER'schen Körper zur Ernährung des Embryos“. Dem entsprechend habe ich auch in der citirten Arbeit S. 317 geäußert: „Mit den Dotterkörpern der Thiere lassen sich die von HOFMEISTER als Keimbläschen bezeichneten Körper vergleichen“ etc. (HOFMEISTER, Vergleichende Unters., S. 130, 134; Pflanzenzelle, S. 120).

Gleich dem Kerne der seither mikrochemisch geprüften Eier sind auch die nach den neueren Arbeiten von NAWASCHIN u. a. einer Befruchtung unterliegenden Kerne der Embryosäcke von Angiospermen in bestimmten, darauf hin untersuchten Fällen procentisch relativ nucleïnarm, die mit ihnen verschmelzenden männlichen Sexualkerne aber nucleïnreich, wie das aus der unten citirten Litteratur¹⁾ geschlossen werden kann.

Sehr erwünscht wäre eine nähere Feststellung des mikrochemischen Verhaltens der Säuger-Eikerne. MIESCHER sagt in einer Anmerkung (l. c. S. 71): „Nach einer interessanten, von Dr. LINDGREN im hiesigen Institut gemachten Beobachtung ist das Keimbläschen des Säugethiereies (Rind, Schaf, Schwein) im Gegensatz zu den Kernen des Keimepithels in HCl $\frac{1}{1000}$ löslich.“ Vermuthlich handelte es sich hier um eine Quellung, nicht um eine völlige Lösung aller Substanzen des Keimbläschens. Im Gegensatz hierzu konnte ich in dem Kernantheil der Säuger-Spermatozoen keine Quellung in verdünnter Salzsäure wahrnehmen.

Unschwer lässt sich, wie ich neuerdings wieder feststellen konnte, das eigenthümliche Verhalten des befruchtungsreifen Eikernes gegen verdünnte Salzsäure bei *Marchantia* demonstrieren, deren Archegonien in Menge leicht unter dem Simplex frei präparirt werden können. Bei der Beobachtung von Alkoholmaterial in Wasser erscheint der Eikern sehr substanzreich. Sind aber die Archegonien lebend in 0,28procentige Salzsäure gelangt und werden sie dann 24 Stunden später in der Säure untersucht, so erscheint der Kern als scharf gegen das Plasma abgegrenzter Hohlraum, in welchem sich geformte Substanz nicht erkennen lässt. Im Plasma sieht man Aggregate mehr oder weniger mit einander verschmolzener Tröpfchen von fettähnlichem Aussehen. Der Eikern enthält im schärfsten Gegensatz zum Spermakern keine durch das eingeschlagene Verfahren nachweisbare Mengen von Kernnucleïn.

Auch im Kern des Farneies habe ich früher²⁾ kein Kernnucleïn

1) NAWASCHIN, Resultate einer Revision der Befruchtungsvorgänge bei *Lilium Martagon* und *Fritillaria tenella*. Bull. de l'Acad. Impér. des Sciences de St. Pétersbourg, Nov. 1898, T. IX, No. IV, p. 379. — NAWASCHIN, Befruchtungsvorgänge bei einigen Dicotyledonen. Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1900, Taf. IX, Fig. 1 B. — E. ZACHARIAS, Beiträge etc. (Bot. Ztg. 1887, S. 372). Hier (S. 367) habe ich auch schon angegeben, dass sich in den Pollenschläuchen von *Lilium candidum* nach Behandlung mit künstlichem Magensaft „mehrfach zwei langgestreckte schmale Kerne von glänzendem Ansehen und sehr dichter Beschaffenheit fanden, den bandförmig gestreckten Kernen von Farnspermatozoen vergleichbar, die noch nicht ganz homogen geworden sind“. — Vergl. NAWASCHIN, l. c., S. 227.

2) Beiträge etc. l. c. S. A. S. 24. Vergl. auch meine Angaben über den Eikern von *Pinus silvestris* (l. c. S. 25) mit denjenigen von BLACKMANN, On the cytological

nachweisen können, jedoch betont, ich sei nicht der Meinung, dass diesem Kern Nuclein ganz fehle. „Weiter unten mitzuteilende Beobachtungen (heisst es l. c.) an thierischen Eiern sprechen dafür, dass das ursprünglich im Eikern vorhandene Nuclein während der erheblichen Vergrösserung, welche der Kern bei der Ausbildung des Eies erfährt, sich mehr und mehr im Kern vertheilt, ohne zuzunehmen, so dass schliesslich ein Kern resultirt, dessen procentischer Gehalt an Nuclein so gering ist, dass derselbe sich auf mikrochemischem Wege nicht mehr nachweisen lässt.“

Vor Kurzem fand nun THOM (l. c.), dass, wenn das Ei sich der Reife nähert, „chromatin becomes indistinct with the ordinary stain,“ aber „carefull staining and examination enables one still to see a nuclear network upon which fine granules are distributed.“ Diese Körnchen betrachtet THOM, da sie sich mit Genthianaviolett färben, als Chromatin. Handelt es sich hier thatsächlich um Kernnuclein, welches wegen seiner geringen Menge und seiner Vertheilung durch die von mir verwendeten Reagentien nicht sichtbar gemacht werden konnte, und ist ferner die Angabe THOM's zutreffend, dass im Spermakern ein Chromatinmantel eine centrale Substanz von abweichender Beschaffenheit umschliesst, so ist die Differenz im procentischen Gehalt an Nuclein in Ei und Spermatozoon der Farne geringer, als ich angenommen hatte, kann indessen immer noch als beträchtlich angesehen werden.

Den Angaben THOM's über das Vorkommen färbbarer Körnchen im Kern des Farneies schliessen sich entsprechende Mittheilungen von CAVARA¹⁾ über den Kern des Eies von *Abies pectinata* an: „La cromatina o parte veramente essenziale, vi è, ma sotto una forma estremamente divisa, e cioè in minuti granuli, i quali assorbono però bene le sostanze coloranti.“

Die Untersuchungen von LOEB²⁾, NATHANSOHN, WINKLER u. a. haben gezeigt, dass verschiedenartige Einflüsse die Wirkung des

features of fertilization and related phenomena in *Pinus silvestris* (Philosophical transactions of the R. soc. of London 1893, Ser. B, Vol. 190); ferner: IKENO, Fécondation chez *Ginkgo* (Ann. des sc. nat., Ser. VIII, T. XIII, 1901).

1) CAVARA, Osservazioni morfologici sulle Gimnosperme. Bull. della Società botanica Italiana. Sede di Firenze del 9. Dicembre 1900.

2) LOEB, On the nature of the process of fertilization. American Journal of Physiology 1899. — NATHANSOHN, Ueber Parthenogenesis bei *Marsilia* und ihre Abhängigkeit von der Temperatur. Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1900. — WINKLER, Ueber die Furchung unbefruchteter Eier unter der Einwirkung von Extractivstoffen aus dem Sperma. Nachrichten von der K. Gesellsch. der Wiss. zu Göttingen, Mathem.-physik. Kl. 1900, Heft 2. Hier und bei GIARD (Sur la pseudogamie osmotique. Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 5. janvier 1901) finden

Spermatozoon auf die Weiterentwicklung des Eies zu ersetzen vermögen. WINKLER hat nachgewiesen, dass nicht nur das intacte Spermatozoon, sondern auch aus demselben bereitete Lösungen den Anstoss zur Weiterentwicklung des Eies geben können. Die Art der Einwirkung des Spermatozoon auf das Ei im normalen Befruchtungsvorgange lässt sich indessen, wie schon von verschiedenen Seiten betont worden ist, aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen nicht erschliessen.

Man wird es für möglich halten können, dass bestimmte, in den Spermatozoen enthaltene Stoffe das Wirksame seien, und dass nach Massgabe der nachweislich differenten chemischen Beschaffenheit¹⁾ verschiedener Spermatozoen auch die wirksamen Stoffe bei der Befruchtung verschiedener Organismen von verschiedener Art seien. Beachtenswerth bleibt die für eine Anzahl von Fällen festgestellte Differenz in der procentischen Zusammensetzung von Ei und Sperma²⁾.

BOVERI³⁾ betont freilich neuerdings wieder, „dass er die Bedeutungslosigkeit der Nucleïne (Kernsubstanzen) für die Befruchtung schon vor mehr als 10 Jahren für das Seeigellei nachgewiesen habe.“ BOVERI⁴⁾ benutzte zur künstlichen Befruchtung Eier, welche 14 Stunden in (nicht erneutem) Wasser gelegen hatten, während die Spermatozoen, mit welchen er diese Eier besamte, so lange mit 0,05 procentiger Kalilauge behandelt worden waren, bis nur noch ein kleiner Theil derselben Beweglichkeit zeigte. In der Folge kamen unter normal befruchteten solche Eier zur Beobachtung, welche sich in normaler Weise furchten, obwohl der Spermakern sich nicht mit dem Eikern vereinigt hatte. Dieser Befund scheint mir nicht beweisend zu sein. Berücksichtigt man das Vorhandensein der Kalilauge⁵⁾ und etwaiger durch diese aus dem Sperma extrahirter Stoffe in der Um-

sich weitere Litteraturangaben. — Vergl. ferner HERTWIG, Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung? (Sitzungsber. der Gesellsch. für Morphologie und Physiologie in München 1899, Heft 2, S.-A. S. 8) und B. SCHMID, Ueber die Ruheperiode der Kartoffelknollen (Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 1901, S. 84, 85).

1) Vergl. die Litteraturzusammenstellung von COHNHEIM. Chemie der Eiweisskörper 1900.

2) E. ZACHARIAS, Ueber Sexualzellen und Befruchtung. Verhandl. des Naturw. Vereins in Hamburg 1901.

3) BOVERI, Zellen-Studien. Heft 4, 1901, S. 10.

4) BOVERI, Ueber partielle Befruchtung. Sitzungsber. der Gesellsch. für Morphologie und Physiologie in München, III. Bd., Sitzung vom 19. Juni 1888.

5) Dass etwa die Kalilauge vor der Vereinigung des Spermas mit den Eiern auf irgend eine Weise wieder beseitigt worden sei, geht aus den Angaben BOVERI's nicht hervor.

gebung der in verschiedenem Grade durch die Vorbehandlung afficirten Geschlechtszellen, so ergibt sich, dass BOVERI's Versuche ebenso wenig wie diejenigen von LOEB, WINKLER u. a., geeignet sind, über die Art der Einwirkung des intacten Spermatozoon auf das Ei Aufschluss zu gewähren.

Bezüglich der Spermacentrosomen, welche nach BOVERI die Theilung des Eies bewirken sollen, mag auf die übersichtliche Zusammenstellung der einschlägigen Arbeiten bei WILSON¹⁾ hingewiesen werden, welche klar erkennen lässt, wie wenig die vorliegenden Beobachtungen zu bestimmten, allgemeinen Schlüssen berechtigen. Uebrigens sagt BOVERI selbst hinsichtlich der physiologischen Bedeutung der Centrosomen im Allgemeinen²⁾: „Gewiss wird hier wie anderwärts, nachdem für's Erste schon der morphologische Befund eine gewisse physiologische Einsicht gewähren kann, weiterer Fortschritt nur durch das Experiment erreichbar sein, oder richtiger gesagt, durch das Studium in der Natur vorkommender oder künstlich hervorgebrachter Abweichungen von dem normalen Verhalten und den Folgen dieser Abweichungen. Allein hierfür ist eben eine genaue Kenntniss der morphologischen Verhältnisse unerlässliche Vorbedingung. Denn wenn auch die schliessliche Entscheidung durch das Experiment geliefert wird, müssen wir doch vor allem wissen, womit wir experimentiren.“ Dem ist hinzuzufügen: und welche chemische Zusammensetzung dem Object zukommt, mit welchem wir experimentiren. Dass letzteres für die Beurtheilung der Befruchtungsvorgänge gleichgültig sei, wird selbst der einseitigste Morpholog nicht behaupten wollen. Mit Recht sagt schon KÖLLIKER (l. c. S. 261): „Ebenso sehr als das Schicksal der Samenfäden verdient aber wohl auch das Studium ihrer chemischen Zusammensetzung und ihrer chemischen Einwirkung auf andere Körper die Aufmerksamkeit, wenn man über ihre Bedeutung bei der Befruchtung in's Klare kommen will³⁾.“

1) WILSON, The cell. Second Edition 1900.

2) Zellstudien. Heft 4, 1901, S. 1, 2.

3) Vergl. auch MIESCHER, Histologische und physiologische Arbeiten. Bd. I, S. 85, 86. Brief an HOPPE-SEYLER, 1876.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1901

Band/Volume: [19](#)

Autor(en)/Author(s): Zacharias Eduard

Artikel/Article: [Beiträge zur Kenntniss der Sexualzellen. 377-396](#)