

4. Walter Kotte: Zur Reizphysiologie der *Fucus*-Spermatozoiden.

(Mit 2 Abbildungen im Text.)

(Eingegangen am 22. September 1922. Vorgetragen in der Dezembersitzung.)

Die freibeweglichen Spermatozoiden niederer Pflanzen werden auf chemotaktischem Wege zu den Eizellen geführt. Das haben uns vor allem die Untersuchungen von PFEFFER, SHIBATA, LIDFORSS, BRUCHMANN und AKERMANN gelehrt. Der Einfluß der chemotaktisch wirksamen Substanz macht sich nun nur in nächster Nähe der Eizelle bzw. des Archegonhalses geltend: Ist der Weg der Spermatozoiden vom Antheridium bis zur chemotaktischen Einwirkungszone des Eies vom Zufall abhängig, oder ist er etwa sinnvoll gerichtet und bedingt durch Reaktionen der Spermatozoiden auf andere Reize? Beobachtungen über weitere Reizempfindlichkeit neben der chemotaktischen liegen bereits für die Spermatozoiden einiger Pflanzen vor. So wird für die von *Marchantia* Aerotaxis angegeben, Phototaxis für die Isogameten einiger Grünalgen und die Spermatozoiden von *Fucus*. Gerade die *Fucus*-Spermatozoiden schienen mir geeignet, um diese den Protozoen in ihrer Morphologie und der Mechanik ihrer Bewegung so ähnlichen Gebilde mit den Methoden der Protozoenphysiologie auf die verschiedene Art ihrer Reizbarkeit zu untersuchen.

Ein zweimaliger Aufenthalt auf Helgoland im April und September 1921 diente dieser Untersuchung. Den Herren der dortigen Biologischen Anstalt, vor allem Herrn Prof. MIELCK und Herrn Dr. NIENBURG, habe ich für ihr lebenswürdiges Entgegenkommen aufs herzlichste zu danken.

Leider stellte sich bald heraus, daß zur eingehenden Klärung dieser verwickelten und interessanten Reizerscheinungen ein längerer Aufenthalt am Meere notwendig wäre. Da mir hierfür vorerst keine Gelegenheit gegeben ist, so teile ich hier das bisher Erreichte mit.

So leicht es auch ist, sich das fesselnde Bild eines von Spermatozoiden umschwärmten *Fucus*-Eies einmal vorzuführen, so ist es trotz der riesigen *Fucus*-Bestände Helgolands recht schwierig, regelmäßig gut reagierende Spermatozoiden zur Verfügung zu

haben. Glückt es, so hat man Material in ungeheurer Menge, aber nur kurze Zeit lang bleiben die Spermatozoiden reaktionsfähig und beweglich. Die Untersuchung wurde mit den Spermatozoiden von *Fucus serratus* L. ausgeführt.

Chemotaxis:

Daß bei der Befruchtung der *Fucus*-Eier Chemotaxis der Spermatozoiden im Spiele sei, wurde häufig vermutet (z. B. von STRASBURGER, OLTMAXNS, KNIEP), ist aber noch nie exakt nachgewiesen worden. Im Gegenteil: Die Versuche, *Fucus*-Spermatozoiden chemotaktisch anzulocken, sind bisher stets negativ verlaufen. Schon 1894 versuchte BORDET mit einem Brei von zerriebenen *Fucus*-Eiern, den er in eine Kapillare füllte, nach der Methode PFEFFERS, Anlockung zu erzielen. Aus dem völlig negativen Verlauf dieser Versuche schloß er, daß die Spermatozoiden nicht chemotaktisch reizbar seien. Später prüfte mit der gleichen Methode ROBBINS zahlreiche Stoffe, ohne bei irgendeinem eine anlockende Wirkung feststellen zu können.

Daß es sich trotzdem um chemotaktische Wirkung von Substanzen, die die Eier ausscheiden, handelt, läßt sich leicht zeigen, wenn man sich einer anderen Methode bedient. Einige Tropfen Seewasser wurden in einem Zentrifugenröhrchen eine Stunde lang mit vielen *Fucus*-Eiern in Berührung gebracht. Dann wurde scharf zentrifugiert und das Seewasser von den Eiern abpipettiert. Nun wurden — nach der Methode von JENNINGS — gut bewegliche Spermatozoiden in Seewasser auf einen Objektträger gebracht, ein großes, mit zwei Glaskapillaren gestütztes Deckglas aufgelegt und mit einer Kapillarpipette ein Tropfen des von den Eiern abpipettierten Seewassers vom Rande her in die Mitte darunter gebracht. Der Objektträger wurde verdunkelt, und schon nach wenigen Minuten sammelten sich im Bereich des mit den Eiern in Berührung gewesenen Wassers die Spermatozoiden an. Nach einer viertel bis halben Stunde bildeten sie einen deutlichen, goldgelben Fleck. Das von den Eiern abpipettierte Wasser ist etwas schleimig. Es läßt sich zu Fäden ausziehen, die man quer über einen Tropfen mit Spermatozoiden-Aufschwemmung legen kann. Nach einigen Minuten erscheint dann der Schleimfaden durch Ansammlung der Spermatozoiden als gelber Strich. Die Spermatozoiden werden nicht etwa durch den Schleim in ihrer Bewegung gehindert und so gefangen. Ein Tropfen mit Gummi arabicum versetzten Seewassers zeigt diese Erscheinung nicht. Außerdem sieht man im Mikroskop, daß die Bewegung der Spermatozoiden in dem Wasser, das mit Eiern in Berührung war, erheblich lebhafter ist,

als in reinem Seewasser. Die von den Eiern ausgeschiedenen Stoffe wirken also chemotaktisch und chemokinetisch auf die Spermatozoiden.

Welcher Art die chemotaktisch wirksame Substanz ist, konnte noch nicht untersucht werden. Mäßiges Erhitzen (1 Minute auf 70°) schädigt ihre Wirkung nicht. Die JENNINGSsche Tropfenmethode wird wohl gestatten, der Natur des chemotaktisch wirksamen Stoffes näherzukommen.

Mit der Kapillarmethode gelang es auch mir nicht, Anlockung zu erzielen, weder mit von Eiern abzentrifugiertem Seewasser, noch mit Eierbrei. Augenscheinlich ist die chemotaktisch wirksame Substanz sehr wenig diffusibel, so daß sie die Kapillarenmündung kaum verläßt. Außerdem stört bei Kapillarversuchen sehr die merkwürdige Eigenschaft der Spermatozoiden, sich thigmotaktisch auf der Kapillare und der Oberfläche von Objektträger und Deckglas in großen Mengen festzusetzen.

Noch einer andern, bisher unerklärten Erscheinung sei hier kurz gedacht, die bei diesen Untersuchungen Irrtum veranlassen kann. Die Spermatozoiden finden sich nach einiger Zeit nicht mehr gleichmäßig verteilt, sondern sie bilden einzelne Haufen. Dieselbe Erscheinung wurde an Pferdespermien von YAMANE beobachtet und auf Einfluß von Elektrolyten zurückgeführt, ohne daß aber die Mechanik des Vorgangs bisher erklärbar wäre.

Die chemotaktische Reaktion der Spermatozoiden ist eine phobische, worauf bereits KNIEP hingewiesen hat. Beobachtet man die Bahn eines einzelnen Spermatozoids in der Nähe eines Eies genauer, so findet man immer wieder Bilder wie Fig. 1. Das Spermatozoid schwimmt in gerader Richtung nahe am Ei vorbei, macht etwa in der Entfernung eines Eisdurchmessers kehrt, und wendet, wenn es das Ei nicht berührt hat, immer wieder um, bis es auf das Ei trifft, und nun sofort festsitzt. In den allermeisten Fällen gelangt es dazu schon nach einer Kehrtwendung. Der Vorgang spielt sich sehr schnell ab und ist nur deutlich zu sehen, wenn man wenige Spermatozoiden anwendet. Liegen 3 oder 4 Eier beieinander, so sieht man häufig Spermatozoiden in dem Raum zwischen ihnen längere Zeit hin- und herschießen, ohne ihn zu verlassen, ehe sie auf eines der Eier auftreffen.

Es wirkt also auf das Spermatozoid nicht der Eintritt in die Diffusionszone der vom Ei ausgeschiedenen Substanz als richtender Reiz, sondern der Austritt aus derselben veranlaßt eine Rückwärts- bzw. Seitwärtsbewegung. Die endliche Erreichung des Eies durch das in seiner Einwirkungssphäre hin- und herschießende Spermatozoid

bestimmt dann der Zufall. Da der von dem chemotaktisch wirkenden Reizstoff erfüllte Raum sehr klein ist, und die Bewegung der Spermatozoiden chemokinetisch beschleunigt ist, so wird das Ziel sehr bald erreicht.

Das phobisch-chemotaktische Verhalten der *Fucus*-Spermatozoiden entspricht also völlig dem der Farnspermatozoiden, das HOYT eingehend untersucht hat. Es ist mir sehr wahrscheinlich, daß das einzelne Spermatozoid beim Austritt aus der Einwirkungszone der vom Ei ausgeschiedenen Substanz eine Schreckbewegung

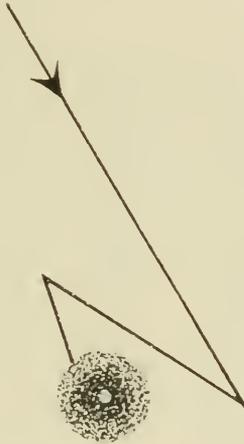


Abb. 1. Bahn eines *Fucus*-Spermatozoides in der Nähe des Eies.

ausführt, unter Rotation und Seitwärtswendung, wie sie JENNINGS grundlegend bei der phototaktischen Reaktion von *Euglena* analysiert hat, und wie sie dann immer wieder gefunden wurde: bei *Marchantia*-Spermatozoiden (ULEHLA), bei Myxomycetenschwärmern (KUSANO), bei (*Chlamydomonas* und *Haematococcus* (E. PRINGSHEIM). Bei den *Fucus*-Spermatozoiden ist freilich eine Analyse der Schreckbewegung wegen ihrer Kleinheit, Durchsichtigkeit und schnellen Beweglichkeit vorerst keine sehr aussichtsreiche Aufgabe.

Aerotaxis:

Die für die *Fucus*-Spermatozoiden optimale Sauerstoffspannung liegt niedriger als die des frischen Meerwassers: Die *Fucus*-Spermatozoiden sind also negativ aerotaktisch. Diese Eigenschaft ist auffällig bei einer in der sauerstoffreichen Brandungszone wachsenden Pflanze. Ueber ihre Bedeutung weiter unten; nach-

zuweisen ist sie leicht. *Fucus*-Spermatozoiden in Meerwasser wurden mit Luftblasen zusammen unter dem Deckglas eingeschlossen. Um phototaktische Bewegungen auszuschließen, wurde das Präparat gleich nach seiner Herstellung verdunkelt. Die Spermatozoiden bilden sehr deutliche Atmungsfiguren. Sie ziehen sich 3—4 mm von den Luftblasen und dem Deckglasrand zurück; im übrigen Raum unter dem Deckglas sind sie gleichmäßig verteilt.

Es wurde versucht, die optimale Sauerstoffspannung quantitativ zu bestimmen. Spermatozoidenhaltiges Seewasser wurde in kurze, einseitig geschlossene Glasröhren von 3 mm Durchmesser gefüllt und

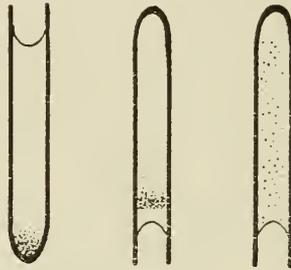


Abb. 2. Verhalten der *Fucus*-Spermatozoiden in Glasröhrchen. (Siehe Text)

diese umgedreht (nach einer von E. PRINGSHEIM für Protozoen angewandten Methode). Die Spermatozoiden schwimmen — wahrscheinlich infolge positiver Geotaxis (s. v.) — abwärts und sammeln sich in einiger Entfernung vom Flüssigkeitsspiegel an (Fig. 2b). Sie setzen sich hier im Laufe von einer halben Stunde an der Glaswand fest.

Daneben wurden ebenso vorbereitete Glasröhren in einen geeigneten Rezipienten gebracht (Gaswaschflasche mit eingeschliffenem Stopfen), in dem mit einer Wasserstrahlluftpumpe die Luft verdünnt wurde. Ein Manometer zeigte den jeweils herrschenden Luftdruck an; die Temperatur während des Versuches betrug 16°. Da bei geringerem Luftdruck der Luft- bzw. Sauerstoffgehalt des Wassers sinkt, stiegen die Spermatozoiden tiefer zum Flüssigkeitsspiegel hinab. Es war zu erwarten, daß sie sich am Flüssigkeitsspiegel selbst ansammeln würden, wenn das Wasser die optimale Sauerstoffmenge enthielt. Die Versuche wurden im Dunkeln ausgeführt.

1000 ccm Wasser in Berührung mit Luft enthalten bei 16° und 760 mm Druck 6,89 ccm O₂ (nach WINKLER in LANDOLT-BÖRNSTEINs Tabellen). Bei Verminderung des Druckes sinkt nach dem HENRYsehen Gesetz der Sauerstoffgehalt proportional. Der Versuch ergab:

Luftdruck	Gehalt des Wassers an O ₂ ¹⁾ (ccm in 1000 ccm H ₂ O)	Abstand der Spermatozoiden vom Meniskusrand
760 mm	6,89	3,0 mm
310 „	2,81	2,3 „
190 „	1,72	1,5 „

Bei einem Sauerstoffgehalt von 1,72 ccm in 1000 ccm Wasser waren die Spermatozoiden also noch 1,5 mm vom Meniskusrand entfernt; ihr Sauerstoffoptimum liegt also noch niedriger. Eine stärkere Luftverdünnung zu erzielen, erlaubte der Druck der Wasserleitung nicht, deshalb wurde als nächste Stufe völliger Abschluß der Luft mit flüssigem Paraffin hergestellt. Jetzt gingen die Spermatozoiden bis zum Meniskusrand hinab. Der Versuch ergibt also, daß das Sauerstoffoptimum der *Fucus*-Spermatozoiden niedriger liegt als 1,72 ccm in 1000 ccm Wasser.

Geotaxis:

In einem verdunkelten Gefäß haben die *Fucus*-Spermatozoiden das Bestreben, nach unten zu schwimmen. Fig. 2b zeigt, daß sie in dem umgedrehten Glasröhrchen abwärts geschwommen sind, bis sie durch die zu hohe Sauerstoffkonzentration gezwungen wurden, Halt zu machen. Daß ihre Ansammlung über dem Flüssigkeitsspiegel nicht etwa auf aerotaktischer Reizbarkeit allein beruht — derart, daß sie eine optimale Zone zwischen zu hoher und zu niedriger Sauerstoffspannung aufsuchten —, läßt sich zeigen, wenn man das Glasröhrchen aufrichtet. Nun sammeln sich die Spermatozoiden nicht etwa in dem gleichen Niveau an, sondern am Boden (Fig. 2a). Es handelt sich auch nicht, wie man denken könnte, um ein passives Absinken der spezifisch schwereren Spermatozoiden, sondern um eine aktive Abwärtsbewegung. Das ergibt folgender Versuch: Glasröhrchen wurden mit Seewasser und Spermatozoiden gefüllt und umgedreht. Einige Röhrchen enthielten lebende Spermatozoiden, in anderen waren sie abgetötet

1) Die Werte gelten für reines Wasser. Infolge der im Meerwasser gelösten Salze erniedrigen sie sich etwas. In welchem Maße, kann ich nicht angeben, da ich für Meerwasser keine Konstanten auffinden konnte.

worden, und zwar: 1. durch kurzes Erwärmen auf 70°, 2. durch Einwirken von Osmiumsäure- und 3. von Formalindämpfen. Das Verhältnis des spezifischen Gewichtes der Spermatozoiden und des Meerwassers kann sich dadurch nicht geändert haben. Denn das des Wassers wird zum mindesten durch die Erwärmung gar nicht beeinträchtigt, und an eine Änderung des Gewichtes der Spermatozoiden durch Austritt von Substanzen durch die getötete Plasmahaut ist auch nicht zu denken. So umstritten ihr feinerer cytologischer Bau auch noch ist, so enthalten sie doch nur dichtes Plasma und keine Vacuolen, aus denen nennenswerte Substanzen hinausdiffundieren könnten.

Nach zwei Stunden zeigte sich nun folgendes: Die lebenden Spermatozoiden zeigten die oben beschriebene Erscheinung (Fig. 2b). Sie hatten sich fast alle im unteren Teile des Röhrchens 3 mm oberhalb des Flüssigkeitsspiegels als orangeroter Ring an der Glaswand festgesetzt. Die getöteten dagegen waren kaum abgesunken, nur auf eine Strecke von wenigen mm (Fig. 2c).

Die Abwärtsbewegung der Spermatozoiden beruht also auf Lebenstätigkeit. Ob es sich um eine geotaktische Reizerscheinung handelt, oder ob der Schwerpunkt des Spermatozoids so liegt, daß jede unbeeinflusste Vorwärtsbewegung abwärts führen muß, ist noch nicht entschieden.

Phototaxis:

Daß die *Fucus*-Spermatozoiden phototaktisch reizbar sind, und zwar, wie STRASBURGER angibt, bei mittlerem Tageslicht negativ phototaktisch, ist zweifellos und leicht zu beobachten. Wenn BORDET ihnen trotzdem die phototaktische Reizbarkeit ebenso wie die chemotaktische abspricht, so beruht das auf seiner unzweckmäßigen Versuchsanstellung. Eigene Beobachtungen über die Phototaxis sind bisher nicht abgeschlossen. Es scheint die negative Phototaxis bei geringer Lichtintensität in eine positive überzugehen und außerdem die Lichtstimmung je nach der seit dem Ausschlüpfen vergangenen Zeit zu wechseln.

Thigmotaxis:

Außerordentlich stark ist der Reiz, den die Berührung der Oberfläche auf das Spermatozoid ausübt. Er veranlaßt es sofort, sich festzusetzen, um entweder ins Innere einzudringen, oder das Ei erst zu verlassen, wenn es nach Eindringen eines anderen Spermatozoids eine Membran gebildet hat. Neues kann ich diesem von STRASBURGER eingehend geschilderten Vorgang nicht hinzufügen.

Das Zusammenspielen der verschiedenen Reizempfindlichkeiten bei der Befruchtung.

Die *Fucus*-Spermatozoiden sind also phototaktisch, chemotaktisch, acrotaktisch, thigmotaktisch und — wahrscheinlich — geotaktisch reizbar. Das Zusammenwirken der verschiedenen Reizempfindlichkeiten beim Befruchtungsvorgang wird man sich nun folgendermaßen vorzustellen haben: Bei Niedrigwasser entlassen die ♀ Pflanzen ihre Oogonien und die ♂ ihre Antheridien aus den Konzeptakeln. Wenn nun beim Nahen der Flut das Wasser steigt, so werden Eier und Spermatozoiden frei. Die ersteren sinken — schwerer als das Meerwasser — in den zahlreichen sich bildenden Wasserlachen zu Boden und die letzteren werden durch ihre negative Phototaxis ebenfalls von der hellen Oberfläche nach abwärts geleitet. Ist, wenn die Zeit der Flut in die Nachtstunden fällt, eine phototaktische Reaktion ausgeschlossen, so sorgt dennoch negative Acrotaxis und — wahrscheinlich — positive Geotaxis dafür, daß die Spermatozoiden die Oberfläche des Wassers fliehen und abwärts schwimmen. Kommen die Spermatozoiden in die Nähe eines Eies, so sind sie chemotaktisch gefangen, bis sie auf seine Oberfläche auftreffen und thigmotaktisch festsitzen.

Die chemotaktische Einwirkungszone der Eier kann naturgemäß nur klein sein. Wie wir sehen, ist aber die Bewegungsrichtung der Spermatozoiden in der übrigen Wassermasse nicht sinnlos vom Zufall abhängig, sondern durch die Empfindlichkeit gegen die verschiedenen zusammenwirkenden Reize werden sie in die Nähe der Eier geführt und so die Möglichkeit der Befruchtung erhöht. Wie sich die *Fucus*-Spermatozoiden an einem Standort ohne Gezeiten verhalten, wie z. B. in der Ostsee, ist noch zu untersuchen. Möglicherweise ist hier die Sicherheit der Befruchtung stark herabgesetzt, worauf, wie OLTMANNs erwähnt, das weit spärlichere Auftreten von Keimpflanzen schließen läßt.

Ob auch bei anderen niederen Pflanzen die Befruchtung erleichtert wird durch Empfindlichkeit der Spermatozoiden gegen verschiedenartige Reize, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

Freiburg i. B., September 1922.

Literatur.

- AKERMANN, A. Zeitschr. f. Bot., II., 1910, 94.
 BORDET, J. Bull. de l'Acad. Bruxelles 27, 1894, 863.
 BRUCHMANN, H. Flora 99, 1909, 193.

HOYT, W. D. Bot. Gaz., 49, 1910, 340.

JENNINGS, H. S. Die niederen Organismen. 1914

KNIEP, H. Jahrb. wiss. Bot., 44, 1907, 635.

KUSANO, S. Journal of the college of agriculture, Tokyo, 2, 1909, 1

LIDFORSS, B. Jahrb. wiss. Bot., 41, 1905, 65.

Derselbe. Ber. d. D. Bot. Ges., 23, 1905, 314.

OLTMANN, F. Morphologie und Biologie der Algen, 1904.

PFEFFER, W. Unters. Bot. Inst. Tübingen, 1881—1885. S. 363.

PRINGSHEIM, E. Biol. Centralblatt, 32, 1912, 337.

Derselbe. Beitr. z. allg. Bot., Bd. 2, 1921, 88—137.

ROBBINS, W. J. Biological Bulletin, 33, 1916, 125.

SHIBATA, K. Jahrb. wiss. Bot., 49, 1911, 1.

STRASBURGER, E. Das Bot. Praktikum 1921, XXII.

ULEHLA, V. Biol. Centralblatt, 31, 1911, 645.

YAMANE, Y. Journal of the college of agriculture Hokkaido University. IX.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: [41](#)

Autor(en)/Author(s): Kotte Walter

Artikel/Article: [Zur Reizphysiologie der Fucus- Spermatozoiden. 24-32](#)