

terum, trotz der geringeren Menge der Eier bei dieser Art, darauf hinzudeuten, dass bei dieser viviparen Ephemeride ein geringerer Teil der Nachkommenschaft während der Entwicklung dem Tode anheimfällt als bei den oviparen Arten.

Meine weiteren Untersuchungen sollen vor allem noch auf folgende Punkte gerichtet sein. Findet eine Ernährung der Embryonen im Calyx des Muttertieres statt? Hierzu sei bemerkt, dass ich bisher noch keine sicheren Anzeichen dafür gefunden habe. Ferner bedarf der Mechanismus der Eiablage bzw. der Geburt der Larven bei den Ephemeriden noch einer genaueren Aufklärung, da es bislang noch nicht feststeht, ob dieselbe durch die Tätigkeit der Körpermuskulatur, des luftgefüllten Darmes, oder etwa auf den Wänden des Calyx und Oviduktes befindlicher Muskulatur erfolgt.

Endlich dürfte auch eine genaue Untersuchung der Eireifung bei *Chloëon dipterum* interessante Resultate versprechen. Diese Ephemeride besitzt nämlich die ungewöhnliche Zahl von fünf Chromosomen, was einen eigentümlichen Modus der Reifeteilungen im Ei erwarten lässt.

Zur Kenntnis des Stickstoff-Stoffwechsels bei marinen wirbellosen Tieren.

Von Luigi Sanzo.

Privatdozent der Zoologie und vergl. Anatomie.

(Aus dem Labor. für exp. Pharmakol. zu Messina: Direk. prof. A. Benedicenti.)

I.

Die vorliegenden Untersuchungen, welche zum Ziele hatten, die Frage zu beantworten, ob bei marinen Wirbellosen Harnstoff als Endprodukt des Stoffwechsels vorkommt, was ja bei Wirbeltieren ganz allgemein ist, sind dem Interesse entsprungen, dass das Problem des Stoffwechsels bei diesen Tieren erweckt. Über die feineren synthetischen und dissoziativen Prozesse, die in den Geweben vor sich gehen, besitzen wir ziemlich spärliche Kenntnisse, selbst bei den Vertebraten, und fast gar nichts, wenn wir uns zu den Wirbellosen wenden. Als Ausgangspunkt nun für ein systematisches Studium der Stoffwechselvorgänge, in deren verschiedenen Phasen bei diesen niederen Tieren, soweit es die heutigen Untersuchungsmittel erlauben, scheint vor allem die Kenntnis der Endprodukte des Stoffwechsels; erst mit deren Hilfe können die Bahnen ermittelt werden, in welchen man sich bewegen muss, um mittelst der Analyse und des Experimentes zur Rekonstruktion der in der Natur sich abspielenden Prozesse zu schreiten.

Unter den verschiedenen Stoffwechselendprodukten richtete ich mein Augenmerk auf das Vorkommen des Harnstoffs in der Perivisceralflüssigkeit, im Blute, in der Hämolymphe, der Leber und den Muskeln verschiedener Repräsentanten der marinen Wirbellosenfauna.

II.

Wenn die Untersuchungen über das Vorkommen von Harnstoff in den verschiedenen Körperflüssigkeiten und Geweben der Wirbeltiere zahlreich und die positiv ausgefallenen Resultate dieser Untersuchungen außer Frage stehen, so kann das nicht von auf marine Wirbellose sich beziehenden Schriften behauptet werden, auch sind die darin mitgeteilten Resultate nicht über jeden Zweifel erhaben.

Lacaze-Duthiers (1855)¹⁾ und Riche haben die kristallinischen Sedimente aus dem Auszug der Bojanus'schen Organe von *Lutraria* chemisch untersucht und dabei die charakteristischen Reaktionen der Harnsäure beobachtet; als sie aber die in derselben Weise erhaltenen Produkte von *Maetra* studierten und bei der Murexidprobe auf ein negatives Resultat stießen, ließen sie sich dazu verleiten, zu glauben, die untersuchte Substanz enthielte Harnstoff. Diese Meinung der erwähnten Autoren kann gewiss nicht beachtet werden, insofern hier jegliche sichere Daten über die Darstellung und Nachweis des Harnstoffes fehlen.

C. Voit (1860)²⁾ konnte in den Perlmuscheln keine Spuren von Harnstoff nachweisen.

Paul Bert (1867)³⁾ hatte ebenfalls negative Resultate mit dem Harn von *Sepia*, den er mit Salpetersäure abdampfen ließ.

Rabuteau und Papillon (1873)⁴⁾ suchten nach dem Harnstoff in dem Blute der Krabben in der von Leconte angegebenen Weise: und zwar gaben 53 ccm des Blutes nach der Behandlung mit Bleiacetat 30 ccm Stickstoff; in einem anderen Versuch aber konnten aus 77 ccm Blut nur 21 ccm Stickstoff bekommen werden. Die große Differenz der erhaltenen Resultate der beiden Versuche macht die Genauigkeit der Ausführung derselben fraglich.

Jolyet und Regnard (1877)⁵⁾ behaupten, dass „le sang de crabe-fourteau contient un peu d'urée, de 4 à 5 centig. pour 1000“, aber sie sagen nichts über die zum Nachweis und quantitative Bestimmung des Harnstoffes angewandte Methode.

Fredericq (1878)⁶⁾ behandelte eine kleine Menge Harn, der von einigen Exemplaren von *Octopus* gesammelt wurde, mit Alkohol.

1) Lacaze-Duthiers, Mém. sur l'organe de Bojanus (Ann. des sciences nat., 4. Série, 1855, t. IV., p. 312).

2) C. Voit. Anhaltspunkte für die Physiologie der Perlmuscheln (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 10, 1860, S. 488).

3) Paul Bert, Memoire sur la physiologie de la Seiche (Mem. de la Soc. de sciences phys. et nat. de Bordeaux 5, 1867, p. 115—137).

4) Rabuteau et Papillon, Observations sur quelques liquides de l'organisme des Poissons, des Crustacés et des Cephalopodes (Compt. rend. 77; 1873, p. 135—138).

5) Jolyet et Regnard, Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques (Arch. de Physiol. 2. Ser., Vol. 4, 1877, p. 600).

6) L. Fredericq, Sur l'organisation et la physiologie du Poulpe (Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, II. Ser., 46, 1878, Nr. 11).

setzte dem Filtrate Salpetersäure zu und dampfte ein, aber mit negativem Erfolg.

Krukenberg (1880)¹⁾ suchte nach Harnstoff in der Leber verschiedener Mollusken (*Arca Noë*, *Turbo rugosus*, *Mytilus galloprovincialis*) und in Muskeln mariner Krebse. Die alkoholischen Auszüge der untersuchten Organe hinterließen beim Verdampfen eine kristallinische Masse, welche der genannte Autor für Harnstoff hielt, sich hauptsächlich auf deren kristallographischen Charakter und Löslichkeitsverhältnisse stützend. Dass solche Anhaltspunkte ungenügend sind, um mit Sicherheit das Vorkommen von Harnstoff oder einer ihm analogen Substanz zu behaupten, ist ja klar, besonders wenn man die bedeutenden Mengen basischer stickstoffhaltiger Verbindungen, die in der Leber und den Muskeln von Mollusken vorkommen, die mit Harnstoff nichts gemein haben, in Betracht zieht.

Mourson und Schlagdenhauffen (1882)²⁾ behaupten, ohne jedoch die gebrauchte Methode anzugeben, dass sie in 1000 Teilen der Körperflüssigkeit von *Strougylocentrotus lividus* 3,55 g organischer Stoffe vorgefunden haben, Stoffe, die aus Fettsubstanzen, Lecithin, einen Ptomaïn, ganz geringen Mengen Harnstoff (0,10—0,013⁰/₀), Eiweißkörpern und anderen näher nicht bestimmten Substanzen bestanden.

Griffiths und Jollows (1885)³⁾ untersuchten das Bojanus'sche Organ der Anodonten auf Harnstoff. Nachdem aus dem alkoholischen Auszuge der Alkohol durch Verdampfen verjagt wurde, soll die wässrige Lösung des dabei erhaltenen Rückstandes nach Behandeln mit Oxalsäure einen kristallinischen Niederschlag gegeben haben, der unter dem Mikroskope betrachtet, sich als oxalsaurer Harnstoff erwies.

Mit denselben Bojanus'schen Organen von *Anodonta* beschäftigte sich auch Letellier (1887)⁴⁾. Der Rückstand des alkoholischen Extraktes wurde in Wasser aufgenommen und die wässrige Lösung mit Barythydrat gefällt; das Filtrat wurde nach der Entfernung des Barytüberschusses mit Kohlensäure konzentriert und über Schwefelsäure getrocknet. Der Autor will dabei Kristalle erhalten haben, die das Aussehen von Harnstoffkristallen hätten, wie diese in dem Atlas von Robin und Junke abgebildet sind. Das Behandeln mit Salpetersäure und Oxalsäure hätte Kristalle gegeben,

1) Krukenberg. Beiträge zur Kenntnis der Verbreitung des Harnstoffs und der Amidosäuren bei wirbellosen Tieren (Vergl. Studien, 1. Reihe, 2. Abt., 1880, S. 31—35).

2) Mourson et Schlagdenhauffen, Nouvelles recherches chimiques et physiologiques sur quelques liquides organiques (eau des oursins etc. [Compt. rend. 95, 1882]).

3) A. B. Griffiths und H. Jollows. Chemico-biological examination of the Organ of Bojanus in *Anodonta* (Chem. News, 51, 1885, p. 241).

4) A. Letellier. Etude de la fonction urinaire chez les Mollusques acephales (Arch. de Zool. exper. [2]5^{bis} 1887).

deren Formen denjenigen des salpetersauren und oxalsauren Harnstoffes entsprechen; Natriumhypobromit und das Millon'sche Reagens hätten aus den erhaltenen Kristallen Stickstoff entwickelt. Derselbe Autor untersuchte die Bojanus'schen Organe auch von *Mytilus edulis* auf das Vorkommen des Harnstoffes in ihnen. Er verfuhr dabei in folgender Weise: nachdem das Organ durch Behandeln mit Alkohol und Wasser von den Fetten befreit war, wurde mit basischem Bleiacetat gefällt, und das Filtrat, aus welchem der Überschuss von Blei mittelst Schwefelwasserstoff entfernt war, eingedickt und nach Zusatz von Salpetersäure über Schwefelsäure getrocknet. In der Mutterlauge glaubte Letellier Kristalle zu erkennen, deren Form derjenigen des salpetersauren Harnstoffes ähnlich war.

Halliburton (1893)¹⁾ behauptet in seinem Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie bei marinen Decapoden Krebsen eine prozentual kleine Quantität von Harnstoff nachgewiesen zu haben, teilt aber nichts über die dabei angewendete Methode mit.

Lindemann (1900)²⁾ konnte außer Harnsäure und Ammoniak auch das Vorhandensein von Harnstoff im Harn von *Eledone moschata* konstatieren; der Harn wurde aus den Nephridialsäcken gesammelt, nachdem die Ureteren unterbunden waren, was einen urämischen Zustand hervorgerufen haben soll. Durch Behandeln der Flüssigkeit mit Alkohol erhielt er einen kristallinen Niederschlag, der sich zum Teil in absolutem Alkohol löste. Nach dem Verdampfen des Alkohols blieben Kristalle zurück, die mittelst Natriumhypobromit zerlegt werden konnten und mit Salpetersäure und Oxalsäure die entsprechenden charakteristischen kristallinen Verbindungen gaben; aber auch Lindemann konnte einem Fehler nicht entgehen: er hat nämlich die in Alkohol löslichen stickstoffhaltigen Substanzen, wie Kreatin, Kreatinin und andere, die event. als Endprodukte des ganz unbekanntem Stoffwechsels der Wirbellosen vorkommen könnten, und die dann durch das Hypobromit ebenfalls zerlegt würden, nicht zu eliminieren versucht; so dass schließlich nur die kristallographischen Daten zurückbleiben, die aber viel zu ungenügend erscheinen, wenn es sich um einen sicheren Nachweis von Harnstoff handelt. Zum Schlusse dieses historischen Überblickes möchte ich noch die Beobachtungen von Henze (1905)³⁾ erwähnen, der neuerdings beim Studium der Muskelchemie der Octopoden keinen Harnstoff in diesen Organen gefunden zu haben glaubt.

1) Halliburton. Lehrbuch der chem. Physiologie u. Pathologie 1893, S. 342.

2) Lindemann. Ziegler's Beiträge f. path. Anat. 27, 490.

3) Henze. Beiträge z. Muskelchemie der Octopoden (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 43, p. 477).

Es sind somit einerseits Forscher, die in bezug auf das Vorhandensein von Harnstoff in den von ihnen untersuchten Tierarten zu negativen Schlüssen gekommen sind, andererseits andere, die das Vorkommen dieses Körpers bejahen, aber von diesen letzteren Autoren teilen die einen nichts Näheres über die angewandten Methoden mit, während die übrigen Methoden gebrauchten, die für diesen Zweck ungenügend erscheinen.

Somit wäre die Frage nach dem Vorkommen oder Fehlen des Harnstoffes bei marinen Wirbellosen und besonders nach der Stätte seiner event. Bildung, noch nicht genügend geklärt, weswegen die vorliegenden Untersuchungen als berechtigt erscheinen.

Ich muss aber von vornherein ausdrücklich erklären, dass es auch mir nicht gelungen ist, eine genügende Menge der fraglichen Substanz zu isolieren, die es erlauben würde, ganz sicher zu behaupten, dass in marinen Wirbellosen Harnstoff vorkommt. Eine solche Behauptung könnte nur durch positiven Ausfall der Elementaranalysen der isolierten Substanz berechtigt erscheinen. Leider war es mir aber versagt, dieselbe ausführen zu können, zum Teil infolge der begegneten Schwierigkeiten, zum Teil aber, weil es die kleinen Quantitäten der erhaltenen Substanz nicht gestatteten. Obgleich also meine Untersuchungen in dieser Hinsicht unvollständig erscheinen, kann ihnen doch der bescheidene Anspruch vergönnt sein, folgende zwei Tatsachen bewiesen zu haben:

1. Wenn man Blut, Perivisceralflüssigkeit und Gewebe von marinen wirbellosen Tieren nach derselben Methode behandelt, welche zur Isolierung des Harnstoffes im Blute und den Geweben der höheren Wirbeltiere dient, indem man alle übrigen Substanzen, welche Stickstoffentwicklung geben könnten, eliminiert, so gelangt man schließlich immer zu einem Stoffe, der alle Reaktionen des Harnstoffes gibt und der mit Natriumhypobromit Stickstoff entwickelt;

2. diese stickstoffhaltige Substanz kommt bei allen von mir darauf untersuchten marinen Tieren in wechselnden Mengen vor; die Leber ist als die Hauptstätte ihrer Bildung anzusehen, wie es auch für Harnstoff bekannt ist.

Im folgenden werde ich also von Harnstoff sprechen, indem ich mich, nach den vorangeschickten Erklärungen und so lange kein Gegennachweis geliefert ist, für berechtigt halte, die Identität der stickstoffhaltigen Substanz, die mit der von mir gebrauchten Methode erhalten wurde, mit Harnstoff zu behaupten.

Ich hoffe aber, dass andere Forscher im Besitze größerer Mittel und reicheren Materials den sicheren Nachweis der Identität beider Stoffe führen können werden.

III.

Die Substanz, welche auf event. Vorkommen von Harnstoff untersucht werden sollte, und die, falls fest (Leber, Muskeln) zu

einem Brei verrieben, falls flüssig (Perivisceralflüssigkeit, Hämolymphe, Blut) filtriert wurde, wurde mit der dreifachen Menge von absolutem Alkohol behandelt, um die Eiweißkörper zu fällen. Die Dauer der Einwirkung des Alkohols war von 4—6 Stunden für die Perivisceralflüssigkeit, 8—10 für Blut und Hämolymphe und 1—2 oder noch mehr Tage für Leber und Muskeln.

Das alkoholische Gemisch wurde nun auf eine sehr kurze Zeit zum Sieden gebracht und durch ein kleines Filter filtriert, das, nachdem noch mehrmals mit absolutem Alkohol gewaschen wurde, um die geringsten Spuren von Harnstoff, die event. daran hängen bleiben konnten, zu entfernen. Das alkoholische Filtrat wurde dann auf dem Wasserbade bei 67° eingedampft und im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

Der trockene Rückstand wurde nun mehrere Male mit Alkohol absolut aufgenommen und die Lösung filtriert, um den größten Teil der in der untersuchten Substanz enthaltenen anorganischen Salze zu entfernen. Diese Salze, vorwiegend Chloride, bieten beim Nachweis des Harnstoffes ein großes Hindernis, denn sie gehen, trotz wiederholten Behandeln des Trockenrückstandes mit absolutem Alkohol, immer noch in bedeutender Menge in die Lösung über. Dann hat man, besonders bei der Perivisceralflüssigkeit, schöne Kristalle von Magnesiumchlorid, die durch ihr Aussehen vielleicht manchen Forscher, der sich auf einen oberflächlichen Nachweis von Harnstoff beschränkte, irreführt haben. Diesen Kristallen von Magnesium- und auch Natriumchlorid begegnet man nicht nur nach wiederholtem Behandeln mit absolutem Alkohol, sondern auch nach anderen Behandlungsweisen, welchen man die Gewebe und das Blut unterwerfen kann, um nach Harnstoff zu suchen, und nur schwer gelingt es, sich derselben zu entledigen. Hier möchte ich nur noch ein Beispiel anführen, wie das Vorhandensein dieser Salze bei der quantitativen Analyse des Harnstoffes mittelst des Millon'schen Reagens eine Quelle von Fehlern werden kann. Es ist ja allgemein bekannt, dass eine neutrale Lösung von Harnstoff, die auch Chloride enthält, mit diesem Reagens nur dann eine Fällung zu geben beginnt, wenn die Menge des zugesetzten Reagens diejenige Menge, die nötig wurde um alle vorhandenen Chloride in Quecksilberchlorid zu verwandeln, übertrifft. Es wird also in diesem Falle eine größere Quantität von Quecksilbernitrat verbraucht, als die vorhandene Menge von Harnstoff für sich allein beansprucht. Daher ist es erforderlich, an den gefundenen Werten eine Korrektion auszuführen oder zu versuchen, die Chloride aus der Flüssigkeit völlig zu entfernen, was entweder dadurch geschehen kann, dass man sie mit Silbernitrat fällt, oder dass man den Trockenrückstand mehrere Male mit absolutem Alkohol behandelt, wie es oben auseinandergesetzt wurde.

Der Trockenrückstand, erhalten durch Verdampfen des Alkohols,

wurde dann mit Wasser aufgenommen und mehrmals mit Chloroform geschüttelt, um die Lösung von Farbstoffen, Fetten, Lecithin, Cholesterin u. s. w. zu befreien. Nach der Dekantation des Chloroforms und Verjagen der Spuren desselben, die im Wasser sich lösten, durch vorsichtiges Erwärmen auf dem Wasserbade, wurde die wässrige Lösung filtriert und mit konzentrierter Lösung von Phosphorwolframsäure ein Niederschlag gefällt. Diese Säure erzeugt einen reichen Niederschlag in den aus Muskeln und Leber gewonnenen Lösungen, aber einen geringen, wenn es sich um Perivisceralflüssigkeit handelt. Man weiß ja, dass die Phosphorwolframsäure Peptone, Kreatinin, Hexonbasen präzipitiert und als ein gutes Mittel erscheinen kann, um diese Substanzen zu trennen und zu studieren, wie es neuerdings Henze in seinen Untersuchungen über das Gorgonin und die Jodgorgosäure tat¹⁾.

Nachdem der mit Phosphorwolframsäure erhaltene Niederschlag abfiltriert war, habe ich den Überschuss dieser Säure im Filtrate mit Barythydrat entfernt und nun der Überschuss an dieser Substanz seinerseits mit Kohlendioxyd in Form von Baryumkarbonat abgeschieden. Das jetzt erhaltene Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen, nochmals filtriert, und der Alkohol wiederum verjagt. Ein Teil des gewonnenen Trockenrückstandes wurde dann in wenigen Kubikzentimetern Wasser gelöst und mit dieser Lösung wie auch mit einem anderen Teil des Trockenrückstandes einige qualitative Reaktionen ausgeführt.

Der kristallinische Trockenrückstand bietet dabei folgende Eigenschaften:

1. er verkohlt auf dem Platinblech und schmilzt bei 130°, allerdings nicht in Grenzen eines Grades;
2. er ist löslich in destilliertem Wasser und absolutem Alkohol und unlöslich in Äther;
3. er gibt die Lasseigne'sche Probe und erweist sich somit als stickstoffhaltig.

Die wässrige Lösung des Rückstandes gibt folgende Reaktionen:

1. mit Oxalsäure entsteht ein zahlreicher kristallinischer Niederschlag; bei mikroskopischer Untersuchung stimmen diese Kristalle in ihrem Aussehen völlig mit denjenigen des oxalsauren Harnstoffes überein;
2. mit Salpetersäure wird ein ebenfalls reicher kristallinischer Niederschlag präzipitiert;
3. auch das Millon'sche Reagens erzeugt einen bedeutenden weißen Niederschlag;
4. mit Natriumhyphobromit behandelt, tritt Gasentwicklung auf.

1) Henze. Zur Chemie des Gorgonins. Zeitschr. f. physiolog. Chemie XXXVIII, S. 60.

Quantitative Bestimmung des Harnstoffes.

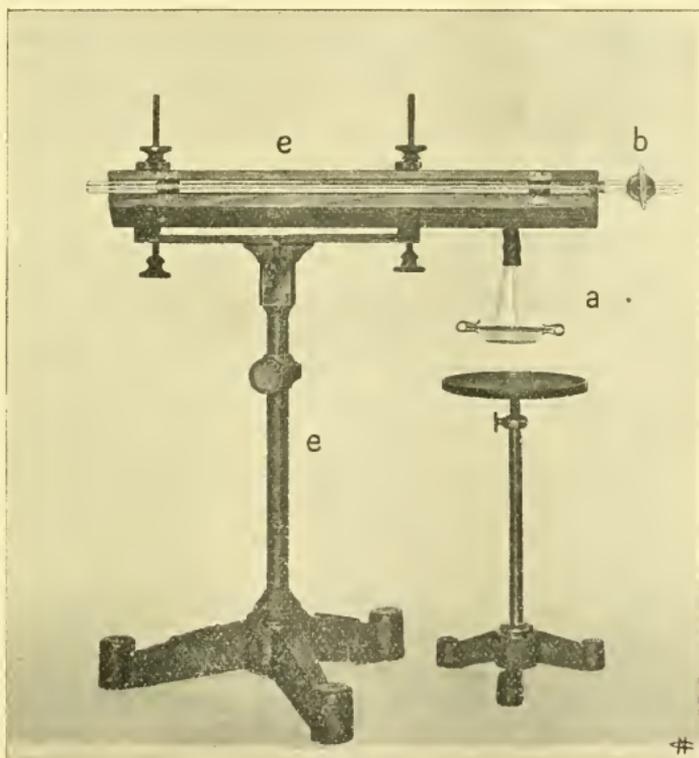
Nachdem festgestellt wurde, dass in den Körperflüssigkeiten und Geweben der von mir untersuchten marinen Wirbellosen eine Substanz vorkommt, die alle Eigenschaften des Harnstoffes hat und wie dieser die Fähigkeit besitzt, mit Natriumhypobromit Stickstoff zu entwickeln, schritt ich zur quantitativen Bestimmung derselben mit Hilfe einer Methode, deren Prinzip auf der letzterwähnten Eigenschaft des Harnstoffes beruht.

Da es sich darum handelte, kleine Stickstoffmengen zu messen, so wurde dazu das Ureometer gebraucht, das von Barcroft für die Untersuchung des Harnstoffes in 1 cem Blut beim Menschen empfohlen wurde. Dieses Ureometer (das eine Modifikation des von demselben Autor angegebenen Apparates für die Analyse der Blutgase darstellt) wurde von mir etwas modifiziert und seine Empfindlichkeit erhöht, so dass man noch $\frac{1}{300}$ mg Harnstoff damit nachweisen könnte. Das von mir gebrauchte Ureometer ist in der beigefügten Figur abgebildet. Es besteht im wesentlichen aus folgenden Stücken: 1. einem Behälter, in welchem die zu untersuchende Lösung der Einwirkung des Natriumhypobromits unterworfen wird, 2. einem graduierten Glasrohr, das mittelst eines Gummischlauches mit dem vorerwähnten Behälter in Verbindung steht und das dazu bestimmt ist, die Ausdehnung des sich entwickelnden Gases zu messen, und 3. einem Stativ.

Der Behälter *a*, dessen ich mich bediente, ist derselbe, welchen Barcroft bei seinem Ureometer angegeben hat. Er besteht aus einem Schälchen mit glattem Rande von 5–6 cem Inhalt und einem Deckel in Form eines Trichters, dessen Ränder mit denjenigen des Schälchens vollkommen zusammenschließen. Der Zusammenschluss wird dadurch erzeugt, dass man die Ränder der beiden Stücke mit Fett einschmiert; vier Klammern tragen zu sicherem Schluss bei. In das Schälchen wird die zu untersuchende Flüssigkeit hereingebracht, während das Natriumhypobromit sich in einem kleinen zylindrischen Gefäße von 1 cem Kapazität befindet, das man auf den Boden des Schälchens stellt. Das graduierte Glasrohr ist geradlinig, sein Lumen ist in der ganzen Länge von gleichem Durchmesser, es ist in Millimeter eingeteilt. Im Lumen dieses Rohres kann sich ein kleiner Zeiger bewegen, der aus einem Tropfen Petroleum besteht. Von den zwei Enden des Rohres ist das eine frei, während das andere, wie aus der Figur ersichtlich ist, einen Hahn *b* besitzt. In der Nähe dieses Hahnes geht vom Glasrohr ein Schenkel ab, der von vorne nach hinten senkrecht zum Hauptrohr zieht und der in der Figur deswegen nicht zu sehen ist. Das Ende dieses Schenkelrohres, das wieder umbiegt und nun parallel zum Hauptrohr verläuft, wird mittelst eines Gummischlauches

mit dem Behälter *a* verbunden. Das ganze graduierte Rohr ist in ein Stück Holz eingerahmt, das seinerseits auf einem Metallstativ ruht, wie solche für Fixierung Liebig'scher Kühler gebraucht werden. Bei dieser Aufstellung kann der Apparat nach Belieben gehoben oder gesenkt werden und das Glasrohr nach rechts oder links schief gestellt, so dass der Petroleumtropfen sich darin bewegen und in die gewünschte Stellung gebracht werden kann.

Um die Bestimmung auszuführen, wird dieser Tropfen auf Null eingestellt (d. h. so, dass er mit dem ersten Teilstrich des Glasrohres zusammenfällt) und nun wird das Rohr in horizontaler Stellung



fixiert. Dann wird in das sorgfältig gereinigte und getrocknete Schälchen 1 oder 2 cem der zu untersuchenden Flüssigkeit ergossen. Auf den Boden des Schälchens wird vorsichtig das Gefäß mit Natriumhypobromit (1 cem ca.) gestellt, wobei man Acht geben muss, auch nur die geringste Menge desselben nicht ausfließen zu lassen. Jetzt wird der Hahn *b* des graduierten Rohres geöffnet, der Rand des Deckels mit Fett eingeschmiert und mit dem ebenfalls mit Fett bedeckten Rand des Schälchens vorsichtig in Kontakt gebracht; die komplette Adhäsion beider Stücke wird noch durch vier Klammern gesichert. Dann überlässt man den Apparat für eine kurze Zeit (1—2 Minuten) sich selber, damit die in dem Behälter enthaltene

Luft, die beim Anfassen desselben mit den Händen während der Fixierung des Deckels sich etwa erwärmen und ausdehnen konnte, wieder zur Temperatur der Umgebung zurückkehre. Nun wird der Hahn *b* geschlossen und der Behälter *a* vorsichtig geschüttelt, so dass das Reagens aus dem zylindrischen Gefäße am Boden des Schälchens ausfließt und mit der zu untersuchenden Flüssigkeit in demselben in Berührung kommt. Das Schütteln soll vorsichtig geschehen, wobei man Acht geben muss, das Schälchen mit dem Deckel selbst nicht mit den Händen in Berührung zu bringen, sondern am Gummischlauch anzufassen, um die Temperatur des im Behälter enthaltenen Gases konstant zu halten. Sobald die beiden Flüssigkeiten vermischt sind, entwickelt sich Stickstoff, der auf den Petroleumtropfen einen Druck ausübt und ihn zwingt, sich in dem Rohre in der Richtung vom Nullpunkt fort zu bewegen; aus der Größe des Abstandes von diesem Punkt kann auf die Menge des entwickelten Stickstoffes geschlossen werden.

Da mir bei meinen Versuchen kein genau kalibriertes und in Zehntel Kubikzentimeter eingeteiltes Rohr (in solchem Falle könnte man die Menge Harnstoff auf Grund des Volums des entwickelten Stickstoffes direkt in Milligrammen berechnen) zur Verfügung stand, so musste ich zur Kalibrierung des Ureometers schreiten, indem ich den Petroleumtropfenabstand beim Behandeln von Harnstofflösungen von 1, 2, 3 u. s. w. Milligramm Gehalt in einem Kubikzentimeter mit Natriumhypobromit bestimmte. Dieses Verfahren wurde von mir mehrmals und mit der größten Sorgfalt ausgeführt, wobei auch der Luftdruck und die Temperaturverhältnisse in Betracht gezogen wurden. Ohne hier auf weitere Einzelheiten einzugehen, möchte ich noch die Aufmerksamkeit des Lesers auf die Tatsache lenken, dass einem Milligramm Harnstoff ein Abstand von 150 mm vom Nullpunkt entsprach; wenn man in Betracht zieht, dass man noch ein $\frac{1}{2}$ mm Abstand leicht bemerken kann, so wird man begreifen, wie empfindlich der von mir bei diesen Untersuchungen gebrauchte Apparat war.

IV.

Ehe ich in der folgenden Tabelle die von mir mit der beschriebenen Methode erhaltenen Resultate mitteile, will ich noch kurz anführen, dass für diese Versuche Vertreter der Mollusken (*Aplysia punctata*, *A. limacina*, *A. fasciata*, *A. depilans*, *Sepia officinalis*, *Loligo vulgaris*), Crustaceen (*Palinurus vulgaris*, *Maja squinado*, *Portunus corrugatus*) und Echinodermen (*Echinus microtuberculatus*, *Arbacia pustulosa*, *Sphaerechinus granularis*, *Holothuria tubulosa*) gebraucht wurden. Von Organen und Körperflüssigkeiten dieser Tiere wurde bei den einen die Perivisceralflüssigkeit (*Mollusca*, *Echinodermata*), bei den anderen Blut oder Hämolymphe

V. Tabelle der erhaltenen Resultate.

Nummer der Experimente	Die auf Harnstoff untersuchte Tierspezies	Die auf Harnstoff untersuchten Körperflüssigkeiten, Gewebe u. Organe	Die Menge der untersuchten Substanz	Die darin gefundene Menge Harnstoff	Gehalt in 100 g Substanz in Milligramm ausgedrückt	Im Mittelwert
I	<i>Aplysia punctata</i>	Perivisceralflüssigkeit	ccm 847	mg 13,0328	1,538	1,95
II	" "	" "	" 150	" 2,1185	1,412	
III	" "	" "	" 200	" 3,5942	1,797	
IV	" "	" "	" 30	" 0,6598	2,199	
V	" <i>limacina</i>	" "	" 20	" 0,5645	2,822	
VI	<i>Aplysia punctata, limacina u. depilans</i>	Leber	g 286	" 31,7432	11,099	13,01
VII	<i>Aplysia punctata</i>	" "	" 30	" 4,7500	15,833	
VIII	" "	" "	" 50	" 6,0580	12,116	
IX	<i>Sepia officinalis</i>	" "	" 45	" 16,7616	37,248	42,09
X	" "	" "	" 45	" 22,2852	49,522	
XI	" "	" "	" 50	" 19,7619	39,523	
XII	<i>Loligo vulgaris</i>	Muskeln	" 100	" 4,1225	4,122	4,03
XIII	" "	" "	" 200	" 5,4760	2,738	
XIV	" "	" "	" 25	" 1,3109	5,243	
XV	<i>Palinurus vulgaris</i>	Blut	ccm 20	" 1,6500	8,250	6,56
XVI	" "	" "	" 20	" 0,9756	4,878	
XVII	<i>Maja squinado</i>	Hämolymphe	" 10	" 0,5184	5,184	3,83
XVIII	" "	" "	" 18	" 0,4451	2,476	
XIX	<i>Portunus corrugatus</i>	Blut	" 10	" 0,3680	3,680	3,68
XX	<i>Palinurus vulgaris</i>	Leber	g 36	" 8,7512	24,308	21,89
XXI	" "	" "	" 20	" 3,8955	19,477	
XXII	" "	Muskeln	" 137	" 6,8333	4,987	6,27
XXIII	" "	" "	" 50	" 3,5421	7,084	
XXIV	" "	" "	" 75	" 5,0595	6,746	
XXV	<i>Echinus microtuberculatus</i>	Perivisceralflüssigkeit	ccm 400	" 7,9289	1,982	2,24
XXVI	" "	" "	" 600	" 15,0909	2,515	
XXVII	<i>Arbacia pustulosa</i>	" "	" 180	" 7,7058	4,281	3,69
XXVIII	" "	" "	" 300	" 9,4642	3,103	
XXIX	<i>Sphaerechinus granularis</i>	" "	" 500	" 18,0625	3,612	3,29
XXX	" "	" "	" 175	" 5,7322	3,275	
XXXI	<i>Holothuria tubulosa</i>	" "	" 450	" 3,5240	0,783	
XXXII	" "	" "	" 400	" 4,2073	1,051	

(*Crustacea*), Leber (*Mollusca*, *Crustacea*) und Muskeln (*Crustacea*) untersucht.

Was die Perivisceralflüssigkeit anbelangt, so bemerke ich noch, dass sie von mehreren Exemplaren derselben Spezies gesammelt und dann die erhaltenen Mengen vereinigt wurden; dasselbe gilt auch für die Leber der *Aplysia* und einiger Crustaceen. Das Blut wurde bei diesen letzteren mit einer Pipette direkt dem bloßgelegten und noch rhythmisch pulsierenden Herzen entnommen.

Aus der Tabelle S. 489 sind die erhaltenen Resultate ersichtlich.

VI.

Auf die in der Tabelle vorgebrachten Daten und auf das früher Gesagte sich stützend, kann man zu folgenden Schlüssen gelangen:

1. Wenn man mit Sorgfalt nach derselben Methode, die zur Darstellung des Harnstoffes aus dem Blute und den Geweben der Wirbeltiere dient und die darauf beruht, alle anderen Substanzen, die die Fähigkeit besitzen, mit Natriumhypobromit Stickstoff zu entwickeln, zu eliminieren, das Blut, die Gewebe und Perivisceralflüssigkeit der marinen wirbellosen Tiere untersucht, so gelangt man schließlich immer zur Isolierung einer Substanz, die mit Natriumhypobromit Stickstoff zu entwickeln vermag.

2. Diese Substanz gibt alle charakteristischen Reaktionen des Harnstoffes, so dass wir sie, so lange das Gegenteil nicht nachgewiesen ist, als mit diesem identisch bezeichnen können.

3. Bei den untersuchten Mollusken und Crustaceen ist diese stickstoffhaltige Substanz in der Leber viel reicher enthalten als in den Muskeln, und in diesen wiederum reicher als in der Perivisceralflüssigkeit.

4. Dieses stickstoffhaltige Endprodukt des Stoffwechsels ist in der Leber von *Sepia* in dreifacher Menge enthalten als in demselben Organ von *Aplysia*, was vielleicht in der verschiedenen Ernährungsweise der beiden Tiere seine Erklärung findet: während *Sepia* sich hauptsächlich von erbeuteten Tieren nährt, dienen den *Aplysien* marine Algen als Hauptnahrung.

5. In den Muskeln von *Loliyo* ist der Prozentgehalt an dieser Substanz relativ sehr gering. Diesem Umstande ist es vielleicht zuzuschreiben, dass Henze in den Muskeln von *Octopus* zu negativen Resultaten gekommen ist, wenn man allerdings annimmt, dass diese beiden zur Klasse der Cephalopoden gehörenden Mollusken auch in dieser Hinsicht sich in gleicher Weise verhalten.

6. Der Prozentgehalt des Harnstoffes in den Muskeln von *Palinurus* ist demjenigen im Blute annähernd gleich; dagegen ist der Gehalt der Hämolymphe von *Maja* und des Blutes von *Portunus* an derselben Substanz geringer als bei *Palinurus*.

7. Bei den Echinodermen ist der Prozentgehalt sehr gering;

unter diesen Tieren ist er bei Echiniden etwa dreimal größer als bei Holothurien.

Nachtrag. Nachdem die vorliegende Arbeit schon geschrieben war, begegnete ich in den Comptes rendus des séances de la Société de biologie Tome LXII, 1907, Nr. 6, 22 Février einer kleinen Abhandlung von M. J. Baylac über die „Composition chimique des liquides d'huitres“; dieser Autor teilt mit, dass er bei der Analyse der zwischen den beiden Klappen der Austernschalen enthaltenen Flüssigkeit u. a. auch eine stickstoffhaltige harnstoffähnliche Substanz¹⁾ vorgefunden habe und zwar 0,16 g pro Liter in den Austern aus Cette und 0,11 g in solchen vom Ozean.

Die Frage der kernlosen Organismen und der Notwendigkeit des Kernes zum Bestehen des Zellenlebens.

Von Dr. Vladislav Ružička.

Privatdozent für allgemeine Biologie in Prag.

Die Frage, ob kernlose Organismen bestehen, wurde in früheren Zeiten in positivem Sinne beantwortet und zwar auch nach der Richtung hin, ob der Kern für das Leben der Zelle unumgänglich und dauernd notwendig ist. Bei vielen niedrig organisierten Lebewesen konnte nämlich bei intravitaler Beobachtung kein Kern konstatiert werden und dieser Umstand bestimmte Haeckel, dieselben im Gegensatz zu wahren Zellen als Cytoden zu bezeichnen.

Auch die Entwicklung der Cytologie nahm eine ähnliche Richtung, denn — obzwar in der bekannten Definition Max Schultze's auf die Gegenwart des Kernes in der Zelle Nachdruck gelegt wird — hat zu derselben Zeit Brücke, der die Zelle als elementaren Organismus hingestellt hat, direkt darauf hingewiesen, dass der Kern aus dem Begriffe der Zelle auszuschließen sei, da er nicht in jeder Zelle zugegen ist. Die auf den Resultaten der Fixierungs- und Färbungsmethoden beruhende Entfaltung der Zelltheorie führte jedoch zu einem Umschwunge in der Beurteilung dieser Verhältnisse, da es gelungen ist, bei Organismen, welche man vordem für kernlos gehalten hatte, den Kern nach Tötung, Konservation und Färbung nachzuweisen. Hierzu sind sodann auch die Resultate der experimentellen Forschungen über die Bedeutung des Kernes für das Zellenleben hinzugetreten, die vor allem von Nussbaum, Gruber, Verworn, Balbiani, Hofer in Angriff genommen worden sind. Durch diese Versuche wurde vor allem festgestellt, dass die des Kernes künstlich beraubte Zelle zwar imstande ist, einige Zeit am Leben zu bleiben,

1) Wörtlich: „Urée (ou matière azotée donnant de l'azote avec l'hyprobromite de soude).“

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [27](#)

Autor(en)/Author(s): Sanzo Luigi

Artikel/Article: [Zur Kenntnis des Stickstoff-Stoffwechsels bei marinen wirbellosen Tieren. 479-491](#)