## Die verschiedenen Generationen und Jugend- und Altersformen in ihrer Einwirkung auf den Ausfall der Präcipitinreaktionen

Eine botanisch-zoologische Studie mit Versuch eines serologischen Wirbeltierstammbaumes

Von Kurt Wilkoewitz und Hermann Ziegenspeck, Königsberg
Mit 2 Figuren

In einer Arbeit von Ziegenspeck (1) Kritisches und Strittiges in Mez, Archiv Band XVI. p. 218 ff. ist schon einmal die Frage aufgeworfen worden, ob sich die Haploidgeneration serologisch anders verhält als die Diplophase. In dieser Arbeit wurde kein Unterschied gefunden.

Von vornherein zeigt die Möglichkeit, aus Moossporophyten Gametophyten doppelter Größe. abersonst gleicher graphischer Gestaltung zu erzielen, daß zwischen beiden Stadien keine grundlegenden Verschiedenheiten bestehen können. zweites Moment, das für diese Auffassung spricht, ist eine Erscheinung, die besonders von Goebel (2) (Organographie II, S. 999) behandelt worden ist: "Das Meristem des Prothalliums (von Trichomanes Kraussii) erfährt eine Umstimmung.  $\mathbf{E}\mathbf{s}$ wird sozusagen einem (nicht aus einer Eizelle hervorgegangenen) Embryo. An diesem Embryo entsteht Sproßvegetationspunkt, an welchem sich noch keine Scheitelzelle herausgebildet hat. Ehe diese auftritt, weist der Embryo schon ein Blatt auf, dann erst wird der mit Scheitelzelle ausgerüstete Vegetationspunkt kenntlich, der nun weitere Blattanlagen erzeugt". Man kann also auch bei diesen aus der Haplophase entstehenden diplophasen-artigen Organen von einer vollkommenen Analogie mit den bei Moosen vorkommenden Verhältnissen reden.

Die große Ähnlichkeit der Gametophyten vieler Farne untereinander ist nun ein Analogon zu der Ähnlichkeit der Larvenformen der Tiere. Und es soll daher bei der potentiellen Gleichheit beider Phasen eine diesbezügliche Studie ausgeführt werden. Hierbei würden wir uns etwa von folgenden Gedankengängen leiten lassen:

Die Gestaltung, welche eine der beiden sich potentiell gleichen Generationen durchmacht, ist in weitem Maße von der Art der Lebensbedingungen abhängig. Keimt eine zur Regeneration gezwungene Zelle diploider oder haploider Natur rein vegetativ, so muß sie die Gestaltungsbedingungen der Jugendform durchmachen. Da diese vielfach - z. B. bei den Alsophilen lebermoosartig - mit der der Vorfahren übereinstimmt, so ist sie eine Form im Sinne des biogenetischen Lehrsatzes. Wollen wir vorsichtiger sein, so können wir sagen, die Gestalt gleicht der phylogenetisch Sie ist entweder durch die Bedingungen der Umwelt in ihrer Gestaltung bedingt, oder die erblichen Anlagen sind das treibende Moment der Reaktion auf diese Bedingungen und erzeugen eine sonst nur schlummernde ancestrale Gestaltung. Der Gestaltswechsel im Sinne des biogenetischen Lehrsatzes kann potentiell sowohl vom Gametophyten wie vom Sporophyten durchgeführt werden. Da aber in der Regel die Anhäufung von Stoffen "hormonalen Charakters" oder von Nährstoffen schlechthin nur auf eine Eizelle so einwirkt, daß sie mit oder selbst ohne Befruchtung zur Erzeugung der Protoplasma-Stoffe der Folgeform imstande ist, wird diese nur auf dem Wege einer parasitischen Entwicklung auf einer anderen Generation erreicht. Daß tatsächlich die Folgeform auch ohnedem in mancher Hinsicht ausnahmsweise erzeugt werden kann, beweisen die Sporangien vom Baue des Wedels an Prothallien (siehe Goebel). Die Fragestellung nach der Eiweißdifferenziation des Prothalliums erlaubt uns zugleich die Frage nach dem Ursprung der anderen Organisation. Ist diese durch Umwandlung im Sinne des biogenetischen Lehrsatzes innerhalb des Idioplasmas bedingt, oder sind es mehr Faktoren, welche in der Pflanze liegen? Könnte man nicht daran denken, daß eine gewisse Menge von Nährstoffen, eine gewisse Masse von Wuchshormonen vorhanden sein müssen, um eine mit gleichem Idioplasma veranlagte Zelle zum Ausgangspunkte der Jugend- oder Altersform zu machen?

Bevor wir die serologischen Versuche besprechen, wollen wir die Antwort auf diese Fragen durch die Beobachtungen der Organographie zu geben versuchen. Wir erinnern besonders an die Versuche mit den Moosprotonemen. Ohne weiteres gelangen bei vielen Moosen aus den Blättern einzelne Zellen zur Ausbildung von Protonemen. Wir können diese unmittelbar aus der doch im obigen Sinne fortgeschrittenen Eiweißdifferenziation erhalten. Lassen wir die Ernährungsbedingungen eigenartig verlaufen, so können wir ein mächtiges Protonema bei *Philonotis* usw. (siehe u. a. Goebel, 3. Organographie I S. 365) erzielen, das tatkräftig wächst, aber nie, wenn die Bedingungen gleichbleiben, die Gestalt der Folgeform annimmt. Denn auch die Moospflanzen und ihr Protonema sind letzten Endes Larvenstadium und Imago.

Man müßte schon an eine Rückbildung der Eiweißdifferenziation bei den Regenerationsprozessen denken, wofür man allerdings die Teilung der sich regenerierenden Zellen in je einen kleineren und einen größeren Kern besitzende Zellen heranziehen könnte. Auch die Spor-Elaterteilung, wie sie uns Goebel geschildert hat, könnte ein phantasiebegabter Anhänger als Hilfshypothese heranziehen. Diese auch sonst beim Absterben jugendlicher, teilungsfähiger Bildungsquellen stattfindende Teilung könnte als ein Abstoßen von Idioplasma zu hoher Differenziation gedeutet werden.

Demgegenüber kann man die Vochtingschen Versuche mit den Knospen am Grunde der Blütenstände von Beta anführen. Hier sind es die Eigenschaften des Untergrundes, welche über die Gestaltung des Propf-Auges entscheiden. Sollte nicht der ganze Generationswechsel eine homologe Erscheinung sein, die durch die Gegenwart von "Hormonen" oder auch "Nährstoffen" den Entscheid gibt, was aus einer zur Entwicklung determinierten Zelle wird, eine Jugend- oder eine Altersform?

Wir kommen also auch auf diesem Wege zu einer Ablehnung der Eiweißdifferenziation auf Grund des biogenetischen Lehrsatzes. Dafür, daß eine Propfung immer auf noch wachstumsfähigen Zellen oder Geweben erfolgen muß, gibt die ganze Kunst der Gärtner viele Beispiele. Das hat aber mit der Eiweißdifferenzierung wenig zu tun. Das Reis muß stets mit dem Kambium der Unterlage in Berührung sein. Nur dort, wo Bildungsgewebe auf Bildungsgewebe stößt, ist Entstehung eines Kallus leicht möglich. Nur da können Reis und Unterlage zusammenwachsen.

Hier sind beide Folgeformen. Die Transplantation kann dabei unter Umständen auch zwischen entfernteren Arten erfolgen, aber wohlgemerkt, immer Folgeform auf Folgeform. Auf die korrelativen Einflüsse soll hier nicht allzu ausführlich eingegangen werden, da sie mit dem Thema selbst nicht unmittelbar zusammenhängen.

Dagegen machen wir hierbei die Erfahrung, daß oft die primitiven Formen besonders geeignet als Unterlage sind. Die Peireskia-Arten sind vorzüglich als Unterlage für höhere Cacteen zu verwenden. Doch ist auch in diesem Fall die Differenz der einzelnen Arten bekannt. Man muß bedenken, daß bei diesen "Reaktionen" auf die Verwandtschaft der Pflanzen außer der Eiweißdifferenziation noch ganz andere Dinge wie Korrelation, Regenerationsvermögen usw. in Frage kommen und die Resultate trüben.

Es leuchtet ein, daß wir auf Grund obiger Ausführungen zur Ablehnung der biogenetischen Eiweißdifferenziation für den Bereich der Pflanzen kommen mußten. Doch können wir unsere Folgerung an Hand der serologischen Ergebnisse noch viel besser beweisen.

Es gibt zu diesem Zwecke zwei Wege. Entweder man immunisiert mit Sporen (also der frühesten Jugendform) ein Tier und prüft die Reichweite des Immunserums gegen die Sporen und den Extrakt der ausgewachsenen Pflanze. Zugleich ist auf die Folge der Verwandtschaft Gewicht zu legen. Wenn biogenetische Eiweißdifferenziation vorhanden ist, so müßte sich das "Imago" entfernter verwandt zeigen als Gruppen primitiver Gestaltung. Zum mindesten muß es mit geringerem Ausschlage reagieren als das Sporenmaterial. Umgekehrt müßte ein Serum mit dem "Imago" gegen den Sporenextrakt ferner reagieren als gegen den Extrakt aus ausgewachsenen Teilen. Auch wird der Vergleich des Sporen- und des "Imago"-Tieres sehr lehrreich sein. Bei der Voraussetzung, daß das Sporenmaterial tiefer steht, müßte sich die Richtigkeit dieser Annahme durch die abweichenden Reaktionen der in Vergleich gebrachten Substanzen ergeben.

Versuche dieser Art liegen vor von Guttmann (4) (Mez, Archiv Band VI, S. 421). Er immunisierte (S. 421) ein Tier mit Kraut von *Equiselum palustre*. Um dieses einer Immunisation zugänglich zu machen, erfolgte die Extraktion des feinsten Pulvers mit Kalilauge. Seine Ergebnisse sind (5, S. 438):

8 Equisetum palustre Sporen 1:100	NaCl	4442
8 Equisetum palustre Kraut	KoH	5441
8 Equisetum palustre Kraut	NaCl	4330
7 Lycopodium clavatum Sporen		3321
7 Lycopodium Selago Kraut		3310
7 Marchantia polymorpha	KoH	3321
	NaCl	3320
5 Selaginella Krausiana		3320
5 Osmunda regalis Sporen		3320
2 Struthiopteris germania Sporen		33 <b>20</b>

wobei die Zahlen vor den Namen den Ausfall der Präcipitation, diejenigen hinter den Namen den der Conglutination angeben.

Bei seinem *Lycopodium*-Sporentier hat er ebenfalls von *Selaginella Krausiana* Sporen nebst Kraut eingesetzt (6, S. 439—440):

9 Lycopodium clavatum		KOH	5532
9 Lycopodium clavatum		NaCl	4400
Selaginella Krausiana Kraut		. кон	<b>5530</b>
8 Selaginella Krausiana Sporer	1	KOH	4431

#### Die anderen Reaktionen waren:

8 Equisetum palustre Sporen		4443
Marchantia polymorpha	кон	3310
3 Marchantia polymorpha	NaCl	3220
3 Osmunda regalis Sporen	кон	4320
Aneimia Phyllitidis Sporen	NaCl	3310

Vom Seluyinella-Krauttier aus wurden ebenfalls Sporen und Kraut eingesetzt (7, S. 442-443):

Selaginella Krausiana Kraut	кон	5432
Selaginella Krausiana Kraut	NaCl	4333
Selaginella Krausiana Sporen	кон	53320
Marchantia polymorpha	NaCl	33200
Botrychium Lunaria	NaCl	44410
Lycopodium clavatum	NaCl	33320
Aspidium filix mas	NaCl	32220
Equisetum palustre	NaCl	33320

Wir können in den Ergebnissen dieser Versuche, die noch ohne Sterilisation und ohne Beseitigung von Gerbstoffen durch Gelatine angesetzt wurden, keinerlei zwingende Gründe zu der Annahme einer biogenetischen Eiweißdifferenziation erblicken.

Auch wir haben nach der neueren Methode (über die Technik siehe weiter unten) einen Versuch in dieser Hinsicht unternommen. Wir immunisierten ein Tier mit Sporensuspension von *Alsophila*. Es resultierte folgendes:

7 Alsophila Kraut	554	3 Marsilia	332
7 Alsophila Sporen	554	6 Trichomanes	544
7 Dicksonia	554	5 Azolla	322
7 Cyathea	554	7 Osmunda	554
6 Dennstaedtia	553	7 Todea	554
6 Gleichenia	554	7 Marattia	543
7 Aneimia	553	7 Angiopteris	552
5 Schizaea	532	7 Botrychium	<b>4</b> 43
5 Pilularia	331	6 Ophioglossum	433

7 Helminthostachys	441	5 Ginkgo	321
6 Stangeria	332	5 Psilotum	322
6 Bowenia	332	3 Anthoceros	110
5 Cycas	333	3 Lycopodium	100
- Dioon	221	4 Vittaria	321
4 Ceratozamia	220		

Auch hieraus geht hervor, daß keinerlei Unterschiede in der Reichweite der Sporen wie des Krautes vorhanden sind. Zum Überfluß steht uns ein Alsophila-Zentrum von Conradi (8) (Mez, Archiv Band XIV. S. 111—113) zur Verfügung:

7 Alsophila		6666	7 Trichomanes	6666
5 Dicksonia		<b>444</b> 3	6 Osmunda	6666
3 Cyathea		<b>44</b> 32	7 Todea	6666
4 Microlepis		5554	7 Marattia	4442
4 Aneimia		55 <b>44</b>	3 Ginkgo	4441
4 Pilularia	•	<b>444</b> 3		

Die Entfernungsreaktionen stimmen also, so gut wie nur bei serologischen Reaktionen zu erwarten, überein. Damit dürfte die biogenetische Eiweißdifferenziation für die Pflanzen erledigt sein. Das, was wir mit den Reaktionen fassen, ist eben das Idioplasma, zumal es bekannt ist, daß durchaus nicht alle Eiweißstoffe in Reaktion treten.

Es ist nun unsere Aufgabe, diese Versuche auch auf

## Zoologische Objekte

auszudehnen. Wenn die biogenetische Eiweißdifferenziation in der Botanik nicht gilt, so könnte sie sich doch in dem komplizierteren Tierreiche mit seiner oft fehlenden Äquipotentialität der Zellen herausgebildet haben.

In der zoologischen Literatur besteht eine Arbeit von Braus. der einen Unterschied der Phasen gefunden haben will.

Anläßlich einer serologischen Behandlung der Eier, Larven und Imagines einer Unke kam Braus (9) (Über das biochem. Verhalten von Amphibienlarven. Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen 1906, Band 22) zu dem Schluß, daß die jugendlichen Formen eine noch nicht so hohe Eiweißdifferenziation besäßen wie die erwachsenen Tiere. Es muß daher unsere Aufgabe zunächst darin bestehen, diese für die Entwicklungsmechanik außerordentlich wichtigen Ergebnisse einer kritischen Betrachtung zu unterziehen. Handelt es sich doch bei der Auswertung um nichts Geringeres, als um eine eventuelle "Erklärung" des biogenetischen Lehrsatzes von Haeckel. Es würde uns dabei ganz leicht fallen.

die geringe Gliederung der Larvenstadien und die doch unverkennbare Ähnlichkeit der Stadien verschiedener sich ferner stehender Lebewesen zu begreifen. Um in der Zoologie zu bleiben, würden wir ohne weiteres eine gewisse Erklärungs-Möglichkeit dafür haben, daß das Veliger-Stadium bei ganzen Gruppen fast gleich ist. Veliger-Larve der Mollusken erinnert sehr an die Trochophora der Sie ähnelt stark den Larven der Echinodermen und gleicht in ihrem Bau den Rotatorien. Man könnte sagen: Jedes Lebewesen macht bei seiner Evolution die Stadien der Eiweißdifferenziationen seiner Ahnen der Reihe nach durch und muß daher auch gestaltlich die Stufen durchmachen. Es kann diese Theorie nur unterstützen, wenn wir als weitere Beispiele das Kaulguappenstadium der Frösche, die bilateralsymmetrischen Formen der Echinodermenlarven und selbst den Menschen anführen, dessen Embryo auf früher Entwicklungsstufe durchaus nichts Menschenähnliches an sich hat. Im Gegenteil, die Kiemenspalten, gewisse Teile des Skeletts, die ganze Anordnung des Herzens und der Kiemenbögen sprechen eher für eine Verwandtschaft mit den niedersten Wirbeltieren, den Fischen. Wir hätten somit eine völlige Rekapitulation der ganzen Entwicklung des Idioplasmas.

Nur eins würde uns dann noch schleierhaft sein: Warum entwickelt es sich aber fort? Was ist das treibende Agens? Wollen wir diesen Gedanken ganz retten, so bleibt uns weiter nichts übrig, als entweder einen Zusatz zum Idioplasma anzunehmen oder überhaupt auf den Gedanken einer stofflichen Grundlage der vererbenden Substanz zu verzichten. Es wäre vielleicht noch möglich, daß sehr frühzeitig eine gewisse Differenziation der vererbenden Substanz aufträte. Es würde förmlich die wirklich die Fortbildung bedingende Substanz etwa in "Organisatoren" u. dgl. von der anderen auf niederer Stufe stehenbleibenden Substanz getrennt. Die notwendige Folge davon wäre eine substantielle Differenz verschiedener Teile eines sich entwickelnden Individuums. Auf jedem Stadium müßte sich der Hauptteil auf dem undifferenzierten Stadium befinden. Der die Entwicklung hervorrufende Teil müßte anderswo lokalisiert sein.

Gewiß, es gibt eine Reihe von Fällen, wo die Fortentwicklung an besondere Organe geknüpft ist. Die alten ursprünglichen Organe werden durch Freßzellen usw. eingeschmolzen. Ein Beispiel hierfür wären die Vorgänge in der Schmetterlingspuppe.

Daß der Vergleich aber hinkt, dafür zeugt, daß ein großer Teil des Larvenkörpers sehr häufig unmittelbar ohne Einschmelzen in den Körper des weiteren Stadiums übergeht. Diese Einschmelzungsprozesse sind durchaus nicht so allgemein verbreitet. Zudem ist die Masse der Keimbahnen häufig ziemlich groß. Gerade im Falle der Anuren wird eigentlich nur ein geringer Teil des Körpers eingeschmolzen.

Es soll nun unsere Aufgabe sein, die Arbeit von Braus im einzelnen zu besprechen und nachzuprüfen, ob ihre Resultate geeignet sind, solche weitgehenden Schlüsse zu tragen.

Der Ausgang der Brausschen Arbeit sind die Kompositionen von Anurenlarven. Bei diesen gelang es Born, auch entfernter stehende Arten wie Rana esculenta und Bombinator igneus für kurze Zeit lebensfähig zu koppeln. Die Möglichkeit, nur jugendliche Stadien koppeln zu können und die Lebensunfähigkeit dieser "Sektorialchimären" im erwachsenen Zustande fand von demselben keinerlei Erklärung. Viel länger gelang nun Braus die Verbindung von Rana esculenta mit Bombinator pachypus. Während das bei jüngeren Lebewesen doch einige Zeit — bis 5 Wochen — der Fall war, hatten korrespondierende Versuche mit Imagines kaum Erfolg.

Er glaubte nun an eine Art Präcipitinreaktion der beiden Komponenten. Das ist sicher richtig. Der jugendliche Organismus kann langsam eine Gewöhnung beider Komponenten erreichen. Diese entwickeln sich nun korrelativ miteinander und geben ein harmonisch gegeneinander abgestimmtes Ganzes. Wir möchten diese Korrelationen, die sich durch die gemeinsame Entwicklung ergeben, betonen.

Braus machte sich nun diese auf der Hand liegende Erklärung nicht zu eigen, sondern versuchte die Erscheinungen so zu deuten, daß sich auch bei dem normalen Leben erst nach und nach die spezifischen Stoffe bilden, welche bei der Präcipitinreaktion beteiligt sind. Drastisch ausgedrückt würde eben das Lebewesen bei seiner Metamorphose förmlich auch in biochemischer Hinsicht die Ahnenreihe durchleben. Zu diesem Zwecke versuchte er Kaninchen mit Gewebebrei von Larven zu immunisieren. Die frischen Gewebe wurden mit Sand verrieben und nun der grobe Sand dekantiert, während die Gewebeanteile injiziert wurden. Es zeigte sich dabei eine sehr geringe Reaktion der Tiere, die noch am besten war, wenn er größere Mengen des dichteren Bodensatzes injizierte. Aber niemals waren starke Wirkungen am Kaninchen zu ersehen. Da nach dem Schlachten der Tiere auch keine Präcipitinreaktion mit

Extrakten aus jungen und alten Stadien der Rana sowohl wie des Bombinator zu bemerken war, schloß er auf das Fehlen irgendwelcher spezifischen Stoffe.

Nach unseren Erfahrungen mit solchen Gewebebrei-Injektionen, die wir besonders der Anregung einer Arbeit von Zimmermann (10) (ZIMMERMANN, Experimentelle Beiträge zur Blutüberpflanzung und zur Blutresorption 1921) verdanken, ist dieses Ergebnis gar nicht überraschend. Bei intraperitonealer Injektion kann nur dann eine Immunisation erfolgen, wenn die Stoffe unverdaut durch die Lücken des Zwerchfells in die Lymphbahnen gelangen (l. c. S. 44) (11). Die Aufnahme der Stoffe erfolgt "durch Öffnungen zwischen den Endothelzellen des Peritoneums am Zentrum tendineum des Zwerchfells, und zwar an Stellen, wo mehrere Epithelien zusammenstoßen. Diese Öffnungen, etwa doppelt so groß wie die roten Blutkörperchen, stehen nach oben in direkter Verbindung mit der Lymphbahn." Hier werden (12) (Mez und Ziegenspeck, Zur Theorie der Serodiagnostik, in Mez, Archiv, Band XII, S. 182 ff.) die Immunkörper durch Verdauung aus diesen Stoffen erzeugt. In dem von Braus angegebenen Falle sind die Fremdkörper nicht in so feiner Verteilung gegeben worden, daß sie leicht eindringen konnten. Eine geringfügige oder ausbleibende Immunisation war die Folge.

Braus immunisierte sodann mit erwachsenen Tieren und bekam eine gute Immunisation. Jedoch war keinerlei Reaktion mit Larvenstadien zu erzielen. Auch das ist unseres Erachtens kein Beweis dafür, daß die Larvenstadien keine Antigene enthalten, sondern daß sich diese nur schwer auf so einfachem Wege in Lösung bringen lassen.

Besonders zu denken gibt auch bei seinen Angaben die Unmöglichkeit, aus etwas älteren Larven reagierende Extrakte zu erzielen.

Wir möchten noch kurz die Zusammenfassung von Braus (13) zitieren. Er sagt:

- 1. "Ein chemischer Körper, welcher in erwachsenen Exemplaren von Bombinator pachypus existiert, und zwar dadurch charakterisiert ist, daß er im Serum von Kaninchen ein für Bombinator spezifisches Präcipitin erzeugt, ist bei Embryonen von derselben Bombinator-Art nicht nachweisbar. Es besteht also bei den Unken eine wichtige biochemische Differenz zwischen embryonalen und ausgewachsenen Körperelementen."
- 2. "Der unter Nr. 1 charakterisierte chemische Körper ist auch in solchen Stadien der Embryonalentwicklung noch nicht nach-

weisbar, in welchem eine lebhafte Blutzirkulation zustande kommt, mittels derselben in Kompositionen aus art- oder gattungsgleichen Komposenten ein schädliches Einwirken artspezifischer Substanzen seitens der Parasiten auf den Autositen oder umgekehrt angenommen werden könnte und in der Tat durch die bisherigen biologischen Versuche eine Verzögerung und Hemmung der Entwicklung beobachtet wurde. Letztere kann also nicht auf einer vergiftenden biochemischen Wirkung seitens des genannten artspezifischen Körpers beruhen. Vielleicht ist sie nur eine durch ungeeignete technische Maßnahmen bedingte Zufälligkeit."

Daß diese Resultate heute keinen Anspruch auf Gültigkeit mehr haben, wollen wir an Hand unserer Ergebnisse darzulegen versuchen.

Wir verfuhren nach der im Botanischen Institut zu Königsberg üblichen Methode der Konglutination und Präcipitation (14) Anleitung zu sero-diagnostischen Untersuchungen Botaniker, in Mez, Archiv I, Heft 4, S. 177 ff., und Mez und ZIEGENSPECK, Zur Theorie der Sero-Diagnostik, in Mez, Archiv, Band XII, S. 163 ff. und 186 ff.). Das zu injizierende Material wurde 8 Tage mit Alkohol und 8 Tage mit Äther extrahiert, getrocknet, zu feinstem Pulver zerrieben und durch ein dichtes Tuch gebeutelt, um eine Gewähr für allergenaueste Zerteilung des Materials zu erhalten. Das so gewonnene staubfeine Pulver wurde in 10 ccm Olivenöl suspendiert den Kaninchen intraperitoneal in-Auf diese Weise wurden die Vorbedingungen dafür geschaffen, die Stoffe durch die schon erwähnten feinsten Öffnungen zwischen den Endothelzellen des Peritoneums auf schnellstem Wege in die Lymphbahnen gelangen zu lassen und so eine Immunisation zu erzielen.

Das erste Versuchstier bekam am 21. 6. 26 eine Spritze mit 0,05 g Larvenmaterial von Rana esculenta. Die Reaktion war schwach. Das Tier bekam heiße Ohren, zeigte beschleunigte Atmung, war aber nach ca. ¼ Stunde wieder ganz mobil. Am 23. 6. wurde die Dosis auf 0,1 g/10 ccm Suspension gesteigert. Dieses Mal war die Reaktion wesentlich stärker. Das Kaninchen streckte die Beine von sich, lag lang auf der Seite und hatte wiederum heiße Ohren und beschleunigte Atmung. Die Erscheinungen klangen nach ca. 1 Stunde ab. Doch vergingen immerhin noch einige Stunden, bis das Tier wieder einen völlig normalen Eindruck machte. Bei der 3. und 4. Spritze in derselben Dosierung am 29. 6. und 6. 7. war die

Wirkung nicht so stark wie bei der zweiten. Am 14. 7. bekam es dann die fünfte Gabe (wieder 0,1 g), die auch dieses Mal stark beschleunigte Atmung, Langliegen und Anziehen der Hinterbeine hervorrief. Die nach 2 Tagen vorgenommene Probeblutentnahme ergab, daß das Tier bereits immun war. Dazu waren als Extrakte benutzt worden:

1. Larven v. Rana esculenta, 2. Imago v. Rana esculenta, 3. Triton.

	,,	
1. +	2. +	3. +
+	+	+
+	+	+
+	+	+
+	+	+
+	+	_

Die Extraktbereitung geschah auf folgende Weise: Um zu vermeiden, daß toxische oder fremde Proteinstoffe die Resultate trüben könnten, wurde der Darmtraktus entfernt, desgleichen kamen Ovarien. Haut und Knochen nicht zur Verwendung. Die übrigen Organe wurden wieder 8 Tage mit Alkohol und 8 Tage mit Äther extrahiert. Die getrockneten Substanzen wurden dann auf oben beschriebene Weise zerrieben und gebeutelt. Von den Pulvern wurden je 0,1 g mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung, der wir der besseren Haltbarkeit wegen stets 0.4% Phenol zusetzten, übergossen, ½ Stunde ausgezogen und dann filtriert. Von diesen Extrakten wurden zu den Konglutinationen in jedes Glas je 1 ccm gegeben. Rinderserum kam in jedes Glas ½ ccm. Immunserum: 1. Glas 0,1, 2. Glas 0,05, 3. Glas 0,333, 4. Glas 0,01566, 5. Glas 0,00833. Die Kontrollen bestanden aus 1 ccm Extrakt, ½ ccm Rinderserum, 0.2 ccm Normalserum. Abgelesen wurde in Abständen von 30 Min. Zu den Präcipitationen gaben wir in jedes Reagensglas 1 ccm Extrakt in sinkender Konzentration: 1. Glas 1:200, 2. Glas 1:400, 3. Glas 1:800, 4. Glas 1:1600, 5. Glas 1:3200, 6. Glas 1:6400, 7. Glas 1:12800, 8. Glas 1:25600. Dazu Immunserum je 0,1 ccm. 2 Kontrollen: 1. 1 ccm Extrakt 1:200, 2. 1 ccm Extrakt 1:2000. in beide je 0,1 ccm Normalserum.

Am 18. 7. wurde das immunisierte Tier getötet, und es ergaben sich nachstehende Resultate, wobei die Zahlen vor den Namen den Ausfall der Präcipitation, die Zahlen hinter denselben den der Konglutination bedeuten.

4	Rana	esculenta,	Larven	442
4	Rana	esculenta,	Imago	442
4	Bufo	vulgaris,	Imago	432

Daraus sehen wir, daß die Larven sehr wohl als Antigen wirkende Stoffe enthalten. Desgleichen waren keinerlei Wirkungsunterschiede gegenüber den erwachsenen Tieren festzustellen.

Zur Vervollständigung der Untersuchungen war es nun zweckmäßig, ein Serum durch Immunisation eines Kaninchens mit ausgewachsenen Fröschen zu gewinnen. Denn wenn unsere bisherigen Feststellungen richtig sein sollten, mußten wir ja auf dem umgekehrten Wege (Serum—Imago, Extrakt—Larven) dasselbe Resultat erzielen.

Bei der Immunisation ergab sich das gewohnte Bild. 2. 5. 27 bekam das Kaninchen 0.05 g Rana-Material in der beschriebenen Weise. Die Reaktion war nur schwach, so daß die Dosis am 4. 5. auf 0.1 g gesteigert wurde. Jetzt wurde das Tier dadurch sehr stark angegriffen. Es legte sich lang auf die Seite, streckte die Beine von sich und zeigte kurze, sehr beschleunigte Atemstöße. Es hatte sehr heiße Ohren und war im übrigen völlig apathisch. Dieser Zustand dauerte ca. 2 Stunden, worauf allmählich Besserung eintrat. Erst nach Verlauf von mehreren Stunden machte es wieder normalen Eindruck. Am 6. 5. bekam es eine weitere Spritze in derselben Höhe, die gleichfalls eine starke, doch im Vergleich zur vorigen bereits abgeschwächte Reaktion auslöste. Die am 9. 5. vorgenommene Probeblutentnahme ergab Immunität des Tieres. Am 11, 5. wurde es geschlachtet, und wir erhielten:

6	Rana	esculenta,	Laich	542
6	Rana	esculenta,	Larven	542
6	Rana	esculenta,	Imago	542

Also auch hier war keinerlei Unterschied zu finden. Nach diesen Ergebnissen glauben wir die Arbeit von Braus für widerlegt halten zu können. Es dürfte dort durch irgendeinen schwer kontrollierbaren Umstand die Extraktion der Antigenstoffe nicht eingetreten sein.

Damit ist die Hypothese von dem Auswirken des biogenetischen Lehrsatzes in der Entwicklung erledigt. Dieser war ja von Anfang an deshalb unwahrscheinlich, weil das Idioplasma in den verschiedenen Entwicklungsstadien gleich war.

Aber noch ein anderer Weg ist möglich, um die Gleichwertigkeit von den Seren aus Larven und Imago zu zeigen, nämlich die Reichweite gegen andere Extrakte phylogenetischer Differenz. Wenn ein Larvenserum auf einer phylogenetisch jüngeren Stufe stände, müßte es einen tieferen systematischen Stand des Tieres anzeigen als das Serum der erwachsenen Tiere. Dies bedenkend, setzten wir die Seren mit Tieren näherer und entfernterer Verwandtschaft an.

### Erstes Zentrum: Larven von Rana esculenta:

4 Rana esculenta, Larven	442	1 Anguilla vulgaris	100
4 Rana esculenta, Imago	<b>44</b> 2	1 Unio	000
4 Bufo vulgaris, Imago	<b>4</b> 32	0 Helix pomatia	000
3 Testudo graeca	311	1 Lumbricus terrestris	000
4 Triton	432	1 Bos taurus	000
2 Columba	200	1 Felis domestica	000
1 Anas domestica	200	1 Mus musculus	000
2 Gadus aeglefinus	200		

#### Zweites Zentrum: Imago von Rana esculenta:

6 Rana esculenta, Laich	542	6 Scyllium	<b>4</b> 31
6 Rana esculenta, Larven	<b>54</b> 2	6 Raja	431
6 Rana esculenta, Imago	<b>542</b>	4 Ciona intestinalis	110
4 Testudo graeca	322	5 Gadus aeglefinus	431
5 Lacerta agilis	432	4 Anguilla vulgaris	321
4 Anguis fragilis	322	2 Unio	110
3 Columba	220	3 Lumbricus terrestris	210
3 Anas domestica	220	1 Helix pomatia	110
6 Amphioxus lanceolatus	322	3 Hirudo medicinalis	110

Das zweite ist ein stärkeres Serum und hat daher kräftigere und weitergehende Reaktionen. Das Wesentliche ist aber in beiden Fällen die gleiche Anordnung der Reagenzien.

Auch andere Sera haben wir zur Kontrolle der Stellung der Anuren im Larvenstadium. Die nun folgenden sind Kunstsera:

## 1. Kunstserum: Bufo vulgaris.

6 Rana esculenta, Larve	<b>5</b> 55 <b>4</b>	3 Anguilla	<b>330</b> 0
6 Rana esculenta, Imago	5554	1 Unio	3200
6 Bufo vulgaris, Imago	5554	1 Helix	3200
5 Testudo graeca	<b>554</b> 3	2 Lumbricus	3310
4 Triton	5540	0 Bos	0000
3 Columba	<b>3</b> 310	1 Felis	0000
2 Anas	<b>3</b> 210	1 Mus	0000
4 Gadus	5421		

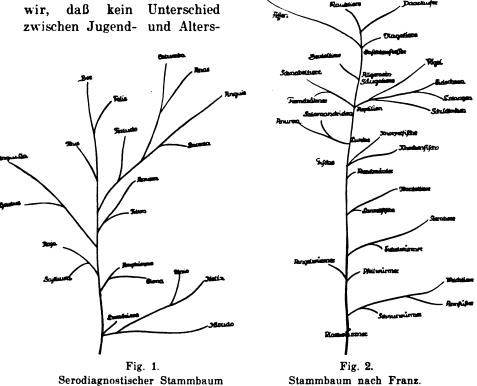
#### 2. Kunstserum: Testudo gracca.

6 Testudo	<b>5</b> 55	2 Anguilla	331
4 Rana, Larve	553	2 Unio	310
4 Rana, Imago	553	2 Helix	320
4 Bufo	553	2 Lumbricus	320
3 Triton	<b>5</b> 53	2 Bos	310
4 Columba	540	2 Felis	410
3 Anas	541	2 Mus	310
2 Gadus	541		

3. Kunstserum:	Columba.		
7 Columba	555	2 Anguilla	100
3 Rana, Larve	431	2 Unio	210
3 Rana, Imago	432	2 Helix	210
5 Testudo	553	2 Lumbricus	220
4 Bujo	422	1 Bos	110
4 Triton	430	1 Felis	111
7 Anas	555	1 Mus	110
3 Gadus	220		
4. Kunstserum:	Lumbricus.		
6 Lumbricus	<b>5554</b>	0 Anas	0000
2 Rana, Larve	2100	3 Gadus	3320
2 Rana, Imago	2100	3 Anguilla	2210
3 Bufo	2200	0 Bos	0000
2 Triton	2200	0 Felis	0000
3 Unio	3210	0 <b>Mus</b>	0000
4 Helix	5520	2 Testudo	2100
0 Columba	0000		
5. Kunstserum:	Anguilla.		
7 Anguilla	555	3 Bufo	430
2 Rana, Laich	420	2 Testudo	321
2 Rana, Imago	420	0 Columba	100
2 Lumbricus	430	0 Anas	100
3 Helix	300	0 Mus	100
2 Unio	320	0 Felis	100
4 Triton	<b>543</b>	0 Bos	100
7 Gadus	555		
6. Kunstserum:	Ciona.		
Ciona	555	Helix	332
Raja	<b>554</b>	Gadus	55 <del>4</del>
Scyllium	55 <b>4</b>	Anguis	432
<i>Amphioxus</i>	555	Lacerta	543
Rana	543	Testudo	433
Lumbricus	<b>554</b>	Anas	321
Hirudo	<b>4</b> 33	Felis .	220
Unio	332	Mus	320
7. Kunstserum:	Scyllium.		
Scyllium	555	Anguis	532
Amphioxus	555	Lacerta	533
Raja	555	Testudo	532
Rana	55 <b>4</b>	Ciona	533
$oldsymbol{U}$ nio	221	Anas	422
Hirudo	333	Felis	211
Helix	221	Mus	331
Gadus	555		

8. Kunstserum:	Amphioxus.		
Amphioxus	555	Gadus	<b>554</b>
Scyllium	555	Anguis	542
Raja	555	Lacerta	552
Ciona	555	Testudo	532
Rana	543	Anas	432
Hirudo	55 <del>4</del>	Feli <b>s</b>	. 310
Unio	333	.Yus	421
Helix	333		

Aus allen Zentren ersehen



form im Sinne einer genetischen Eiweißdifferenziation vorhanden ist.

Da fernerhin diese Zentren nun einmal genau bearbeitet worden sind und ein Stammbaum der in Reaktion gebrachten Tiere in groben Zügen auf serologischem Wege ausgearbeitet wurde, so möchten wir auch diesen den Zoologen unterbreiten.

Zum Vergleich wollen wir den Stammbaum hierhersetzen, welchen Franz (15) auf morphologischem Wege gefunden hat. Er stimmt in den Grundzügen prinzipiell mit unseren Ergebnissen überein.

#### Literaturverzeichnis

1. ZIEGENSPECK, Kritisches und Strittiges, in Mez, Archiv Band XVI. p. 218 ff. — 2. GOEBEL, Organographie II, p. 999. — 3. GOEBEL, Organographie I, p. 965. — 4. GUTTMANN, Sero-diagnostische Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Archegoniaten, in Mez, Archiv Band VI, p. 421 ff. — 5. GUTTMANN, l. c. p. 438. — 6. GUTTMANN, l. c. p. 439—440. — 7. GUTTMANN, l. c. p. 442—443. — 8. CONRADI, Das System der Farne, in Mez, Archiv Band XIV, p. 111—113. — 9. BRAUS, Über das biochemische Verhalten von Amphibienlarven, Archiv f. Entwicklungsmechanik der Organismen 1906. Band 22. — 10. ZIMMERMANN, Experimentelle Beiträge zur Blutüberpflanzung und zur Blutresorption 1921. — 11. ZIMMERMANN, l. c. p. 44. — 12. MEZ und ZIEGENSPECK, Zur Theorie der Serodiagnostik, in Mez, Archiv Band XII. p. 182 ff. — 13. BRAUS, l. c. — 14. MEZ, Anleitung zu sero-diagnostischen Untersuchungen für Botaniker, in Mez, Archiv I, Heft 4, p. 177 ff. und MEZ und ZIEGENSPECK, Zur Theorie der Serodiagnostik, in Mez, Archiv Band XII. p. 163 ff. u. 186 ff. — 15. FRANZ, Geschichte der Organismen.

#### Zusammenfassung

An botanischen und zoologischen Objekten wird gezeigt, daß keine serologische Verschiedenheit in dem Ausschlage der Präcipitinreaktion bei Jugend- und Altersstadien, bei Haplo- und Diplophase besteht. Mit beiden Antigenen lassen sich Kaninchen im Gegensatz zu Braus immunisieren. Nebenher wurden auch tierische Kunstzentren hergestellt und ein Stammbaum des Wirbeltierreiches in groben Zügen dargestellt. Er unterscheidet sich kaum von dem Franzschen Schema. Vielleicht ist die Verkettung der Grundfamilien etwas näher. Nicht von allen anerkannt ist die Primitivität des Amphioxus den Tunikaten gegenüber, die somit eine Parallelbildung der Wirbeltiere sind, keine ursprüngliche Reihe. Absichtlich aber wird auf eine morphologische Interpretation dieser Stammbäume verzichtet, da sich diese nur wenig von der vorzüglichen Ausarbeitung von Franz unterscheiden könnte.

#### Abstract

On botanical and zoological objects it has been demonstrated that there is no serological difference in the action of praecipitinreactions in stages of youth or age, in haplo- and diplophase. It is possible with both antigenes to make rabbits immune, in opposition to BRAUS. Simultanously animal artificial-centres have been presented and a pedigree of vertebrates has been roughly sketched. It does hardly differ from FRRANZ's scheme. Perhaps the enchainment of the original families is somewhat closer. Not generally acknowledged is the primitivity of Amphioxus as compared to the Tunicates, which therefore represent a parallel-formation of the vertebrates and not an original line. Intentionally is has been foregone morphologically to interpret these pedigrees, as there would be very little difference from the excellent elaboration of FRANZ.

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte

<u>Botanik</u>

Jahr/Year: 1928

Band/Volume: 22

Autor(en)/Author(s): Wilkoewitz Kurt, Ziegenspeck Hermann

Artikel/Article: <u>Die verschiedenen Generationen und Jugend- und</u> Altersformen in ihrer Einwirkung auf den Ausfall der

Präcipitinreaktionen. Eine botanisch -zoologische Studie mit Versuch

eines serologischen Wirbeltierstammbaumes 229-244