

Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung.

Von

Dr. Oskar Hertwig u. Dr. Richard Hertwig.

Um die Erscheinungen des Zellenlebens verstehen zu lernen, kann man zwei Methoden der Untersuchung anwenden, welche beide für die Lösung des Problems von gleicher Bedeutung sind, indem sie sich gegenseitig fördern und ergänzen. Die eine ist die Methode der vergleichenden Beobachtung, man könnte auch sagen, die Methode der Morphologie, da sie vorwiegend von morphologischer Seite geübt und ausgebildet wird, die andere dagegen ist die Methode der experimentellen Untersuchung, die physiologische Methode, insofern speciell die moderne Physiologie sich ihrer mit Vorliebe bedient.

Die erstgenannte Methode stellt sich zur Aufgabe, durch sorgfältige Beobachtungen die in der Natur gegebenen Thatsachen zu registriren und durch Vergleich derselben das Wichtige und Gesetzmäßige in ihnen zu ermitteln. — Für das Studium der Zellen hat sie zu reichen Ergebnissen geführt. Wir sind durch sie über den Verlauf der Zelltheilung, über das Wesen der Befruchtung, über die zwischen Kern und Protoplasma bestehende Wechselwirkung in hohem Grade aufgeklärt worden. Nicht selten wurde sogar in den causalen Zusammenhang der Erscheinungen ein Einblick gewonnen. Denn in der Natur kehren dieselben Grunderscheinungen, je nach den wechselnden, äußeren Bedingungen, unter denen sie verlaufen und durch die sie modificiert werden, in den verschiedensten Bildern wieder. So führt uns die Natur selbst gleichsam Experimente vor das Auge, deren einzelne Factoren sich durch vergleichende Beobachtung recht gut ermitteln und in ihrer Wirkungsweise abschätzen lassen.

Die zweite oder die experimentelle Methode der Untersuchung

unterscheidet sich von der soeben genannten hauptsächlich dadurch, dass der Beobachter selbst die Factoren einführt, welche auf den Verlauf der Erscheinungen abändernd einwirken sollen. Ihr schreibt man im Allgemeinen — wenn auch nicht immer mit Recht — eine gröfsere Beweiskraft und Tragweite zu.

Auch mit dieser Methode hat man in der Neuzeit schöne Resultate erzielt, und noch reichere Ausbeute steht wohl in Aussicht. Denn wie uns scheint, kann die Untersuchung der Lebenserscheinungen der Zellen, welche bei der rein morphologischen Behandlungsweise sich in der Neuzeit allzu sehr in die nebensächlichen Details zu verlieren droht, von Seiten des Experiments neue Impulse gewinnen.

Auf dem Zellgebiete liegen bei näherer Prüfung besonders günstige Bedingungen für experimentelle Untersuchungen vor. Solche scheinen uns vor allen Dingen in den Entwicklungserscheinungen gegeben, welche sich bei der Reife, Befruchtung und Theilung der Eier abspielen, vorausgesetzt, dafs man sich dabei an geeignete Objecte hält, wie besonders an die Eier der meisten Echinodermen und vieler Würmer.

Befruchtung und Theilung der Eier sind Vorgänge, die sich durch eine grosse Gesetzmässigkeit auszeichnen, deren Verlauf zugleich aber nicht in dem Maasse befestigt ist, dass er nicht durch äussere Einwirkungen abgeändert werden könnte. Welcher Art die Kräfte sind, welche die Regelmässigkeit des Verlaufs bedingen, lässt sich ermitteln, wenn man sie durch entgegengesetzt wirkende Einflüsse zu compensiren sucht oder durch lähmende Agentien mehr oder minder vollständig ausschaltet.

So haben PFLÜGER, BORN, ROUX, RAUBER den Einfluss der Schwerkraft auf die Theilung der Eier zu ermitteln gesucht, zum Theil, indem sie die Schwerkraft in abnormer Weise auf die Eier einwirken liessen, zum Theil, indem sie durch Anwendung von Centrifugalapparaten die Wirkungsweise derselben aufhoben.

Auch wir haben vor Jahresfrist eine Reihe experimenteller Untersuchungen begonnen, welche wir in der Folgezeit fortzusetzen gedenken. Wir haben zunächst das Gebiet der Befruchtungsvorgänge gewählt mit Rücksicht auf das ganz hervorragende Interesse, welches ihm zukommt, und mit Rücksicht darauf, dass an die in den letzten Jahren festgestellten morphologischen That-sachen das physiologische Experiment recht gut anknüpfen kann.

Wie zuerst OSCAR HERTWIG nachgewiesen hat, beruht das Wesen der Befruchtung nicht allein in der vollständigen Verschmel-

zung geschlechtlich differenzirter Zellen, sondern vor allen Dingen auch in einer Verschmelzung der beiderseitigen Zellkerne. Die letztere scheint sogar der Hauptzweck der Befruchtung zu sein.

Zum normalen Verlauf gehört dann noch zweierlei: 1) dass beiderlei Sexualproducte von Thieren der nämlichen Art abstammen, 2) dass in ein Ei auch nur ein Spermatozoon eindringt.

Es können daher nach 2 Richtungen hin Abweichungen von der Norm stattfinden: Erstens, es können viele Spermatozoen in das Ei eindringen. Wir nennen diese Abnormität *Polyspermie* der Eizelle. Zweitens; es kann die Befruchtung durch ein Spermatozoon einer anderen Thierspecies vollzogen werden; das wäre dann *Bastardbefruchtung*.

In der Eizelle, vielleicht auch in der Samenzelle, müssen Kräfte thätig sein, welche diese Abnormitäten zu verhindern streben. Um nun aber zu erfahren, welcher Art diese Kräfte sind, muss man durch künstliche Einflüsse Bedingungen herstellen, unter denen *Polyspermie* und *Bastardirung* möglich sind, unter denen somit jene Kräfte aufgehoben werden.

In dem vorliegenden Heft wollen wir uns zunächst mit der *Bastardirungsfrage* beschäftigen. Dieselbe ist im Anschluss an *Darwinistische Probleme* viel erörtert, trotz alledem aber methodisch noch wenig bearbeitet worden. Streng genommen ist dieselbe in ihrer jetzigen Fassung überhaupt keine einheitliche, wissenschaftliche Frage, sondern ein ganzes Convolut von Fragen.

Kreuzung verschiedener Arten kann durch sehr verschiedenartige Ursachen, wie namentlich durch *DARWIN* schön auseinander gesetzt worden ist, vereitelt werden. Daher gelangt man zu einer klaren und einheitlichen Fragestellung erst dann, wenn man alle secundären, eine Kreuzbefruchtung verhindernden Momente ausser Acht lässt und sich auf die *Bastardirungsfähigkeit* der Sexualproducte beschränkt, d. h. wenn man nur die Fälle berücksichtigt, in denen das Zusammentreffen der Eier und des männlichen Samens auf natürlichem oder künstlichem Wege herbeigeführt werden kann und die *Kreuzungsfähigkeit* allein von den Eigenschaften der Geschlechtszellen abhängt.

Diese Fälle, auf welche sich unsere gegenwärtigen Untersuchungen allein beziehen, sind auch ohne Zweifel die interessanteren, da sich uns bei ihrem Studium wichtige Eigenschaften der Zelle zu erkennen geben.

Auch sind sie schon Gegenstand experimenteller Untersuchungen geworden, von denen wir hier nur kurz die Arbeiten von

PFLÜGER und BORN namhaft machen und dabei hervorheben wollen, dass wir später noch Gelegenheit finden werden, auf den Inhalt derselben genauer einzugehen.

Unsere eigenen Untersuchungen wurden durch eine zufällig gemachte Beobachtung in eine bestimmte Bahn gelenkt. Als wir Kreuzungen zwischen verschiedenen Arten von Seeigeln vornahmen, war es uns an einem stürmischen Tage nicht möglich, frisches Material zur Untersuchung zu erhalten. Wir benutzten daher Eier von *Strongylocentrotus lividus*, die vom vorhergegangenen Tage unbefruchtet in einem Schälchen mit Meerwasser aufgehoben worden waren, und kreuzten sie mit Samen von *Sphaerechinus granularis*. Zu unserer grossen Überraschung beobachteten wir jetzt, dass nicht wie in den früher vorgenommenen Versuchen nur einzelne Eier, sondern der weitaus grösste Theil befruchtet wurde und sich entwickelte. Wir vermutheten sogleich, es möchte dies abweichende Resultat bedingt sein durch eine herabgesetzte Lebensenergie der Eier, welche eintreten muss, wenn dieselben längere Zeit unbefruchtet im Meerwasser verweilen. Wir entschlossen uns daher, die durch jene zufällig gemachte Beobachtung angeregte Frage sogleich durch eine Reihe von Experimenten zu prüfen und konnten so die interessante Thatsache feststellen, dass durch das Liegen im Wasser Veränderungen der Eizelle vor sich gehen, welche die Bastardirung begünstigen.

Es ist das selbstverständlich nur ein besonderer Fall aus einer ganzen Reihe von Erscheinungen, auf welche wir zum Theil schon gelegentlich Rücksicht genommen haben, zum Theil ausführlicher noch zurückkommen werden. Denn wir gedenken später die Fragestellung zu erweitern, in wie weit äussere Einflüsse die Befruchtungsfähigkeit der Eizelle alteriren. Auf diesem Wege wird es möglich sein, so hoffen wir, in die Physiologie der Befruchtung tiefere Einblicke zu gewinnen.

Unsere Untersuchungen wurden während der Osterferien 1884 ausgeführt und zwar der Hauptsache nach in Sorrent, nachdem wir zuvor schon einige orientirende Beobachtungen in La Spezia gesammelt hatten. Leider konnten wir ihnen nur 14 Tage widmen, da die Ferien zu Ende gingen. Noch mehr hatten wir zu beklagen, dass wir unter ungünstigen äusseren Verhältnissen zu leiden hatten. Da wir anfangs beabsichtigt hatten, in der zoologischen Station zu Neapel zu arbeiten, hatten wir von Spezia aus einen Theil unserer Ausrüstung zurückgesandt. In Neapel ange-

langt hielten wir uns aber daselbst nur drei Tage auf und wählten das nah gelegene Sorrent, um unsere Studien fortzusetzen. Hier fanden wir nur unvollkommene Gelegenheit, das Fehlende in der Ausrüstung zu ergänzen. Nun kann man ja in den meisten Fällen am Meer mit wenig Arbeitsgeräth auskommen. Untersuchungen über Bastardirung machen dagegen einen umfangreicheren Apparat mindestens wünschenswerth, da man gezwungen ist, viele Thiere am Leben zu erhalten und viele Entwicklungsreihen anzusetzen und während längerer Zeit zu züchten.

Aus naheliegenden und auch schon früher erörterten Gründen bedienten wir uns der Echinodermeneier und zwar da die Seeesterne sämmtlich keine reifen Sexualproducte hatten, der Eier der Seeigel. Von denselben standen uns 4 Arten zur Disposition. *Strongylocentrotus* (*Toxopneustes*) *lividus* und *Echinus mikrotuberculatus*, *Sphaerechinus granulosus* und *Arbacia pustulosa* (*Echinocidaris aequituberculata*). Die erste und die zuletzt genannten Arten sind in Sorrent sehr häufig und werden von den Fischern für Weibchen und Männchen derselben Art gehalten; etwas seltener sind die grossen *Sphaerechinus granularis*, doch immerhin noch leicht in ausgiebiger Menge zu erhalten. Der kleine *Echinus mikrotuberculatus* wurde uns dagegen nur einmal in 20 Exemplaren gebracht, deren Geschlechtsorgane noch nicht auf der Höhe der Reife angelangt waren, was die Verwerthung des Materials behinderte. In Spezia dagegen hatten wir uns die Thiere selbst an den Pfählen der Badeanstalt in reichlicher Menge verschaffen können und fanden sie daselbst in der Reife weiter vorgeschritten.

Wenn es irgendwie möglich war, benutzten wir zu unseren Experimenten frisch eingefangene Thiere. Denn so sehr auch die Seeigel lebenszäh sind, so leiden die Sexualproducte doch in der Gefangenschaft, da die Thiere durch die reichlichen Faecalmassen, welche sie entleeren, das Wasser verpesten. Hält man aber die Thiere ausser Wasser in feuchtem Tang verpackt, so können die Excremente nicht entleert werden, und das in der Körperkapsel befindliche Wasser wird rasch übelriechend.

Schliesslich hätten wir noch über die Cautelen zu berichten, deren wir uns bedient haben, um zu verhüten, dass bei den Kreuzbefruchtungen nicht Verunreinigungen mit dem Sperma derselben Art die Resultate trübten. In erster Linie ist hier die grösste Reinlichkeit bei der Handhabung der Instrumente unbedingtes Erforderniss. Daher wurde jedes Instrument vor und nach seinem Gebrauch jedesmal in Süsswasser sorgfältig abgewaschen. Wir liessen

es dabei durch 2 Gefässe mit Süsswasser gehen; im ersten wurde das Meerwasser abgespült, im zweiten, dessen Inhalt bei dem befolgten Verfahren mit Meerwasser so gut wie gar nicht verunreinigt werden konnte, wurden die Instrumente darin einige Zeit belassen. Der Umstand, dass Süsswasser auf die Zellen der meerbewohnenden Thiere einen äusserst verderblichen Einfluss ausübt, und, wie wir uns durch besondere Versuche überzeugt haben, auch die Samenfäden rasch abtödtet, erleichtert alle Versuche über Kreuzung bei Meerthieren wesentlich im Vergleich zu den Versuchen mit Land- und Süsswasserbewohnern. Desgleichen wurden selbstverständlicher Weise auch die Gläser, Porcellanschalen und Uhrgläschen vor der Benutzung behandelt und die Hände mit Seife und Süsswasser gewaschen, bei jeder Gelegenheit, wo eine Uebertragung von Sperma durch sie möglich schien.

Zweitens suchten wir so gut wie ganz die Verwendung von Metallinstrumenten zu vermeiden, da diese rasch sich oxydiren und schwieriger zu reinigen sind; dagegen gebrauchten wir fast ausschliesslich zugespitzte Glasröhren, um Sperma und Eier zu mischen.

Wenn wir von den zur Uebertragung dienenden Instrumenten absehen, so waren noch zwei weitere Fehlerquellen zu vermeiden. Einmal konnte das Meerwasser, welches zum Ansetzen der Kultur diente, von Anfang an Spermatozoen enthalten. Wir schöpften daher meist selbst in einem gut gereinigten Glas Seewasser von der Oberfläche des Meeres jeden Tag mehrmals; aus diesem Glas durfte Wasser nur durch Ausgiessen oder mit Hilfe einer Röhre, welche zu keinem andern Zwecke diente, entnommen werden. Dass übrigens im Wasser keine Spermatozoen enthalten waren, ging auch noch daraus hervor, dass die Eier in ihm sich nicht entwickelten, so lange nicht zum Zweck des Experiments Sperma hinzugefügt worden war.

Eine andere Fehlerquelle könnte dadurch hervorgerufen werden, dass die Oberfläche eines Thieres mit Spermatozoen einer anderen Art verunreinigt ist. Deshalb ist es gut, jedes Thier vor dem Gebrauch wiederholt gründlich abzuspülen oder, was noch besser ist, das Thier zu öffnen und das Sperma, resp. die Eier, den Geschlechtsorganen zu entnehmen.

Unter Anwendung der besprochenen Cautelen verfahren wir nun folgendermaassen. Wir übertrugen mit Hilfe eines Glasrohrs von ein und demselben Weibchen eine grosse Quantität Eier, die entweder spontan oder durch Druck auf den Eierstock ent-

leert worden waren, in ein grösseres Gefäss mit reinem Meerwasser, welches bedeckt und dadurch vor Verunreinigung und Verdunstung geschützt wurde. Nach einiger Zeit versicherten wir uns durch Beobachtung unter dem Microscop, dass sämtliche Eier unbefruchtet waren, dann entnahmen wir in Intervallen von 2—3 Stunden Eier aus dem Gefäss und befruchteten dieselben mit Sperma von einem Männchen anderer Art. Die Spermaflüssigkeit wurde jedesmal frisch bereitet, indem ein Tropfen Sperma aus dem Hoden oder dem Vas deferens entnommen und mit reinem Seewasser stark verdünnt wurde. Fast stets wurde darauf Bedacht genommen, dass männliche Thiere derselben Art nicht auf dem Arbeitstisch oder überhaupt nicht im gleichen Arbeitszimmer waren. Controlbefruchtungen der Eier mit Sperma derselben Art wurden stets in grosser Entfernung vom Arbeitstisch vorgenommen, und dann wurde das zum Befruchten verwandte Glasröhrchen mit besonderer Aufmerksamkeit gereinigt.

Bei den Echiniden hat man übrigens noch ein Mittel an der Hand, um auch später festzustellen, ob etwa erzielte Befruchtungen Kreuzbefruchtungen sind oder nicht. Es fällt sehr leicht, aus den Eiern die Pluteusformen zu ziehen; da diese nun für die einzelnen Arten charakteristisch sind, so wäre es wohl denkbar, dass die durch Bastardirung gezüchteten Pluteusformen gemischte Charaktere besässen. Wir haben nach dieser Richtung leider keine Beobachtungen sammeln können, da wir in der Zeit zu beschränkt waren.

Für das Verständniss des Folgenden schicken wir noch einige Worte über bemerkenswerthe und bei den Experimenten zu beachtende Begleiterscheinungen der Befruchtung voraus.

Wenn man mit frischen kräftigen Eiern und frischem kräftigem Sperma operirt, so ist das erste Zeichen eingetretener Befruchtung, dass sich rings vom Dotter die Dotterhaut weit abhebt. Wir lassen es dabei dahingestellt, ob dieselbe bei der Befruchtung neu gebildet wird (FOL), oder als dünnes Häutchen schon vorhanden war und nur eine Verdickung erfährt (EBERTH) oder endlich von Anfang an vorhanden war und nur dadurch deutlich wird, dass sich das Protoplasma des Eies von ihr zurückgezogen hat. Wir halten uns an die Thatsache, dass beim befruchteten Ei die Dotterhaut von der Oberfläche des Dotters durch einen weiten Zwischenraum getrennt ist. Unter normalen Verhältnissen kann man dann sicher sein, dass stets nur 1 Spermatozoon eingedrungen ist.

Bei längerem Liegen der Eier wird die Abhebung der Dotter-

membran, wie schon bekannt ist, wesentlich verlangsamt; man findet sie stellenweise blasenartig emporgewölbt, während sie an anderen Stellen noch anliegt, bis endlich der normale Zustand langsam erreicht wird. Dies führt uns zu Fällen, wo man auf den ersten Blick vermuthen möchte, die Loslösung der Dotterhaut sei ganz unterblieben, wo aber eine nähere Prüfung uns eines Besseren belehrt. Man findet dann die Dotterhaut ringsum abgelöst, aber durch einen so minimalen Spalt von der Eioberfläche getrennt, dass man ihn leicht ganz übersieht. Die Eier unterscheiden sich von unbefruchteten nur durch ihre eigenthümlich scharfe Contourirung. Auch sie enthalten in ihrem Inneren nur einen einzigen Spermakern.

Wenn die Eier 1 bis 2 Tage im Meerwasser gelegen haben, so sind sie in der Regel noch nicht abgestorben, sondern sehen noch wie frisches Material aus. Bei Zusatz von lebenskräftigem Samen indessen hebt sich keine Membran vom Dotter ab; im Inneren desselben bemerkt man nach Verlauf von 10 bis 20 Minuten zwei, drei und mehr Strahlungen, die vom Eindringen entsprechend vieler Spermatozoen herrühren. In Folge der Polyspermie treten unregelmässige Theilungen und Zerklüftungen der Eizelle und schliesslich Stillstand der anomalen Entwicklung und Zerfall ein.

Nach unseren Erfahrungen lassen sich bestimmte Angaben über die Zeitintervalle, in welchen nach vorgenommener Entleerung der Eier die eben skizzirten Veränderungen einander folgen, nicht machen. Es hängt dies von verschiedenen Ursachen ab. So sind bei einzelnen Thieren selbst die Eier, welche man eben dem Ovar entnommen hat, von Anfang an nicht vollkommen gleichartig, wie ja auch schon in älteren Arbeiten hervorgehoben worden ist, dass die Eier von Weibchen, welche mehrere Tage lang in Gefangenschaft gehalten worden waren, gleich Polyspermie zeigen. Ferner stellen selbst die frisch entleerten Eier ein und desselben Thieres durchaus kein gleichartiges Material dar. Manche besitzen eine grössere, andere eine geringere Lebensenergie, wie wir später noch des Näheren nachweisen werden.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen wenden wir uns zur:

Beschreibung der einzelnen Experimente.

Zur besseren Uebersichtlichkeit besprechen wir die angestellten Experimente in zwei Kapiteln. Das eine Kapitel, auf welches

wir an erster Stelle eingehen werden, enthält die Kreuzungen, welche zwischen frischem Eimaterial und frischem Samen von 4 verschiedenen Seeigelarten, *Strongylocentrotus lividus*, *Echinus mikrotuberculatus*, *Arbacia pustulosa*, *Sphaerechinus granularis* vorgenommen wurden. In einem zweiten Kapitel stellen wir die Resultate zusammen, welche durch Bastardbefruchtung von Eiern, die durch äussere Einflüsse in ihrer Constitution Veränderungen erlitten hatten, gewonnen worden sind.

I. Kapitel.

Kreuzungsversuche mit frischem, unverändertem Material.

1) Kreuzungen zwischen *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus mikrotuberculatus*:

a) Wenn man Eier von *Echinus mikrotuberculatus* mit Sperma von *Strongylocentrotus lividus* vermischt, so sieht man, dass nach wenigen Minuten die Eihaut überall wie bei normaler Befruchtung abgehoben ist. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden sind alle Eier in regelmässiger Weise zweigetheilt. Am folgenden Tage haben sich flimmernde Blastulae entwickelt, am dritten sind Gastrulae entstanden, am vierten Tage hat sich das Kalkskelet angelegt. Zu dem gleichen Ergebniss führte ein zweiter Versuch.

b) Kreuzungen in entgegengesetzter Richtung ergaben andere Resultate. Als in einem Uhrschälchen zu Eiern von *Strongylocentrotus lividus* Samen von *Echinus mikrotuberculatus* zugefügt wurde, hob sich nur in sehr seltenen Fällen die Eihaut von dem Dotter ab. Fast alle Eier blieben ganz unverändert. Nach zwei Stunden war nur hie und da ein Ei zweigetheilt. Bei den ausserordentlich wenigen sich theilenden Eiern war die Eihaut entweder nur ein wenig abgehoben oder sie lag dem Dotter noch ziemlich dicht auf. Am anderen Tage waren im Uhrschälchen einige wenige flimmernde Blastulae zu bemerken, während die Hauptmasse der Eier noch ganz unverändert war.

Ein zweiter und dritter Controlversuch fiel genau in der gleichen Weise aus.

Dass das Ausbleiben der Befruchtung nicht durch eine Schädigung des Eimaterials hervorgerufen war, liess sich leicht feststellen, indem dieselben Eier, welche mit dem Samen von *Echinus mikrotuberculatus* vergeblich gekreuzt worden waren, noch

nach Ablauf einiger Stunden mit dem Samen der eigenen Species befruchtet wurden. Jetzt hob sich alsbald die Eihaut überall ab, die Entwicklung begann und am anderen Tage waren fast alle Eier zu Blastulae ausgebildet.

Die eben beschriebenen Versuche sind von uns in Spezia angestellt worden, wo wir uns mit leichter Mühe zu wiederholten Malen den kleinen *Echinus mikrotuberculatus*, der vollständig reife Geschlechtsprodukte enthielt, verschaffen konnten.

2) Kreuzungen zwischen *Sphaerechinus granularis* und *Strongylocentrotus lividus*.

Beide Arten stehen in näherem verwandtschaftlichen Verhältnis zu einander, indem sie zu ein und derselben Abtheilung der *Polypori* gehören.

a) Wenn Eier von *Sphaerechinus granularis*, die mit eigenem Samen vollkommen befruchtungsfähig waren, mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* gekreuzt wurden, so trat immer nur in wenigen Fällen Abhebung der Dotterhaut und nach $1\frac{1}{2}$ Stunden Zweitheilung ein. Die befruchteten Eier aber entwickelten sich zu vollkommen normalen *Morulae*.

b) Ein ähnliches Resultat erhält man bei Kreuzung der Eier von *Strongylocentrotus lividus* mit Samen von *Sphaerechinus granularis*.

Wenn das Eimaterial ganz frisch ist, erfolgt nur in vereinzelten Fällen Befruchtung. Auch Eier, deren Gallerthülle von Spermatozoen der anderen Art dicht besetzt ist, entwickeln sich nicht. Dagegen werden sie noch Stunden nach der Kreuzung durch Samen der eigenen Art sofort befruchtet. Die Concentration der Samenflüssigkeit scheint auf das Gelingen der Bastardirung ohne Einfluss zu sein. In einem Versuch wurde ein Theil Eier mit wenig Sperma, ein anderer Theil mit der vierfachen Menge vermischt. In beiden Fällen war die Anzahl der sich entwickelnden Eier schätzungsweise die gleiche.

3) Kreuzungen zwischen *Arbacia pustulosa* und *Strongylocentrotus lividus*.

Die Eier von *Arbacia pustulosa*, welche ziemlich undurchsichtig und violett gefärbt sind, wurden mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* vermischt. Ob hier eine Befruchtung eingetreten ist, kann nicht leicht sofort festgestellt werden, weil sich auch bei Zusatz des Samens der gleichen Art die Eihaut nur unmerklich vom Dotter abhebt und das eingedrungene Spermatozoon in

der trüben Dottersubstanz nicht zu erkennen ist. Man muss daher, um das Resultat zu prüfen, das Stadium der Zweitheilung abwarten. Dann kann man feststellen, dass nur ein kleiner Bruchtheil der Eier befruchtet worden ist und sich nach etwa zwei Stunden getheilt hat.

Am anderen Tag schwimmen im Uhrsälchen vereinzelte Blastulae herum, während die Hauptmasse der Eier unverändert geblieben ist. Noch 24 Stunden später haben sich aus den Blastulae Gastrulae entwickelt.

Das Kreuzungsergebnis ist hier etwa dasselbe, wie bei der Befruchtung der Eier von *Strongylocentrotus lividus* mit Samen von *Echinus mikrotuberculatus*.

b) Bei Kreuzung in entgegengesetzter Richtung trat in mehreren Versuchen gar kein Erfolg ein. Die Eier des *Strongylocentrotus lividus* blieben bei Zusatz des Samens von *Arbacia pustulosa* ausnahmslos unbefruchtet, entwickelten sich aber sofort, wenn nach Ablauf mehrerer Stunden Samen der gleichen Art hinzugefügt wurde.

4) Kreuzungen zwischen *Arbacia pustulosa* und *Sphaerechinus granularis*.

Beide Arten gehören zwei verschiedenen Abtheilungen der Seeigel an. Das Resultat war etwa dasselbe, wie bei der Kreuzung von *Arbacia pustulosa* mit *Strongylocentrotus lividus*.

a) Wurden die Eier von *Arbacia* mit Samen von *Sphaerechinus* vermischt, so erfolgten nach zwei und einer halben Stunde nur sehr vereinzelte Zweitheilungen.

b) In entgegengesetzter Richtung blieb die Kreuzung in einem Falle ohne jeden Erfolg. Bei zwei anderen Versuchen theilten sich einige Eier.

II. Kapitel.

Kreuzungsversuche mit Eiern, die durch äussere Einflüsse Veränderungen ihrer Constitution erlitten haben.

Es lassen sich sehr zahlreiche und interessante Experimente anstellen, wenn man Eier vor ihrer Befruchtung verschiedenartigen äusseren Einflüssen unterwirft. Der Experimentator hat hier noch ein weites, bisher ganz unangebautes Forschungsgebiet vor sich. Zur Inangriffnahme desselben haben wir, da uns die Arbeitszeit am Meere sehr karg zugemessen war, gleichsam nur den er-

sten Schritt thun können; so nahmen wir nach mehreren Richtungen vorläufige Probeversuche vor; in mehr erschöpfender Weise untersuchten wir dagegen nur die Bastardirung von Eiern, deren Lebensenergie durch verschieden langes Verweilen im Meerwasser in mehr oder minder bedeutendem Maasse herabgesetzt worden war. Nur über letztere Versuchsreihe wollen wir an dieser Stelle berichten, während wir über andere hierher gehörige Experimente weitere Mittheilungen uns für die nächste Zeit vorbehalten.

Um zu prüfen, ob Eier, je nachdem sie kürzere oder längere Zeit im Meerwasser verweilt haben, in verschiedener Weise gegen Samen einer anderen Art reagiren, kann man zwei Methoden der Untersuchung wählen. Entweder man nimmt von einer grösseren, im Meerwasser aufgehobenen Portion Eier kleine Proben in Intervallen von mehreren Stunden heraus und befruchtet dieselben in Uhrsälchen und vergleicht die in den einzelnen Fällen erzielten Resultate mit einander, indem man jedesmal die Zahl der befruchteten und der unbefruchtet gebliebenen Eier abschätzt; oder man fügt zu ein und derselben Portion Eier frischen Samen zu wiederholten Malen und zwar in denselben Zeitintervallen wie bei der ersten Methode hinzu. Man hat dann festzustellen, ob beim zweiten, dritten oder vierten Spermazusatz noch weitere Eier bastardirt werden können. Zur grösseren Sicherheit der allgemeinen Resultate haben wir beide Wege eingeschlagen und gleichzeitig zwei sich kontrollirende Versuchsreihen vorgenommen, indem der eine von uns die Eier von *Strongylocentrotus lividus* mit dem Samen von *Sphaerechinus granularis*, der andere die Eier von *Sphaerechinus granularis* mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* bastardirte.

Nebenher wurden auch noch einige Kreuzungen der vorbenannten Arten mit *Echinus mikrotuberculatus*, allerdings nur mehr versuchsweise, veranstaltet.

Um darzuthun, dass der ungleiche Erfolg der Bastardirung nicht von Verschiedenheiten der angewandten Samenflüssigkeiten abhängt, haben wir schliesslich noch eine Versuchsreihe in der Weise durchgeführt, dass mehrere Portionen Eier von *Strongylocentrotus lividus*, die von verschiedenen Weibchen abstammten und ungleiche Zeiträume im Wasser gelegen hatten, mit Samen von *Sphaerechinus granularis*, der in einem Uhrsälchen mit Wasser verdünnt worden war, gleichzeitig und in gleichem quantitativem Verhältniss gekreuzt wurden.

A. Modificirte Bastardbefruchtung der Eier von *Strongylocentrotus lividus* durch Samen von *Sphaerechinus granularis*.

Hier wurden die Experimente in der oben namhaft gemachten dreifach verschiedenen Weise ausgeführt. Dieselben lassen sich daher in drei Gruppen sondern, welche wir für sich gesondert besprechen wollen.

Erste Gruppe der Experimente.

Ein und dieselbe Portion Eier von *Strongylocentrotus lividus* wurde mehrmals und zwar zu verschiedenen Zeiten mit Samen von *Sphaerechinus granularis* befruchtet. (Methode der successiven Nachbefruchtung.)

Erster Versuch.

Am 17. April 4 Uhr Nachmittags entleerte ein frisch eingefangenes Weibchen von *Strongylocentrotus lividus* freiwillig eine grosse Quantität Eier. In einem kleinen Glasgefäss wurde sogleich eine Partie derselben gesammelt und mit frischem Samen von *Sphaerechinus granularis* versetzt, wodurch die Befruchtung etwa bei dem zehnten Theil der Eier hervorgerufen wurde. Am folgenden Tage hatten sich die letzteren zu normalen im Wasser herumflimmernden Blastulae entwickelt.

In dem unbefruchtet gebliebenen Rest, der nach Erneuerung des Wassers in einem zugedeckten Glasschälchen sorgfältig aufbewahrt worden war, wurde am 18. April 9 Uhr, also 17 Stunden nach dem ersten Spermazusatz, Samen von *Sphaerechinus granularis* zum zweiten Male hinzugefügt. Jetzt blieb die Befruchtung nur bei wenigen Eiern aus; doch wurde dabei die Dotterhaut nicht mehr abgehoben. Am besten liess sich der Erfolg des Experiments nach einigen Stunden beurtheilen, indem man dann etwa zwei Drittel der Eier in normaler Weise in zwei oder vier Stücke zerfallen antraf. Von denjenigen, welche sich nicht getheilt hatten, zeigten einige im Inneren unregelmässige Kernfiguren, andere waren unbefruchtet geblieben, trotzdem ihrer Oberfläche zahlreiche Samenfäden anhafteten. Letztere liessen sich indessen — allerdings ohne Abhebung einer Dotterhaut — noch befruchten, als zu einer auf einem Objectträger gebrachten Probe Samen der eigenen Art hinzugefügt und unter dem Mikroskop der Erfolg beobachtet wurde.

Zweiter Versuch.

Am Freitag den 18. April 9 Uhr wurden einem frisch eingefangenen Weibchen Eier entnommen und in Meerwasser aufgehoben. Als sogleich eine kleine, in ein besonderes Uhrschälchen übertragene Probe mit Samen der eigenen Art vermischt wurde, trat überall Abhebung der Dotterhaut nach wenigen Minuten ein, kein Ei blieb unbefruchtet. In einer anderen gleichzeitig vorgenommenen Probe jedoch, zu welcher Samen von *Sphaerechinus granularis* hinzugefügt wurde, hob sich bei keinem Ei die Dotterhaut ab und es erfolgte keine Theilung.

Am folgenden Tage (19. April) 11 Uhr zeigte das in Meerwasser conservirte Eimaterial bereits eine grössere Neigung zur Kreuzung. Denn als ein grösserer Theil desselben mit frischem und lebenskräftigem Sperma von *Sphaerechinus granularis* befruchtet wurde, sah man nach Ablauf einiger Stunden, dass jetzt nahezu die Hälfte sich entwickelt hatte. Darunter waren auch einige Abnormitäten wahrzunehmen.

Nach 5 Stunden wurde in dasselbe Uhrschälchen zum zweiten Male Samen von *Sphaerechinus granularis* hinzugefügt. Es hatte zur Folge, dass sich jetzt noch viele Eier entwickelten, die sich beim ersten Zusatz nicht verändert hatten. Nur ein geringer Rest blieb diesmal ungetheilt.

Dritter Versuch.

Ein und dieselbe Portion Eier von *Strongylocentrotus lividus* wurde zu verschiedenen Zeiten vier Mal nach einander mit Samen von *Sphaerechinus granularis* versetzt. Dieselbe stammte von dem Weibchen ab, welches am 17. April 4 Uhr freiwillig Eier entleert hatte, von denen ein Theil schon zu dem oben beschriebenen Versuch Nr. 1 benutzt worden war. Die erste Kreuzung der Eier wurde gleich nach ihrer Entleerung am 17. April vorgenommen und hatte zur Folge, dass etwa der zehnte Theil befruchtet wurde und am folgenden Tage sich zu flimmernden Blastulae entwickelt hatte.

Unter zeitweiser Erneuerung des Wassers wurde das Versuchsmaterial sorgfältig in einem zugedeckten Uhrschälchen bis zum 19. April aufgehoben und um 11 Uhr zum zweiten Male mit frischem Samen von *Sphaerechinus* vermischt. Von den unbefruchtet gebliebenen 9 Zehntel theilte sich jetzt etwa die Hälfte.

An demselben Tage um 3 Uhr wurde abermals frischer Samen von *Sphaerechinus* in das Uhrschälchen eingetropt und dadurch wieder eine Anzahl Eier nach Ablauf von zwei Stunden zur Theilung veranlasst.

Nachdem zur Entfernung der abgestorbenen Spermatozoen das Meerwasser im Uhrschälchen erneuert worden war, wurde schliesslich am Abend des 19. April ein letzter Zusatz von lebenskräftigem Samen gemacht. In Folge dessen trat wieder bei einer kleinen Anzahl die Kreuzbefruchtung ein. Denn zwei Stunden nach dem Zusatz des Samens waren zwischen flimmernden Blastulae, kleinzelligen Morulae, vielzelligen Theilungsstadien wieder einige zwei- und viergetheilte Eier wahrzunehmen. Nur ein ganz kleiner Rest war bei der viermal wiederholten Kreuzung schliesslich noch unbefruchtet geblieben.

Vierter Versuch.

Am 19. April wurden von einem frisch eingefangenen Weibchen mit strotzend gefüllten Ovarien Eier entleert, die sich, wie ein Probeversuch zeigte, mit dem Samen der eigenen Art sofort in ganz normaler Weise befruchten liessen. Als zu einem andern Theil der Eier zur selben Zeit (11 Uhr) Samen von *Sphaerechinus* hinzugefügt wurde, erfolgte nur in ausserordentlich wenigen Fällen Kreuzbefruchtung.

Nach Ablauf von vier Stunden wurde dieselbe Partie zum zweiten Male mit frischem Samen von *Sphaerechinus* vermischt, diesmal aber ohne jeden Erfolg, da in den wenigen Stunden, die seit Vornahme der ersten Befruchtung verflossen waren, der schädigende Einfluss des Meerwassers sich noch nicht hatte geltend machen können.

Am folgenden Tage 9 Uhr (etwa 24 Stunden nach der Entleerung aus den Ovarien) wurde ein dritter Zusatz von Samen des *Sphaerechinus* gemacht, was zur Folge hatte, dass jetzt noch etwa die Hälfte der Eier, welche vorher zweimal auf das fremde Sperma nicht reagirt hatten, befruchtet wurden. Als nach vier Stunden die Eier untersucht wurden, waren viele in vier oder acht Theilstücke zerfallen, einige waren erst zweigetheilt, einige wenige zeigten im Inneren Strahlenbildung. Aus der Ungleichmässigkeit der Entwicklung kann man schliessen, dass einige Zeit nach dem dritten Zusatz des Samens noch Nachbefruchtungen durch überlebende Samenfäden stattgefunden haben müssen.

Zweite Gruppe der Experimente.

Von einer grösseren Menge gleichzeitig entleerter und in Meerwasser conservirter Eier eines Weibchens werden in verschiedenen Zeitintervallen Proben entnommen und mit frischem Samen der anderen Art gekreuzt (Methode der ungleichzeitigen Kreuzbefruchtung).

Erste Versuchsreihe.

Am 14. April 6 Uhr Abends wurden Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von *Strongylocentrotus lividus* in eine grosse Schale mit Meerwasser gebracht. Eine Kreuzung unmittelbar nach ihrer Entleerung konnte wegen der vorgerückten Tageszeit nicht versucht werden, doch kann nach den sonst von uns gesammelten zahlreichen Erfahrungen wohl der Satz als festgestellt gelten, dass bei einem lebenskräftigen und frischen Eimaterial von *Strongylocentrotus lividus* immer nur sehr vereinzelt Eier durch Samen von *Sphaerechinus* befruchtet werden.

Das am 14. April gesammelte Material diente nun zu folgenden 3 Versuchen:

Erster Versuch. 16 Stunden nach Entleerung der Eier.

Aus dem grösseren Gefäss wurden am 15. April 10 Uhr zwei Partien von Eiern entnommen, in zwei Uhrschildchen gebracht, und die eine mit Samen der eigenen Art, die andere mit Samen von *Sphaerechinus granularis* vermischt.

Im ersten Falle hob sich die Dotterhaut nur bei dem dritten Theil der Eier sofort, wie es normaler Weise sein muss, vom Dotter ab. Bei den übrigen drangen gleichfalls Spermatozoen ein, aber ohne dass es zur Bildung einer abstehenden Eihaut gekommen wäre. Zuweilen waren statt eines einzigen, mehrere Spermatozoen in das Ei gelangt, kenntlich an der sie umgebenden Dotterstrahlung. Nach Ablauf von $1\frac{1}{2}$ Stunde erfolgte regelmässige Zweitheilung bei dem weitaus grössten Theile der Eier.

In dem anderen Uhrschildchen, in welches der fremde Samen gebracht worden war, hob sich auch die Eihaut sofort bei einem Viertel der Eier ab; etwa andere zwei Viertel wurden ebenfalls noch befruchtet, aber ohne Abhebung der Dotterhaut. Unter ihnen wurden später mehrere Abnormitäten bemerkbar, Eier, die viele Spermastrahlungen zeigten und sich in unregelmässiger Weise furchten. Von diesen abgesehen trat bei den kreuzbefruchteten

Eiern nach $1\frac{1}{2}$ Stunde Zweitheilung ein. Etwa nur ein Viertel der Eier blieb bei der Kreuzung unbefruchtet, woraus aber nicht geschlossen werden darf, dass sie etwa abgestorben gewesen seien. Denn als wir auf dem Stadium, wo die durch Kreuzung befruchteten Eier schon in acht oder sechzehn Theilstücke zerfallen waren, Samen der eigenen Art noch in das Uhrschildchen hineintropften, so wurde auch der Rest, welcher sich nicht entwickelt hatte, befruchtet, und zwar hob sich die Eihaut bei einem Theil der Eier ab, bei einem anderen nicht.

Zweiter Versuch. 23 Stunden nach Entleerung der Eier.

Am 15. April 5 Uhr Nachmittags wurden wieder zwei Portionen des am 14. gesammelten Eimaterials, die eine mit Samen der gleichen Species, die andere mit Samen von *Sphaerechinus granularis* vermischt. In beiden Fällen wurden fast alle Eier befruchtet, aber mit wenigen Ausnahmen ohne Abhebung der Dotterhaut. Nach 3 Stunden waren die Eier theils in zwei, theils in vier, oder acht, oder sechzehn Stücke getheilt; nur eine kleine Anzahl hatte sich gar nicht entwickelt.

Ein ähnliches Resultat erhielten wir, als wir anstatt mit dem Samen von *Sphaerechinus granularis* mit dem Samen von *Echinus mikrotuberculatus* kreuzten.

Am 16. April waren in allen Uhrschildchen zahlreiche flimmernde Blastulae vorhanden, welche noch mehrere Tage weiter gezüchtet werden konnten.

Dritter Versuch. 2 Tage nach Entleerung der Eier.

Die am 14. April in Meerwasser aufgehobenen Eier sind sogar noch am 16. April entwickelungs- und kreuzungsfähig, doch ohne Abhebung der Dotterhaut. Auch treten jetzt zahlreiche Abnormitäten auf.

Erst nach mehr als zwei Tagen war schliesslich das Eimaterial abgestorben.

Zweite Versuchsreihe.

Am 15. April Abends 10 Uhr wurden die Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von *Strongylocentrotus lividus* in eine Schale mit Meerwasser gebracht und am anderen Morgen 10 Uhr zu Versuchen verwandt.

Ein Theil des Materials wurde mit dem Samen der eigenen Art befruchtet. Sofort erfolgte Abhebung der Eihaut mit Aus-

nahme weniger Eier, an welchen der Erfolg der Befruchtung sich allein an der im Dotter auftretenden Spermastrahlung bemerkbar machte.

Zu einem anderen Theile wurde Samen von *Sphaerechinus granularis* hinzugefügt. Beim grössten Theile der Eier glückte die Kreuzung. Bei mehr als der Hälfte war die Eihaut nach wenigen Minuten abgehoben; bei dem Rest war fast überall eine Spermastrahlung wahrzunehmen; nur ein geringer Prozentsatz blieb unbefruchtet. Nach Verlauf von zwei Stunden waren fast sämtliche Eier in Folge der Kreuzbefruchtung in zwei oder vier Stücke getheilt; von Interesse war es, zu sehen, dass einige Eier noch auf dem Hantelstadium standen. Es geht daraus hervor, dass hier und da auch noch nachträgliche Befruchtungen durch die im Wasser einige Zeit überlebenden Samenfäden erfolgten. Vereinzelte Eier zeigten endlich in Folge des abnormen Eindringens mehrerer Spermatozoen viele Strahlungen.

Als wir um 12 Uhr noch Samen der eigenen Art in das Uhrschälchen hinzufügten, hob sich bei den wenigen Eiern, welche unbefruchtet geblieben waren, alsbald die Eihaut ab und der Entwicklungsprocess verlief in normaler Weise weiter.

Dritte Versuchsreihe.

Die am 17. April 4 Uhr Nachmittags freiwillig entleerten Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von *Strongylocentrotus lividus*, von denen ein Theil schon zur Ausführung successiver Nachbefruchtungen gedient hatte, wurden auch noch zu folgenden 2 Versuchen verwendet:

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Entleerung der Eier.

Ein Theil des Materials wurde sogleich mit frischem Samen von *Sphaerechinus granularis* versetzt und dadurch die Befruchtung etwa bei dem siebenten Theil der Eier hervorgerufen.

Zweiter Versuch. 18 Stunden nach Entleerung der Eier.

Der Rest wurde bis zum folgenden Tage in Meerwasser aufgehoben und am 18. April 10 Uhr in 2 Partien getheilt. Die eine Partie erwies sich bei dem Zusatz des Samens der eigenen Art als noch vollständig lebenskräftig. Fast überall war die Eihaut in normaler Weise abgehoben, nur in wenigen Fällen war sie durch einen kleinen Zwischenraum von der Dotterkugel getrennt oder war die Abhebung eine unvollständige.

Darauf wurde jetzt auch die zweite Partie mit Samen von *Sphaerechinus granularis* befruchtet. Sofort sah man bei einem Drittheil der Eier die Dotterhaut abgehoben und eine entsprechende Zahl nach zwei Stunden in Theilung begriffen. Am anderen Tage hatten sich zahlreiche Blastulae entwickelt.

Der ungetheilte Rest liess sich zwei Stunden nach geschehener Kreuzbefruchtung, wie der Versuch mit einer kleinen Probe auf dem Objectträger lehrte, noch mit dem Samen der eigenen Art in normaler Weise befruchten.

Dritte Gruppe der Experimente.

Ganz frischer, lebenskräftiger Samen von *Sphaerechinus granularis* wurde am 19. April 11 Uhr in ein Uhrschälchen entleert, mit Wasser verdünnt und sogleich zur Befruchtung mehrerer Portionen von Eiern verwendet, welche von verschiedenen Weibchen abstammten und ungleiche Zeiträume nach ihrer Entleerung aus den Ovarien im Meerwasser verweilt hatten. Es sollte durch diese Experimente der Nachweis geführt werden, dass der ungleiche Erfolg der Bastardirung nicht von Verschiedenheiten der angewandten Samenflüssigkeiten, sondern von Verschiedenheiten des Eimaterials herrührt.

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Entleerung der Eier.

Die eine Portion der zu der Versuchsserie bereit gehaltenen Eier war eben aus den strotzend gefüllten Eierstöcken eines frisch eingefangenen Weibchens entleert worden. Hier hatte der Zusatz des fremden Samens, wie zu erwarten war, fast gar keine Wirkung. Nach vier Stunden konnten nur sehr wenige getheilte Eier bemerkt werden.

Zweiter Versuch. 26 Stunden nach Entleerung der Eier.

Eine andere Portion von Eiern entstammte einem gesunden Weibchen und war vom 18. April 9 Uhr an in Meerwasser aufgehoben worden. In diesem Falle hatte sich etwas weniger als die Hälfte der Eier, einige Stunden nach Vornahme der Kreuzung, entwickelt. Darunter waren auch einige Abnormitäten zu bemerken.

Dritter Versuch. 43 Stunden nach Entleerung der Eier.

In einem dritten Uhrschälchen befanden sich Eier, welche schon

am 17. April 4 Uhr von einem frisch eingefangenen Weibchen entleert worden waren ¹⁾). In Folge der Kreuzung mit Samen von *Sphaerechinus* entwickelte sich von ihnen etwa nur der dritte Theil. Die übrigen zwei Drittheile waren indessen noch lebenskräftig. Denn bei Vornahme eines Versuchs liessen sie sich durch Samen der eigenen Art noch in normaler Weise, wenige Fälle ausgenommen, befruchten.

Vierter Versuch. 13 Stunden nach Entleerung der Eier.

Eine vierte Portion von Eiern endlich, welche zu der vorliegenden Versuchsserie diente, rührte von einem schon länger gefangenen und daher wahrscheinlich kranken Weibchen und war erst am Abend des vorhergehenden Tages vom Thiere freiwillig entleert worden. Der Ausfall des Versuchs unterschied sich in Folge dessen etwas von den eben referirten. Fast überall erfolgte die Befruchtung, jedoch ohne Abhebung der Dotterhaut. Nach einigen Stunden waren zahlreiche getheilte Eier anzutreffen, andere waren pathologisch verändert, indem mehrere Spermatozoen in sie eingedrungen waren. Diese zeigten theils viele Strahlungen in einer noch zusammenhängenden Protoplasmamasse, theils waren sie in unregelmässiger Weise zerklüftet.

B. Modificirte Bastardbefruchtung der Eier von *Sphaerechinus granularis* durch Samen von *Strongylocentrotus lividus*.

Erste Versuchsreihe.

Das Weibchen, welches zum Versuch benutzt wurde, war schon einige Zeit in Gefangenschaft gehalten worden, so dass die Eier aller Wahrscheinlichkeit nach nicht mehr die Lebensenergie besaßen wie Eier von frisch gefangenen Thieren. Als das Thier geöffnet wurde, entleerte es aus den strotzenden Eierstöcken grosse Quantitäten völlig gesund ausschender Eier, welche mit Sperma derselben Art versetzt unter vollständig abgehobener Eimembran befruchtet wurden.

Der Samen von *Strongylocentrotus lividus* wurde jedesmal neu dem Hoden desselben Thieres entnommen, die milchige Flüssigkeit stark verdünnt und mittelst eines Röhrchens auf die Eier übertragen.

¹⁾ Ein anderer Theil dieses Eimaterials hat zu den Seite 133 u. 138 referirten Versuchen gedient.

Erster Versuch. $\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Eine halbe Stunde nach der Entleerung wurde ein kleiner Theil der Eier in einem besonderen Uhrschildchen befruchtet. Das Resultat war gleich von Anfang an ein günstiges, indem etwa $\frac{1}{3}$ mit vollkommen abgehobener Dottermembran befruchtet wurde. Um nun den Nachweis zu führen, dass die übrigen $\frac{2}{3}$ nicht gelitten hatten, wurde eine kleine Quantität derselben herausgenommen und mit Samen derselben Art befruchtet, worauf sich die Eihaut überall rasch und vollständig abhob. Das Uhrschildchen mit bastardirten Eiern wurde dann noch einmal am folgenden Tage controlirt; es ergab sich, dass die Eier, welche nicht befruchtet worden waren, auch nicht nachträglich angegangen waren; die befruchteten hatten sich dagegen zu kräftigen Blastulae weiter entwickelt.

Zweiter Versuch. $2\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach weiteren 2 Stunden, im Ganzen somit $2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Ablage wurde eine neue Quantität Eier mit Sperma von *Str. lividus* versetzt. Die Zahl der befruchteten Eier war eine erheblich grössere als bei No. I, sie betrug die Hälfte, vielleicht sogar mehr als die Hälfte; überall besaßen die befruchteten Eier ein normales Aussehen, indem die Dotterhaut ringsum weit abgehoben war. Eine kleine Probe in normaler Weise befruchtet ergab auch hier, dass die nicht angegangenen Eier lebensfrisch waren und sich gut mit eigenem Sperma befruchten liessen. Die Untersuchung der bastardirten Eier am andern Tage liess erkennen, dass die meisten als Blastulae im Wasser herumschwammen und nur wenige unbefruchtet am Boden lagen. Es mussten somit zahlreiche Eier noch nachträglich von dem überlebenden Sperma von *St. lividus* befruchtet worden sein.

Dritter Versuch. $4\frac{1}{2}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Vier und eine halbe Stunde nach der Entleerung wurde ein grösseres Quantum Eier genommen und in zwei Portionen getheilt, von denen die eine mit Samen von *Sph. granularis*, die andere mit Samen von *Str. lividus* versetzt wurde; in beiden Schalen traten ganz dieselben Erscheinungen ein; die Eihaut wurde nur unvollständig abgehoben; jedoch musste man aus der im Dotter auftretenden Spermastrahlung schliessen, dass alle Eier ganz gleichmässig befruchtet worden waren. Im Wesentlichen fand dieses Resultat auch am folgenden Tage seine Bestätigung, indem das Wasser von Blastulae wimmelte, während nur äusserst spärliche Eier unbefruchtet am Boden lagen.

Vierter Versuch. 24 Stunden nach Entleerung der Eier.

Die Untersuchungen wurden an dem betreffenden Tage abgebrochen und am folgenden Tage 24 Stunden nach Entleerung der Eier wieder aufgenommen. Die Eier waren noch befruchtungsfähig, doch hob sich die Eihaut, gleichgiltig, ob Sperma von *Sphaerichinus granularis* oder von *Strongylocentrotus lividus* angewandt wurde, gar nicht mehr oder sehr unvollständig ab; leider haben wir nicht darauf geprüft, ob Polyspermie eintrat. Auch sonst verhielten sich beide zum Versuch angewandte Portionen vollkommen gleichförmig. Die Theilungen traten sehr unregelmässig ein, so dass man auf demselben Praeparat 4, 8 und 16 Theilungen wirt durcheinander traf. Ein Unterschied machte sich erst am Tage darauf geltend, indem von den kreuzbefruchteten Eiern eine wenn auch kleine Zahl nicht angegangen war, während die übrigen sich zu normalen Blastulae entwickelt hatten. Von den normal befruchteten Eiern waren dagegen alle entwickelt, indessen einige in pathologischer Weise, so dass unter den regulären Blastulae auch einige monströse Formen schwammen.

Fünfter Versuch. 28 Stunden nach Entleerung der Eier.

Der Rest der Eier wurde 28 Stunden nach der Entleerung abermals in zwei Theile getheilt, der eine Theil bastardirt, der andere in normaler Weise befruchtet. Auch hier gaben sich zunächst keine Unterschiede zu erkennen. Beiderlei Eier wurden — ohne Abhebung der Eihaut — wahrscheinlich mehrfach befruchtet und nahmen dann ein so unregelmässig höckriges Aussehen an, dass wir schon glaubten, sie würden absterben. Dem war aber nicht so, vielmehr war am Tage darauf eine Weiterentwicklung zu Blastulae eingetreten. Jetzt war auch ein Unterschied zwischen beiden Partieen erkennbar. Unter den bastardirten Eiern hatten sich viele nicht entwickelt, der Rest hatte normale Blastulae ergeben; in der anderen Portion waren so gut wie keine Eier unentwickelt geblieben, dafür waren aber unter den Blastulae ziemlich viele pathologische Formen.

Zum Schluss wurden sämmtliche durch Bastardbefruchtung erzielten Blastulae in ein und dasselbe Glas zusammengossen und dieses bei Seite gesetzt. Trotzdem ihnen keine weitere Sorgfalt zu Theil wurde, entwickelten sie sich im Laufe der folgenden Tage zu schönen lebensfrischen Pluteuslarven.

Zweite Versuchsreihe.

Zur zweiten Versuchsreihe konnte ein frisch gefangenes Weibchen verwandt werden, welches reichliche und völlig reife Eier lieferte.

Erster Versuch $\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Die erste Befruchtung wurde schon $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Entleerung der Eier vorgenommen und hatte so gut wie gar keinen Erfolg, obwohl die Befruchtung mit Sperma der eigenen Art vollständige Befruchtungsfähigkeit ergab. Nach einiger Zeit geprüft, fanden sich äusserst wenige zweigetheilte Eier mitten in Haufen von Eiern, welche sich gar nicht verändert hatten.

Zweiter Versuch $1\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach Verlauf einer Stunde wurde ein neuer Versuch gemacht, ohne dass sich eine erhebliche Veränderung herausgestellt hätte. Auch jetzt wurden nur wenige Eier befruchtet.

Dritter Versuch $2\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach einer weiteren Stunde Wartens ergab sich eine erhebliche Zunahme der Zahl der Eier, welche sich mit dem Sperma von *Str. lividus* befruchten liessen; immerhin waren es noch keine 10 %, diese aber vollkommen regelrecht befruchtet mit weit abgehobener Eihaut.

Vierter Versuch $4\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Dieser Versuch ist leider durch einen unglücklichen Zufall verloren gegangen, bevor sein Resultat geprüft werden konnte.

Fünfter Versuch $6\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Von jetzt ab änderten sich die Verhältnisse; die Zahl der befruchteten Eier überschritt die Zahl der unentwickelten, welche nach ungefährender Schätzung nur etwa $\frac{1}{3}$ der Gesamtzahl betrug. Bei sämtlichen befruchteten Eiern war die Eihaut abgehoben.

Am folgenden Tag, im Ganzen 25 Stunden nach Entleerung der Eier, wurde das zum fünften Versuch verwandte Material auf 2 Uhrsälchen vertheilt, die eine Hälfte mit frischem Samen der eigenen Art, die andere mit frischem Samen von *Str. lividus* zum 2ten Mal befruchtet. Beide Portionen verhielten sich nahezu gleich, indem hier wie dort zahlreiche Befruchtungen der unentwickelten Eier noch nachträglich erzielt wurden, so dass nunmehr nur noch etwa $\frac{1}{6}$ unbefruchtet waren. Die neu befruchteten Eier waren sofort daran kenntlich, dass sie in der Entwicklung weiter zurück waren, auch war die Einmembran nicht mehr abgehoben.

Sechster Versuch $8\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Nach $8\frac{1}{4}$ Stunden waren die Eier insofern verändert, als bei jeder Art Befruchtung die Eimembran sich zwar noch abhob, aber nur durch einen äusserst schmalen Zwischenraum von der Oberfläche getrennt blieb; dagegen ergab jetzt die Bastardirung sehr günstige Resultate; die Zahl derer, welche unbefruchtet geblieben waren, war eine sehr geringe.

Siebenter Versuch $10\frac{1}{4}$ Stunde nach Entleerung der Eier.

Noch geringer war die Zahl der unbefruchtet bleibenden Eier nach Verlauf von weiteren 2 Stunden; wir taxirten sie etwa auf 5%. Dieser Versuch war der letzte an dem betreffenden Tage.

Achter Versuch 25 Stunden nach Entleerung der Eier.

Am folgenden Tage wurde eine Portion der Eier zunächst mit eigenem Sperma auf seine Befruchtungsfähigkeit geprüft. Sie wurden noch alle befruchtet, aber es traten die abnormen Furchungserscheinungen auf, wie sie schon wiederholt beschrieben worden sind. Eine andere Portion wurde mit frischem Sperma von *Str. lividus* versetzt und entwickelte sich zum gröfseren Theil ebenfalls unter abnormen Furchungserscheinungen; ein nicht geringer Bruchtheil blieb unbefruchtet.

Neunter Versuch 31 Stunden nach Entleerung der Eier.

Nach 31 Stunden wurde der Rest zu einem doppelten Versuch, wie im vorhergehenden Falle, aufverbraucht. Das Ergebniss war ein ähnliches, nur hatte die Zahl der Eier, welche bei der Bastardirung unbefruchtet blieben, sich auf die Hälfte vermehrt; auch war der Verlauf der Theilungen ein noch unregelmässigerer geworden.

Dritte Versuchsreihe.

Ein frisches Weibchen wurde zu einer dritten Versuchsreihe verwandt. Dasselbe hatte offenbar schon abgelaicht und entleerte in Folge dessen nur wenige Eier, unter denen viele unreife waren; die reifen Eier liessen sich mit eigenem Sperma rasch und gut befruchten.

Erster Versuch. Befruchtung sogleich nach Entleerung der Eier.

Die erste Befruchtung mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* wurde gleich nach der Entleerung der Eier ausgeführt und ergab etwa 10% befruchtete, 90% unbefruchtete Eier.

Zweiter Versuch 5 Stunden nach Entleerung der Eier.

Bei der Kreuzung entwickelten sich $\frac{2}{3}$ der Eier, dieselben

reagirten nicht alle gleichmässig auf den Zusatz der Spermatozoen. Bei einem Theil hob sich die Eimembran noch vollständig und weit ab, wenn sich auch der Vorgang langsam abspielte; bei einem anderen Theil der Eier unterblieb die Ablösung der Membran. Setzte man dagegen zu den Eiern Samen derselben Art, so hob sich bei sämmtlichen Eiern die Membran vollständig ab.

Dritter Versuch 7 Stunden nach Entleerung der Eier.

Dieser Versuch, zugleich der letzte, welcher bei dem geringen Eimaterial ausgeführt werden konnte, führte bei gekreuzter Befruchtung zu denselben Resultaten, wie der vorhergehende.

Vierte Versuchsreihe.

Gleichzeitig mit der beschriebenen Versuchsreihe wurde mit Eiern experimentirt, welche von einem Weibchen stammten, dessen Geschlechtsorgane strotzend gefüllt waren. Die entleerten Eier waren sämmtlich reif und mit eigenem Sperma zu befruchten.

Es ist nicht nöthig, den Versuch ausführlich zu referiren. Bei der ersten Befruchtung mit Sperma von *Str. lividus* war der Erfolg ein geringer, indem nur 1 $\frac{0}{0}$ befruchtet wurde. Nach 5 Stunden entwickelte sich bei Kreuzbefruchtung der dritte Theil mit abgehobener Eihaut, nach weiteren 2 Stunden zwei Drittel, doch fing die Abhebung der Eihaut jetzt an eine unvollständige zu werden.

Fünfte, sechste, siebente Versuchsreihe.

Bei einigen Exemplaren begnügten wir uns, das Verhalten der Eier gegen Sperma von *Str. lividus* gleich kurz nach ihrer Entleerung zu prüfen. Ein Weibchen gab reichlich Eier von sich, als mit der Scheere die Stacheln am aboralen Pole entfernt wurden; von denselben liessen sich 10 $\frac{0}{0}$ bastardiren.

Ein zweites Weibchen lieferte nur wenige Eier, darunter auch einige unreife und zwar erst nachdem die Schale geöffnet worden war. Der Eierstock war sehr klein. Bei vorgenommener Kreuzbefruchtung kam auf etwa 200 Eier ein befruchtetes, die übrigen liessen sich dann noch mit Sperma der eigenen Art befruchten.

Ein drittes Weibchen endlich zeigte ganz besondere Verhältnisse; es war schon lange Zeit in Gefangenschaft gehalten worden und hatte dabei so gelitten, dass beim Oeffnen der Schale eine äusserst übelriechende Leibeshöhlenflüssigkeit ausfloss, wie das bei Seeigeln leicht eintritt. Da die Eier von dieser Flüssig-

keit direct umspült worden waren, hatten sie allem Anscheine nach erheblich gelitten. Wir wandten sie trotzdem zur Bastardbefruchtung an und konnten dabei constatiren, dass kein einziges sich entwickelte. Indessen auch die Befruchtung mit Samen der eigenen Art erwies sich wenig wirksam, indem nur wenige und auch diese nur langsam befruchtet wurden. Wir übertrugen daher die Eier in frisches Wasser und erneuerten dasselbe von Zeit zu Zeit, ein Verfahren, welches offenbar den günstigsten Einfluss ausübte. Bei normaler Befruchtung entwickelten sich bald sämtliche zur Probe verwandten Eier, die Abhebung der Membran erfolgte immer rascher und normaler. Auch die Fähigkeit zur Kreuzbefruchtung steigerte sich, so dass schliesslich fast $\frac{2}{3}$ der zum Versuch herausgenommenen Eier sich in vollkommen regelmässiger Weise entwickelten.

C. Kreuzung der Eier von *Sphaerechinus granularis* mit Spermia von *Echinus mikrotuberculatus*.

Da die Exemplare von *E. mikrotuberculatus* in der Geschlechtsreife noch weit zurück waren, boten sie kein geeignetes Untersuchungsmaterial. Wir beschränkten uns daher auf einige orientirende Beobachtungen, welche ergaben, dass eine Befruchtung der Eier von *Sph. granularis* durch Spermia von *E. mikrotuberculatus* leichter gelingt, als durch Samen von *Strongylocentrotus lividus*. Wir haben stets nur frisch entleerte Eier von *Sph. granularis* benutzt, aber obwohl die Reife des Samens von *E. mikrotuberculatus* manches zu wünschen übrig liess, war die Zahl der Befruchtungen doch eine grössere.

D. Kreuzung der Eier von *Echinus mikrotuberculatus* mit Samen von *Sphaerechinus granularis*.

Wiederholt haben wir Versuche gemacht, die Eier von *E. mikrotuberculatus* mit Samen von *Sph. granularis* zu befruchten, ohne aber dabei wesentliche Erfolge zu erzielen. Kurz nach der Entleerung der Eier trat gar keine Befruchtung ein, nach Verlauf einiger Stunden war es möglich, einige wenige Eier zu befruchten, aber niemals ist es uns geglückt, die Zahl derselben erheblich zu steigern. Wir müssen freilich auch hier wieder betonen, dass unser Untersuchungsmaterial nicht auf der Höhe der Geschlechtsreife stand, im Allgemeinen daher auch für die Versuche nicht günstig war.

II. Allgemeiner Theil.

Die von uns mitgetheilten Experimente haben zum Theil zu ähnlichen Resultaten geführt, wie sie schon von anderer Seite bei Vornahme von Kreuzungsversuchen erhalten worden sind, theils haben sie eine neue Seite der Bastardirungsfrage abgewonnen, wie ein Ueberblick über die bezügliche Literatur uns zeigen wird.

Die Echiniden sind schon mehrfach, da sie ausserordentlich geeignete Objecte sind, zu Kreuzungsversuchen gebraucht worden. MARION, KÖHLER und STASSANO haben sich mit ihnen beschäftigt.

Ersterer ¹⁾ hat bei Kreuzung von *Strongylocentrotus lividus* und *Sphaerechinus granularis* Larven erhalten, welche er bis zum Pluteusstadium züchten konnte. KÖHLER ²⁾ hat in systematischer Weise Kreuzungen zwischen *Strongylocentrotus lividus*, *Sphaerechinus granularis*, *Psammechinus pulchellus*, *Dorocidaris papillata* und *Spatangus purpureus* vorgenommen und Verschiedenheiten in der Weise beobachtet, dass die Kreuzbefruchtung hier fast überall, dort in wenigen Fällen, dort gar nicht eintrat, dass bald die Bastardeier sich nur bis zum Blastulastadium, bald bis zur Gastrula, bald bis zum Pluteus entwickelten, dass hier die Bastardirungsfähigkeit eine einseitige, dort eine reciproke war. Der Italiener STASSANO ³⁾ endlich hat vier Arten gekreuzt: *Arbacia pustulosa*, *Echinocardium cordatum*, *Echinus mikrotuberculatus* und *Sphaerechinus granularis*, und unter anderen Erscheinungen gefunden, dass die Befruchtung mit Sperma der eigenen oder fremden Art einen Einfluss auf den rascheren oder langsameren Verlauf der Theilung hat, dass die Eier auf die zugehörigen Spermatozoen eine grössere Anziehung als auf fremde ausüben, indem sie in ersterem Falle von solchen ganz bedeckt werden, in letzterem dagegen fast ganz verlassen bleiben.

Besonders wichtige Resultate für die Bastardirungsfrage sind

¹⁾ M. MARION, Comptes rendus 1873, 14 avril.

²⁾ KÖHLER, Sur quelques essais d'hybridation entre diverses espèces d'Echinoidées. Comptes rendus 1882. T. XCIV pag. 1203.

³⁾ STASSANO, Contribuzione alla fisiologia degli spermatozoidi. Zoologischer Anzeiger 1883, pag. 393.

in den letzten Jahren von PFLÜGER und BORN durch Untersuchung der Batrachier gewonnen worden, daher wir dieselben hier auch in den Kreis unserer Betrachtung hineinziehen wollen.

Nachdem schon früher RUSCONI, De l'ISLE und LATASTE die geschwänzten Amphibien zu bastardiren versucht hatten, nahm PFLÜGER¹⁾ wieder im Jahre 1882 eine Reihe verschiedener Kreuzungen vor: 1) der *Rana fusca* mit *Bufo vulgaris*, 2) der *Rana fusca* mit *Rana esculenta*, 3) verschiedener Tritonarten unter einander, 4) der *Rana fusca* mit *Triton alpestris* und *Triton taeniatus*. Die erste Versuchsreihe ergab, dass der Same von *Rana fusca* auf die Eier der gemeinen Erdkröte stets energisch einwirkte, in der Weise, dass sie sich anscheinend regelrecht theilten und bis zum Morulastadium entwickelten, dann aber bald ohne Ausnahme abstarben und zerfielen. Wenn dagegen Sperma der Erdkröte mit Eiern von *Rana fusca* zusammengebracht wurde, erfolgte keine Theilung; nur in einem Experimente, dessen Beweiskraft von PFLÜGER angezweifelt wird, fanden sich unter circa 100 Eiern zwei mit unsymmetrischer Furchung.

Ein ähnliches Verhältniss konstatierte PFLÜGER zwischen *Rana fusca* und *Rana esculenta*. Eier der ersten Art in Wasserextract des Hodens von *Rana esculenta* versenkt, blieben stets unbefruchtet. Als jedoch Eier von *Rana esculenta* mit Samenwasser vermischt wurden, welches aus dem Hoden von *Rana fusca* bereitet worden war, entwickelten sie sich in regelrechter Weise mit Ausnahme einzelner, die sich abnorm theilten; nachdem aber das Blastulastadium erreicht war, starben sie auch wieder ohne Ausnahme ab.

In der dritten Versuchsreihe, Kreuzung der verschiedenen Tritonarten unter einander, blieben alle Versuche erfolglos. Um so bemerkenswerther war das Resultat der vierten Versuchsreihe. Eier des braunen Grasfrosches liessen sich mit Samen des *Triton alpestris* und des *Triton taeniatus*, stets aber nur in abnormer Weise, befruchten, indem sich nach einiger Zeit die sonderbarsten Furchungslinien und Risse im Dotter bildeten. Immer trat frühzeitiges Absterben der Eier ein. Auch zeigte bei allen Bastardbefruchtungen eine bald grössere, bald kleinere Zahl von Eiern keine Spur von Furchung, während sich bei der normalen Befruchtung fast alle furchten.

¹⁾ E. PFLÜGER, Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. Archiv f. d. gesammte Physiologie Bd. XXIX.

Eine Bastardirung in entgegengesetzter Richtung von Eiern der Tritonen mit Samen von *Rana fusca* war nicht möglich.

Bei seinen Versuchen erhielt PFLÜGER noch ein anderes bemerkenswerthes Resultat: Er fand nämlich, dass die Kreuzung zwischen den Eiern von *Rana fusca* und Triton nicht zu jeder Zeit glückte, dass während vor dem 23. April fast alle Versuche ein positives Resultat ergaben, nach dem 23. April alle negativ ausfielen. Er erklärt diese Erscheinung daraus, dass die Eier den Höhepunkt ihrer Entwicklung überschritten hatten, und stellt den Satz auf:

„Wenn Bastardbefruchtung ein positives Ergebniss erzielen soll, so müssen Ei und Same auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung und Empfänglichkeit für die Zeugung angelangt sein. Zu einer Zeit, wo das Ei auf den Samen der eigenen Art noch kräftig reagirt und sich in normaler Weise entwickelt, kann es die Empfänglichkeit für den Samen einer anderen Art, für die Bastardbefruchtung, bereits total verloren haben.“

Eine nicht minder interessante und wichtige Reihe von Untersuchungen verdanken wir den Bemühungen von BORN¹⁾, welcher hauptsächlich mit *Rana arvalis* und *Rana fusca*, mit *Bufo communis* und *Bufo variabilis*, mit *Bufo communis* und *Rana fusca* experimentirt hat und zu folgenden Ergebnissen gelangt ist:

„Unter gewissen Bedingungen lassen sich die Eier von *Rana arvalis* mit Samen von *Rana fusca* befruchten, sie furchen sich regulär ab und lassen sich bis zur Umwandlung aufziehen. Das Gelingen der Bastardirung hängt in ausserordentlicher Weise von dem Umstande ab, dass die benutzten Thiere sich auf der vollen Höhe der Brunst befinden. In mehreren Versuchen zeigte sich die bastardirende Kraft des Samens der einheimischen *Rana fusca* für Eier von *Rana arvalis* vollständig erschöpft. Desgleichen wird die Bastardirung in merkwürdiger Weise von der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit beeinflusst; bei Verdünnungen der Samenflüssigkeiten, welche bei normaler Befruchtung noch die besten Resultate geben, erfolgt bei der Bastardirung so gut wie gar keine Furchung. Bei geringerer Verdünnung furcht sich die Mehrzahl der Eier nach dem regulären Typus; mit ganz unverschtem Samen wird eine eigenthümliche Art von ganz unregelmässiger Furchung hervorgerufen, die durch das gleichzeitige Auf-

¹⁾ BORN, Beiträge zur Bastardirung zwischen den einheimischen Anurenarten. Archiv f. Physiologie Bd. XXXII.

treten zahlreicher polygonaler Felder ausgezeichnet ist und zur schleunigen Decomposition der Eier führt.“ BORN bezeichnet dieselbe als Barockfurchung und hat über sie in einer vorläufigen Mittheilung ¹⁾ kürzlich berichtet, dass sie durch das gleichzeitige Eindringen zahlreicher Spermatozoen hervorgerufen werde.

Zum Theil ähnliche Resultate gewann BORN an anderen Objecten, worüber das Nähere aus der citirten Abhandlung zu ersehen ist. — Er sucht nun für den ungleichen Ausfall der Bastardirung bei verschiedenen Arten, sowie für die Ungleichheit des Resultats, welches je nach der Concentration der angewandten Samenflüssigkeit erhalten wird, einen Erklärungsgrund in der ungleichen Beschaffenheit der Spermatozoen. Er macht aufmerksam auf die verschiedene Form des Samenfadenskopfes bei *Rana fusca*, *Rana arvalis* und *esculenta*, *Bufo* und *Bombinator*, sowie darauf, dass die Spermatozoen entfernter stehender Arten, die sich bastardiren lassen, einander oft ähnlicher sind, als diejenigen nahe verwandter. In Zusammenhang hiermit schreibt er ihnen eine verschiedene Fähigkeit zu in Bezug auf das Durchdringen durch verschieden gebaute Gallerthüllen.

Ausserdem aber glaubt BORN auch noch namentlich zur Erklärung der Erscheinungen der regulären oder irregulären Furchung uns unbekannte individuelle Verschiedenheiten zwischen den Spermatozoen ein und derselben Art annehmen zu müssen, in Folge dessen die Eier in ungleicher Weise auf sie reagiren. So laufen nach BORN's Ansicht die Vorgänge, die durch das Nahen oder Eindringen der ersten Spermatozoen der eigenen Art im Ei angeregt werden und die dazu führen, die nachfolgenden Spermatozoen auszuschliessen, bei der Bastardirung auf den inäquaten Reiz der fremden Spermatozoen so langsam und so unvollkommen ab, dass, wie bei FOL's geschwächten Eiern, unter Umständen noch mehrere Spermatozoen einzudringen vermögen und dann einen raschen unregelmässigen Zerfall der Eier in ungleiche, kleine und grosse Theilprodukte hervorrufen.

In demselben Heft des physiologischen Archivs, in welchem BORN's Arbeit erschienen ist, hat PFLÜGER ²⁾ noch eine zweite ausführlichere und an Thatsachen reiche Abhandlung über „die

¹⁾ G. BORN, Ueber die inneren Vorgänge bei der Bastardbefruchtung der Froscheier. Breslauer ärztliche Zeitschrift, 23. August 1884.

²⁾ PFLÜGER, Untersuchungen über Bastardirung der anuren Batrachier und die Principien der Zeugung. Archiv f. Physiologie. Bd. XXXII, 1883.

Bastardirung der anuren Batrachier und die Principien der Zeugung“ veröffentlicht. Durch Kreuzung von 10 verschiedenen Krötenarten zeigte er, dass bald reciproke, bald nur einseitige, bald gar keine Bastardirung möglich ist; dass mit wenigen Ausnahmen die Bastarde bald absterben, dass Bastardirung zwischen nahe verwandten Arten erfolglos bleiben kann, während sie bei entfernter stehenden möglich ist, dass bei der Kreuzbefruchtung neben regulären immer auch mehr oder minder irreguläre Entwicklungen und unbefruchtete Eier vorkommen.

Indem PFLÜGER nach den Ursachen des so ungleichen und scheinbar regellosen Erfolges der Kreuzbefruchtung forscht, hält er es für sehr wahrscheinlich, dass die irreguläre Furchung sowohl als der ganz negative Erfolg bei der Kreuzung der Anuren nur secundären und nebensächlichen Complicationen ihren Ursprung verdanken. Das wahre Gesetz sei wahrscheinlich: „reciproke Fruchtbarkeit bei allen Arten mit normaler Furchung und — mit seltenen Ausnahmen — Absterben während der ersten Entwicklung.“ Doch sollen sich die Geschlechtsprodukte nur während kurzer Zeit in einem Stadium befinden, in welchem sie sich zur Bastardirung eignen. „Dieses Stadium“, bemerkt PFLÜGER, „fällt in die Hochbrunst. Nach Ablauf derselben reagiren dieselben Eier noch ganz normal auf den Samen der eigenen Art. Diese Thatsache zeigt, dass auch das unbefruchtete Ei und der Same vor der Befruchtung in einer continuirlichen inneren Veränderung begriffen sind. Scharf ausgesprochen und sehr auffallend ist dieses Gesetz für das Ei gültig, während der Same viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung ermöglicht.“

Die so häufig zu beobachtende Einseitigkeit der Bastardbefruchtung führt auch PFLÜGER auf grob mechanische, secundäre Ursachen zurück. In ähnlicher Weise wie BORN legt er ein besonderes Gewicht auf die Beschaffenheit der Spermatozoen, indem er glaubt constatirt zu haben, dass 1) im Allgemeinen diejenigen Spermatozoen am geeignetsten sind zur Vermittelung der Bastardzeugung, deren Kopf am dünnsten und deren vorderes Ende am spitzesten ist; und dass 2) im Allgemeinen die Eier der Bastardbefruchtung am zugänglichsten sind, wenn die zugehörigen Spermatozoen derselben Art dickere Köpfe haben.“

Zu dieser Erklärung wurde PFLÜGER veranlasst, weil die Spermatozoen von *Rana fusca*, die fast alle Eier befruchten, unter allen Arten den dünnsten Kopf haben, der ausserdem sehr spitz

ausläuft, weil ferner die dickköpfigsten Spermatozoen mit stumpfer vorderer Spitze, wie diejenigen von *Rana arvalis* und *R. esculenta*, kein fremdes Ei befruchten können. Am meisten aber findet er seine Ansicht dadurch bestätigt, dass gerade die beiden Arten, welche Spermatozoen mit gleich geformten und gleich grossen Köpfen besitzen, *Rana esculenta* und *R. arvalis*, vollkommen reciproke Bastardbefruchtung zeigen. PFLÜGER setzt daher bei den Eiern die Anwesenheit einer Mikropyle voraus, die gerade so weit ist, dass das Spermatozoon der eigenen Art passieren kann.

Die Unregelmässigkeit der Furchung glaubt PFLÜGER nicht auf das Eindringen vieler Spermatozoen, wie BORN annimmt, zurückführen zu müssen, sondern eher darauf, dass bei allen Bastardirungsversuchen dem fremden Samen ein besonderes Hinderniss im Wege stehe, um zu dem Eie vorzudringen, zum Beispiel, die Beschaffenheit der Gallerthülle oder die Enge der Mikropyle. Er denkt sich den Vorgang so, dass Samenfäden auf ihrem Wege stecken bleiben, obwohl schon die Spitze des Kopfes in den Dotter eingedrungen ist, während der übrige Theil des Kopfes noch in der Eihaut und der umgebenden Gallerte haftet, oder dass bei Vorhandensein einer Mikropyle die Spitze des Kopfes eindringt und den Dotter erreicht, der dickere Theil des Kopfes aber wegen Enge der Mikropyle sich festkeilt. In derartigen Fällen soll der in den Dotter eingedrungene Theil des Kopfes eines plötzlich festgehaltenen Spermatozoons in Partikel zerfallen und dadurch die Bedingung zu abnormer Furchung geben. Den Vorgang, in welchem nur in grösserer Zahl abgerissene Theile eines Spermatozoon befruchten, nennt PFLÜGER eine „fractionirte Befruchtung“.

Nach diesem historischen Überblick wenden wir uns zur Besprechung der allgemeinen Resultate, welche sich aus unseren eigenen Experimenten und aus denen der angeführten Forscher gewinnen lassen, wobei sich zugleich in mehrfacher Hinsicht Übereinstimmungen, in anderer Hinsicht Differenzpunkte ergeben werden.

Übereinstimmung findet statt in der Feststellung folgender allgemeiner Erscheinungen, welche in gleicher Weise bei der Bastardirung der Amphibien und der Echinodermen wiederkehren.

Erstens: Das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung hängt nicht ausschliesslich von dem Grade der systematischen Verwandtschaft der gekreuzten Arten ab.

Wir können beobachten, dass Arten, die in äusserlichen Merkmalen sich kaum von einander unterscheiden, sich nicht kreuzen lassen, während es zwischen relativ entfernt stehenden, verschiedenen Familien und Ordnungen angehörenden Arten möglich ist.

Die Amphibien liefern uns hier besonders treffende Beispiele. *Rana arvalis* und *Rana fusca* stimmen in ihrem Aussehen fast vollständig überein, trotzdem lassen sich die Eier der letzteren mit dem Samen der ersteren nicht befruchten, während in einzelnen Fällen Befruchtung mit dem Samen von *Bufo communis* und sogar von Triton möglich war. Dieselbe Erscheinung liess sich, wenn auch weniger deutlich bei den Echinodermen constatiren.

Immerhin muss aber im Auge behalten werden, dass die systematische Verwandtschaft für die Möglichkeit der Bastardirung ein wichtiger Factor ist. Denn zwischen Thieren, die soweit auseinander stehen, wie Amphibien und Säugethiere, Seeigel und Seeesterne, ist noch niemals eine Kreuzbefruchtung erzielt worden.

Dafür, dass ausser dem Grade der systematischen Verwandtschaft auch noch andere Factoren ins Spiel kommen, spricht nichts deutlicher als die **zweite Reihe** der allgemeinen Erscheinungen, welche wir in Übereinstimmung mit PFLÜGER und BORN auch bei den Echinodermen haben constatiren können. In der Kreuzbefruchtung zweier Arten besteht sehr häufig keine Reciprocität.

Alle möglichen Abstufungen finden sich hier. Während Eier von *Echinus microtuberculatus* sich durch Samen von *Strongylocentrotus lividus* fast ohne Ausnahme befruchten lassen, wird bei Kreuzung in entgegengesetzter Richtung nur in wenigen Fällen eine Entwicklung hervorgerufen. Die Befruchtung frischen Eimaterials von *Strongylocentrotus lividus* durch Samen von *Arbacia pustulosa* bleibt erfolglos, dagegen entwickeln sich von *Arbacia pustulosa* immerhin einige Eier, wenn ihnen Samen von *Strongylocentrotus lividus* hinzugefügt wird, und so ähnlich noch in anderen Fällen. Es ist zur Zeit somit gar nicht möglich, gesetzmässige Beziehungen zwischen Bastardirungen in entgegengesetzter Richtung nachzuweisen.

Sicher gestellt ist endlich eine **dritte Thatsache!** Für das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung ist die jeweilige Beschaffenheit der zur Kreuzung verwandten Geschlechtsproducte von Wichtigkeit.

PFLÜGER und BORN haben bei den Amphibien, wir bei den Echinodermen nachgewiesen, dass die Eier einer Art A sich mit dem Samen B unter bestimmten Verhältnissen und zu bestimmten Zeiten kreuzen lassen, in anderen Fällen wieder nicht. In den Geschlechtsproducten ist, wenn man so sagen darf, eine veränderliche Disposition für die Bastardirung vorhanden. Dies lässt sich schon aus dem einfachen Umstande, der bei allen Versuchen wird beobachtet werden können, erschliessen, dass von Eiern, die bastardirt werden sollen, sich immer nur ein grösserer oder geringerer Procentsatz entwickelt, während der Rest gegen den Samen der anderen Art unempfänglich ist, sich aber bei Zusatz von Samen der eigenen Art sofort befruchten lässt. Nur selten sind solche Fälle, in denen sich die Eier einer Art ausnahmslos gegen fremden Samen, ganz ebenso wie gegen eigenen verhalten. Bei allen von uns untersuchten Echinodermenarten trat dies nur ein bei den Eiern von *Echinus mikrotuberculatus*, wenn sie mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* befruchtet wurden.

- Während wir in den eben angeführten drei Sätzen zu denselben Ergebnissen, wie PFLÜGER und BORN gelangt sind, ergeben sich Meinungsverschiedenheiten in einigen anderen nicht minder wichtigen Punkten.

So weichen wir erstens von PFLÜGER und BORN ab bei der Beantwortung der Frage: welches von beiden Geschlechtsproducten das veränderliche ist, und wie sich die Veränderlichkeit in den verschiedenen Stadien der Entwicklung äussert.

Nach PFLÜGER und BORN eignen sich die Sexualproducte am meisten zur Bastardirung auf der Höhe der Brunst, das heisst: zur Zeit, in welcher sich aller Wahrscheinlichkeit nach die Geschlechtsproducte auf der Höhe ihrer Entwicklung befinden und somit die grösste Lebensenergie besitzen.

Zu Gunsten dieser Ansicht führt PFLÜGER Versuche an, die am 21. und 22. April angestellt wurden und das auffallende Resultat ergaben, dass kein Ei der *Rana arvalis* mehr durch den Samen der *Rana fusca* befruchtet werden konnte, obwohl dies vorher in ergiebiger Weise möglich war, und obwohl dieselben Eier sehr energisch auf den Samen der eigenen Art, ja sogar auf den Samen der *Rana esculenta* reagirten.

BORN berichtet, dass in seinen Bastardirungsversuchen zuerst die Männchen der einheimischen *Rana fusca* versagten. „Am

26. April gelang mit denselben“, heisst es in der oben angeführten Abhandlung, „keine einzige Bastardirung mehr, während, wie ich aus anderen Versuchen weiss, der Samen der *Rana fusca* für die Eier der eigenen Art noch wirksam war. Am 25. April war mit einem Männchen noch eine Bastardirung gelungen, die andere nicht. Auch schon in den vorhergehenden Tagen war ein Nachlassen der Wirkung des Samens der *Rana fusca* im Vergleich zu dem ersten Versuch, der noch während der eigentlichen Brunstzeit ausgeführt wurde, die dieses Jahr hier etwa am 20. April abließ, merklich. Die Eier der *Rana arvalis* fürchten sich bis zum 26. April nicht nur bei Zusatz der (verdünnten) Samenflüssigkeit der eigenen Art in fast vollkommener Weise, sondern liessen sich noch am 28. April mit der Samenflüssigkeit frisch angelangter Schweizer Frösche, die sich noch in Brunst befanden, mit gleichem Erfolge wie im ersten Versuche bastardiren, obgleich zur selben Zeit auch kein einziges trächtiges Weibchen von *Rana arvalis* im Freien mehr aufzutreiben war“.

In den Angaben von PFLÜGER und BORN ist ein Differenzpunkt bemerkenswerth. PFLÜGER legt das Hauptgewicht darauf, dass sich vornehmlich die Eier auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung befinden. Das von ihm aufgestellte Gesetz, bemerkt er, sei besonders für das Ei gültig, während der Same viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung ermöglichen. Demgemäss leitet er auch die von BORN erzielten besseren Bastardirungsergebnisse von dem Umstande ab, dass dieser frischere Eier der *Rana arvalis* benutzen konnte.

BORN dagegen lässt in der befruchtenden Kraft des zur Bastardirung verwandten Sperma Veränderungen eintreten. Auch der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit schreibt er eine Bedeutung für den Erfolg der Bastardirung zu. Nach seinen Beobachtungen haben Verdünnungen des Samens oder des Hodensaftes, welche die Eier der eigenen Art ausnahmslos befruchten, auf die Eier der *Rana arvalis* gar keine Wirkung mehr zur selben Zeit und in denselben Versuchen, wo stärkere Samenflüssigkeiten die Erscheinungen der Barockfurchung hervorriefen.

Das Untersuchungsmaterial, auf welches PFLÜGER und BORN angewiesen waren, hat unzweifelhaft eine Reihe von Nachtheilen, welche bei der Beurtheilung ihrer Resultate in Anrechnung gebracht werden müssen. Erstens ist es schwierig, das ungefähre Alter der Sexualprodukte, namentlich bei den Weibchen, auch nur ungefähr zu bestimmen. Bekanntlich erfolgt die Entleerung der

Eier bei den Batrachiern nur unter Beihülfe des Männchens; ist letztere, wie es doch bei Bastardirungen nicht anders sein kann, ausgeschlossen, so verweilen die Eier im Uterus, bis sie sich zersetzen. Da nun wohl nur in den seltensten Fällen der Zeitpunkt der eigentlichen Eireife, welcher durch die Loslösung der Eier aus dem Ovar und ihren Uebertritt in den Uterus gegeben ist, hat bestimmt werden können, so konnten die genannten Forscher auch nicht ermitteln, in welchem Zeitpunkt der Entwicklung sich das Eimaterial ihrer Experimente befand, wie weit es sich der Zeit des Zerfalls genähert hatte.

Ein zweiter Uebelstand ist darin gegeben, dass die Sexualprodukte der Amphibien unter dem Einfluss der Gefangenschaft leiden. Wie viel mehr müssen dieselben alterirt werden, wenn sich zu diesen Nachtheilen noch die schädigenden Einflüsse eines Transports auf weite Strecken hinzugesellen.

Drittens ist der Experimentator bei den meisten Amphibien auf einen kurzen Zeitraum angewiesen, da die Geschlechtsthätigkeit sich auf den Zeitraum weniger Wochen zusammendrängt.

In allen diesen Punkten bieten die Echinodermen günstigere Bedingungen. Man findet hier zu jeder Zeit, wenn auch nicht immer gleich häufig, geschlechtsreife Thiere, da jedes Thier wiederholt im Jahr, wie es scheint, in vierwöchentlichen Intervallen seine Sexualprodukte zur Reife bringt. Die Eier werden aus dem Ovar direct nach aussen entleert, auch wenn nicht die Nähe eines Männchens als Reiz wirkt. Man findet endlich Thiere von verschiedenen Arten gleichzeitig geschlechtsreif. Das sind die Gründe, warum wir wesentlich andere und vor Allem constantere Resultate erzielt haben als PFLÜGER und BORN, und weshalb wir glauben, für dieselben grössere Sicherheit beanspruchen zu können.

Unsere Resultate sind nun folgende:

Der verschiedene Erfolg der Bastardirungsexperimente hängt fast ausschliesslich von der Veränderlichkeit der Eier ab.

Am schlagendsten geht dies hervor aus unseren Experimenten, die nach der Methode der successiven Nachbefruchtung vorgenommen wurden. Da die Echinodermeneier sich, ohne ihre Entwicklungsfähigkeit zu verlieren, 24 bis 48 Stunden in Meerwasser conserviren lassen, so kann der Experimentator ein und dasselbe Ei-Quantum zu wiederholten Malen und zu verschiedenen Zeiten mit fremdem Samen kreuzen. Da ferner das Eindringen der Sper-

matozoen durch keine Hüllbildung oder andere Verhältnisse erschwert wird, so kommt hier bei Zusatz einer genügenden Samenmenge jedesmal ein jedes Ei ohne Ausnahme mit mehreren Spermatozoen in Berührung, wie man denn auch immer deren viele der Eioberfläche bei mikroskopischer Untersuchung anhaften sieht.

Wir haben nun gefunden, dass Eier, welche gleich nach ihrer Entleerung aus dem strotzend gefüllten Eierstock bastardirt wurden, das fremde Spermatozoon zurückwiesen, es aber nach 10, 20 oder 30 Stunden bei der zweiten oder dritten oder vierten Nachbefruchtung in sich aufnahmen und dann sich normal weiter entwickelten. Das Resultat fiel immer in derselben Weise aus, mochten wir die Eier von *Strongylocentrotus lividus* mit Samen von *Sphaerechinus granularis* oder von *Echinus mikrotuberculatus*, oder mochten wir die Eier von *Sphaerechinus granularis* mit Samen von *Strongylocentrotus lividus* und so weiter kreuzen.

Das Gelingen oder Nichtgelingen der Bastardirung kann in unseren Fällen nicht auf eine Verschiedenheit des Samens zurückgeführt werden, da derselbe jedesmal neu aus dem strotzend gefüllten Hoden entnommen wurde und daher bei den Versuchen als ein relativ constant bleibender Factor angesehen werden konnte. Hier ist es über jeden Zweifel erhaben, dass sich allein die Eizelle in ihrem Verhalten gegen die Einwirkung des fremden Samens verändert hatte.

Wenn aber überhaupt in der Eizelle Veränderungen eintreten oder künstlich hervorgerufen werden können, in Folge deren die Bastardirung gelingt, dann muss es vom theoretischen Standpunkte aus auch möglich sein, die Geschlechtsprodukte zweier Arten, zwischen denen ein gewisser Grad sexueller Affinität besteht, auch ohne Zurückbleiben eines unbefruchteten Restes zu bastardiren. Man wird dann je nach den Bedingungen, unter denen man die Geschlechtsprodukte zusammenbringt, ein Minimum und ein Optimum der Bastardirungsfähigkeit unterscheiden können.

Auch hierüber haben unsere Experimente Licht verbreitet, indem wir das Eimaterial eines Weibchens in mehrere Portionen theilten und zu ungleichen Zeiten befruchteten. Stets erhielten wir hier den geringsten Procentsatz Bastarde, wenn den Eiern gleich nach Entleerung aus den Ovarien der fremde Samen zugesetzt wurde. Hierbei haben wir keine Unterschiede constatiren können, ob die Eier aus einem strotzend gefüllten Eierstock stammten, oder ob es die ersten Eier einer neu beginnenden Fort-

pflanzungsperiode waren oder ob sie den zurückgebliebenen Rest eines vor einiger Zeit entleerten Eimaterials darstellten. — Je später die Befruchtung geschah, sei es nach 5 oder 10 oder 20 oder 30 Stunden, um so mehr wuchs der Procentsatz der bastardirten Eier, bis schliesslich ein Bastardirungsoptimum erreicht wurde. Als solches bezeichnen wir das Stadium, in welchem sich fast das gesammte Eiquantum, mit Ausnahme einer geringen Zahl in normaler Weise entwickelt. Dasselbe ist, da sich in den Eiern innere Veränderungen ohne Unterbrechung weiter abspielen, von kurzer Dauer. Dann beginnt der Procentsatz der in Folge von Bastardbefruchtung sich normal entwickelnden Eier wieder abzunehmen und zwar hauptsächlich deshalb, weil ein immer grösser werdender Theil in Folge des Eindringens mehrerer Spermatozoen sich ganz unregelmässig theilt und missgebildet wird.

Die Erfolge, die man erhält, wenn das Eimaterial zu verschiedenen Zeiten gekreuzt wird, kann man sich unter dem Bild einer auf- und absteigenden Curve darstellen, deren Höhepunkt das Bastardirungsoptimum bezeichnet. Zur Veranschaulichung diene folgende Versuchsreihe einer Kreuzung der Eier von *Sphaerechinus granularis* mit Samen von *Strongylocentrotus lividus*.

1) Befruchtung nach $\frac{1}{4}$ Stunde:

Aeusserst vereinzelt Eier entwickeln sich. Bastardirungsminimum.

2) Befruchtung nach $2\frac{1}{4}$ Stunde:

Etwa 10 % entwickeln sich normal.

3) Befruchtung nach $6\frac{1}{4}$ Stunde:

Etwa 60 % entwickeln sich normal.

4) Befruchtung nach $10\frac{1}{4}$ Stunde:

Alle Eier entwickeln sich mit Ausnahme von 5 %. Bastardirungsoptimum.

5) Befruchtung nach 25 Stunden:

Ein Theil entwickelt sich normal, ein zweiter in unregelmässiger Weise, ein kleiner Rest bleibt unbefruchtet.

Man sieht, das Resultat ist ein entgegengesetztes, als es PFLÜGER für die Amphibien darstellt. Bei den Echinodermen lassen sich die Eier, nicht wenn sie am lebenskräftigsten sind, sondern bei abnehmender Lebensenergie durch Sperma einer anderen Art befruchten. Den Zeitpunkt grösster Lebensenergie verlegen wir bei normalen Verhältnissen in das Stadium der Eientleerung und nehmen an,

dass von da ab die Lebensenergie eine allmähliche Abnahme erfährt. Wir können hierfür ganz bestimmte Beweise beibringen.

Am lebenskräftigsten sind doch unzweifelhaft die Eier, bei welchen sich die Dotterhaut unter dem Einfluss der Befruchtung rasch abhebt und nur ein Spermatozoon eindringt. Nun kann man regelmässig sehen, wie proportional der Zeitdauer, welche die Eier nach der Entleerung im Wasser verweilen, sich die Membran langsamer abhebt, wie sie später zwar abgehoben, aber nur durch einen minimalen Spalt von der Eioberfläche getrennt wird. Noch später unterbleibt die Abhebung der Eimembran, es tritt Polyspermie ein, die Entwicklung wird pathologisch, endlich erhalten wir völlige Entwicklungsunfähigkeit, die mit Zerfall der Eier abschliesst. Wir haben so eine Reihe von äusserst prägnanten Zeichen abnehmender Lebensenergie.

Je geringer nun die Affinität der Sexualprodukte ist, um so weiter rückt das Bastardirungsoptimum in die Stadien abnehmender Lebensenergie der Eizellen hinaus. Zum Beispiel lassen sich die Eier von *Echinus mikrotuberculatus* sämmtlich noch mit abgehobener Eimembran bei Zusatz des Samens von *Strongylocentrotus lividus* befruchten; wenn wir aber Eier von *Sphaerechinus granularis* und Samen von *Strongylocentrotus lividus* anwenden, so rückt das entsprechende Optimum der Bastardirung in die Zeit hinaus, wo die Eimembran nur unvollkommen abgehoben wird. Eine weitere Verschiebung des Optimum liess sich bei den übrigen Kreuzungen erkennen.

Wir sind nun der Ansicht, dass bei den Amphibien die gleichen Verhältnisse vorliegen. Wenn daher PFLÜGER den günstigsten Moment der Bastardirung in die Zeit der höchsten Geschlechtsreife der Eier verlegt, so glauben wir, dass dieser Moment bei seinen Versuchen schon vorüber war und dass das Eimaterial schon gelitten hatte. Diese Annahme hat durchaus nichts Unwahrscheinliches, wenn wir, worauf schon oben aufmerksam gemacht wurde, in Erwägung ziehen, dass die Eier beim Transport der Thiere leiden, dass bei der Trennung der Pärchen das Fortpflanzungsgeschäft gestört wird und dass es nicht möglich ist, das Alter der Eier zu bestimmen. Auch findet diese Annahme noch in einigen Angaben von PFLÜGER und BORN über die weitere Entwicklung eine neue Stütze. Beide Forscher haben nämlich fast in allen Fällen, in denen Bastardbefruchtung erzielt werden konnte, auch beobachtet, dass neben den normal sich entwickelnden Bastardeiern stets eine kleinere oder grössere Zahl missgebildeter und

barockgefurchter Eier vorhanden waren. Die Barockfurchung ist durch Eindringen zahlreicher Spermatozoen veranlasst worden. Letzteres aber ist wiederum ein Zeichen, dass die Eier nicht mehr ganz frisch waren. Wir verallgemeinern hier unsere bei Echinodermen gewonnenen Erfahrungen, wozu wir um so mehr Veranlassung haben, als sowohl PFLÜGER wie BORN für die Amphibien festgestellt haben, dass wenn die Eier derselben aus irgend welchen Gründen gelitten haben, sie sich auch bei Zusatz des Samens der eigenen Art abnorm furchen. So kann man z. B. abnorme Furchung auf künstlichem Wege hervorrufen, wenn man das getödtete Weibchen von *Rana fusca* mit geöffnetem Bauch mehrere Tage liegen lässt, ehe man die Befruchtung vornimmt.

Unsere Meinung geht daher schliesslich dahin: Man wird bei den Amphibien gerade so wie bei den Echinodermen am leichtesten Bastarde züchten, wenn man geschwächte Eier mit recht lebenskräftigem Samen einer anderen Art vermischt. Das Bastardirungsminimum wird dann mit dem Anfang der Brunst, wo die Geschlechtsproducte am lebenskräftigsten sind, zusammenfallen.

Ob diese Vermuthung richtig ist, wird durch eine erneute Untersuchung leicht festzustellen sein.

Im Hinblick auf die von uns bewiesene Thatsache, dass die Eier in Bezug auf ihre Bastardirungsfähigkeit inconstante Factoren sind, wird jetzt auch der verschiedene Ausfall solcher Bastardirungsversuche, in denen man mit scheinbar frischem Material operirt, verständlich werden. Denn wenn man auch die zur Kreuzung benutzten Eier nicht künstlich geschädigt hat, so können dieselben doch schon durch mancherlei andere schwer zu beurtheilende Factoren in ihrer Lebenenergie gelitten haben, wie durch das Alter der Versuchsthiere, durch den mangelhaften Gesundheitszustand derselben etc. etc. Hieraus erklärt es sich, warum unsere Experimente oft etwas verschieden ausfielen, je nachdem wir die Eier von ganz frisch eingefangenen Thieren, sei es von *Strongylocentrotus lividus* oder von *Sphaerechinus granularis*, oder die Eier von solchen Thieren, die schon ein, zwei oder drei Tage in Gefangenschaft gehalten worden waren, sofort mit fremdem Samen befruchteten. Im ersteren Falle erzielten wir eine geringere, im letzteren eine grössere Anzahl von Bastarden, da die Schwächung des Eimaterials schon während des Lebens des Thieres im Ovarium erfolgt war.

Aus unserem Princip scheint sich auch eine Erklärung der bekannten Thatsache zu bieten, dass domesticirte Thier- und Pflau-

zenarten sich im Allgemeinen leichter kreuzen lassen, als nahe verwandte Arten im Naturzustande. Durch die Domestication wird eben im Ganzen die Constitution geschwächt, was sich dann besonders an den Geschlechtsproducten geltend macht, da, wie bekannt, der Generationsapparat bei allen Veränderungen im Körper in Mitleidenschaft gezogen wird.

Bisher haben wir immer mit dem männlichen Samen als mit einem constanten Factor rechnen können, da wir jedesmal möglichst frischen Samen zur Kreuzbefruchtung verwandt haben. Sollte nun aber der Erfolg der Bastardirung nicht auch durch eine verschiedene Beschaffenheit der Samenflüssigkeit beeinflusst werden können?

Bei den Echinodermen haben wir dieser Frage, auf welche wir uns vorbehalten später noch einmal zurückzukommen, aus Mangel an Zeit unsere Aufmerksamkeit nicht zuwenden können. Soweit wir aber bemerkt haben, scheint die Beschaffenheit des Sperma für den Ausfall der Experimente von geringer Bedeutung zu sein. Möglicher Weise liegen bei den Amphibien die Verhältnisse etwas anders, indem durch den Entwicklungszustand der Spermatozoen eine weitere Complication in das Experiment eingeführt wird.

BORN gibt an, dass zum Gelingen der Kreuzung recht lebenskräftiger Samen zur Zeit der Hochbrunst erforderlich ist. Mehrfach wird hervorgehoben, dass bei den Versuchsthieren die bastardirende Kraft des Samens vollständig erschöpft gewesen sei. So liessen sich in einem Falle die Eier von *Rana arvalis* mit Samen der einheimischen *Rana fusca* nicht mehr bastardiren, während es noch zwei Tage darauf mit frischen *Ranae fuscae*, welche aus Glarus gesandt worden waren, gelang. Desgleichen versagten in anderen Versuchen ebenfalls zuerst die Männchen der einheimischen *Ranae fuscae*. Am 26. April gelang mit ihnen keine einzige Bastardirung mehr, doch war ihr Same noch wirksam für die Eier der eigenen Art.

PFLÜGER ist freilich anderer Anschauung als BORN. Nach seinen Beobachtungen ermöglicht der Same der Amphibien viele Wochen vor und nach der Hochbrunst noch immer Bastardbefruchtung, und ist das Gesetz, nach welchem die Bastardbefruchtung allein auf dem Stadium der Hochbrunst gelingt, nur für das Ei scharf ausgesprochen und gültig.

Auch für die Amphibien kann mithin die Frage nach dem

Verhalten der Spermatozoen bei der Bastardbefruchtung noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden.

Ein zweiter Differenzpunkt zwischen unseren Vorgängern und uns ergibt sich, wenn wir nach den Ursachen forschen, durch welche Bastardbefruchtung verhindert wird.

PFLÜGER stellt die Hypothese auf, dass alle zur Zeit der Hochbrunst rein negativ ausfallenden Kreuzungen zwischen den verschiedenen Arten der Anuren nur durch secundäre, d. h. unwesentliche äussere Umstände zu erklären seien. Das wahre Gesetz sei wahrscheinlich: reciproke Fruchtbarkeit bei allen Arten, normale Furchung der Eier und Absterben während der ersten Entwicklung. Eine sehr wesentliche aber grob mechanische, secundäre Ursache, durch welche in den meisten Fällen das Gelingen der Bastardbefruchtung verhindert werde, glaubt PFLÜGER in der Form der Spermatozoenköpfe gefunden zu haben. Durch einen Vergleich der von ihm erhaltenen Kreuzungsergebnisse und der Form der Spermatozoen bei den verschiedenen Anurenarten wird er zur Aufstellung zweier Sätze veranlasst: 1) dass im Allgemeinen diejenigen Spermatozoen am geeignetsten sind zur Vermittlung der Bastardzeugung, deren Kopf am dünnsten und deren vorderes Ende am spitzesten ist; 2) dass im Allgemeinen die Eier der Bastardbefruchtung am zugänglichsten sind, wenn die zugehörigen Spermatozoen derselben Art dickere Köpfe haben. Er setzt deshalb die Anwesenheit einer Mikropyle voraus, die gerade so weit ist, dass das Spermatozoon der eigenen Art passieren kann.

Als Beleg für diese Hypothese werden hauptsächlich die Samenfäden von *Rana fusca* aufgeführt, welche unter allen Arten den dünnsten und sehr spitz auslaufenden Kopf haben. Sie befruchten fast alle Eier, auf die sie einwirken: die Eier von *Rana arvalis*, *Rana esculenta*, *Bufo communis*, während umgekehrt die dickköpfigen Spermatozoen von *Rana arvalis* und *R. esculenta* mit stumpfem Kopfende in das Ei der *Rana fusca* nicht einzudringen vermögen und überhaupt kein fremdes Ei befruchten können. Die auffallendste Bestätigung seiner Hypothese aber findet PFLÜGER darin, dass gerade die beiden Anurenarten, welche Spermatozoen mit gleichgeformten und gleich grossen Köpfen besitzen, *R. arvalis* und *R. esculenta*, vollkommen reciproke Bastardbefruchtung zeigen.

Auch BOHN legt für das Gelingen der Bastardierung ein grosses Gewicht auf die Form der Samenfäden und nimmt eine verschiedene Fähigkeit derselben in Bezug auf das Durchdringen verschie-

den gebauter Gallerthüllen an. Er erklärt hieraus die von ihm beobachtete Erscheinung, dass je nach der Concentration der benutzten Samenflüssigkeit die Resultate etwas verschieden ausfallen, weil bei steigender Concentration die Wahrscheinlichkeit wächst, dass von vielen 1000 Samenfäden wenigstens einer durch die Gallerthüllen glücklich in das Ei gelangt. Ausserdem lässt er es noch von unbekanntem individuellen Verschiedenheiten der Spermatozoen abhängen, ob bei der Bastardirung der Verlauf des Befruchtungsvorganges zum normalen Ziele führt oder nicht und ob dementsprechend reguläre oder irreguläre Furchung auftritt.

Nach unseren an den Echinodermen gesammelten Erfahrungen müssen wir einen abweichenden Standpunkt einnehmen.

Bei den Echinodermen wird die Befruchtung nicht durch Hüllbildungen, wie bei den Amphibien, oder dadurch, dass die Spermatozoen im Wasser rasch absterben, erschwert. Eine Mikropyle fehlt. Für den besseren oder geringeren Erfolg der Bastardirung kann die äussere Form der Spermatozoen nicht verantwortlich gemacht werden. Denn selbst bei den stärksten Vergrösserungen ist es uns nicht möglich gewesen zwischen den reifen Samenfäden eines *Sphaerechinus* oder *Strongylocentrotus* oder einer *Arbacia* Unterschiede in Form und Grösse zu entdecken. Aber auch selbst dann, wenn hier Verschiedenheiten beständen, würde bei den Echiniden nicht einzusehen sein, warum ein Spermatozoon von bestimmter Beschaffenheit in die Eier der einen Art leichter als in die Eier einer anderen Art hineindringen sollte, da sie sich in ihren Hüllen nicht unterscheiden und eine Mikropyle fehlt. Auch die Quantität des hinzugefügten Sperma ist ohne Einfluss, wie wir durch eine Versuchsreihe nachgewiesen haben. Es kommen also alle jene äusseren Momente in Wegfall, welche nach BORN und PFLÜGER das Resultat der Kreuzung bei den Amphibien bestimmen sollen.

Wenn wir trotzdem bei den Echiniden gesehen haben, dass bei ihnen gerade so wie bei den Amphibien die Kreuzung zwischen manchen Arten besser, zwischen anderen wieder weniger gut gelingt, dass hier die Befruchtung eine reciproke, dort eine einseitige ist, dass die Eier ein und derselben Art ihre Empfängnisfähigkeit gegen den Samen einer anderen Art verändern, so müssen die Ursachen in einer ganz anderen Richtung gesucht werden.

Es kann nur die Constitution oder die innere Organisation der Geschlechtsprodukte selbst sein,

welche das Gelingen der Kreuzbefruchtung bestimmt. Volle Fruchtbarkeit, oder wie wir, an chemische Bezeichnungen anknüpfend, auch sagen können, volle geschlechtliche Affinität findet nur statt zwischen den Geschlechtsprodukten ein und derselben Art. Sie erlischt allmählich in demselben Maasse, als die Geschlechtsprodukte einander fremdartiger werden.

Die für die Befruchtung maassgebenden Faktoren suchen wir in den activen Zellbestandtheilen, Kern und Protoplasma, den Theilen, welche wir auch sonst Form und Wesen der Organisation bei allen Entwicklungsprocessen und histologischen Differenzirungen bestimmen sehen. Auf sie passen die Erfahrungen, welche wir mit Rücksicht auf die Veränderungen in der Bastardirungsfähigkeit gemacht haben. Durch langes Liegen im Wasser oder durch Einwirken von Schädlichkeiten wird der eigentliche Zellkörper des Eies verändert, wie wir auch durch andere Erfahrungen, so namentlich durch die Erfahrungen über die Zelltheilung, wissen.

Die Veränderlichkeit in den Lebenseigenschaften kommt nun für die beiderlei Sexualprodukte bei der Bastardirung in ganz entgegengesetztem Sinne zur Geltung. Bastardirung gelingt um so leichter, je lebensfähiger die Spermatozoen sind und je mehr die Eier eine Schwächung erfahren haben. Die Schwächung wiederum muss um so bedeutender sein, je weniger günstig die Bedingungen für die Bastardirung im Allgemeinen sind. Der Widerstand gegen Bastardbefruchtung geht offenbar vom Ei aus, das lehren unsere Untersuchungen auf das Unzweideutigste. Bei den Spermatozoen ist dagegen die Tendenz zur Befruchtung stets vorhanden, sie ist möglicherweise geringer bei Eiern einer fremden Art, als bei Eiern derselben Art; man kann dies, wenn auch nicht aus unseren eigenen Erfahrungen, so doch vielleicht aus den von Born angestellten Experimenten entnehmen.

Zum Schluss weisen wir noch auf eine Analogie hin, welche zwischen der Bastardbefruchtung und der Polyspermie besteht.

Einer von uns hat früher den Satz aufgestellt, dass das Eindringen vieler Spermatozoen durch Lebenseigenschaften der Eizelle verhindert wird. Eine Reihe von Untersuchungen, welche wir in einem nächsten Heft mittheilen

werden, haben für diese Ansicht weitere Beweise beigebracht. Wir können jetzt den Satz erweitern und sagen, dass in der Eizelle regulatorische Kräfte vorhanden sind, welche den normalen Verlauf der Befruchtung garantiren und Polyspermie und Bastardbefruchtung zu verhindern streben. Diese regulatorischen Kräfte können mehr oder minder ausser Thätigkeit gesetzt werden, wenn die Lebensenergie der Eizelle eine Verminderung erfährt. Welcher Art diese Kräfte sind, und ob sie im Protoplasma oder dem Kern ihren Sitz haben, muss noch durch weitere Untersuchungen entschieden werden.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft](#)

Jahr/Year: 1886

Band/Volume: [NF_12](#)

Autor(en)/Author(s): Hertwig Oscar [Wilhelm Aug.], Hertwig Wilhelm Karl Theodor Ritter von

Artikel/Article: [Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. 121-165](#)