

Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung.

Von

Dr. Oscar Hertwig,

o. Professor der Anatomie an der Universität Berlin.

Hierzu Tafel VIII—X.

Den experimentellen Untersuchungen, welche wir vor zwei Jahren „über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien“ veröffentlicht haben ¹⁾, lassen wir hier einen weiteren Beitrag folgen. Zahlreiche Fragen nach der Art der Kräfte, welche in der Ei- und Samenzelle wirksam sind, konnten damals nur aufgeworfen, aber aus Mangel an geeignetem Beobachtungsmaterial und bei der Kürze der für die zahlreichen Experimente verfügbaren Zeit nicht beantwortet werden. An dieselben wieder anzuknüpfen und so dem großen Problem der Zeugung von möglichst vielen Seiten näher zu treten, schien uns nach wie vor eine dankbare Aufgabe zu sein.

Für die in Aussicht genommenen Untersuchungszwecke glaubten wir einen besonders geeigneten Ort in Triest zu finden. Nach den von Dr. GRAEFFE ²⁾ veröffentlichten Berichten kommen zahlreiche Arten von Seeigeln und Seesternen in geschlechtsreifem Zustand während der Monate März und April in Triest vor.

In der That war es auch leicht, fast täglich frisches Material von *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus microtuberculatus*, und häufig auch von *Sphaerechinus granularis*, *Asterias glacialis* und *Astropecten* zu erhalten. Die Materialbeschaffung wurde uns dadurch sehr erleichtert, daß wir Gelegenheit hatten, an der zoo-

1) OSCAR HERTWIG und RICHARD HERTWIG, Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jena 1887.

2) ED. GRAEFFE, Übersicht der Seetierfauna des Golfes von Triest nebst Notizen über Vorkommen, Lebensweise, Erscheinungs- und Fortpflanzungszeit der einzelnen Arten. Arbeiten aus dem zoologischen Institut der Universität Wien und der zoologischen Station in Triest, Bd. III, 1880.

logischen Station zu Triest zu arbeiten. Durch das freundliche Entgegenkommen des Direktors derselben, des Herrn Professor CLAUS, war uns ein Zimmer für unsere Untersuchungen zur Verfügung gestellt worden. Wir verfehlen nicht, hierfür unsern besten Dank abzustatten.

Wenn so die Wahl des Ortes gut getroffen war, griff leider ein gar nicht voraussehender Übelstand in den Gang der Untersuchungen störend ein. Es waren dies die überaus ungünstigen Witterungsverhältnisse des Frühjahres 1887. Während der Monat Februar warm gewesen war, trat gegen Mitte März plötzlich noch ein für die dortige Gegend strenger Nachwinter mit hohem Schneefall ein und hatte zur Folge, daß selbst noch im April die durchschnittliche Tagestemperatur eine ziemlich niedrige blieb. Für uns erwuchs hieraus ein doppelter Nachteil.

Der kleinere Nachteil war der Verlust einer vollen Arbeitswoche. Von dem Witterungsumschlag, der von einem heftigen Schneesturm begleitet war, wurden wir auf der Eisenbahnfahrt von München nach Triest mitten im Gebirge überrascht. Da alle Bahnlinien nach Triest, sowohl die Route über den Karst als die Pontebbabahn über Udine und Görz, durch hohen Schnee bei heftiger Bora unfahrbar geworden waren, wurden wir 5 Tage in Laibach aufgehalten.

Größer war der zweite Nachteil, daß das in Aussicht genommene Arbeitsmaterial offenbar infolge der abnormen Witterungsverhältnisse geschädigt war. Bei vielen frisch eingefangenen Tieren, am häufigsten bei *Echinus microtuberculatus*, ließen sich die reifen Eier zum großen Teil nicht in normaler Weise befruchten; bei vielen trat Überfruchtung und monströse Entwicklung ein, die zum baldigen Zerfall führte. Mit solchem krankhaften Material war es selbstverständlicher Weise nicht möglich, Experimente auszuführen. Wir mußten uns in der Weise helfen, daß wir unter vielen Individuen nach solchen suchten, deren Eimaterial durchweg eine normale Entwicklung zeigte. Zu dem Zwecke mußten jedesmal vor Veranstaltung eines Versuchs Vorversuche gemacht werden, was einen nicht unerheblichen Zeitverlust herbeiführte. Hierfür wurden wir allerdings in gewissem Sinne entschädigt dadurch, daß wir die vielleicht seltene Gelegenheit erhielten, ein Experiment zu beobachten, welches die Natur selbst im großen Maßstabe ausgeführt hatte.

Abgesehen von der krankhaften Veränderung der Geschlechtsprodukte, entsprach das gesuchte Arbeitsmaterial auch noch in

einer anderen Hinsicht, und zwar wohl ebenfalls infolge der ungünstigen Witterungsverhältnisse, nicht unseren Wünschen. Manche Arten, deren Geschlechtsprodukte nach den Angaben von GRAEFFE in den Monaten März und April gereift sein sollten, enthielten noch gegen Ende April unreife Eier und Samenfäden, so *Asteracanthion* und *Astropecten*. Daher mußten denn Versuche, die an den Geschlechtsprodukten der Seesterne geplant waren und die uns nach Triest zu gehen in erster Linie bestimmt hatten, ganz unterbleiben.

Da wir in Triest in vieler Hinsicht unsere Arbeitszwecke nicht hatten zur Ausführung bringen können, benutzte einer von uns (RICHARD HERTWIG) die Osterferien 1888 zu einem erneuten Aufenthalt in Spezia. Dieser zweite Aufenthalt hatte ebenfalls mit vielen Widerwärtigkeiten zu kämpfen. Ganz außergewöhnlich heftige Regengüsse hatten wochenlang das Hafengebassin von Spezia verunreinigt und dauerten zum Teil auch während des Aufenthaltes noch fort. Abermals hatten die Geschlechtsprodukte der Seeigel häufig gelitten, so daß es nötig war, bei jedem Experiment eine Vorprüfung vorzunehmen, ob die Eier normaler Entwicklung fähig seien. Von *Asteracanthion* waren nur wenige Exemplare zu erhalten und diese waren sämtlich Männchen, welche der Hauptsache nach abgelaicht und nur noch wenig Samen in ihren Genitalorganen aufbewahrt hatten. Offenbar war das Laichgeschäft schon seit längerer Zeit beendet, und die weiblichen Tiere hatten sich in größere Tiefen zurückgezogen.

Trotz dieser verschiedenen Hindernisse und erschwerenden Umstände haben die in Triest und Spezia vorgenommenen Untersuchungen zu mehrfachen Ergebnissen, zu zahlreichen neuen Beobachtungen und zu neuen Fragestellungen geführt. Da die Beobachtungen sehr verschiedener Art sind, sollen sie in 8 Kapiteln mit folgenden Überschriften zur Besprechung kommen:

- 1) Überreife der Eier und Erscheinungen, die hierdurch veranlaßt werden.
- 2) Verhalten der Geschlechtsprodukte gegen Kälte.
- 3) Färbung der lebenden Zellsubstanz durch Methylenblau.
- 4) Parthenogenese bei Seesternen.
- 5) Bastardierungsversuche.
- 6) Befruchtung von abgesprengten Eistücken und von Furchungskugeln.
- 7) Entwicklung unbefruchteter Eier unter dem Einfluß von Reagentien.
- 8) Bedingungen der monospermen Befruchtung.

Die Untersuchung wurde teils an dem lebenden, teils auch an konserviertem Material nach unserer Rückkehr ausgeführt. Hierbei hat der eine von uns die Bearbeitung des den 4 ersten Kapiteln zu Grunde liegenden Materials, der andere die Bearbeitung des übrigen und des noch durch den Aufenthalt in Spezia gewonnenen Materials übernommen.

Erster Teil.

Erstes Kapitel.

Überreife der Eier und Erscheinungen, die hierdurch veranlaßt werden.

Während der ganzen Zeit unseres Aufenthaltes in Triest, namentlich aber in der ersten Hälfte des Aprils erhielten wir zahlreiche Tiere von *Echinus microtuberculatus* mit mehr oder minder krankem Eimaterial. Dieselben stammten von verschiedenen Gegenden her. Meist wurden sie von den Chiosoten, Fischern, welche in Triest mit dem Tiefnetz fischen, in weiter Entfernung von der Küste und in größerer Meerestiefe gefangen; andere Male waren sie im Triester Hafen oder außerhalb desselben an der Küste, 1 Stunde von der zoologischen Station, und zwar dann von uns selbst gesammelt worden.

Bei der Eröffnung zeigten die meisten weiblichen Tiere auffallend prall gefüllte Eierstöcke. Dies war gewöhnlich schon ein Anzeichen, daß das Material nicht brauchbar sein würde. Wir ließen die geöffneten Tiere, indem wir sie in Schälchen mit frischem Meerwasser setzten, einen kleinen Teil ihrer Eier von selbst entleeren. Meist pflegen die Eier bald nach Eröffnung der Schale aus den Mündungen der Eileiter hervorzuströmen, wohl infolge von Zusammenziehungen, die am Eierstock eintreten. Die so ausgestoßenen Eier sahen bei oberflächlicher mikroskopischer Untersuchung reif und normal aus. Sie waren vollkommen durchsichtig und besaßen einen in der Mitte des Dotters gelegenen Eikern. Genauer untersucht, zeigten sie indessen an ihrer Oberfläche einen oder zwei kleine Hügelchen, die aus der homogenen Rindensubstanz des Eies bestanden und uns zu anderen Zeiten bei Echino-

dermeneiern noch niemals aufgefallen waren. Wenn zwei vorhanden waren, schienen sie uns stets einander gegenüberzuliegen. Über ihre Entstehung haben wir keine Beobachtungen gemacht, aus ihrer Anwesenheit aber konnten wir mit Sicherheit schließen, daß hier eine normale Befruchtung und Entwicklung nicht mehr möglich war.

Wenn Samen der eigenen Art, den wir stets gesund und beweglich fanden, zu den aus den vollen Eierstöcken entleerten Eiern zugefügt wurde, so schien der Erfolg der Befruchtung in einzelnen, gleichsam das Extrem darstellenden Fällen überall ausbleiben. Bei keinem Ei bildete sich weder ein Empfängnis-hügel, noch hob sich eine Dotterhaut von seiner Oberfläche ab, was immer das auffälligste und am leichtesten nach einigen Minuten zu bemerkende Zeichen eingetretener Befruchtung ist; auch Strahlenbildung war im Dotter in der ersten Zeit nach dem Zusatz des Samens nicht zu sehen. Später trat sie in größerer Anzahl auf. Die Entwicklung wurde eine sehr gestörte, nirgends eine Zweiteilung; nach 4—5 Stunden begannen einzelne Eier sich in größere und kleinere kugelige Stücke in unregelmäßiger Weise zu zerklüften.

Von diesem höchsten Grade der Schädigung führten Abstufungen zu Tieren mit gesundem Eimaterial herüber. Als Mittelstufe können wir hierbei einen Zustand bezeichnen, bei welchem von den Eiern sich zwar die Eihaut nach dem Samenzusatz rascher oder langsamer abhob, anstatt eines Samenfadens aber zwei oder mehrere in den Dotter gleichzeitig eindrangen und Unregelmäßigkeiten der Weiterentwicklung hervorriefen. Bei der Durchmusterung und Prüfung eines zahlreichen Materiales fiel es uns bald auf, daß wir auf gesunde Beschaffenheit der Eier gewöhnlich bei solchen Tieren rechnen konnten, deren Eierstöcke schlaff und schwach gefüllt waren. Wir nehmen an, daß hier die früher vorhandenen, aber infolge ungünstiger Verhältnisse degenerierten Eier schon vor dem Einfangen entleert worden waren, und daß ein neuer Satz von Eiern zu reifen angefangen hatte. Mit dieser Annahme stimmt überein, daß einige Wochen später die Seeigel mit prallen, aber krankhaften Eierstöcken allmählich seltener und durch Tiere mit gesundem Eimaterial ersetzt wurden.

Ähnliche Verhältnisse zeigte *Strongylocentrotus lividus*. Obwohl in den letzten Tagen des März frisch eingefangene Exemplare die Eierstöcke strotzend gefüllt hatten, blieb eine normale

Befruchtung, Abhebung der Eihaut, Strahlung, Zweiteilung in der Regel aus. Von Mitte April an trat hier eine Besserung ein. Wir erhielten Tiere, deren Eierstöcke zum Teil noch klein und in der Reife begriffen, zum Teil schon prall mit gesunden, entwickelungsfähigen Eiern gefüllt waren.

Um in die Veränderungen einen Einblick zu gewinnen, welche sich nach dem Samenzusatz im Inneren des Dotters abspielen, wurden Eier von *Echinus microtuberculatus*, welche stark geschädigt waren und die oben erwähnte Hügelbildung zeigten, nach der Befruchtung in vier verschiedenen Intervallen abgetötet und nach der Rückkehr nachträglich in der schon früher beschriebenen Weise zu genauerer Untersuchung benutzt.

Ein Teil wurde 12 Minuten nach der Befruchtung mit Pikrinsäure konserviert. Obwohl sich nirgends eine Eihaut gebildet und abgehoben hatte, waren trotzdem Samenfäden in den Dotter eingedrungen. Da nach der Färbung mit Boraxkarmin und Aufhellung in Kanadabalsam die stark tingierten Köpfe der Samenfäden sehr deutlich hervortraten, bereitete die genaue Feststellung ihrer Anzahl keine Schwierigkeit. Um ein ungefähres Mittel zu erhalten, wurde bei 10 Eiern, die im Balsampräparat zusammenlagen, die Zahl der eingedrungenen Spermatozoen bestimmt.

4 Eier zeigten	1	Samenkern,
2 „ „	2	Samenkerne,
3 „ „	3	„
1 Ei war		unbefruchtet.

In 10 Eier waren also im ganzen 17 Samenfäden eingedrungen, so daß im Mittel auf 1 Ei noch nicht 2 Samenkerne kamen. Diese besaßen noch genau die Form des Kopfes des Samenfadens, lagen ganz oberflächlich in der Dotterrinde, während sonst schon die Anlagerung an den Eikern nach Ablauf von 12 Minuten eintritt; in ihrer Umgebung war entweder gar keine oder nur eine sehr geringfügige Strahlenbildung erfolgt. Keine Spur eines Empfängnishügels war wahrzunehmen. Das Eioplasma reagierte also nicht mehr in der bekannten Weise auf den vom Samenfaden ausgeübten Reiz.

Eine zweite Portion der Eier wurde eine halbe Stunde nach vorgenommener Befruchtung abgetötet. Wie ein Studium der Kanadabalsampräparate ergab, waren die Köpfe der Samenfäden zum Teil tiefer in den Dotter eingedrungen und mehr oder minder in kleinere oder größere Kernbläschen umgewandelt. Alle Stadien dieses Prozesses lassen sich bei Durchmusterung einiger Präpa-

rate leicht erkennen. Der Kopf des Samenfadens schwillt zunächst an, indem er aus dem Dotter flüssigere Substanz in sich aufnimmt (Taf. VIII, Fig. 1 und 2). Das Nuclein sondert sich hierauf von dem Kernsaft ab, indem es sich zu Fäden und Körnern anordnet. So entstehen kleine Bläschen, in denen das Nuclein entweder in der Mitte als eine höckerige Masse angesammelt oder mehr gleichmäßig in feinen Fäden im Kernraum ausgebreitet ist. Die größeren Bläschen erreichen den halben Durchmesser des Eikerns. Ihre Anzahl ist jetzt eine erheblich größere als auf dem vorangegangenen Stadium, so daß nachträglich ein Eindringen weiterer Samenfäden stattgefunden haben muß. Auch spricht hierfür deutlich der Umstand, daß, während die Kernbläschen tiefer im Dotter liegen, sich auch in der Rinde vereinzelt Samenkerne nachweisen lassen, welche noch ganz die Beschaffenheit der Köpfe der Samenfäden besitzen. Meist liegt der Eikern noch isoliert im Dotter. In andern Fällen hat sich ihm ein einziges Samenbläschen (Fig. 2) oder eine geringe Anzahl von solchen angelagert, umgeben von einer wenig ausgeprägten protoplasmatischen Strahlenfigur.

Eine an 10 Eiern wie oben vorgenommene Zählung der Samenkerne lieferte folgende Ergebnisse:

	Ei 1	enthält	12	von Samenfäden abstammende Kerngebilde	(teils Samenfädenköpfe, teils Bläschen),
	„ 2	„	3	Samenkerne,	
	„ 3	„	4	„	
	„ 4	„	1	Samenkern, der sich dem Eikern angelegt hat,	
	„ 5	„	4	Samenkerne,	
	„ 6	„	5	„	(2 davon Bläschen),
	„ 7	„	10	„	
	„ 8	„	16	„	
	„ 9	„	4	„	
	„ 10	„	13	„	

10 Eier enthalten 72 Samenkerne.

Während 12 Minuten nach der Befruchtung im Mittel 2 Samenfäden in ein Ei eingedrungen sind, kommen jetzt im Durchschnitt 7 auf ein Ei.

Eine noch weitere Vermehrung ist bei Eiern zu konstatieren, welche 1 Stunde 40 Minuten nach dem Zusatz der Samenflüssigkeit mit Pikrinessigsäure übergossen wurden. Wie aus der später mitgeteilten Zusammenstellung zu ersehen ist, ist jetzt die Durchschnittszahl der Samenkerne für ein Ei auf 9 gestiegen. Die am frühzeitigsten eingedrungenen haben weitere Umwandlungen er-

*2
Carn. Stammes
1
de f. sub
P. nach dem 1. 2*

fahren (Fig. 5 und Fig. 6). Sie stellen jetzt Blasen vor, zum Teil von der Größe des Eikerns, und haben ein dichtes Netzwerk feiner Fäden entwickelt; oft liegen sie in kleineren oder größeren Gruppen zusammen. Dann läßt sich zuweilen beobachten, wie mehrere zu einer größeren, unregelmäßigen, mit Höckern besetzten Blase, die wieder ein feines dichtes Fadenwerk zeigt, untereinander verschmolzen sind (Fig. 5 b).

Auch hier finden sich namentlich in den stark überfruchteten Eiern Übergangsstufen (Fig. 3) zu kleineren Kernbläschen mit einem gröberen und stärker färbaren Gerüst von chromatischer Substanz (b u. a) und von diesen wieder Übergänge zu frisch eingedrungene und daher oberflächlich gelegene noch kompakten kleinen Samenkernen. In manchen Eiern sind die isoliert gelegene bläschenförmigen Kerne etwas oval geworden und an den Polen von zwei Plasmastrahlungen umgeben (Fig. 4).

Der Eikern ist häufig noch unbefruchtet. In anderen Fällen ist er mit einem oder mit zwei Samenkernen in Verbindung getreten. So zeigt uns Fig. 3 c einen Eikern, mit einem nicht gefärbten Gerüst, welcher sich an einer Seite in einen kleinen Höcker mit gefärbtem Netzwerk fortsetzt. Der Höcker ist seiner ganzen Beschaffenheit nach ein bläschenförmiger Samenkern, der mit dem Eikern zum Teil verschmolzen ist, insofern eine Abgrenzung zwischen beiden aufgehört hat. Daneben erblickt man einen zweiten bläschenförmigen Samenkern, welcher zwar dicht angelagert, aber noch überall durch eine Membran abgegrenzt ist.

Ich lasse noch eine Zusammenstellung der an 10 Eiern erhaltenen Befunde folgen:

- | | | |
|------|---------------------|---|
| Ei 1 | enthält 2 Samenkern | von denen einer mit dem Eikern verschmolzen ist, der andere ihm dicht anliegt. |
| „ 2 | „ | einen noch isolierten Eikern, 20 bläschenförmige Samenkern, teils einzeln, teils in Haufen zusammenliegend, endlich 2 frisch eingedrungene Samenkern. |
| „ 3 | „ | einen noch isolierten Eikern, 5 bläschenförmige und 17 später eingedrungene, kleinere, teils noch kompakte Samenkern. |
| „ 4 | „ | einen Eikern mit 4 anliegenden blasenförmigen Samenkernen und Protoplasmastrahlungen. |
| „ 5 | „ | eine einzige Kernspindel (normale Befruchtung). |
| „ 6 | „ | einen Eikern mit anliegendem Samenkern. |

- Ei 7 enthält einen Eikern, mit welchem 1 Samenkern verschmolzen ist, und welchem ein zweiter dicht anliegt.
- „ 8 „ einen Eikern und 9 in der Nähe gelegene blasenförmige Samenkernkerne.
- „ 9 „ einen Eikern, mit welchem 2 Samenkernkerne verschmolzen sind.
- „ 10 „ einen Eikern mit 18 blasenförmigen Samenkernkernen, die zum Teil in seiner Nähe, zum Teil gruppenweise zusammenliegen.

In 10 Eier sind somit im ganzen 86 Samenfäden oder durchschnittlich in jedes Ei ihrer 9 eingedrungen.

Der Rest des Eimaterials wurde nach 4 Stunden 20 Minuten nach Vornahme der Befruchtung eingelegt. Er bot außerordentlich verschiedenartige Befunde dar. An Eiern, die wohl noch am meisten in normaler Weise reagierten, war der Eikern geschwunden. In der Rinde des Dotters fanden sich in ziemlich gleichmäßiger Verteilung zahlreiche Kernspindeln, deren Zahl sich in einem Fall auf 7, in einem anderen Fall auf 8 belief (Fig. 7). Nach dem ganzen Verlauf der Erscheinungen ist wohl keine andere Deutung zulässig, als daß von den Spindeln eine aus dem befruchteten Eikern, die anderen aus den isoliert gebliebenen Samenkernen entstanden sind. Im weiteren Verlauf müssen sich die Spindeln in der gewöhnlichen Weise zu teilen fortfahren, denn man begegnet Eiern, an deren Oberfläche sich wie bei dem Typus der superficialen Furchung zahlreiche bläschenförmige Kerne vorfinden, und andere, an denen sich das Protoplasma um diese Kerne zu Ballen abzuschnüren beginnt (Fig. 8).

Eine zweite Kategorie von Eiern birgt mehr oder minder zahlreiche große Kernblasen, unter denen man manche wegen ihrer ganz besonderen Größe als Riesenkerne bezeichnen könnte (Fig. 9). Durch Verschmelzung vieler bläschenförmiger Samenkernkerne entstanden, erreichen sie die Größe eines Keimbläschens (Fig. 10). Im Inneren werden sie von einem feinen Fadenwerk durchsetzt, in dessen Maschen mehrere Nucleolen eingeschlossen sind.

Zuweilen sind mehrere Blasen, wie in der Figur 9, zu Reihen aneinander gelagert und an ihrer Oberfläche hie und da von protoplasmatischen Strahlenfiguren umgeben.

Von diesen Formen ist endlich eine dritte Gruppe von Eiern abzuleiten, die sehr komplizierte Kernteilungsfiguren darbieten. Hier erblickt man im Dotter einen oder mehrere kugelige oder

langgestreckte Haufen von außerordentlich zahlreichen, nahe zusammengelegenen, kurzen, gebogenen Chromatinfäden (Fig. 11 und 12). Bei ihrer großen Zahl ist eine gesetzmäßige Anordnung nicht herauszufinden; sie scheinen mehr ein wirres Durcheinander zu bilden. An der Oberfläche des Haufens sind im Protoplasma zahlreiche kleine Strahlungsfiguren wahrzunehmen. Ihre Entstehung stelle ich mir in der Weise vor, daß sich in den Kernhaufen die Membran aufgelöst hat und daß die färbbaren Substanzen in die Form der kleinen Fäden übergegangen sind. Die Übereinstimmung derselben in Form und Größe untereinander und mit den Fäden, wie sie bei regulärer Kernteilung entstehen, ist eine bemerkenswerte Erscheinung.

Was aus diesen komplizierten Kernfiguren weiter wird, konnte an dem eingelegten Material nicht verfolgt werden. Nach ähnlichen früher beobachteten Fällen zu urteilen, werden so viele kleine Kerne, als Strahlungen vorhanden sind, durch Sonderung und Verschmelzung der Chromatinfäden entstehen, und wird hierbei der Dotter durch Knospenfurchung sich in kleine Stücke zu teilen beginnen.

Komplizierte Kernteilungsfiguren, wie sie von mir auf den vorausgegangenen Seiten und bereits schon bei früherer Gelegenheit beschrieben worden sind, treten nicht nur in überfruchteten Eizellen, sondern auch in tierischen Geweben unter pathologischen Verhältnissen auf¹⁾.

1) Litteratur.

1. MARTIN, Zur Kenntnis der indirekten Teilung. VIRCHOW'S Arch., Bd. LXXXVI.
2. J. DENYS, Quelques remarques sur la division des cellules géantes de la moelle des os d'après les travaux de ARNOLD WERNER, LÖWIT et CORNIL. Anatom. Anzeiger 1888.
3. WALDSTEIN, Ein Fall von progressiver Anämie. VIRCH. Arch., Bd. XCI.
4. CORNIL, Sur la multiplication des cellules de la moelle des os par division indirecte dans l'inflammation. Arch. de phys. norm. et path., 3^{me} Série, T. III, 1887.
5. Derselbe, Sur le procédé de division indirecte des noyaux et des cellules épithéliales dans les tumeurs. Arch. de phys. norm. et pathol., T. VIII, 3^{me} Série.
6. ARNOLD, Beobachtungen über Kerne und Kernteilungen in den Zellen des Knochenmarkes. VIRCH. Arch., Bd. XCIII.

So beobachteten ARNOLD, MARTIN, WALDSTEIN, CORNIL in krebsigen und anderen Geschwülsten Zellen, die anstatt der gewöhnlichen Spindel komplizierte Kernteilungsfiguren bargen, entweder einen Triaster oder einen Tetraster oder Polyaster; sie reden von ihnen als von vielfachen Mitosen mit verzweigter Aequatorialplatte oder von mehr- und vielstrahligen Kernplatten oder von Kernfiguren, die aus Kernplatten zusammengesetzt sind; sie erwähnen von ihnen, daß sich in den meisten Fällen die dazu gehörigen achromatischen Spindeln nicht erkennen ließen.

DENYS bildet von den Riesenzellen des Knochenmarks Teilungsstadien ab, die den von mir beschriebenen Figuren außerordentlich ähnlich sind. Nach seiner Beschreibung schwindet die Membran der Riesenkerns, die färbare Kernsubstanz ordnet sich in sehr zahlreichen V-förmigen Schleifen an, deren Zahl mehrere 100 betragen kann. Die Schleifen legen sich darauf in regelmäßiger Weise in Gruppen von 3—20 zusammen und scheinen sich auf diesem Stadium der Länge nach zu spalten. Die Chromatinschleifen weichen hierauf auseinander und erzeugen viele blasenförmige Kerne, deren Zahl der Anzahl der aus der Spaltung der Schleifen entstehenden Gruppen entspricht.

Namentlich aber zeigen die größte Übereinstimmung mit den hier und in einer früheren Arbeit abgebildeten Figuren die schönen Zeichnungen, welche SCHOTTLÄNDER in einer sorgfältigen Untersuchung über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut geliefert hat. Man vergleiche die beiden aus SCHOTTLÄNDER'S Arbeit entnommenen Kopieen von einer En-

-
- ARNOLD, Weitere Beobachtungen über die Teilungsvorgänge an den Knochenmarkzellen und weißen Blutkörperchen. *VIRCH. Arch.*, Bd. CIII.
 - Derselbe, Über Kernteilung und vielkernige Zellen. *VIRCH. Arch.*, Bd. XCVIII.
 - 7. WERNER, Über Teilungsvorgänge in den Riesenzellen des Knochenmarkes. *VIRCH. Arch.*, Bd. CVI.
 - 8. LÖWIT, Über Neubildung und Zerfall weißer Blutkörperchen. *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch. zu Wien*, Bd. 92, 3. Abt.
 - 9. KRAUSS, Beiträge zur Riesenzellenbildung in epithelialen Geweben. *VIRCH. Arch.*, Bd. XCV, 1884.
 - 10. J. SCHOTTLÄNDER, Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXXI, 1888.

dothelzelle mit einer dreistrahligem und einer andern Zelle mit einer sechsstrahligen Kernfigur (Taf. IX, Fig. 19 u. 20).

Was ist die Ursache für die erwähnte vielstrahlige Kernteilungfigur in den Riesenzellen? Ist es vielleicht eine ähnliche wie in unserem Falle, daß viele Kerne sich zu einer Kernmasse verbunden haben und dann gewissermaßen wie die zusammengruppierten Samenkerne in Teilung eingetreten sind? Mir scheint diese Vermutung nicht von der Hand zu weisen zu sein, da ARNOLD, KRAUSS, LÖWIT der Ansicht sind, daß die Entstehung der Riesenzellen eine verschiedenartige sein kann, und daß manche Arten durch Verschmelzung von Zellen ihren Ursprung nehmen. Wenn aber dem so ist, dann möchten wohl auch manche Kernformen, die man als in Fragmentation befindlich beschrieben hat, durch Zusammenlegung und Verschmelzung vieler Einzelkerne mit größerem Rechte herzuleiten sein, in ähnlicher Weise, wie in der überreifen Eizelle die zu Gruppen verbundenen Samenkerne. Wenn dann solche zusammengesetzten Kerne sich zur Teilung anschicken, dann kommt es zu den komplizierten Formen mit den zahlreichen Kernplatten und zur plötzlichen Entstehung vieler Tochterkerne.

Noch will ich die Vermutung aussprechen, daß bei der Entstehung der einfacheren Triaster und Tetraster in pathologischen Neubildungen vielleicht chemische Reize auf den sich zur Teilung anschickenden Kern einwirken, in ähnlicher Weise, wie Chininlösungen den normal befruchteten Furchungskern veranlassen, eine Triaster- und Tetrasterform anzunehmen.

Für diese Ansicht sprechen auch die pathologischen Kernteilungen, welche SCHOTTLÄNDER an der Hornhaut durch Ätzung mit *Argentum nitricum* hervorgerufen hat.

Die Erscheinung, daß mehrere Wochen hintereinander bei verschiedenen Echinodermenarten die eingefangenen Exemplare in überwiegender Zahl nur krankhaftes Eimaterial lieferten, ist gewiß sehr auffällig, so daß es sich schon verlohnt, nach den Ursachen, welche hier die Veranlassung gegeben haben, zu forschen.

Wenn die eingefangenen Tiere aus dem eigentlichen Hafenbassin stammen würden, so könnte man wohl daran denken, daß vielleicht durch eine Verunreinigung des Wassers die Schädigung bedingt wäre. Aber abgesehen davon, daß es schwer verständlich ist, wie so große, einer beständigen Erneuerung unterliegende

Wassermassen durch die Abflüsse der Stadt Triest in einem stärkeren, die Existenz der Seetiere gefährdenden Grade verunreinigt werden sollten, ist dieser Gedankengang schon deswegen von der Hand zu weisen, weil sowohl *Strongylocentrotus* als *Echinus microtuberculatus* teils am Strand außerhalb des Hafens, teils mit dem Schleppnetz auf hoher See eingefangen worden waren.

Es liegt daher wohl am nächsten, an die klimatischen Verhältnisse zu denken, an die niedrige Temperatur des Meerwassers, wie sie entweder zu dieser Zeit im nördlichen Teil der Adria gewöhnlich besteht oder durch das außergewöhnlich kalte Frühjahr veranlaßt worden war.

In welcher Weise können nun aber die Geschlechtsprodukte durch die niedere Temperatur des Wassers verdorben werden? Eine die Geschlechtsstoffe direkt treffende Schädigung ist unserer festen Überzeugung nach auszuschließen. Nach später mitzuteilenden Experimenten werden Echinodermeneier, solange sich die Temperaturgrade über dem Nullpunkt bewegen, regelrecht befruchtet und entwickeln sich, wenn auch in einem etwas verlangsamten Tempo. Selbst eine Temperatur von -2° R. wird, sofern sie nur kurze Zeit einwirkt, vertragen. Solange sich die Geschlechtsprodukte im Muttertiere befinden, wird durch die geringe Temperatur des umgebenden Mediums, wie wir dies ja auch bei anderen Tieren, z. B. den im Frühjahr laichenden Süßwasserfischen, beobachten können, zwar ihre Reifung verlangsamt, nicht aber ihre Entwicklungsfähigkeit gestört. Bei einem kalten Winter und Frühjahr laichen Hechte und Frösche etwas später als nach einem milden Winter bei Eintritt wärmerer Frühjahrswitterung.

Trotzdem glauben wir die klimatischen Verhältnisse für die von uns beobachteten Erscheinungen verantwortlich machen zu müssen. Nur kommt die schädigende Wirkung in einer indirekten Weise zu Stande. Die kalte Witterung hat auf das Geschlechtsleben der Seeigel einen abnormen Einfluß ausgeübt.

So wenig nun auch im allgemeinen über das Geschlechtsleben bei niederen Tieren bekannt ist, so giebt es doch eine kleine Summe von Erfahrungen, die für unsere Frage nicht unwichtig sind.

In vielen Fällen läßt sich beobachten, daß bei Tieren, deren Eier in das Wasser entleert und dort erst befruchtet werden, die Eiablage nicht willkürlich stattfindet, sondern erst infolge eines geschlechtlichen Reizes, der durch die Anwesenheit geschlechtsreifer Männchen hervorgerufen wird.

Wenn man von Fröschen, die in Paarung begriffen sind, die

Männchen entfernt, laichen die Weibchen in der Regel nicht ab, sie behalten die Eier, auch wenn sie schon in die Eileiter getreten sind und diese prall angefüllt haben, trotzdem bei sich. Es ist dies ein Verfahren, welches ich oft angewendet habe, wenn ich im Frühjahr über einen längeren Zeitraum reife Froscheier zur Verfügung haben wollte, um mit ihnen Versuche auszuführen. Man wird dann aber stets finden, daß die nicht zur Ablage gelangenden Eier nach Verlauf einiger Wochen geschädigt werden, zuerst sich in abnormer Weise entwickeln, schließlich absterben und sich zersetzen. Die Weibchen selbst sterben meistens, wie PFLÜGER¹⁾ bemerkt, infolge des Nichtablaichens.

Gar nicht selten kommt das Nichtablaichen bei der Forelle vor, worüber BARFURTH²⁾ interessante Beobachtungen veröffentlicht hat. So laicht z. B. die Forelle in Gewässern mit schlammigem Untergrund überhaupt nicht ab, weil, wie BARFURTH bemerkt, „auf solchem Boden die Eier verschlammnt werden und aus Mangel an frischem, sauerstoffhaltigem Wasser zu Grunde gehen“. Aber auch von der Bachforelle kommen in jeder Laichperiode einzelne Individuen nicht zur Ablage der Geschlechtsstoffe. BARFURTH schließt, wie mir scheint, sehr richtig, daß es solche Exemplare sind, welche spät reif werden. Da sich die Laichzeit bei den Forellen vom Oktober bis Januar ausdehnt, können spät reif werdende Weibchen nicht mehr zum Ablaichen kommen, weil entweder die Jahreszeit, die Temperatur und die Beschaffenheit des Wassers zu ungünstig sind, oder weil ihnen die zum Ablaichen erforderlichen Genossen des anderen Geschlechts fehlten. In diesen Fällen sterben nun aber die Forellen nicht an den Folgen des Nichtablaichens, dagegen verderben sehr bald die nicht zur Ablage gelangten reifen Geschlechtsprodukte und zerfallen in eine fettige, körnige Masse, die in den nächsten Monaten allmählich wieder aufgesogen und dem Organismus nutzbar gemacht wird.

Ähnliche Verhältnisse scheinen bei wirbellosen Tieren wiederzukehren. Auch hier scheint die Entleerung der reifen Geschlechtsprodukte erst infolge eines geschlechtlichen Reizes hervorgerufen zu werden. Daher findet zur Laichzeit wohl allgemein ein Zusammenschaaren der getrennt geschlechtlichen Tiere statt.

1) PFLÜGER, Über die das Geschlecht bestimmenden Ursachen und die Geschlechtsverhältnisse der Frösche. PFLÜGER's Archiv, Bd. XXIX.

2) BARFURTH, Biologische Untersuchungen über die Bachforelle. Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. XXVII, 1886.

Daß bei der Eiablage ein Geschlechtsreiz wirkt, geht wohl aus folgenden Beobachtungen hervor: Wenn man in einem Gefäß mit Meerwasser eine größere Anzahl Seeigel zusammenhält, so werden alsbald die Weibchen ihre Eier auszustoßen beginnen, sowie ein Männchen Samen entleert, so daß das Wasser etwas getrübt wird; dagegen behalten sie die Geschlechtsstoffe bei sich, wenn sie in der Gefangenschaft isoliert gehalten werden.

In ähnlicher Weise berichtet FOL¹⁾ von *Carmarina hastata*, einer Meduse. Wenn in einem Seewasseraquarium sich eine größere Anzahl dieser Tiere in geschlechtsreifem Zustand befand, so brauchte nur ein Männchen seinen Samen auszuwerfen, um bald auch alle Weibchen zur Ablage ihrer Eier zu veranlassen.

Die hier eingeschalteten Betrachtungen können uns zur Lösung der oben aufgeworfenen Frage dienen. Bei den von uns untersuchten zwei Echinodermenarten war bei den meisten Individuen im März und April die Reife der Geschlechtsprodukte schon seit einiger Zeit, wahrscheinlich mehreren Wochen, eingetreten. Nach den Angaben von GRAEFFE sollen ja zu dieser Zeit *Strongylocentrotus* und *Echinus microtuberculatus* gewöhnlich laichen, und sollen im Auftrieb viele Echinodermenlarven zu finden sein. Durch den warmen Februar war vielleicht in diesem Jahr die Reife der Eier sogar noch etwas beschleunigt worden. Infolge des im März einsetzenden Nachwinters und der starken Abkühlung des Meerwassers wurde das Laichgeschäft gestört, und der Geschlechtstrieb, der sich in dem Zusammenschaaren der Individuen einer Art äußert, unterdrückt. Männchen und Weibchen behielten die reifen Geschlechtsprodukte über die Zeit bei sich; daher die auffallend prall gefüllten Eierstöcke vieler Exemplare von *Echinus microtuberculatus*.

Reife Geschlechtsprodukte haben aber, wenn es nicht zur Befruchtung kommt, nur eine beschränkte Lebensdauer und müssen schließlich verderben, wie oben bei Fröschen und Forellen nachgewiesen wurde. Ihr Absterben wird nicht plötzlich eintreten; Eier und Samenfäden werden zuerst geschwächt und krankhaft verändert werden, ehe das Leben in ihnen ganz erlischt. Es besteht also ein Stadium der abnehmenden Lebensenergie reifer Geschlechtsprodukte, für welches wir den Namen der Überreife einführen wollen.

1) FOL, Die erste Entwicklung des Geryonideneies. Jenaische Zeitschrift, Bd. VII.

In diesem Zustand befanden sich meiner Meinung nach infolge des durch klimatische Verhältnisse unterdrückten Laichgeschäftes sehr viele Exemplare der beiden Seeigelarten, die während der Monate März und April 1887 von uns in Triest untersucht wurden. Es sind also die nach Vornahme der Befruchtung im Innern des Eies sich abspielenden abnormen Erscheinungen, wie sie in den vorausgegangenen Blättern dargestellt wurden, durch Überreife des Eies bedingt worden.

Mit dieser Erklärung fällt auch Licht auf einzelne Besonderheiten der mitgeteilten Befunde. Sehr strotzend gefüllte Eierstöcke von *Echinus microtuberculatus* lieferten das ungünstigste Resultat, weil hier wahrscheinlich auf der Höhe der Geschlechtsreife die ungünstigen Bedingungen einsetzten, welche die Ablage verhinderten. Schwach gefüllte Eierstöcke erwiesen sich als besser, weil hier das reife Material wohl schon vor dem Umschlag der Witterung entleert war, und in der Folgezeit neue Eier nachgereift waren. Gutes Material endlich fand sich auch bei Tieren, bei denen überhaupt die Reife der Geschlechtsprodukte etwas später erfolgt war und daher eine Überreife sich noch nicht hatte geltend machen können.

Mit den beobachteten Erscheinungen harmoniert auch eine Mitteilung, welche uns der Inspektor der zoologischen Station in Triest, Herr Dr. GRAEFFE, gemacht hat, die Mitteilung nämlich, daß er in den Monaten März und April im pelagischen Auftrieb keine Echinodermlarven gefunden hat, während sie in anderen Jahren zahlreich vorkommen.

Wenn der von mir entwickelte Gedankengang richtig ist, so würde ein Punkt noch eine genauere Prüfung wohl verdienen. Vorderhand muß es nämlich unentschieden bleiben, ob die Erscheinungen der Überreife bei den Seeigeln nur durch die besonderen Verhältnisse des Frühjahrs 1887 hervorgerufen worden sind, oder ob es sich hier um Erscheinungen handelt, die in den Übergangsmo- naten in den nördlichen Teilen der Adria regelmäßig wiederkehren. Ich erinnere daran, daß man in südlicheren Teilen des Mittelmeeres, wie in Messina und Neapel, während des ganzen Winters und Frühjahrs den *Strongylocentrotus lividus* und vielleicht auch den *Echinus microtuberculatus* geschlechtsreif findet. Wie FOL aus seinen Beobachtungen und den Mitteilungen der Fischer glaubt schließen zu müssen, laichen die Seeigel oftmals hintereinander in monatlichen Zwischenräumen, welche genügen würden,

damit an Stelle der entleerten Eier wieder junger Nachwuchs heranreift. In Triest beginnt die Laichzeit erst im März und April. Es wäre aber möglich, daß vielleicht schon im Januar und Februar Eizellen reifen, aber infolge der kalten Wassertemperatur nicht abgelegt werden, sondern wieder zerfallen und aufgesaugt werden, bis eine normale Thätigkeit der Geschlechtsdrüse mit der wärmeren Jahreszeit möglich wird.

In dieser oder jener Richtung wird sich vielleicht eine Erklärung für das auffallende Verhältnis finden lassen, daß dieselbe Tierart, welche weiter südlich im Mittelmeer den ganzen Winter über laicht, in Triest mit diesem Geschäft erst im März oder April beginnt. Eine nähere Untersuchung, welche sich ja ohne jede Schwierigkeit durchführen ließe, wäre gewiß von nicht geringem biologischen Interesse.

Ehe ich dieses Kapitel abschließe, will ich noch auf den Unterschied zwischen den weiblichen und männlichen Geschlechtsprodukten in Bezug auf die Überreife aufmerksam machen. Offenbar verharret der reife Samen, auch wenn er nicht entleert wird, viel längere Zeit in einem brauchbaren Zustand, als es die Eier thun. Denn in Triest haben wir niemals unter den Seeigeln Männchen mit reifem Samen angetroffen, der seine Fähigkeit zu befruchten eingebüßt hätte. Es harmoniert dies vollständig mit der von uns durch viele Experimente festgestellten Thatsache, daß die Samenfäden gegen äußere Agentien chemischer Natur, gegen hohe und niedere Temperaturgrade, eine viel größere Widerstandskraft als die leicht veränderlichen reifen Eier besitzen. Eine Ausnahme bei den Echinodermen macht nur der Einfluß des Meerwassers. In letzterem erhalten sich unbefruchtete Eier längere Zeit lebenskräftig als die Samenfäden. Hiervon abgesehen, kann man sagen, daß das Ei unter veränderten Bedingungen eher Schaden leidet als der Samen.

Dies gilt auch für den Fall, daß die Samenfäden bei Tieren mit innerer Befruchtung infolge stattgehabter Kopulation in die weiblichen Geschlechtswege eingeführt worden sind. So behält nach den Angaben von DZIERZON, v. SIEBOLD und LEUCKART der Samen im Receptaculum seminis der Bienenkönigin, die überhaupt nur einmal begattet wird, mindestens drei Jahre lang die Fähigkeit zu befruchten. Bei Fledermäusen geschieht die Begattung schon im Herbst, der Samen bleibt den ganzen Winter durch in

der Gebärmutter lebend und befruchtet erst im Frühjahr die jetzt reifenden und aus dem Eierstock sich ablösenden Eier. Das Huhn kann noch bis zum 18. Tage nach Entfernung des Hahnes befruchtete Eier legen.

Zweites Kapitel.

Verhalten der Geschlechtsprodukte gegen Kälte.

In einer vorausgegangenen Abhandlung wurde in dem Kapitel, welches von der Beeinflussung der Geschlechtsprodukte durch thermische Veränderungen handelt, nur der Einfluß erhöhter Temperaturen auf die Eier geprüft, dagegen von Experimenten mit herabgesetzter Temperatur durch Kältemischungen Abstand genommen. Ich bin jetzt in der Lage, diese Lücke auszufüllen, was mir um so erwünschter ist, als die Kälteeinwirkung interessantere Ergebnisse als die Wärmeeinwirkung liefert. Denn die Kälte ist ein Mittel, welches sehr rasch die Lebensfunktionen des Protoplasmas aufhebt, ohne sie auf die Dauer zu schädigen, wie es die Wärme thut.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß ich eine Kältemischung durch Vermengung von kleingeschlagenen Eisstückchen und Kochsalz bereitete. In dieselbe wurde ein größeres Gefäß mit Meerwasser gestellt, welches nach kurzer Zeit, wie ein eingetauchtes Thermometer zeigte, eine Temperatur von 2–3° C unter 0 annahm. Infolgedessen bildete sich auch allmählich an den Wandungen des Gefäßes eine fingerdicke Schicht von Eiskristallen. In das so auf –2 bis –3° abgekühlte Gefäß wurden kleine mit Meerwasser gefüllte Reagensröhrchen gebracht, welche das zum Experiment gewählte Eimaterial enthielten und bei ihrer geringen Größe die Temperatur ihrer Umgebung rasch annahmen. Zuweilen begannen sich auch in ihnen Eiskristalle abzusondern.

Drei verschiedene Versuchsreihen wurden angestellt. Erstens wurden die Eier vor der Befruchtung auf –3° C längere Zeit abgekühlt und dann befruchtet, zweitens fand die Abkühlung wenige Minuten nach der Besamung statt, drittens versuchte ich einzelne Stadien der zur ersten Teilung führenden inneren Prozesse durch die Kälte zu beeinflussen.

Erste Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier vor der Befruchtung.

Frisch entleerte Eier von *Strongylocentrotus lividus* wurden auf 5 Röhrchen verteilt und in der oben angegebenen Weise in die Kältemischung von -2 bis -3° C gebracht. Die 5 Partien wurden nach 15 Minuten, nach 30, nach 60, nach 105 und nach 120 Minuten in der Weise befruchtet, daß etwas besamtes Wasser zu jedem Röhrchen hinzugesetzt wurde.

Bei dem ersten Versuch sieht man bei der sofort vorgenommenen Untersuchung die Samenfäden in Bewegung. Die Eihaut wird in normaler Weise abgehoben. An jedem Ei bildet sich ein großer, deutlich wahrnehmbarer Empfängnishügel aus. Schon nach 10 Minuten wird an der Eintrittsstelle des Samenfadens eine schwache Strahlung erkennbar.

15 Minuten nach der Befruchtung wurde ein Teil des Materials, welches während dieser Zeit in die Kältemischung nicht wieder zurückgebracht worden war, zum Zweck genauerer Untersuchung abgetötet. Bei Durchmusterung der Kanadabalsampräparate läßt sich leicht feststellen, daß mit wenigen Ausnahmen, wo 2 oder 3 Samenfäden eingedrungen sind, die Eier nur einfach befruchtet sind. Eine Eihaut hat sich überall gebildet (Fig. 13) und auch vom Dotter etwas abgehoben. Der Empfängnishügel hat sich, trotzdem eine Viertelstunde nach Eintritt des Samenfadens verflossen ist, nicht zurückgebildet. Er zeichnet sich durch eine ganz auffallende Größe und Breite aus und ist einem in Entstehung begriffenen Richtungskörper außerordentlich ähnlich. Er schließt noch den Kopf des eingedrungenen Samenfadens ein, der seine Form nicht verändert hat und einer Spitzkugel gleicht, deren Spitze meist nach der Mitte des Dotters gerichtet ist. In den seltenen Fällen, in denen 2 oder 3 Empfängnishügel entstanden sind, ist in jedem der Kopf eines Samenfadens nachzuweisen.

Der zweite Teil der Eier wurde 30 Minuten in der Kältemischung von -3° C abgekühlt und dann befruchtet. Die eine Viertelstunde später vorgenommene Untersuchung lehrt, daß jetzt die Eihaut zwar noch ausgeschieden worden, aber von der Oberfläche des Dotters nur wenig abgehoben und anstatt glatt gespannt etwas gefaltet ist (Fig. 14). Dasselbe bestätigt sich auch an Eiern, die 25 Minuten nach der Befruchtung konserviert wurden. Diese sind zum Teil mehrfach befruchtet. Von 10 Eiern, die genau durchmustert wurden, enthielten 4 nur einen Samen-

kern, 4 andere dagegen 2, und 2 Eier endlich 3 Samenkern. Die Gesamtzahl der in 10 Eier eingedrungenen Samenfäden betrug daher 18. Die Empfängnishügel sind außerordentlich groß, wie Richtungskörper (Fig. 14 und 15), und schließen, trotzdem 25 Minuten nach dem Samenzusatz verfließen sind, noch die Köpfe der eingedrungenen Samenfäden ein.

Die dritte Partie wurde nach einstündigem Aufenthalt in der Kältemischung befruchtet, noch 30 Minuten lang in derselben gelassen und zu drei Versuchen verwandt.

Beim ersten Versuch wurde ein Eiquantum direkt in Pikrinessigsäure eingelegt. Jetzt ist weder eine Eihaut, noch sind Empfängnishügel nachweisbar. Wegen dieses letzteren Umstandes, und da die eingedrungenen Samenfäden sehr oberflächlich in der Dotterrinde liegen, ist ihre Anzahl nicht leicht festzustellen. In manchen Eiern konnte 1 Samenkern, in anderen konnten 2, 3 oder zuweilen selbst 10 Samenkern, welche noch vollständig die Form der Spermatozoenköpfe besaßen, gezählt werden. Bei den meisten Eiern jedoch ließ sich nicht entscheiden, ob überhaupt in ihrer Dotterrinde ein Samenkern vorhanden war. Ist in diesen Fällen eine Befruchtung noch nicht erfolgt, weil beide Geschlechtsprodukte durch die Kälte in einen lähmungsartigen Zustand versetzt worden waren? Mir scheint dies der Fall zu sein und aus folgender Erscheinung geschlossen werden zu können. Wenn man aus der Kältemischung die mit Samen vermischten Eier sofort auf einen Objektträger bringt und bei stärkerer Vergrößerung untersucht, sieht man nirgends die Dotterhaut abgehoben. Doch bildet sich dieselbe, wenn man einige Zeit wartet, noch nachträglich bei einem Teil der Eier. Diese waren wahrscheinlich, als sie auf den Objektträger gebracht wurden, noch unbefruchtet. Die Befruchtung trat hier erst mit der Erwärmung des Wassers und dann unter Abhebung der Dotterhaut ein. Die Reizbarkeit des Protoplasmas kehrt nämlich nach der Abkühlung sehr rasch wieder zurück, wie man hieraus und noch aus vielen anderen Versuchen ersehen wird. So entsteht auch an den Objektträgerpräparaten nach 10 Minuten eine deutliche Plasmastrahlung an Stellen, wo sich ein Samenkern befindet, und zwar sind ihrer mehrere in den meisten Eiern vorhanden, mag sich nun die Eihaut abgehoben haben oder nicht. Es ist also meistens Überfruchtung eingetreten.

Beim zweiten Versuch wurde das Röhrchen mit einem Rest der Eier, nachdem es aus der Kältemischung entfernt worden war, noch eine halbe Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen,

damit sich das Wasser allmählich erwärme. Die Folge davon war, daß im Protoplasma an allen Stellen, wo Samenfäden eingedrungen waren, Strahlungen entstanden. Es war daher jetzt ein Leichtes, in allen Eiern Samenkerne nachzuweisen, unter denen häufig schon einer mit dem Eikern verschmolzen war. Die beim ersten Versuch unbefruchtet gebliebenen Eier waren hier also noch nachbefruchtet worden. Unter 10 Eiern enthielten

3 Eier	4 Samenfäden,
1 Ei	3 „
5 Eier	2 „
1 Ei	1 Samenfaden.

In 10 Eier waren mithin 26 Samenfäden eingedrungen, so daß durchschnittlich auf je ein Ei zwei und ein halber Samenfaden kommen.

Beim dritten Versuch wurden die Eier aus der Kältemischung in ein Uhrschälchen gebracht, und nachdem ihnen noch einmal frische Samenflüssigkeit zugesetzt worden war, wurden sie nach Ablauf einer Viertelstunde abgetötet. In diesem Falle ist eine sehr hochgradige Überfruchtung erzielt worden. Fast alle Eier enthielten zahlreiche Samenkerne, welche entweder in der Eirinde oder nahe an dem Eikern lagen. Manche Eier waren ganz durchsetzt von ihnen. So waren in 10 Eier, die genauer untersucht worden waren, im ganzen 108 Samenfäden eingedrungen:

1 Ei	enthielt	30 Samenkerne,
1 „	„	12 „
2 Eier	enthielten	11 Samenkerne,
2 „	„	9 „
2 „	„	7 „
2 „	„	6 „

Im Durchschnitt kommen auf 1 Ei 11 Samenkerne.

Ein Vergleich mit den 2 anderen Versuchen lehrt, daß infolge der Erwärmung und des Zusatzes frischer Samenfäden nicht nur die früher unbefruchtet gebliebenen Eier noch vielfach befruchtet worden, sondern auch in die schon befruchteten Eier abermals Samenfäden eingedrungen sind. Es ist dies möglich, weil infolge der längere Zeit angewandten Abkühlung die Membranbildung nach dem Samenzusatz unterdrückt worden war. Einer neuen Invasion war damit das Thor geöffnet.

Ferner lehrt der Versuch, daß für das Zustandekommen einer Überfruchtung die absolute Kältestarre nicht der günstigste Zeitpunkt ist. Günstiger ist vielmehr die der Kältestarre vor-

ausgehende Phase, wo noch ein geringer Grad von Erregbarkeit des Protoplasmas besteht. Am geeignetsten aber glaube ich den Zeitpunkt halten zu müssen, wo bei eintretender Erwärmung das Protoplasma aus der Kältestarre gleichsam zu erwachen und seine Erregbarkeit allmählich wieder zu erlangen beginnt.

Die vierte Partie Eier wurde zwei Stunden lang in der Kältemischung abgekühlt, darauf befruchtet, nach weiteren 20 Minuten aus der Kältemischung herausgenommen und in verschiedener Weise weiter untersucht. Erstens wurden die Eier sofort im lebenden Zustand bei starker Vergrößerung betrachtet. Es zeigte sich hierbei, daß die Samenfäden noch beweglich waren, daß sich nirgends weder eine Eihaut, noch Empfängnishügel noch Strahlungen gebildet hatten. Doch wurden letztere allmählich in größerer Anzahl, wenn auch nur wenig sichtbar, nachdem die Eier eine Viertelstunde auf dem Objektträger verweilt und sich in dieser Zeit etwas erwärmt hatten. In keinem Fall hat sich eine Dotterhaut abgehoben.

Zweitens war ein Teil der Eier in Pikrinessigsäure eingelegt worden. An diesen ließ sich die Anzahl der eingedrungenen Samenfäden, wenn auch nicht ganz genau, bestimmen. Denn da die Köpfe der letzteren ganz oberflächlich in der Dotterrinde eingeschlossen waren und ihre Form noch unverändert beibehalten hatten, konnten leicht einige übersehen werden, zumal auch die Empfängnishügel fehlten. Bei 10 Eiern, die genau durchmustert worden waren, wurden gefunden: 1 Samenkern in 3 Eiern,

2 Samenkerne in 3 Eiern,

4 „ „ 3 „

5 „ „ 1 Ei.

In 10 Eier waren also 26 Samenfäden eingedrungen.

Drittens wurde einer Anzahl Eier, nachdem sie aus der Kältemischung genommen worden waren, etwas besamtes Wasser zum zweiten Male hinzugefügt. Nach einer halben Stunde waren viele Strahlungen in ihnen deutlich zu sehen. Doch war auch hier die Bildung einer Eihaut und von Befruchtungshügeln unterblieben. An dem eingelegten Material ließ sich die Anzahl der eingedrungenen Samenkerne, die zu dieser Zeit schon bläschenförmig geworden waren, leicht bestimmen. Sie war wieder viel bedeutender als bei dem nur einmal befruchteten Material. Denn in 10 Eiern ließen sich 80 Samenkerne zählen:

in 1 Ei 12 Samenkerne,

„ 2 Eiern 11 Samenkerne,

in 1 Ei 9 Samenkerne,
 „ 3 Eiern 8 Samenkerne,
 „ 2 „ 6 „
 „ 1 Ei 1 Samenkern.

Auf 1 Ei kommen also durchschnittlich 8 Samenkerne.

Fassen wir die Ergebnisse der mitgeteilten Versuchsreihen zusammen.

Die Eier der Seeigel können eine mehrstündige Abkühlung auf -2 bis -3° C. vertragen, eine Temperatur, bei welcher sich Eiskristalle im Meerwasser auszuscheiden beginnen. Während der Abkühlung werden die Lebensfunktionen des Protoplasmas allmählich herabgesetzt, bis ein Zustand völliger Kältestarre eingetreten ist. Es giebt sich dies zu erkennen in einer Veränderung der verschiedenen Erscheinungen, von welchen der Befruchtungsvorgang normaler Weise begleitet wird, nämlich in der Entwicklung der Dotterhaut, der Empfängnishügel, der Zahl der eindringenden Samenfäden und der Strahlenbildung im Protoplasma.

Die Dotterhaut wird in der ersten Viertelstunde der Abkühlung bei dem Zusatz des Samens noch ausgeschieden und auch von der Oberfläche des Dotters gut abgehoben. Nach einer halben Stunde wird sie nur in unvollkommener Weise gebildet, sie legt sich in Falten, hebt sich nur wenig von der Oberfläche des Eies ab. Noch später unterbleibt ihre Ausscheidung ganz, auch das befruchtete Ei ist hüllenlos.

Die Empfängnishügel verändern sich ebenso unter dem Einfluß der zunehmenden Kältestarre. In der ersten halben Stunde erheben sie sich in abnormer Weise an der Eintrittsstelle des Samenfadens als weit vorragende Hügel, während sonst nur kleine fein zugespitzte Protoplasmakegel entstehen. Anstatt wie diese nach ihrer Entstehung rasch wieder eingezogen zu werden, ausgestreckten Pseudopodien gleich, bleiben sie unverändert noch längere Zeit an der Oberfläche des Eies hervorstehen, als befände sich das Protoplasma in einem lähmungsartigen Zustand. Mit Zunahme der Kältestarre werden die Empfängnishügel erst breiter und niedriger; darauf werden sie überhaupt nicht mehr gebildet, da das Protoplasma das Reaktionsvermögen gegen den Reiz des eindringenden Samenfadens verloren hat.

Von den verschiedenen Stadien der Kältestarre wird drittens die Anzahl der Samenfäden, welche sich in das Ei einzu bohren vermögen, beeinflusst. Bei Beginn der Abkühlung erfolgt einfache Befruchtung, nach einer halben Stunde dringen schon in

viele Eier 2—4 Samenfäden ein. Dann kömmt ein Stadium (zweite Stunde der Abkühlung), auf dem infolge völliger Kältestarre die Eier unbefruchtet bleiben, da die Samenfäden sich offenbar schwerer in den Dotter, der nicht mehr reagiert, einzubohren vermögen. Auf einem Absterben beruht diese Erscheinung nicht; denn sowie die Eier auf dem Objektträger nur wenig erwärmt werden, tritt bei ihnen noch Mehrfachbefruchtung und sogar unter Abheben einer Dotterhaut ein.

Am raschesten von allen Reizerscheinungen wird die Strahlenbildung im Protoplasma beeinflusst. Denn sie erlischt schon auf den ersten Stadien der Abkühlung, stellt sich allerdings bei eintretender Erwärmung auch rasch wieder ein.

Zweite Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier nach eben stattgefundener Besamung.

Um die Veränderungen zu verfolgen, welche die inneren Befruchtungsvorgänge infolge längere Zeit dauernder Abkühlung erleiden, wurde eine besondere Reihe von Versuchen angestellt. Eier von *Strongylocentrotus* wurden in normaler Weise befruchtet und 5 Minuten nach dem Zusatz des Samens während $1\frac{1}{2}$ Stunde in die Kältemischung gebracht. Aus dieser wurden sie herausgenommen, damit bei Zimmertemperatur das Wasser sich wieder langsam erwärmte, und schließlich in drei verschiedenen Intervallen, nach 10, nach 40 und nach mehr Minuten in Pikrinessigsäure eingelegt.

Nach 10 Minuten zeigen die Eier bei weit abgehobener Dotterhaut einen außergewöhnlich großen Empfängnishügel (Fig. 16), und noch in demselben oder nur wenig entfernt von ihm (Fig. 17) den Samenkern. Dieser hat daher während der ganzen Zeitdauer der Abkühlung $1\frac{1}{2}$ Stunde lang seinen Platz im Ei kaum verändert. Dagegen besitzt er die Form vom Kopf des Samenfadens nicht mehr, er hat sich etwas vergrößert, ist zu einem ovalen, gleichmäßig gefärbten Körper geworden und hat sich mit einem körnchenfreien Hof umgeben.

Nach 40 Minuten findet man an den Eiern noch den Empfängnishügel vor (Fig. 18), aber der Samenkern hat seinen Ort verändert. Entweder liegt er in großer Nähe des Eikerns, oder er sitzt dem Eikern als kleine Calotte (Fig. 19) dicht auf, oder er hat sich dem ersteren noch dichter angeschmiegt (Fig. 20) und stellt eine Scheibe dar, die sich nur durch ihre dunkle Färbung

in Boraxkarmin von der Substanz des Eikerns unterscheiden läßt. In der Umgebung des Samenkerns ist die Strahlung nur sehr wenig ausgeprägt.

In den noch später abgetöteten Eiern ist der Furchungskern schon in Vorbereitung zur Teilung: entweder ist er ziemlich erheblich vergrößert und etwas oval geworden und an 2 Polen mit deutlich ausgeprägten Strahlungen versehen, oder es hat sich schon eine Spindel mit einer Äquatorialplatte gebildet.

Einen Einblick in die Veränderungen, welche die Samenkerne infolge von Abkühlung erfahren, gewährten auch die Eier, welche zu den Versuchen im vorausgegangenen Abschnitt gedient hatten, wenn sie auf späteren Stadien untersucht wurden. So verliefen bei dem Material, welches zu dem ersten und zweiten Versuch gedient hatte, die inneren Befruchtungserscheinungen in normaler Weise, wenn auch sehr verlangsamt. Da die Kälteeinwirkung in dem einen Falle nur eine Viertel-, in dem anderen Falle eine halbe Stunde gedauert hatte, so war beim Zusatz des Samens einfache Befruchtung erfolgt. Die Eier verweilten darauf noch einige Zeit in der Kältemischung, wurden dann zum Teil eine halbe, zum Teil eine ganze Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen. In beiden Fällen hatte sich der Samenkern dem Eikern genähert und saß meist als kleiner Höcker seiner Oberfläche auf, von Strahlung umgeben. Der Empfängnishügel bestand noch in unveränderter Weise an der Oberfläche des Dotters fort.

Beim dritten und vierten Versuche (Seite 20—22), in welchem die Kälte eine und zwei Stunden eingewirkt und mehr oder minder starke Überfruchtung hervorgerufen hatte, gehen allmählich die Samenkerne tiefergreifende Metamorphosen ein, wenn sich das Wasser wieder etwas erwärmt. Sie werden von einem undeutlich begrenzten hellen Hof umgeben, um welchen das Protoplasma ein strahliges Gefüge annimmt. Die chromatische Substanz vergrößert sich, verliert ihre glatte Oberfläche und streckt kleine Fortsätze an der Oberfläche aus, wie ein amöboider Körper oder wie ein rotes Blutkörperchen in Stechapfelform (Fig. 21—23). Auf einem weiteren Stadium nimmt sie immer mehr eine lockere Beschaffenheit an und geht in gewundene Fäden über, die mit kurzen Seitenästchen und Höckern besetzt sind (Fig. 24, 25).

Endlich bilden die Samenkerne kleine, ziemlich gut konturierte Bläschen, in deren Flüssigkeitshöhle ein chromatisches Netzwerk entweder central angehäuft oder mehr gleichmäßig ausgebreitet ist (Fig. 26). Die am weitesten entwickelten Samenkerne

sind nicht mehr von einer einfachen, sondern einer doppelten Strahlung eingeschlossen und daher in Umwandlung zu einer kleinen Kernspindel begriffen (Fig. 27).

Dritte Versuchsreihe.

Abkühlung der Eier auf einzelnen Stadien der Kernteilung.

Da niedere Kältegrade ein vorzügliches Mittel sind, sofort alle Bewegungserscheinungen im Protoplasma zum Stillstand zu bringen, so habe ich es mit Erfolg auch bei den einzelnen Stadien des Kernteilungsprozesses angewandt und auf diese Weise die Kernteilungsfiguren abzuändern versucht. Es gelingt dies in nicht geringem Maße. Von Wichtigkeit ist dabei wieder die Zeitdauer, in welcher die Kälte einwirkt.

A) Einwirkung der Kälte auf kurze Zeit.

Eier von *Strongylocentrotus* wurden teils 40, teils 80, teils 105 Minuten nach Vornahme der Befruchtung während einer Viertelstunde in die Kältemischung gebracht. Die erste Folge davon ist, daß in kurzer Zeit alle Strahlenfiguren im Protoplasma unterdrückt werden. Man erkennt nur noch den Ort derselben, indem der Mittelpunkt der Strahlung als eine helle körnchenfreie Stelle im Protoplasma fortbestehen bleibt. Aber die charakteristische radiäre Anordnung der Dotterteilchen ist vollständig geschwunden.

Nach 40 Minuten traf ich in der Mehrzahl der Eier einen großen Furchungskern von einem hellen Hof oder Strahlung umgeben und konnte an ihm in der Regel noch eine Sonderung der vom Eikern und der vom Samenkern herrührenden Substanzen infolge einer verschiedenartigen Karminfärbung wahrnehmen (Taf. IX, Fig. 1). Der Furchungskern zeigte erstens ein ungefärbtes Gerüst, welches auf den Eikern zurückzuführen ist und einen kleinen nucleolusartigen Körper einschließt, und zweitens in Karmin gefärbte Fäden, welche an einer Stelle seiner Oberfläche in einem Haufen zusammenliegen. Letztere stammen auf Grund von Befunden, welche schon früher bei andern Versuchen erhalten und beschrieben wurden, von der Substanz des eingedrungenen Samenfadens her. In einzelnen Eiern sind beide Geschlechtskerne noch nicht verschmolzen, aber dicht zusammengelagert (Fig. 2). In diesem Fall hat sich der Samenkern zu einem ziemlich ansehnlichen Bläschen vergrößert, in welchem die färbbare Substanz zu einem feinen Fadenwerk angeordnet ist.

Als die Eier 80 Minuten nach der Befruchtung in die Kälte-

mischung gebracht wurden, waren sie bald mehr, bald weniger weit in Umbildung zur Hantelfigur begriffen. Bei einem kleinen Teil der Eier ist der Furchungskern noch als ein deutlich konturiertes Bläschen erhalten (Fig. 3), durchsetzt von einem ungefärbten Fadenwerk, dem hie und da gefärbte Körnchen anliegen. Welcher Teil der Substanz vom Samenfaden abstammt, ist jetzt nicht mehr zu unterscheiden. Der Furchungskern ist an zwei Stellen etwas abgeplattet. Sie bezeichnen die Pole des Kerns, an welchen sich die Polstrahlungen wieder unter dem Einfluß der Kälte zurückgebildet und an ihrer Stelle zwei Anhäufungen homogenen Protoplasmas zurückgelassen haben. Den beiden etwas abgeplatteten Polseiten des Kerns liegt unmittelbar etwas feinkörnige Substanz an, die eine etwas dunklere Färbung als ihre Umgebung besitzt. Sie entspricht meiner Meinung nach der von VAN BENEDEN bei Nematodeneiern unterschiedenen Attraktionsphäre und dem in ihr eingeschlossenen Polkörperchen. Letzteres war bei der angewandten Konservierungs- und Färbungsmethode nicht als gesonderter Teil zu erkennen.

An den meisten Eiern ist der bläschenförmige Kern geschwunden und in Umbildung zur Spindel begriffen. Man sieht dann eine ziemlich veränderte Kernteilungsfigur (Fig. 4). Zwischen zwei Anhäufungen homogenen Protoplasmas, welche die Stelle der Polstrahlungen bezeichnen, lagern an dem Ort, den früher der blasenförmige Kern einnahm, einzelne unregelmäßig gewundene chromatische Kernfäden, eingebettet in ein feines Gerüst ungefärbter Substanz.

Das Material, welches 105 Minuten nach der Befruchtung abgekühlt wurde, zeigt uns die Eier teils auf der Höhe des Hantelstadiums, teils schon am Anfang der Zweiteilung. Hier sind die Kernfiguren ebenso in erheblicher Weise durch die Kälte modifiziert worden. Wie die drei nebeneinander stehenden Figuren lehren (Fig. 5, 6, 7), ist auch jetzt nicht die geringste Spur von Spindelfasern zu sehen. Sie haben sich ebenso wie das strahlige Gefüge des Protoplasmas an den Polen rückgebildet. Die Gegend der beiden Polstrahlungen ist durch Ansammlung von etwas körnchenfreiem Protoplasma bezeichnet. Zwischen denselben liegt die in Karmin dunkel gefärbte chromatische Substanz. Entweder besteht dieselbe noch aus einem einfachen Streifen von mehreren Kernschleifen (Fig. 5), den Chromosomen BOVERI'S, oder, wenn die Teilung schon weitere Fortschritte gemacht hat, aus zwei in geringem Abstand voneinander parallel gelagerten Streifen

(Fig. 6). In beiden Fällen haben die Chromosomen im ganzen ihre normale Form beibehalten. Fig. 7 rührt von einem Ei her, welches sich schon an seiner Oberfläche einzuschnüren beginnt; an Stelle der Chromosomen trifft man hier 2 Haufen kleiner Kernvakuolen, welche aus den ersteren durch Imbibition mit Kernsaft entstanden sind. Beachtung verdienen endlich noch die Ansammlungen homogenen Protoplasmas, welche den Hantelköpfen entsprechen. In der Mitte derselben befindet sich eine feinkörnige Substanz, die an Karminpräparaten durch eine wenig dunklere Färbung erkennbar wird. In der Mitte des Hantelstadiums bildet sie einen kugligen Ballen (Fig. 5), vor Eintritt der Furchung einen schmalen Streifen, welcher der Kernplatte parallel gerichtet ist (Fig. 6). In Figur 7 ist der Streifen auf dem optischen Durchschnitte gesehen. Die feinkörnige Substanz nimmt die Stelle der Attraktionssphären und der in diesen gelegenen Polkörperchen ein und fand schon bei Figur 3 Erwähnung.

Fassen wir die Veränderungen zusammen, welche bei kurzer Wirkung der Kälte an den Kernfiguren hervorgerufen werden, so betreffen dieselben hauptsächlich zwei Strukturen. Erstens bilden sich die Protoplasmastrahlungen an den beiden Polen des bläschenförmigen Kerns oder der Spindel zurück, und zweitens werden die Spindelfasern vollständig unkenntlich. Mit einem Wort, es wird der ganze achromatische Teil der Kernfigur vernichtet, während der chromatische aus Kernfäden (Chromosomen) bestehende Teil geringfügigere Veränderungen erleidet.

Über die Polkörperchen kann ich nichts mitteilen, da sie leider nicht zur Anschauung gebracht werden konnten.

Die Wirkung der Kältestarre war indessen in den eben beschriebenen Versuchen eine rasch vorübergehende. Denn wenn die Eier aus der Kältemischung in einen Tropfen Wasser auf den Objektträger gebracht wurden, so genügten schon 5–10 Minuten, damit die beiden Polstrahlungen (z. B. auf dem Hantelstadium) in der ursprünglichen Schärfe wiederkehrten. Bald kam es dann auch zur regelrechten Teilung und normalen Weiterentwicklung.

B) Länger fortgesetzte Einwirkung der Kälte.

Intensivere Veränderungen wurden an den Kernteilungsfiguren durch längere Einwirkung der Kälte hervorgerufen, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht.

Von Eiern, die sich auf dem Hantelstadium befanden, wurde

eine Partie $2\frac{1}{4}$ Stunde, eine andere Partie sogar $3\frac{3}{4}$ Stunde in einer Kältemischung auf -2° C abgekühlt. Von jeder Partie wurden Eier, nachdem sie aus der Kältemischung herausgenommen worden waren, zu verschiedenen Zeiten teils im lebenden Zustand untersucht, teils nachdem sie in Pikrinessigsäure konserviert und mit Boraxkarmin gefärbt worden waren.

a) Eier, die $2\frac{1}{4}$ Stunde auf -2° C abgekühlt worden waren.

Was die $2\frac{1}{4}$ Stunde abgekühlten Eier betrifft, so wurde ein Teil derselben, nachdem er aus der Kältemischung herausgenommen worden war, sofort in Pikrinessigsäure eingelegt. Die achromatische Figur ist in derselben Weise verändert, wie schon oben beschrieben wurde (Fig. 9). Strahlung und Spindelfäden sind geschwunden. In den zwei feinkörnigen, kugeligen Körpern, die von einer homogenen Protoplasmahülle umschlossen werden, erkennt man die schon oben erwähnten beiden Attraktionssphären.

Die chromatische Figur ist im Vergleich zu den Eiern, die nur kurze Zeit in der Kältemischung gelassen worden waren, stark verändert (Fig. 9, Fig. 8 *a. d. e.*). Die einzelnen Chromosomen, die im normalen Zustand feine, kurze, meist hakenförmig umgekrümmte Fäden darstellen, sind verdickt und aufgequollen; dabei sind sie näher aneinandergerückt und häufig zusammen verschmolzen. Sie können dann einen verästelten, mit Höckern und Fortsätzen bedeckten Körper erzeugen, der sich einer mit vielen verzweigten Pseudopodien bedeckten Amöbe vergleichen läßt. In einzelnen Eiern, bei denen die Veränderung infolge der Kälte am weitesten vorgeschritten war, waren alle Chromosomen zu einem kompakten, mit einzelnen Höckern bedeckten Chromatinkörper gleichsam zusammengelassen (Fig. 8 *b, c*).

Um zu sehen, was aus derartig umgeänderten Kernfiguren weiterhin wird, wurde ein zweiter Teil der Eier, nachdem er aus der Kältemischung genommen war, noch $\frac{3}{4}$ Stunde im warmen Zimmer stehen gelassen. In dieser Zeit sind die Eier trotz der hochgradigen Veränderung, die sich an ihnen feststellen ließ, aufs neue in den Teilungsprozeß eingetreten. Derselbe spielt sich bei einem Teil der Objekte auch jetzt noch in normaler Weise ab, indem bald nach dem Aufhören der Kältstarre die einzelnen Kernteile sich wieder zu der regelmäßigen Kernfigur, wie sie vor dem Experiment bestanden hatte, auf direktem Wege anordnen. Hier hat die Kälte gewissermaßen nur als Hemmung gewirkt. Der

Teilungsprozeß setzt einfach an dem Punkte wieder ein, an welchem er durch die Kälte zum Stillstand gebracht worden war. Um die beiden Attraktionssphären nimmt der Dotter wieder ein strahliges Gefüge an; zwischen den beiden Strahlungen treten wieder die Spindelfasern hervor; auf der Oberfläche derselben bilden sich aus der chromatischen Substanz die Chromosomen in typischer Anordnung. So geht Figur 9 auf direktem Wege wieder in Figur 10 über. Diese rührt von einem Ei her, welches $\frac{3}{4}$ Stunde nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet und konserviert worden war. Andere Eier waren im normalen Teilungsprozeß sogar schon weiter fortgeschritten und begannen sich entweder einzuschnüren oder waren schon in zwei gleich große Teilstücke zerlegt.

In der Mehrzahl der Fälle ist indessen der weitere Verlauf des neu anhebenden Teilungsprozesses ein mehr oder minder gestörter und in verschiedener Weise modifizierter. Die längere Zeit fortgesetzte intensivere Abkühlung hat hier nicht nur hemmend, sondern dabei auch schädigend und tiefer abändernd auf die Funktion und Struktur von Protoplasma und Kern eingewirkt. Die Kernteile gehen erst nach einer Ruhepause, welche je nach dem Grad der Schädigung kürzer oder länger ausfällt, vom normalen Kernteilungsprozeß abweichende Neubildungen ein, um schließlich doch auf Umwegen wieder in einen Zustand zu geraten, welcher sie zur Teilung geeignet macht.

Zum Studium dieser Verhältnisse diene konserviertes Material. Dasselbe bot verschiedenartige Befunde dar, von denen einige in den Figuren 11—17 wiedergegeben sind.

In Figur 11 ist aus der chromatischen Substanz, die sich nach dem Aufhören der Kältestarre in dem in Figur 8 und 9 abgebildeten Zustand befand, ein Knäuel feiner gewundener Chromatinfäden hervorgegangen. Zu beiden Seiten desselben liegen zwei durch Spindelfasern verbundene Strahlungen. Von diesem Zustand ist der Übergang zur Kernfigur, wie sie durch die Kälteeinwirkung unterdrückt worden war, und zum normalen Weitergang der Teilung ein sehr einfacher. Denn es ist wohl nicht zu bezweifeln, daß die Figur 11, wenn sie sich weiter zu verändern fortfährt, in die Figur 10 übergehen wird. Damit dies geschieht, braucht sich ja nur aus dem Knäuel eine große Anzahl abgeteilter Chromatinschleifen zu bilden und in der charakteristischen Weise zwischen den beiden Polstrahlungen anzuordnen.

Eine größere Abweichung von der normalen Weiterentwick-

Es ergeben die Figuren 12, 13 und 14. Denn hier ist in der Eizelle an Stelle zweier Strahlungen nur eine einzige weit ausge dehnte Strahlung entstanden. In die Ursache zu dieser auffälligen Abänderung bedaure ich keinen Einblick gewonnen zu haben. Es würde dies wohl möglich gewesen sein, wenn ich die Polkörperchen durch geeignete Färbemethoden hätte wahrnehmbar machen und ihre Veränderungen unter dem Einfluß der Kältestarre verfolgen können. Die chromatische Substanz liegt an einer Stelle der Strahlenfigur oberflächlich an. In Figur 14 erscheint sie als ein lockeres Netz feiner Chromatinfäden. Auf einem weiteren Entwicklungsstadium befindet sie sich in den Figuren 12 und 13. Denn aus dem Fadenwerk sind hier wieder die charakteristischen feinen Chromatinschleifen entstanden und haben sich in einem gebogenen Streifen an der Oberfläche der Strahlenfigur angeordnet. Bald liegen die Schleifen dichter, wie in Figur 12 und 13, bald aber auch ziemlich weit auseinander, so daß sie zuweilen fast einen Halbkreis um die Strahlung beschreiben. Von Spindelfasern konnte ich an diesen Figuren nichts wahrnehmen, glaube aber, daß die Verhältnisse in diesem Falle ebenso sind, wie sie in der vorhergegangenen Abhandlung auf Seite 51 beschrieben worden sind, d. h. es wird auch hier eine Halbspindel vorhanden sein, deren Spitze zum Mittelpunkt der Strahlung, deren Basis zu den Chromatinschleifen reicht. Man könnte dann auch diese Form als Fächerkern bezeichnen.

Aus der einfachen Strahlung scheint später eine Doppelstrahlung zu werden, welche noch zu regulärer Teilung führt. Denn man findet bei dem aus der Kältemischung genommenen und im warmen Zimmer stehenden Material bei jeder späteren Untersuchung noch geraume Zeit Eier, die sich teilen oder nahe vor dem Teilungsakt stehen. Um zu erfahren, wie die Umwandlung geschieht, wäre ein genaueres Studium der Polkörperchen wohl erforderlich. Manche Präparate machten mir den Eindruck, als ob eine Teilung der einfachen Strahlung stattfände, an anderen Eiern wiederum sah ich neben der ersten größeren noch eine zweite sehr kleine Strahlung in geringer Entfernung auftreten (Fig. 17). Zur Klarlegung des Vorgangs müßte eben die Entstehung des zweiten Polkörperchens nachgewiesen werden.

Von demselben Eimaterial, welches die auf den letzten Seiten beschriebenen Präparate geliefert hat, rühren auch die in Figur 15 und 16 abgebildeten Befunde her. Sie sind Beispiele für die größte Veränderung, welche durch die Kältestarre und die Nach-

wirkung derselben veranlaßt worden ist. Aus der Spindel, welche im Ei schon gebildet war zur Zeit, als das Versuchsmaterial in die Kältemischung gebracht wurde, ist hier wieder ein bläschenförmiger Kern mit einem Chromatingerüst geworden. Derselbe ist von der chromatischen Substanz, wie sie in den Figuren 8 und 9 abgebildet wurde, durch Aufnahme von Kernsaft abzuleiten. Ein ähnlicher Vorgang wurde schon früher von uns bei den Versuchen mit stärkeren Chininlösungen beobachtet. Wenn befruchtete Eier, in denen sich der Kern schon zu einer Spindel verwandelt hatte, 20 Minuten in eine 0,05^o/₁₀ige Chininlösung eingelegt wurden, so bildete sich die Kernspindel wieder zurück, und anstatt dessen wurde im Dotter nach einiger Zeit wieder ein großer bläschenförmiger Kern vorgefunden, der meist von 4 Strahlungen umgeben war (S. 88) und später in eine komplizierte Teilungsfigur wieder übergang. Auch bei dem Eimaterial, welches einer starken Abkühlung ausgesetzt gewesen war, bereitet sich der bläschenförmig gewordene Kern wieder zu neuer Teilung vor, was sich aus der in seiner Umgebung auftauchenden Strahlung schließen läßt. In manchen Eiern ist die Strahlenfigur nur eine einfache (Fig. 15), in andern dagegen eine doppelte (Fig. 16).

Ein dritter Teil der Eier wurde nach der Kältebehandlung noch $1\frac{1}{4}$ Stunde lang im warmen Zimmer stehen gelassen. Die Unterschiede in der Entwicklung der einzelnen Eier sind jetzt noch größer als früher geworden. Während eine kleine Anzahl schon in zwei oder selbst in vier Stücke zerfallen ist, zeigen andere eine normale Spindel mit Doppelstrahlung, andere wieder zeigen nur eine einzige große Strahlung, wie schon oben beschrieben wurde, und in ihrer Umgebung mehrere weit auseinander gelegene Chromatinschleifen. Ziemlich häufig endlich finden sich Eier, welche in ihrer Entwicklung weit zurück sind und wie oben einen ovalen blasenförmigen Kern (Fig. 18) mit einem Chromatingerüst und zwei Polstrahlungen besitzen. Der bläschenförmige Kern ist jetzt aber nicht unerheblich größer geworden, als er in den Präparaten war, welche von dem zweiten Teil der Eier angefertigt wurden (Fig. 16).

b) Eier, welche $3\frac{3}{4}$ Stunde auf -2° C abgekühlt worden waren.

Infolge der langen Einwirkung der Kälte auf die Eier hatte der Dotter, wie es auch bei längerer Einwirkung anderer Reagentien geschieht, eine grob granulirte Beschaffenheit angenommen. Trotzdem war nach einer halben Stunde, während welcher das

Material im warmen Zimmer gestanden hatte, fast überall wieder eine deutliche Strahlenfigur im Dotter aufgetreten. Nach $\frac{3}{4}$ Stunde wurde daher ein Teil der Eier abgetötet. Meist findet man jetzt anstatt der Hantelfigur, die vor der Kältewirkung bestanden hatte, ein kleines Netzwerk von Chromatinfäden, in dessen Umgebung der Dotter wieder ein strahliges Gefüge angenommen hat. Andere Eier enthalten in ähnlicher Weise, wie es für die zweite Partie beschrieben wurde, eine einzige deutliche Strahlung und zerstreut liegende Chromatinschleifen, die in einem Halbring angeordnet sind (Fächerkern); in anderen endlich ist es schon wieder zur Bildung einer normalen Spindel mit scharf ausgeprägter Doppelstrahlung gekommen.

Ein Rest des Materials wurde nach $1\frac{3}{4}$ Stunde eingelegt. Bei einer kleinen Anzahl von Eiern ist jetzt regelrechte Zweiteilung eingetreten; bei den meisten finden sich ähnliche verschiedenartige Kernbilder, wie sie oben beschrieben wurden. Auch bläschenförmige Kerne mit zwei Polstrahlungen kommen hier und da vor.

Drittes Kapitel.

Färbung der lebenden Zellsubstanz durch Methylenblau.

Nachdem schon früher durch BRANDT¹⁾ die Färbung von lebendem Protoplasma niederer Organismen durch Bismarckbraun und Hämatoxylin entdeckt worden war, hat vor einigen Jahren PFEFFER²⁾ ausgedehnte Untersuchungen über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende pflanzliche Zellen veröffentlicht. Von ihnen ausgehend, stellte ich auch nach dieser Richtung einige Versuche an den Eiern der Echinodermen an, wobei ich mich aber allein auf die Verwendung von Methylenblau beschränkt habe. Es wurde eine Lösung dieser Anilinfarbe in Meerwasser angewandt, welche, auf weißem Grunde betrachtet, einen violetten Schimmer zeigte. Der Prozentgehalt an Farbstoff wurde nicht genauer bestimmt.

1) BRANDT, K., Biologisches Centralblatt, Bd. I, 1881, und Monographie der koloniebildenden Radiolarien in Fauna und Flora des Golfs von Neapel, 1885.

2) PFEFFER, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem botanischen Institut in Tübingen, Bd. II, Leipzig 1886.

Wenn unbefruchtete Eier von *Strongylocentrotus lividus* in die Methylenblaulösung gebracht wurden, waren einige schon nach einer halben Stunde dunkelviolet, andere mehr oder minder heller gefärbt. Die Eier haben daher eine große Neigung, den Farbstoff aus der dünnen Lösung anzuziehen und in sich aufzuspeichern, so daß sie in sehr kurzer Zeit ein viel intensiveres Kolorit annehmen, als sie die Flüssigkeit besitzt. Bei längerem Verweilen in derselben sehen sie schließlich tief dunkelblau aus: der Farbstoff ist im ganzen Dotter, mit Ausnahme des Zellkerns, der ungefärbt bleibt, gleichmäßig diffus verteilt.

Bei Pflanzen findet die Aufspeicherung im Zellsaft statt, der ganz dunkelblau aussehen kann, während das ihn einschließende und in seinen Lebensfunktionen nicht geschädigte Protoplasma hell bleibt. Eine besonders starke Aufspeicherung in einzelnen Zellkörnchen macht sich an meinem Objekt nicht bemerkbar, wie es von OSCAR SCHULTZE¹⁾ für junge Froschlarven, die in sehr verdünnten, wässerigen Lösungen von Methylenblau Tage lang gezüchtet wurden, beschrieben worden ist. Nach 8 Tagen sind diese tiefblau gefärbt bei ungestörtem Wohlbefinden. Der Farbstoff ist hierbei in einzelnen Körnchen der Zellen (Zellgranula SCHULTZE's, Bioblasten ALTMANN's) abgelagert.

In meinem Versuch wurden die Eier nach einer halben Stunde in frisches reines Meerwasser übertragen und befruchtet. Bei Zusatz des Samens hob sich sofort bei allen Eiern, selbst bei den ganz intensiv gebläuten, die Dotterhaut weit ab. Trotzdem waren sie durch die Farbstoffspeicherung mehr oder minder geschädigt, denn in die meisten waren viele Samenfäden eingedrungen. Dies wurde besonders später deutlich, als sich im Protoplasma zahlreiche Strahlenfiguren entwickelten.

Der Farbstoff wirkt daher selbst in dünnen Lösungen viel schädlicher auf die Lebensthätigkeit des Eies ein als Morphinum, Strychnin und Nikotin. Es hängt dies wohl damit zusammen, daß er selbst aus dünnen Lösungen begierig aufgenommen und aufgespeichert wird und dann in stärkerer Konzentration schädigt.

Um die Eier in normalem Zustand zu erhalten, muß man sie, sowie sie ganz matt violett gefärbt sind, aus der Farbstofflösung nehmen und in frisches Wasser bringen. Dann lassen sie sich zum größten Teil einfach befruchten und entwickeln sich in nor-

1) O. SCHULTZE, Die vitale Methylenblaureaktion der Zellgranula. Anatomischer Anzeiger, 1887, p. 684.

maler Weise weiter. Aus einer so behandelten Partie Eier waren am andern Tage Blastulae entstanden, deren Zellen noch das vor der Befruchtung aufgenommene Methylenblau enthielten. Dieses war aber nicht mehr gleichmäßig verteilt; es hatte sich nur in der Basis der Zellen angesammelt, während das flimmertragende Ende farblos war. Die Höhle der Blastula war daher auf dem optischen Durchschnitt von einem dunkelvioletten gefärbten Streifen eingeschlossen. Auch zeigte der die Höhle ausfüllende Gallertkern violette Färbung, und ebenso sind die Wanderzellen, welche auf einem späteren Stadium in die Gallerte eindringen, mit Methylenblau beladen.

Eine zweite Reihe von Versuchen wurde mit Eiern ausgeführt, welche zuerst um 9 Uhr 40 Min. befruchtet und dann nach Ablauf von 20 Minuten, in 4 Portionen geteilt, in 4 verschieden starke Lösungen von Methylenblau auf eine halbe Stunde gebracht wurden. Die stärkste Lösung, die wir mit I bezeichnen wollen, sah hellviolett aus, aus ihr wurden durch doppelte, vierfache und achtfache Verdünnung drei weitere Lösungen (II, III und IV) hergestellt, von denen die dünnste nahezu farblos aussah.

Nach einer halben Stunde wurden die Eier, die in verschiedenem Grade matt blau gefärbt waren, in reines Meerwasser gebracht; sie zeigten in ihrem Innern um den Kern deutliche Strahlung. Auch nahm die Entwicklung ihren weiteren Fortgang, aber in sehr verlangsamter Weise. Während bei frischem Material gewöhnlich nach 2 Stunden die erste Teilung beendet ist, waren hier um 12 Uhr 15 Minuten oder $2\frac{1}{2}$ Stunde nach Vornahme der Befruchtung (9 Uhr 40 Min.) noch alle Eier ohne Ausnahme ungeteilt. Als um 3 Uhr die Untersuchung wieder aufgenommen wurde (also nach 5 Stunden 20 Min.), befanden sich jetzt erst die meisten Eier auf dem Zweiteilungsstadium, einige wenige, die besonders hell gefärbt aussahen, waren in 4, 8 oder selbst 16 Stücke zerfallen. Einige waren noch eingeteilt, ließen im Innern auch keine Strahlung erkennen und zeigten sich auch insofern noch besonders geschädigt, als ihre Oberfläche höckerig geworden war.

Am andern Tage war ein kleiner Teil der Eier zu Blastulae umgewandelt, die aber noch aus großen Zellen zusammengesetzt waren; ein anderer Teil war in eine kleine Anzahl von Furchungskugeln zerfallen; ein Rest hatte sich überhaupt nicht weiter entwickelt.

Die zweite Partie wurde in der Lösung II auch nur eine halbe Stunde belassen, in welchem Zeitraum eine mattviolette

Färbung eingetreten war. Nach Übertragung in frisches Wasser schritt die Entwicklung viel rascher als bei der ersten Partie fort. Schon um 12 Uhr begannen sich einzelne heller gefärbte Eier zu teilen. 15 Minuten später waren die meisten geteilt, wenige noch in Einschnürung begriffen. Bei der um 3 Uhr vorgenommenen Durchmusterung zeigte sich, daß kein Ei unentwickelt geblieben, daß aber die Weiterentwicklung mit einer sehr ungleichen Energie erfolgt war. Während die meisten der mattviolett gefärbten Eier in 16 Stücke zerfallen waren, bestanden einige noch aus 8 oder 4, ja selbst aus 2 Stücken.

Noch größer war die Verschiedenheit um 6 Uhr geworden. Zum Teil fand man jetzt schon großzellige Morulae, zum Teil aber auch Eier, die erst in 4, 8 oder 16 Zellen geteilt waren. Am anderen Tage waren flimmernde Blastulae entstanden, die ebenfalls nur an den dem Gallertkern zugekehrten Enden ihrer Zellen die Methylenblaufärbung besaßen.

In der Lösung III mußten die Eier eine Stunde verweilen, damit eine mattviolette Färbung des Dotters erreicht wurde. Als sie daher erst um 11 Uhr 30 Minuten in frisches Wasser gebracht wurden, waren sie schon in das Hantelstadium eingetreten. Ihre Weiterentwicklung gestaltete sich fast genau so, wie bei der 2. Partie, die in der stärkeren Lösung II nur eine halbe Stunde verweilt hatte. Um 12 Uhr 15 Minuten waren die meisten Eier zweigeteilt und um 3 Uhr in 16 oder 32 Stücke zerfallen, mit wenigen Ausnahmen, die noch auf dem Stadium der 4- oder 8-Teilung standen. Am anderen Tage hatten sich flimmernde Blastulae entwickelt, an denen auch das Methylenblau in der oben angegebenen Weise in den Zellen verteilt war.

In der Lösung IV, an welcher ein Farbstoffzusatz kaum wahrzunehmen war, wurden die Eier ganz belassen. Um 12 Uhr hatten sie eine nur wenig bemerkbare Violettfärbung angenommen und waren schon in 2 Stücke geteilt. Ihre weitere Entwicklung verlief in der Farbflüssigkeit zwar nur ein wenig langsamer als bei gleichzeitig befruchteten Eiern, die zum Vergleich sich in reinem Meerwasser befanden; doch traten auch hier beim Versuchsmaterial einige größere Unterschiede in der Entwicklung hervor, dadurch veranlaßt, daß einzelne Eier mehr Farbstoff in sich aufgespeichert und eine dunkler violette Färbung angenommen hatten als die meisten Eier, die durchschnittlich sehr hell gefärbt blieben. Die ersteren waren erst 4- oder 8-teilig, während letztere schon aus 32 oder 64 Zellen bestanden.

Am anderen Tage, an welchem eine Erneuerung der Farbstoffflüssigkeit auch nicht vorgenommen worden war, hatten sich flimmernde Blastulae entwickelt mit etwas dunklerer Methylenblaufärbung als beim 2. und 3. Versuch. Die Höhle der Flimmerkugel war auf dem optischen Durchschnitt von einem deutlich violett gefärbten Ring umgeben. Nur die Basis der Flimmerzellen war gefärbt. Färbung zeigten auch die in die Gallerte eingewanderten Mesenchymzellen.

Die Ergebnisse aus den mitgeteilten Versuchen lassen sich kurz in folgende Sätze zusammenfassen: Die Eier nehmen aus Lösungen von Methylenblau den Farbstoff begierig in sich auf, bis sie in stärkeren Lösungen in kurzer Zeit, in sehr verdünnten Lösungen nach längerem Verweilen ein tiefblaues Kolorit gewonnen haben. Zwischen Eiern, die sich in derselben Lösung befinden, prägen sich Verschiedenheiten aus, indem einzelne rascher als die anderen den Farbstoff in sich aufspeichern. Je nach dem Grade der Farbstoffspeicherung sind die Eier in ihrer Lebenthätigkeit geschwächt. Während Eier, deren Dotter nur einen violetten Schimmer gewonnen hat, sich nur wenig langsamer als normale Eier bis zur Flimmerkugel entwickeln, wird bei stärkeren Graden der Färbung der Teilungsprozeß entsprechend verlangsamt und bei einem hohen Grad der Farbstoffspeicherung ganz aufgehoben. Gefärbte Eier, in reines Meerwasser übertragen, halten noch längere Zeit mit einer gewissen Energie den Farbstoff fest. Auf dem Blastulastadium häuft sich der Farbstoff an der Basis der Flimmerzellen an.

Viertes Kapitel.

Parthenogenese bei Seesternen.

Im Jahre 1876 veröffentlichte GREEFF ¹⁾ die interessante Entdeckung, daß bei *Asteracanthion rubens* sich einzelne Eier auch ohne Befruchtung auf parthenogenetischem Wege entwickeln können. Nach den Angaben GREEFF'S war ein Irrtum wohl nicht

1) R. GREEFF, Über den Bau und die Entwicklung der Echinodermen. Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg, 1876, Nr. 5.

anzunehmen. Denn erstens war zu der Zeit, als die parthenogenetische Entwicklung beobachtet wurde, die Reife der männlichen Geschlechtsprodukte noch nicht eingetreten; die Samenfäden waren unbeweglich und befruchteten daher auch nicht, wenn sie zu den Eiern hinzugefügt wurden. Zweitens ergab sich ein sehr erheblicher Unterschied in der Entwicklung zwischen parthenogenetischen und zwischen befruchteten Eiern. Denn während bei diesen die erste Furchung schon nach 1—2 Stunden eintrat, erfolgte sie bei jenen erst nach 10—12 Stunden. Aus den sich parthenogenetisch entwickelnden Eiern konnte GREEFF bewimperte Gastrularlarven ziehen, welche sich im Wasser lebhaft fortbewegten und mehrere Tage in den Zuchtgläsern am Leben erhalten ließen.

Gleich nach dem Bekanntwerden dieser Entdeckung hoffte ich an dem günstigen Untersuchungsobjekt über die feineren am Kern sich abspielenden Veränderungen bei der Parthenogenese Aufschluß erhalten zu können. Im Dezember 1887 wandte ich daher während eines mehrmonatlichen Aufenthalts in Messina ein besonderes Augenmerk den ersten Entwicklungsprozessen am Ei von *Asteracanthion* (*Asterias glacialis*) zu. Wie ich aber schon damals veröffentlicht habe¹⁾, wollte es mir trotz vielfach variiertes Versuche nicht gelingen, GREEFF'S Angaben bestätigt zu finden. „Ich habe kleine Mengen von Eiern aus reifen Ovarien entleert, in große Gefäße mit frischem Meerwasser gebracht und sich selbst überlassen. Bei anderen Versuchen erneuerte ich das Wasser von Zeit zu Zeit halb oder brachte den KOCH'Schen Durchlüftungsapparat in Anwendung. In allen Fällen war das Resultat das gleiche. Die Eier entwickelten sich bis zur Bildung des Eikerns. Dieser zeigte nach längerer Zeit Veränderungen, welche wohl als pathologische zu deuten sind. Er vergrößerte sich mehr und mehr und erreichte fast den Umfang des früheren Keimbläschens, dann begannen nach 10—15 Stunden die Eier abzusterben und zu zerfallen. Nur hier und da habe ich zuweilen unter Hunderten von Eiern ein zweigeteiltes angetroffen.“ Zu demselben negativen Ergebnis ist FOL gelangt.

Trotzdem glaubte ich damals die Frage nach der parthenogenetischen Entwicklung der Seesterneier nicht als erledigt be-

1) OSKAR HERTWIG, Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. Morphologisches Jahrbuch Bd. IV, 1887.

trachten zu dürfen, da keine Gründe vorliegen, eine Fehlerquelle in den Beobachtungen von GREEFF vorauszusetzen. Die Untersuchungen in Triest haben mich denn auch jetzt in die Lage gesetzt, zur Frage nach der parthenogenetischen Entwicklung der Seesterneier einige Beiträge zu liefern.

Die zoologische Station versorgte uns mit reichlichem Material von *Asterias glacialis* und namentlich von *Astropecten*. Zahlreich geöffnete Tiere enthielten aber stets im März und April, in welchen Monaten nach den Angaben von GREEFF die genannten Seesterarten in Triest laichen, noch unreife Geschlechtsprodukte, obwohl ihre Geschlechtsdrüsen meist schon die volle Größe erreicht hatten. Männliche Tiere wurden nur sehr selten gebracht. Ihr Samen war noch unbeweglich. Die Eier hatten die volle Größe erreicht, waren aber noch unreif; denn wenn sie durch Schütteln der freipräparierten Eierstöcke in das Meerwasser entleert wurden, begann das Keimbläschen nicht zu schrumpfen und sich zur Richtungsspindel umzuwandeln; es blieb erhalten, bis daß der Zerfall der Eier eintrat. Nur eine kleine Anzahl von ihnen machte eine Ausnahme und begann zu reifen oder sogar Ansätze zu einer parthenogenetischen Entwicklung zu zeigen. Nachdem die Richtungskörperbildung abgelaufen war, kam es bei ihnen nicht zur Entstehung eines ruhenden Eikerns; anstatt dessen bildeten sich Doppelstrahlungen aus. Nach einiger Zeit veränderten die Eier ihre Form, schnürten sich ein, wenn auch meist in sehr unregelmäßiger Weise, und teilten sich schließlich in eine kleine Anzahl von Embryonalzellen, die sich durch sehr ungleiche Größe und unregelmäßige Form auszeichneten. Der ganze Verlauf der Entwicklung war jedenfalls ein pathologischer. Dies gab sich außer in der ungleichen Größe der Zellen auch noch darin kund, daß sich neben ihnen einzelne größere und kleinere kernlose Dotterkugeln durch Abschnürung gebildet hatten.

Ab und zu wurde in den Zuchtgläsern indessen auch ein Ei vorgefunden, das sich bis zum Blastulastadium entwickelt hatte und ein ziemlich normales Aussehen darbot. Von einer aus einem befruchteten Ei entstandenen Blastula ließ sich diese aber sofort dadurch unterscheiden, daß sie nicht von einer Dotterhaut, die erst infolge der Befruchtung gebildet wird, umschlossen war.

Was für Vorgänge spielen sich nun im Innern der Eier ab, bei welchen es zu einer Entwicklung ohne Befruchtung gekommen war? Die genaue Prüfung dieser Frage schien mir noch besonders wünschenswert im Hinblick auf die jüngsten wichtigen Beobach-

tungen von WEISMANN und ISCHIKAWA, von BLOCHMANN und von BOVERI ¹⁾).

WEISMANN und ISCHIKAWA konnten feststellen, daß bei allen Sommereiern von Daphniden, Ostracoden und Rotatorien, welche sich parthenogenetisch entwickeln, regelmäßig nur ein Richtungskörper hervorknospt, während im ganzen Tierreich die normale Zahl derselben sich auf 2 bis 3 beläuft. Ebenso fand BLOCHMANN bei den parthenogenetischen Sommereiern von Blattläusen nur einen Richtungskörper, ihrer zwei dagegen bei den befruchtungsbedürftigen Wintereiern. Bei der Parthenogenese soll aus der im Ei zurückbleibenden Hälfte der ersten Richtungsspindel gleich der Furchungskern hervorgehen, der, ohne eine Befruchtung erfahren zu haben, sich zur Teilung anschickt. Nach Beobachtungen von BOVERI wird nur ein einziger Richtungskörper zuweilen auch bei Nematoden gebildet. BOVERI knüpft hieran die Vermutung, daß bei den parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern vielleicht zwei aufeinanderfolgende Teilungen eingeleitet werden, aber nur die eine wirklich zustande kommt, die andere dagegen, und zwar wohl sicher die zweite, sich im wesentlichen auf die Teilung der chromatischen Elemente beschränkt. „Vielleicht entsteht, wenigstens in manchen Fällen, noch eine zweite Richtungsspindel mit Tochterplatten, die dann in den Ruhestand zurückkehrt, oder es erfolgt nur einfach noch eine Teilung der Elemente. Es wäre dann die parthenogenetische Entwicklung nicht so aufzufassen, daß die Bildung des zweiten Richtungskörpers unterbliebe, sondern eher so, daß dieser zwar entsteht, aber im Ei zurückgehalten wird und nun sein Kern mit dem Eikern verschmilzt. Der zweite Richtungskörper würde so gewissermaßen die Rolle des Spermatozoons übernehmen, und man könnte nicht ohne Berechtigung den Satz aussprechen: Die Parthenogenese beruht auf einer Befruchtung durch den zweiten Richtungskörper.“

Die Eier der Seesterne, da sie einen Ansatz zu einer parthenogenetischen Entwicklung darboten, schienen mir bei ihrer vollkommenen Durchsichtigkeit ein schätzbares Untersuchungsmaterial zu sein. Schon bei genauerer Betrachtung derselben im

1) BLOCHMANN, Über die Richtungskörper bei Insekteneiern. Morph. Jahrb. Bd. XII u. a. Arbeiten. — WEISMANN, Über die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung, Jena 1887. — WEISMANN und ISCHIKAWA, Über die Bildung der Richtungskörper bei tierischen Eiern. — BOVERI, Zellstudien, Heft I, 1887.

lebenden Zustand fiel mir auf, daß viele Eier, welche das Keimbläschen verloren hatten und schon viele Stunden sich im Meerwasser befanden, nur einen einzigen Richtungskörper enthielten und daß bei ihnen im Innern des Dotters häufig zwei nahe beisammen oder etwas auseinander gelegene Kernbläschen oder eine in Teilung begriffene Kernspindel zu sehen waren. Zu genauerer Untersuchung wurde Material zu verschiedenen Zeiten in Prikrinessigsäure eingelegt, zwei, fünf und sieben Stunden, nachdem die Eier aus dem Ovarium in das Meerwasser entleert worden waren. Nach Färbung in Boraxkarmin ließen Balsampräparate auch die feineren Kernveränderungen erkennen.

Bei dem nach zwei Stunden eingelegten Material beobachtete ich mehrfach im Dotter nahe an der Oberfläche des Eies eine vollkommen ausgebildete Richtungsspindel und zwei deutlich entwickelte Plasmastrahlungen an ihren beiden Enden (Taf. X, Fig. 1). Die färbbaren Schleifen von Kernsubstanz waren schon in zwei Gruppen nahe den beiden Polen in nicht sehr regelmäßiger Weise angeordnet. Zuweilen lagen ein oder zwei Klümpchen von Kernsubstanz (x) in der Mitte der Spindel, zu deren Bildung sie keine Verwendung gefunden haben, wie ich schon früher für mehrere Objekte beschrieben habe (Asterias, Haemopsis, Mytilus). In einem Fall fand sich noch eine isolierte dritte Strahlung in der Nähe der Richtungsspindel, welche mit ihrem einen Pol an die Oberfläche des Eies reichte.

Bei der zweiten Portion, welche nach fünf Stunden abgetötet wurde, war ein Richtungskörper entstanden, in dessen Plasma eine Gruppe von Chromatinkörnchen hervortrat (Taf. X, Fig. 2—6). Die im Ei verbliebenen Kernteile boten verschiedene Befunde dar.

Einige Eier zeigten unter der Bildungsstelle des ersten Richtungskörpers eine zweite Spindel mit zwei Strahlungen (Fig. 4).

Andere Eier, die auf einem etwas weiter vorgerückten Entwicklungsstadium sich befinden müssen, scheinen mir von besonderem Interesse zu sein, da aus den inneren Veränderungen sich schließen läßt, daß bei ihnen ein zweiter Richtungskörper nicht mehr zur Anlage kommen kann. Die hierher gehörigen Befunde boten einige Verschiedenheiten dar. Einzelne Eier (Fig. 3 u. 5) enthielten unter dem ersten Richtungskörper ein kleines, mit Chromatinkörnchen versehenes Kernbläschen, an dessen einer Seite nach der Dotterrinde zu eine Plasmastrahlung zu sehen war. Nur wenig nach dem Innern des Eies von ihm ent-

fernt, befand sich ein zweites Kernbläschen (Fig. 3) oder eine kleine Gruppe von solchen (Fig. 5), welche untereinander zu verschmelzen im Begriffe waren. Auch dieser zweite Kern war nach der dem Eicentrum zugekehrten Seite von einer Strahlung umgeben.

Bei anderen Eiern beobachtete ich unter dem ersten Richtungskörper eine Gruppe von mehreren Kernbläschen, welche von zwei Plasmastrahlungen an entgegengesetzten Seiten eingeschlossen waren (Fig. 2). Auch das kam vor, daß unter dem einzigen Richtungskörper in einer ausgeprägten Strahlung eine Anzahl Kernbläschen eingeschlossen war (Fig. 6), und daß sich in einiger Entfernung davon noch eine zweite Strahlung vorfand, in deren Umgebung jede Spur von Chromosomen oder sonstigen Kernteilen fehlte.

In anderen Fällen wieder hatten die Kernteile ihre ursprüngliche Lage unter dem ersten Richtungskörper verändert und waren tiefer nach der Mitte des Eies zu vorgerückt; hier fand sich entweder eine Gruppe von Bläschen, umgeben von deutlich ausgeprägter Plasmastrahlung oder ein undeutlich konturierter, bläschenförmiger, etwas ovaler Kern mit zwei Strahlungen an seinen beiden Polen, oder es fanden sich zwei nahe zusammengelegene, von Strahlung umgebene, bläschenförmige Kerne.

Wenn wir nach der Bedeutung dieser Befunde fragen, so lassen sich dieselben wohl in der Weise interpretieren, daß nach der Abschnürung des ersten Richtungskörpers in den oben beschriebenen Fällen zwar in der Regel noch eine zweite Richtungsspindel entstanden sein wird, aber nicht Veranlassung für einen zweiten Knospungsprozeß geworden ist. Anstatt dessen ist es nur zu einer Kernteilung im Innern des Eies gekommen. Es haben sich die Chromatinschleifen der zweiten Richtungsspindel in zwei Gruppen gesondert. Von diesen leiten sich die beiden bläschenförmigen Kerne her, welche unter der Austrittsstelle des ersten Richtungskörpers von Strahlung umgeben mehrfach beobachtet wurden (Fig. 3 u. 5).

In einigen Fällen scheint nach der Abschnürung des ersten Richtungskörpers aus den im Ei verbliebenen Kernteilen gleich ein Haufen von Kernbläschen oder ein bläschenförmiger Kern, an welchem sich zwei Strahlungen ausbilden, hervorgegangen zu sein (Fig. 2).

Als eine pathologische Erscheinung endlich betrachte ich das

Auftreten der oben erwähnten isolierten Plasmastrahlung (Fig. 6), welche keine chromatischen Kernteile einschließt.

Aus den mitgeteilten Befunden lassen sich nun leicht die Bilder herleiten, welche sowohl im frischen Zustand als an der dritten Portion der konservierten Eier (nach 7 Stunden eingelegt) wahrgenommen wurden. Häufig fand sich an der Oberfläche nur ein einziger Richtungskörper, im Centrum des Eies aber waren dicht bei einander zwei Kerne (Fig. 7) anzutreffen wie bei einem befruchteten Ei. Diese stammen offenbar von den zwei Kernen ab, die unter der Bildungsstelle des ersten Richtungskörpers aus der zweiten Richtungsspindel entstanden und dann von der Oberfläche weiter weggerückt sind. Aus ihrer Verschmelzung geht ein Kern hervor, der nicht wie der Eikern im Ruhezustand verharret, sondern sich bald zu Teilungsprozessen anschickt.

Die Teilungen waren bei den von mir untersuchten Objekten sehr unregelmäßige und pathologische, bei dem von GREEFF beobachteten Material scheinen sie sich dagegen in normaler Weise vollzogen und bis zur Entstehung normaler Blastulae geführt zu haben.

Abgesehen von den Eiern, welche den Ansatz zu einer parthenogenetischen Entwicklung erkennen ließen, waren in dem Triester Material auch Eier anzutreffen, die nach Rückbildung des Keimbläschens zwei Richtungskörper und im Dotter einen bläschenförmigen Eikern ohne Strahlung besaßen. Bei ihnen ist also eine normale Eireife eingetreten und scheint jetzt eine Weiterentwicklung ohne Befruchtung nicht mehr möglich zu sein.

Ich behalte mir vor, auf eine theoretische Würdigung dieser Verhältnisse bei anderer Gelegenheit zurückzukommen.

Tafelerklärung.

Tafel VIII.

Die Figuren 1—6 und 9—28 sind bei Ölimmersion $\frac{1}{1,8}$ Zeiss, Oc. III mit dem Abbe'schen Zeichenprisma gezeichnet. Fig. 7 und 8 bei Zeiss D, Oc. 3.

Fig. 1. Samenkern aus einem pathologischen Ei von *Echinus microtuberculatus*, 30 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 2. Nebeneinander liegender Eikern und Samenkern aus einem pathologischen Ei von *E. microtuberc.*, 30 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 3—6. Samenkern aus pathologischen Eiern von *E. microtub.*, 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 3. Zu verschiedenen Zeiten eingedrungene Samenkern, *a* Samenkern zu einem kleinen Bläschen ungebildet, *b* größere Samenkernbläschen mit 2 Strahlungen, *c* ein Samenkern ist mit dem Eikern verschmolzen, ein zweiter Samenkern *d* liegt ihm unmittelbar an.

Fig. 4. Ein größerer bläschenförmiger Samenkern mit zwei Strahlungen.

Fig. 5. Zu großen Blasen umgewandelte Samenkern, von denen der größere erkennen läßt, daß er aus Verschmelzung zweier Bläschen entstanden ist.

Fig. 6. Drei in einem Streifen zusammengelegene, bläschenförmige Samenkern, von denen zwei untereinander zu verschmelzen beginnen.

Fig. 7—8. Zwei pathologische Eier von *Echinus microtub.*, 4 Stunden 20 Minuten nach der Befruchtung bei Zeiss D, Oc. 3 gezeichnet. Das eine Ei zeigt in der Eirinde verteilte Spindeln, das andere mehrere bläschenförmige Kerne, um welche sich der Dotter in Ballen abzuschnüren beginnt.

Fig. 9—12. Kernfiguren aus pathologischen Eiern von *Echinus microtub.*, 4 Stunden 20 Min. nach der Befruchtung, bei Ölimmersion $\frac{1}{1,8}$, Zeiss Oc. III gezeichnet.

Fig. 9. Gruppe von Samenkernen, die zum Teil wohl durch Verschmelzung zu außerordentlich großen Blasen umgebildet sind.

Fig. 10. Eine einzelne außerordentlich große Kernblase mit Nucleolen.

Fig. 11 und 12. Komplizierte Kernteilungsfiguren, die aus Kernhaufen hervorgegangen sind.

Fig. 13. Eier von *Strongylocentrotus lividus*, 15 Minuten in Meerwasser von -2 bis -3° C abgekühlt und dann befruchtet, 15 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 14 und 15. Eier von *Strongylocentr. liv.*, 30 Minuten in Meerwasser von -2 bis -3° C abgekühlt und dann befruchtet, 25 Minuten nach der Befruchtung abgetötet.

Fig. 15 zeigt einen Empfängnishügel bei Ansicht von oben.

Fig. 16—20. Eier von *Strongylocentr. liv.*, 5 Minuten nach der Befruchtung in Meerwasser von -3° C, 1 Stunde 30 Minuten abgekühlt.

Fig. 16—17 zeigen den Empfängnishügel und Samenkern von Eiern, die 10 Minuten nach der Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet wurden.

Fig. 18—20 zeigen Empfängnishügel, Ei- und Samenkern von Eiern, welche erst 40 Minuten nach der Herausnahme aus der Kältemischung in Pikrinessigsäure eingelegt wurden.

Fig. 21—25. Samenkern von Eiern von *Strongylocentr. lividus*, welche eine Stunde in Meerwasser von -3° C abgekühlt, dann befruchtet und nach weiteren 50 Minuten abgetötet wurden.

Fig. 26—28. Samenkern von Eiern von *Strongylocentr. lividus*, welche 2 Stunden in Meerwasser von -3° C abgekühlt, dann befruchtet und nach Ablauf einer Stunde abgetötet wurden.

Tafel IX.

Fig. 1. Furchungskern von einem Ei von *Strongylocentrotus*, welches 40 Minuten nach der Befruchtung, 15 Minuten auf -3° C abgekühlt und dann getötet wurde (Pikrinessigsäure).

Fig. 2. Ei- und Samenkern aus einem ebenso behandelten Ei.

Fig. 3 und 4. Kernfiguren von Eiern, die 80 Minuten nach der Befruchtung auf -3° C 15 Minuten lang abgekühlt und dann abgetötet wurden.

Fig. 5—7. Kernfiguren von Eiern, die 105 Minuten nach der Befruchtung in eine Kältemischung von -3° C gebracht und dann in Pikrinessigsäure konserviert wurden.

Fig. 8. Zustand der chromatischen Substanz von Eiern, welche 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung, als sie sich auf dem

Hantelstadium befanden, 2 Stunden 15 Minuten in eine Kältemischung von -2° C gebracht und dann abgetötet wurden.

Fig. 9. Ganze Kernfigur von einem in derselben Weise behandelten Ei.

Fig. 10—17. Kernfiguren von Eiern, welche 1 Stunde 40 Minuten nach der Befruchtung in eine Kältemischung von -2° C 2 Stunden 15 Minuten gebracht und 45 Minuten nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet wurden.

Fig. 18. Kernfigur eines Eies, welches wie vorher behandelt, aber erst 1 Stunde 15 Minuten nach Herausnahme aus der Kältemischung abgetötet wurde.

Fig. 19. Kopie einer Abbildung aus einer Arbeit von Dr. SCHOTTLÄNDER: Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. Sechsteiliger Mutterstern mit verschiedener Spindelrichtung in Polansicht. Halbschematisch, Tafel XXII, Fig. 19.

Fig. 20. Kopie aus demselben Werk, Tafel XXII, Fig. 17. Flächenansicht eines dreiteiligen Muttersterns.

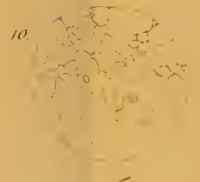
Tafel X.

Präparate von Eiern von *Astropecten*, die am 13. April in Meerwasser entleert und zu verschiedenen Zeiten in Pikrinessigsäure eingelegt wurden. Gezeichnet bei Zeiss Immersion J, Oc. 3.

Fig. 1. Richtungsspindel von einem Ei 2 Stunden nach der Entleerung aus dem Ovarium.

Fig. 2—6. Eier mit einem Richtungskörper, 5 Stunden nach der Entleerung aus dem Ovarium.

Fig. 7. Zwei von Strahlung umgebene bläschenförmige Kerne aus der Mitte eines Eies, welches 7 Stunden nach seiner Entleerung aus dem Ovarium nur einen Richtungskörper besaß.



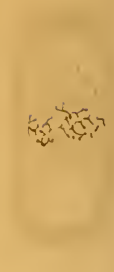
1



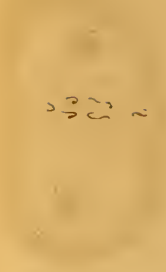
3



4



5



6



7



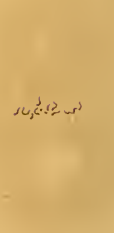
2



9



10



11



12



13



14

10



17



18



10



20



15



16



1



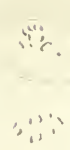
2



3



4



5



6



7



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1890

Band/Volume: [NF_17](#)

Autor(en)/Author(s): Hertwig Oscar [Wilhelm Aug.]

Artikel/Article: [Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. 268-313](#)