

Untersuchungen über die Spermatogenese von *Paludina vivipara*.

Von

Prof. **Leopold Auerbach**
in Breslau.

Hierzu Tafel **XXI** u. **XXII**.

Inhalt:

- I. Vorbemerkungen.
- II. Untersuchungsverfahren und Periodicität der Samenbildung.
- III. Ursprung und Teilung der Samenzellen.
 - a) Entstehung der Spermatogonien.
 - b) Die ruhende Spermatogonie.
 - c) Nebenkern und Teilung der Spermatogonien.
 - d) Die folgenden Zellgenerationen.
- IV. Erste Periode der Ausbildung der haarförmigen Spermien.
- V. Entwicklung der wurmförmigen Spermien.
- VI. Syntaxis der zweierlei Spermien und weitere Ausbildung der haarförmigen.
- VII. Rückblick.
- VIII. Litteraturverzeichnis.
- IX. Tafelerklärung.

I. Vorbemerkungen.

In einer früheren, im April 1894 veröffentlichten, die Samenelemente verschiedener Tiere behandelnden Mitteilung (1 h) hatte ich in demjenigen Abschnitte, der *Paludina viv.* betrifft, als Ergebnis meiner Untersuchung u. a. berichtet, daß mit dem durch **SIEBOLD** (26) im Jahre 1836 zuerst bekannt gemachten Dimorphismus der Samenelemente jener Gattung — vgl. auch **LEYDIG** (16) und **M. v. BRUNN** (4) — zugleich ein wesentlicher Unterschied in

der tinktionellen Reaktionsweise der zweierlei spermatischen Gebilde verbunden ist. Während nämlich der Kopf der sogenannten „haarförmigen“ Samenelemente, ganz wie bei anderen befruchtungskräftigen Samenfäden — vgl. AUERBACH (1 e) — nach meinen Doppelfärbungen sehr schön blau, der Schwanz rot gefärbt ist, enthalten die wurmförmigen Samenelemente kein Körnchen kyanophiler Substanz, erscheinen vielmehr neben jenen ersteren, also unter dem Einflusse der nämlichen Doppeltinktion rein rot, einschließlich ihres sogenannten Kopfes, eines sehr kleinen vordersten, übrigens nicht scharf abgesetzten Abschnittes. Aus diesen Umständen und aus dem Eindringen des Achsenstranges in den sogenannten Kopfteil habe ich auch geschlossen, daß derselbe nicht als ein dem Kopfe anderer Samenfäden homologer Abschnitt, vielmehr als ein dem vorderen Ende des Schwanzes, allenfalls dem Mittel- oder Verbindungsstücke der Vertebraten-Spermien vergleichbarer Teil anzusehen sei, wonach also diese wurmförmigen Gebilde eigentlich Samenfäden ohne Kopf seien. Ich hob dabei hervor, daß diese Thatsache sehr gut zu einer Ermittlung M. v. BRUNN's (12) stimme, nach welcher nur die haarförmigen Elemente in die Eier eindringen, während den wurmförmigen keine Beteiligung am Befruchtungsakte zukommt. Da bekanntlich gerade der Kopf des in ein Ei eingedrungenen Samenfadens und eventuell an nicht fadenförmigen Samenelementen, wie denjenigen der Nematoden, ein kyanophiler Innenkörper des Vorderteils ¹⁾ derjenige Bestandteil ist, der die Karyosomen des Spermakerns liefert und so einen Hauptfaktor der befruchtenden Wirkung darstellt, so muß der Mangel solchen Materials an sich schon die wurmförmigen Gebilde als zu jener wichtigen Funktion nicht beanlagt stempeln. Es bliebe nur die Frage übrig, ob sie irgend eine andere Rolle bei den die Fortpflanzung vermittelnden Vorgängen spielen. Für eine solche haben sich aber früher gar keine Anhaltspunkte gefunden, abgesehen von einer älteren Angabe LEYDIG's (16), dahin lautend, daß in dem die befruchteten Eier umhüllenden Eiweiß auch wurmförmige Spermien zu finden seien. Diese Behauptung, selbst als richtig angenommen, würde doch nur

1) Ich habe festgestellt, daß bei *Ascaris megalocephala* derjenige kuglige Bestandteil des Spermiums, der nach VAN BENEDEN zum männlichen Pronucleus wird, nach meiner Meinung jedoch nur für die Karyosomen dieses Pronucleus das Material enthalten dürfte, ganz aus kyanophiler Substanz besteht (1 h, S. 36).

eine Thatsache betreffen, die schwer für unsere Frage zu werten sein dürfte. Sie ist aber überdies von BRUNN als unzutreffend bestritten und nach dem Gange, den die Dinge in den weiblichen Leitungswegen von *Paludina* nehmen, als unmöglich hingestellt worden. BRUNN gelangte deshalb zu der Ansicht, die wurmförmigen Elemente seien gänzlich funktionslose Gebilde.

Diese letzte Schlußfolgerung nun schien mir über das Ziel hinauszuschießen, theoretisch unwahrscheinlich und möglicherweise durch noch tiefer in alle Phasen des Prozesses eindringende Beobachtungen widerlegbar zu sein. Ich äußerte mich darüber mit den Worten: „Immerhin bleibt es befremdlich, daß so typisch und massenhaft entstehende, sehr lebendige Gebilde ganz bedeutungslos sein sollten; und ich glaube, daß wir in so weit gehender negativer Richtung ein abschließendes und absprechendes Urteil zu fällen noch nicht in der Lage sind.“ Ich dachte dabei vorzugsweise an eine in irgend einem Vorstadium des Befruchtungsprozesses stattfindende Beeinflussung der haarförmigen Spermien durch die wurmförmigen, und in Erinnerung an meine früheren Beobachtungen bei *Dytiscus marginalis* (1 f) namentlich an etwas, das der in diesem Käfer von mir gefundenen Konjugation je zweier Samenfäden ähnlich sein könnte. Es sei mir gestattet, die bezügliche Stelle aus meinen „Spermatologischen Mitteilungen“ hier anzuführen:

„Früher habe ich bei *Dytiscus* nachgewiesen, daß in den Männchen dieser Art an einer bestimmten Stelle ihres Genitalschlauches sich gesetzmäßig immer je zwei der Samenfäden in bestimmter Weise kopulieren und nach langem, sehr innigem Aneinanderhaften später wieder auseinanderweichen, und ich habe die Vermutung ausgesprochen, daß während der innigen Vereinigung der Köpfe, die wie bei konjugierten Infusorien fast einer Verschmelzung gleichkommt, ein Stoffaustausch zum Zweck einer völligen Ausgleichung etwaiger feinerer stofflicher Differenzen stattfinden möge. Ich habe ebenso diesen merkwürdigen Konjugationsvorgang wie auch die bekannte, so weit verbreitete Bildung von Bündeln der Spermien im Hoden aus dem Bedürfnis nach einem solchen Austausch und Ausgleich zu erklären gesucht, als einem Mittel, die auf die Nachkommenschaft zu vererbenden Eigenschaften möglichst gleichmäßig unter die befruchtenden Elemente zu verteilen und so die Variabilität einzuschränken, also einen höheren Grad von Konstanz der Art zu sichern. Allerdings muß es dabei um den Ausgleich sehr feiner Mischungs- oder Konstitutionsverschiedenheiten der einzelnen Samenelemente zu thun sein, um solche, die sich für jetzt noch der direkten Wahrnehmung entziehen. Und im besonderen war auch bei *Dytiscus* keine äußerlich hervortretende Dualität zu ermitteln. Bei *Paludina* hingegen haben wir ja zwei Arten unter sich sehr ab-

weichender Samenfäden, und ich wollte nachsehen, ob etwa auch hier irgendwo im Genitalsystem Konjugation eines haarförmigen mit einem wurmförmigen Spermium zu finden sei, womit ja auch die uns widerstrebende Annahme einer gänzlichen funktionellen Bedeutungslosigkeit der wurmförmigen Elemente beseitigt sein würde. Freilich mußte ich mir sagen, daß nicht gerade viel Aussicht sei, so etwas zu finden, erstens weil es sehr auffällig wäre, wenn eine derartige Thatsache den vielen früheren Beobachtern des Gegenstandes entgangen wäre, und dann gerade wegen der allzu großen Verschiedenheit der beiden Formen. In der That war auch nach dieser Richtung hin das Resultat meiner Beobachtungen ein negatives. Da jedoch infolge äußerer Umstände meine Untersuchung nicht umfassend und stetig genug war, so möchte ich über die allgemeine Frage der Funktion oder gänzlichen Funktionslosigkeit der wurmförmigen Spermien hier nicht entschieden haben. Die Zukunft könnte in dieser Hinsicht vielleicht doch noch eine Überraschung bringen.“ (1 h, S. 20.)

Nach dieser Richtung hin meine Untersuchung weiterzuführen, lag mir also sehr nahe.

Aber noch eine zweite in meinen Erörterungen berührte Frage hatte ich offen lassen müssen und einstweilen nur durch eine Hypothese beantworten können. Sie bezog sich auf die Entstehungsweise der wurmförmigen Spermien von *Paludina* und der homologen Elemente der Prosobranchier überhaupt, und zwar auf den ersten einleitenden Vorgang ihrer differentiellen Ausbildung aus einzelnen der Hodenzellen; und sie war angeregt durch eine übereinstimmende Angabe der genannten früheren Erforscher des Gegenstandes. Sowohl nach der Beschreibung BRUNN's als der späteren, die *Species Murex brandaris* betreffenden von KÖHLEK (14) gehören die Bildungszellen, welche zu den wurmförmigen Spermien auswachsen, zu der Generationsfolge der übrigen Samenzellen. Die erste Divergenz der Entwicklung besteht nun nach jenen Berichten darin, daß, während die sozusagen zur Haarform tendierenden Zellen sich auf mitotischem Wege weiterteilen, an jenen ersteren ein ganz anderer, den Kern der Zelle betreffender Vorgang sich abspielt. Danach erleidet nämlich der Kern der betreffenden Zelle eine Fragmentation in eine Anzahl Teilstücke, so daß eine Zeit lang die Zelle 3—4 und mehr kleinere, übrigens verdichtete Kerne enthält. Die meisten derselben verschwinden, indem sie in Körnchen zerfallen und weiter ganz aufgelöst zu werden scheinen, so daß nur einer übrig bleibt. Dieser rückt an die Wandung der Zelle und liefert das Material für die Bildung des Achsenstranges, resp. des Achsenfaserbündels im Laufe der Umgestaltung der Zelle zu dem wurmförmigen

Samenkörperchen, wie sie von den beiden Autoren sehr eingehend beschrieben worden ist. Insoweit es sich nun um dieses Auswachsen und die damit verbundene feinere Ausgestaltung des Gebildes handelt, hatten auch meine Präparate im wesentlichen nur Bestätigendes ergeben. Die anfängliche Fragmentation des Kerns hatte ich zwar nicht finden können, glaubte aber bei der Übereinstimmung in den Berichten der beiden Forscher nicht daran zweifeln zu dürfen, und knüpfte daran eine durch meine tinktionellen Befunde veranlaßte Deutung. Ich äußerte mich folgendermaßen (1 h, S. 26):

„An diesem ganzen, in mehrfacher Beziehung für die allgemeine Spermatogenese wichtigen Vorgange ist in betreff meines erwähnten, auf tinktionellem Wege erlangten Ergebnisses — nämlich des Mangels an kyanophiler Substanz in den wurmförmigen Spermien — der erste Akt, also die Fragmentierung des ursprünglichen Kerns der Bildungszelle wahrscheinlich von besonderer Bedeutung. Zu meinem Bedauern habe ich das angeblich mehrkernige Stadium derselben, das bei *Paludina* sehr schnell vorübergehen soll, nicht nach Wunsch angetroffen. Ich kann deshalb einstweilen nur vermuten, daß bei der erwähnten Fragmentation des Kerns alle kyanophile Substanz in die zum Untergang bestimmten Teile übergeht und dann mit diesen entweder aufgelöst und zersetzt oder vielleicht auch aus der Zelle ausgeschieden werden mag, während der bestehenbleibende und zur Bildung des Achsenfadens benutzte Kernteil nur erythrophile Bestandteile des Mutterkerns zurückbehält. So würde die ganze Erscheinung der Fragmentation einen Sinn erhalten und den tatsächlichen Mangel der kyanophilen Substanz in dem wurmförmigen Samenelemente erklären. Der Vorgang würde übrigens Analogie haben mit demjenigen, der bei der Bildung des pflanzlichen Pollens stattfindet, wo nach ROSEN'S Ermittlung (21 a) eine ebensolche itio in partes der beiden Substanzen des Mutterkerns in die beiden Tochterkerne hinein erfolgt. Es würde jedoch der Unterschied obwalten, daß in den beiden Fällen das Ziel des Prozesses in entgegengesetzter Richtung läge; denn während bei der Pollenbildung dem kyanophilen Kern die wesentliche Bestimmung und Funktion zukommt, hingegen der erythrophile, sogenannte vegetative Kern nur eine Nebenrolle zu spielen hat, würden in unserem Falle umgekehrt die kyanophilen Kerne eliminiert, der erythrophile aber zu der wesentlichen Aufgabe der Herstellung des Samenelementes mitverwandt werden. Ich hoffe, durch erneute Untersuchung des hier ausgesprochenen, hypothetischen Gedanken einer Prüfung unterwerfen zu können, um ihn irgend einer, sei es bestätigenden oder verneinenden oder vielleicht auch modifizierenden Entscheidung zuzuführen.“

Es lag mir also ob, auch in dieser Hinsicht meine Ergebnisse zu ergänzen.

Die beiden eben erwähnten Probleme nun, die sich bei meinen früheren Untersuchungen mir aufgedrängt hatten, waren in erster

Linie für mich veranlassend, im Jahre 1894 die Vorgänge im Hoden von *Paludina* von neuem zu studieren. Ich gelangte dabei betreffs jener mich hauptsächlich beschäftigenden Fragen in kurzer Zeit zu positiven und überraschenden Ergebnissen. Zugleich aber wollte ich auch die Gelegenheit zur Ermittlung der gesamten Spermatogenese nicht unbenutzt lassen, einer an diesem Objekte ungewöhnlich komplizierten, langen und vielgliedrigen Kette von Vorgängen. Für das Studium einiger feinsten Verhältnisse ist überdies der Hoden von *Paludina* ein besonders schwieriges Objekt, sowohl wegen der Kleinheit der Samenzellen als auch wegen ungeordneter Lagerung der Entwicklungsstufen. Auch die Aufklärung früherer, z. T. abweichender Angaben habe ich mir angelegen sein lassen, eine mühsame Aufgabe, die mehrfach erneute, bis in den Sommer des Jahres 1895 sich hinziehende Untersuchungen nötig machte und eine bedeutende Verzögerung dieser Publikation verursachte.

Manches klarstellend und nach meiner Meinung sichernd, habe ich freilich hinsichtlich einzelner Punkte, namentlich betreffs der Centrosomen auch Lücken bestehen lassen müssen.

Was ich nun Positives ermittelt habe, werde ich im folgenden mitteilen, Ergänzungen der Zukunft überlassend.

II. Untersuchungsverfahren und Periodicität der Samenbildung.

Man erkennt die männlichen Individuen von *Paludina* an der Ungleichheit der beiden Fühler. Während bei den Weibchen beide Fühler lang und spitzig sind, ist bei den Männchen der rechte kürzer, breit, platt und vorn abgerundet. Übrigens sind die Männchen durchschnittlich erheblich kleiner als die Weibchen. Man kann deshalb, falls das ersterwähnte Merkmal wegen hartnäckiger Zurückgezogenheit der Tiere in ihren Gehäusen unbenutzbar ist, die Chance, nach Abbruch der Schale ein Männchen vorzufinden, dadurch sehr vergrößern, daß man es an kleineren Individuen versucht, da selbst die weniger als halbwüchsigen Männchen schon geschlechtsreif sind.

Nach Herauslösung aus der Schale findet man an dem Eingeweidesacke des Männchens, und zwar an dessen der Spindel des Gehäuses zugekehrter Seite, zwei goldgelbe Partien, deren kleinere nahe der Spitze des Eingeweidesackes gelegen ist und beinahe bis an diese reicht, während die größere über die untere Hälfte des Sackes an dessen innerer Seite sich erstreckt. Dies sind die beiden durch die

dünne Haut hindurchschimmernden Hoden, die also nicht bilateralsymmetrisch, sondern hintereinander angelegt sind. Sie stellen übrigens nicht wohl isolierbare Organe dar, sondern sind nur Hodengewebsmassen, die ohne besondere Umhüllung oder Scheidewand nach innen zu an das Lebergewebe angefügt, außen aber von der Haut überzogen sind. — Wenn ausnahmsweise diese Hoden statt der goldgelben eine viel hellere oder sogar milchweiße Farbe zeigen, so ist die Ursache dieser Abweichung immer eine reichliche Beherbergung von Cercarien und Redien; und so massenhaft sind öfters diese Parasiten, die sich auf Kosten des eigentlichen Gewebes ernähren, eingelagert, daß sie dieses atrophisch machen. Solche Individuen sind deshalb für die Untersuchung der Spermatogenese unbrauchbar.

Von dem normalen Hodengewebe aber fertigte ich sowohl Schnitte als auch Dissociationspräparate an, letztere nur von frischem, überlebendem Material mit nachträglicher Fixierung. Zur Stückhärtung, also zur Vorbereitung des Schnittverfahrens fand ich konzentrierte wässrige Sublimatlösung, ohne jeden Zusatz kalt angewandt, als ein auch für unser Objekt vortreffliches und zugleich bequemes Fixierungsmittel. Damit habe ich auch meine Untersuchung hauptsächlich durchgeführt und fast alles hier zu Beschreibende, soweit es nicht schon am frischen Material erkennbar war, darstellen und in Dauerpräparaten festlegen können. Auch macht diese Art der Vorbehandlung die von mir benutzten Doppelfärbungen besonders leicht und sicher gelingen. Von anderen probierten Fixationsmitteln will ich nur noch die FLEMMING'sche Chrom-Osmium-Essigsäure-Mischung erwähnen, mit der PLATNER (18 e) an demselben Objekt gearbeitet hat. Nach Durchführung meiner Untersuchung mit Sublimat sah ich mich in Rücksicht auf einige Angaben des eben genannten Forschers veranlaßt, auch noch die von ihm benutzte Fixierungsweise und, auf diese folgend, teils seine Art der Hämatoxylinfärbung, teils andere, kombinierte Tinktionen zu versuchen. Die Ergebnisse waren indessen in allem wesentlichen den vorher erhaltenen gleich. Die FLEMMING'sche Mischung bringt, wie ich fand, auf unser Objekt angewandt, kraft ihres Osmiumgehaltes in einem Punkte, der immerhin einige Beachtung erheischt, einen besonderen Vorteil mit sich, der in der Erhaltung gewisser charakteristischer fettreicher Dotterkügelchen für Balsampräparate besteht, worauf ich noch zurückkommen werde. Übrigens verursacht diese Behandlung einen gewissen Grad von Aufquellung der Zellen, die jedoch, da sie nicht mit eingreifenden Strukturveränderungen verbunden ist, nichts schadet, sondern eher die Untersuchung erleichtert, freilich bei Messungen der Zellen in Rechnung zu ziehen ist. Hingegen ist nach dieser Vorbehandlung die Doppelfärbung und namentlich die Aufnahme der blauen (sog. basischen) Farben sehr erschwert. Diese kann jedoch gelingen, wenn das Objekt nur kurze Zeit, $\frac{1}{2}$ —1 Stunde in dem bewußten Härtungsmittel verweilt hat und dann sehr gründlich, 2—3 Tage lang in Wasser wieder ausgelaut worden ist, was im übrigen dem Präparate nichts schadet.

Schnitte von 8 μ Dicke zeigen sehr schön alle Entwicklungsphasen der beiderlei Samenelemente, sind jedoch wenig geeignet für

das Studium der fertigen Samenfäden, sowohl weil diese zumeist sehr dicht aneinander und an anderen Inhaltsbestandteilen des Hodenschlauches anliegen, als auch hauptsächlich, weil die haarförmigen Spermien nur selten, die langen wurmförmigen sogar niemals in ihrer ganzen Länge zur Anschauung kommen, sondern irgendwie durchschnitten sind, nicht selten auch in Form reiner Querschnitte sich darbieten. Es sind demnach für deren Gesamtansicht und auch, um im lebendigen Zustande ihre charakteristischen Bewegungsarten beobachten zu können, Dissociationspräparate unentbehrlich; und nebenher zeigen diese, unregelmäßig zerstreut, auch zahlreiche Entwicklungszellen, welche die verschiedenen Staffeln der Spermatogenese darstellen. Ferner finden sich darin die großen platten Wandkerne der Acini isoliert und in Flächenansicht, was in Schnitten nur selten der Fall ist. Solche Isolation der Gewebelemente gelingt leicht entweder durch Zerzupfen mit Nadeln oder in folgender Weise. Ich fasse ein mit der Schere ausgeschnittenes kleines Stückchen des Hodens an seiner äußeren Seite mit einer feinen Pincette und streiche entweder die Schnittfläche über die trockene Glasplatte oder — und dies ist in den meisten Beziehungen noch vorteilhafter — ich verreihe in einem auf den Objektträger geträufelten Tröpfchen des Blutes der Schnecke. Dieser Blutstropfen mag, wenn es sich um Beobachtung der Lebenserscheinungen handelt, reichlich bemessen sein, kann übrigens für den letzteren Zweck auch durch ein Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung ersetzt werden. Hingegen darf, wenn Herstellung eines Dauerpräparates beabsichtigt wird, das Blutströpfchen nur minimal, etwa stecknadelkopfgroß sein und ist bei raschem Verreiben des Gewebestückchens zu einer dünnen Schicht auszubreiten, weil sonst die isolierten Gewebsteilchen flottierend bleiben, ohne zu einer Haftung an der Glasplatte zu gelangen, und so von der hinzuzufügenden Härtnungsflüssigkeit fortgespült werden. Durch Antrocknen aber die Teilchen festzulegen, ist im allgemeinen durchaus unratam und nur für einen ganz besonderen Zweck zu empfehlen, nämlich zur Demonstration des Achsenstranges der wurmförmigen Samenfäden in Längsansicht, eines Bestandteils, der nach Eintrocknung besonders scharf hervortritt, während im übrigen bei diesem Verfahren der feinere Bau aller Gewebelemente und namentlich der Zellen in hohem Maße geschädigt, außerdem auch die Färbbarkeit beeinträchtigt wird. Es muß deshalb auch bei den erwähnten Manipulationen rasch verfahren und namentlich nach Verstreichen des Objekts auf der trockenen Glasplatte die Härtnungsflüssigkeit augenblicklich aufgeträufelt, aber auch nach Verteilung in einem Blutströpfchen sehr bald übergeschichtet werden. Als Fixierungsmittel ist für solche Präparate einfache wässrige Sublimatlösung nicht brauchbar, weil diese zwar die histologischen Elemente härtet, nicht aber zugleich das Menstruum, in welchem diese suspendiert sind, so daß sie in der Flüssigkeit schwebend bleiben und bei den weiteren Operationen abgeschwemmt werden. Wohl aber ist für unseren jetzigen Zweck Alkohol oder auch eine mit einer mäßigen Menge Alkohols versetzte Sublimatlösung geeignet. Besonders bewährte sich die schon früher (1d) von mir empfohlene Mischung, be-

stehend aus 4 Teilen Sublimat, 25 Teilen Alkohol und 75 Teilen Wasser, welche sofort die dünne Schicht des Gewebsbreies zur Gerinnung und festen Haftung auf dem Objektträger bringt und die Formelemente vortrefflich und ohne erhebliche Schrumpfung fixiert. Sie leistet dies in wenigen Sekunden, darf indessen, wenn vor Verdunstung bewahrt, auch beliebig lange einwirken. Sie ist darauf durch absoluten Alkohol zu verdrängen. — Übrigens wird man auch bei Beabsichtigung des Schnittverfahrens gut thun, vorerst von einem kleinen Stückchen des frischen Hodens ein Dissociationspräparat anzufertigen, um sich zu überzeugen, daß das Organ frei von Cercarien ist. Eine massenhafte Einlagerung solcher ist ja, wie erwähnt, schon bei äußerlicher Betrachtung des Hodens an seiner Farbe zu erkennen; aber selbst eine mäßige Menge jener Parasiten, die man nicht so leicht makroskopisch, wohl aber in einem Tröpfchen des frischen Hodenbreies schon bei schwacher Vergrößerung augenblicklich bemerkt, beinträchtigt den Wert der Schnittpräparate und kann in diesen zu Täuschungen führen, weshalb es ratsam ist, ein solches Individuum zu verwerfen und ein anderes in Angriff zu nehmen.

Bei all den erwähnten Vorzügen der Dissociation sind dieser doch in anderen Hinsichten reguläre feine Schnitte sehr überlegen. Zur Anfertigung solcher wurde das gehärtete aber noch ungefärbte Gewebstückchen nach bekannten Regeln zur Einbettung in Paraffin gebracht und mikrotomiert. Die Schnitte wurden auf dem Objektträger teils mittels der P. MAYER'schen Eiweiß-Glycerinmischung, teils durch Antrocknen nach Befeuchtung mit Wasser befestigt und darauf das Paraffin durch Xylol und dieses durch absoluten Alkohol verdrängt.

Sowohl die Brei- als auch die Schnittpräparate wurden, eben noch etwas vom Alkohol feucht, auf dem Objektträger tingiert, und zwar meistens einer Doppelfärbung in Rot und Blau unterworfen.

Zu diesem Zwecke benutzte ich abwechselnd mehrere Kombinationen, nämlich — außer einer später besonders zu erwähnenden — entweder Methylgrün, einige Male kombiniert mit Karmin, meistens jedoch mit Säurefuchsin, oder letzteren Rotstoff kombiniert mit Viktoriablau, in bald genauer anzugebender Weise. Alle drei Kombinationen haben mir übereinstimmende und vortreffliche Resultate geliefert. Nur dürfen einerseits die Objekte, resp. die Schnitte nicht gar zu lang, d. h. nicht Wochen und Monate lang in Alkohol gelegen haben; andererseits darf auch das färbende Material nicht zu alt sein, was besonders von wässrigen, namentlich verdünnten Lösungen der Anilinfarbstoffe, aber auch des Hämatoxylin, und noch mehr von Gemischen solcher gilt.

Des genaueren aber habe ich die genannten kombinierten Färbungen nach mehreren besonderen Methoden bewerkstelligt, die sich im ganzen gleich gut bewährt haben. Ich hebe folgende hervor:

A) Karmin mit Methylgrün.

Das Präparat kommt für 36 Stunden oder länger in GEBLACH'sche Karminlösung, wird dann nach Abspülung in Wasser in beliebig ver-

dünnte wässrige Methylgrünlösung für einige Zeit, je nach der Konzentration derselben für eine halbe bis zu mehreren Stunden eingestellt und dann zur Beseitigung der Überfärbung für 5—15 Minuten in absoluten Alkohol gebracht. — Diese Methode liefert im allgemeinen sehr schöne Präparate und ganz dieselben Ergebnisse wie die anderen. Ich habe sie indessen nur selten angewandt und kann deshalb auch nicht sagen, ob sie alle die vielen Einzelheiten, auf die es ankommt, ebenso deutlich zeigt wie die jetzt folgenden.

B) Säurefuchsin und Methylgrün.

B a) Simultan.

Während es für diese Art der Doppelfärbung bei den ausgebildeten Samenelementen und so manchen anderen Zellen auf ein sehr genaues Mischungsverhältnis der beiden Farbstoffe nicht ankommt und die bezüglichliche, früher (1d) von mir angegebene Verfahrungsweise, obwohl sie nicht gerade exakt ist, sich dennoch als ganz ausreichend erwiesen hat, so ist es hingegen nicht ganz ebenso bei spermatogenetischen Untersuchungen. Ich bin aber jetzt in der Lage, eine genauere, auch für diesen Zweck sich bewährende Vorschrift zu geben. Man bereite sich zwei einfache Lösungen, indem man einen Teil Methylgrün und ebenso einen Teil Säurefuchsin in je 1000 Teilen Wasser löst. Der letzteren, nämlich der roten Lösung, füge man ein klein wenig Essigsäure hinzu und zwar auf je 50 g einen Tropfen einer 10 - proz. wässrigen Eisessiglösung. Dann mische man 2 Teile der roten mit 3 Teilen der blaugrünen Flüssigkeit. Filtrieren des Gemisches ist kaum nötig; will man es aber thun, so benutze man ein vorher mit Methylgrün gefärbtes Filter, weil das Papier von diesem Farbstoff viel mehr absorbiert als vom Säurefuchsin und dadurch, namentlich bei kleiner Quantität der zu filtrierenden Flüssigkeit, das Mischungsverhältnis derselben nicht ganz unwesentlich ändert. In die kombinierte Lösung wird nun die das Präparat tragende Glasplatte für 5—15 Minuten eingestellt, nachdem von letzterer der Alkohol möglichst beseitigt und nur das Präparat selbst noch etwas feucht gelassen worden ist. Es darf übrigens auch länger, als angegeben, in der tingierenden Flüssigkeit verweilen, was jedoch meistens nicht nötig ist und die folgende Operation umständlicher macht. Das notwendige Minimum der Tinktionsdauer wächst natürlich mit der Dicke der zu färbenden Schicht, bei einem Schnitte aber auch mit der Flächenausdehnung desselben, indem, wie aufmerksame Beobachtung ergibt, die Aufnahme der Farbstoffe immer viel stärker als von der freien Fläche vom freien Rande des Schnittes her erfolgt, an diesem schnell sich steigert und von hier aus langsam nach der Mitte hin fortschreitet, so daß eine Zeit lang ein mittleres, nur sehr schwach gefärbtes Feld vorhanden ist, während eine Randzone schon intensiv tingiert ist. Aber auch die Temperatur hat einen sehr merklichen Einfluß und zwar derart, daß höhere Temperatur vorzugsweise die Absorption des Methylgrün beschleunigt, niedere die letztere

hemmt. Als Optimum der Temperatur glaube ich nach meinen Erfahrungen eine solche von 20—25° C ansehen zu müssen. Aus der kombinierten Färbelösung werde das Präparat unmittelbar, namentlich ohne in zwischen mit Wasser in Berührung zu kommen, in stärksten Alkohol übertragen, und zwar je nach dem Grade der Überfärbung für 5—15 Minuten, kann jedoch diesem Extraktionsmittel öfters ohne Schaden auch bis zu einer Stunde und darüber ausgesetzt bleiben. Bei noch länger und namentlich tagelang andauernder Einwirkung des Alkohols bleibt zwar an den Köpfen der entwickelten Samenfäden die blaue Färbung (selbst nach Monaten) vollständig erhalten; hingegen sieht man an den sonstigen Zellen die blaue Färbung ihrer kyanophilen Bestandteile mit der Zeit mehr und mehr erblassen, und dies um so schneller, je weniger die Qualität des sogen. absoluten Alkohols sich der eines wirklich absolut wasserfreien nähert. Es liegt deshalb nahe, zu vermuten, daß der, wenn auch nur 1—2 Proz. betragende Gehalt an Wasser mit der Zeit die unerwünschte Wirkung hervorbringt¹⁾. Jedoch reicht die angegebene kurze Zeitdauer der Entfärbung vollständig zu der nötigen Differenzierung aus.

Bb) Successiv.

1) Das Präparat verweilt zuerst in der angegebenen Säurefuchsinlösung, die ihm binnen 5—15 Minuten eine brillant rote Färbung erteilt, wird dann in absolutem Alkohol abgespült und darauf wie oben mit der kombinierten Lösung behandelt. Diese Modifikation hat nur betreffs eines einzelnen, später noch zu besprechenden Punktes einen Vorzug, während ihr im übrigen das sub Ba) angeführte einfachere Verfahren gleichkommt. Der Fuchsingehalt der Nachfärbungsflüssigkeit erfüllt hier nur den Zweck, durch eine gewisse Sättigung des Wassers mit diesem Farbstoff dessen Extraktion aus den vorher damit tingierten Teilen zu verhindern. Es ist nämlich nicht etwa auf das Fuchsinbad folgend auch eine einfache wässrige Methylgrünlösung zulässig; und ebensowenig würde eine Umkehrung dieser Folge zum Ziele führen, weil bei derartigem Vorgehen die zuerst eingedrungene Farbe durch das Wasser der zweiten Lösung wieder ausgezogen wird.

Wohl aber ist die successive Anwendung einfacher Lösungen in folgender Weise mit gutem Erfolge thunlich.

2) Das Präparat wird zuerst in wässriger Methylgrünlösung tingiert, dann 5—10 Minuten lang in absolutem Alkohol entfärbt, darauf in eine absolut-alkoholische möglichst konzentrierte Lösung des Säurefuchsin für 5—10 Minuten eingestellt, um dann nach Abspülung in absolutem Alkohol der Xylol-Balsam-Behandlung unterworfen zu werden. Da, wie ich höre, im Handel auch ein in Alkohol ganz un-

1) Wie ich hier nur beiläufig andeuten will, geht aus der eben erwähnten Thatsache wie auch noch aus anderen hervor, daß es gewisse Abstufungen der Kyanophilie giebt. Den höchsten Grad derselben besitzen die Köpfe der Samenfäden.

lösliches Säurefuchsin vorkommen soll, so bemerke ich, daß mein Farbstoff teils von GRÜBLER in Leipzig entnommen und mit der Bezeichnung: „Fuchsin G nach WEIGERT“ versehen, teils aber auch von KAHLBAUM in Berlin bezogen war, übrigens in beiden Fällen auch diejenigen Reaktionen lieferte, welche in SCHULZ und JULIUS' Tabellen (31) als charakteristisch und unterscheidend für das Säurefuchsin angegeben sind. Diese Substanz ist aber auch in stärkstem Alkohol in bedeutendem Maße löslich, und zwar mit einer ein wenig ins Violette spielenden Färbung, und liefert, auch so gelöst, eine vortreffliche, widerstandsfähige, namentlich durch Alkohol nicht extrahierbare Rotfärbung der Präparate (während im Gegensatze hierzu, wie ich beiläufig einschalten will, alkoholische Methylgrünlösung nach meiner Erfahrung gar nicht tingiert). Bei der hier besprochenen Tinktionsfolge aber erhält sich auch die Blaufärbung der kyanophilen Bestandteile, und sie liefert deshalb schließlich ganz den Ergebnissen der erst aufgeführten Methode gleichende Differenzierungen.

C) Säurefuchsin und Viktoriablau.

Da diese beiden Farbstoffe, in wässrigen Lösungen zusammen gemischt, sich sofort unter Bildung eines Niederschlages zersetzen, so ist nur eine successive Anwendung derselben in einer der soeben unter B b 2) angeführten entsprechenden Weise, so aber mit bestem Erfolge, ausführbar. Das dem Alkohol entnommene Präparat wird 12—20 Stunden lang in einer wässrigen, mäßig verdünnten Lösung des Viktoriablau gebadet, sodann entweder unmittelbar oder allenfalls nach kurzem Abspülen in Wasser durch starken Alkohol ca. 10 Minuten lang von dem überschüssigen Blaustoff befreit. Das Alkoholbad darf nicht viel über die angegebene Zeit verlängert werden, weil ja das Präparat dann nochmals in alkoholischer Flüssigkeit zu verweilen hat und bei prolongierter Einwirkung des Alkohols die Extraktion dieses Blaustoffes zu weitgehend wird. Nach genügendem Erblässen, dessen richtigen Grad man mit bloßem Auge erkennen lernt, wird das Präparat für 5—10 Minuten in die alkoholische Lösung des Säurefuchsin gebracht, worauf wieder kurze Abspülung in Alkohol und die Xylol-Balsam-Behandlung folgt. — Auch vom Viktoriablau gilt übrigens, daß eine alkoholische Lösung desselben keine Färbekraft besitzt; und schon eine mäßige Beimischung von Alkohol zur wässrigen Lösung beeinträchtigt merklich die Wirksamkeit.

Außer den genannten Doppeltinktionen habe ich aber zum Zwecke der Nachprüfung gewisser Angaben PLATNER's vielfach auch:

D) Alaunkarmin kombiniert mit Bleu de Lyon

versucht, nacheinander auf die Präparate einwirkend, des Vergleichs halber in einzelnen Fällen mit Umkehrung der Reihenfolge, und außer auf unser diesmaliges Hauptobjekt auch auf die Samenzellen und Samenfäden anderer Tiere angewandt, worüber ich weiter unten noch Näheres mitteile.

Sodann aber habe ich mehrfach auch mit:

E) Hämatoxylin

gefärbt, und zwar teils BÖHMER'sches nach bekannten Regeln benutzt, teils die Verbindung mit Eisen nach der von M. HEIDENHAIN angegebenen Methode, mit besonderen, später zu erwähnenden Ergebnissen.

Die irgendwie gefärbten Präparate wurden aus dem Alkohol immer successive in eine Reihe von Alkohol-Xylol-Mischungen mit steigendem Xylolgehalt, sodann in reines Xylol gebracht, um schließlich in mit etwas Xylol verdünntem Kanadabalsam eingeschlossen zu werden.

So viel über das Technische, dem ich jedoch noch einiges andere hinzufügen muß.

Es hat sich mir herausgestellt, daß zur richtigen Beurteilung der spermatogenetischen Vorgänge genaue Messungen der Samenzellen unentbehrlich sind. Sie können ohne wesentliche Verschiedenheit der Resultate ebenso wohl am frischen wie auch an dem mit Sublimat oder der obigen Sublimat-Alkohol-Mischung gehärteten Objekte vorgenommen werden, da, wie ich mich durch besondere Versuche überzeugt habe, im letzteren Falle die Gesamtschrumpfung der Zellen, d. h. die Verringerung ihres Durchmessers nur gering, etwa $= \frac{1}{1,5}$ im Durchmesser, jedenfalls im Verhältnisse zu denjenigen Differenzen, auf die es ankommt, unbedeutend ist. Hingegen tritt, wie ich schon erwähnte, bei der Behandlung mit der FLEMMING'schen Mischung eine Quellung der Zellen ein, die bis zu $\frac{1}{4}$ im Durchmesser betragen kann, sei dies nun unmittelbare Wirkung des Reagens oder Folge des nachträglichen Auswässerns. Für vergleichende Messungen bietet sich übrigens auch Gelegenheit genug an Objekten, die den gleichen Vorbedingungen ausgesetzt waren. Da in Schnittpräparaten angeschnittene Zellen, resp. kleine abgetrennte Segmente solcher vorkommen, die gelegentlich Irrtum veranlassen, nämlich einen zu kleinen Durchmesser vortäuschen können, so ist es am sichersten, die Messungen an Dissociationspräparaten anzustellen; doch schützt einige Vorsicht auch bei der Untersuchung von Schnitten vor den zu vermeidenden Fehlern.

Genauerer Messungen bedarf man besonders zur Bestimmung der Zellgeneration, mit der man es im Einzelfalle zu thun hat. Und zwar ist die Unentbehrlichkeit dieser indirekten Bestimmungsweise verursacht durch gewisse Eigentümlichkeiten des thätigen *Paludina*-Hodens. Dieser bietet nämlich in jedem einzelnen unter-

suchten Individuum nur einen Bruchteil der sehr zahlreichen Entwicklungsphasen dar; und dabei ist weder in der räumlichen Anordnung der Elemente noch in einer etwa mit der Jahreszeit fortschreitenden Aufeinanderfolge eine Richtschnur gegeben für die Kombinierung der Einzelbefunde. Die in dieser Hinsicht thatsächlich obwaltenden Verhältnisse will ich, so schwierig dies ist, versuchen, etwas näher zu charakterisieren.

Die Produktion des Samens geht mindestens während der wärmeren Hälfte des Jahres, vom April bis Ende Oktober immerwährend vor sich. Gleichwohl findet man immer nur an zerstreuten, weit auseinanderliegenden Stellen der Sekretionsfläche je eine Gruppe von Spermatogonien, während die großen Zwischenräume felderweise von anderen Gruppen stets beträchtlich vorgeschrittener, obwohl bis zu verschiedenen Punkten des Prozesses gelangter Elemente besetzt sind. Zu späteren Zeitpunkten werden diese Felder ihrerseits wieder zur Bildung von Spermatogonien schreiten. Innerhalb jeder einzelnen Gruppe befinden sich sämtliche Elemente genau oder doch annähernd genau auf dem gleichen Entwicklungspunkte. Hingegen stehen die benachbarten Gruppen auf sehr verschiedenen, meist weit auseinanderliegenden Stufen. Niemals findet sich an irgend einer Stelle eine Folge von Entwicklungszuständen in geordnetem Nebeneinander, weder schichtenweise noch in flächenhafter oder linearer Aufreihung; vielmehr sind die überhaupt im Präparate vorkommenden Phasen mannigfach zwischen einander verstreut. So groß aber dieser Wirrwarr auch ist, über den sich schon frühere Beobachter beklagt haben, so lassen sich demselben doch gewisse Züge absehen und die Ursachen der Unordnung erkennen. Ich bin zu folgender Anschauung gelangt:

Die von einzelnen Flecken der Wandung der Hodenröhrchen ausgehende Produktion der Spermatogonien erfolgt schubweise mit langen Pausen. Ist nun an einem solchen kleinen Felde eine Lage von Spermatogonien erzeugt und gehören diese zur Entwicklungsreihe der haarförmigen Spermien, so bleiben sie an ihrer ursprünglichen Stelle, dicht an dem Entstehungsfelde liegen, allenfalls zu einem rundlichen Häufchen sich zusammenscharend, und machen hier ihre sämtlichen Teilungen durch, nämlich vier, wie ich anticipierend hinzufüge, und außerdem noch in der letzten, d. i. der fünften Generation einen Teil der Umbildung zum Samenfaden bis zu einem bestimmten Punkte hin. Dann aber zerstreuen sich diese halbfertigen Samenfäden in das geräumige Innere des Schlauches

hinein, um hier, zwischen anderen Elementen liegend, vollständig ausgebildet zu werden. Infolgedessen findet man dicht an der Schlauchwand angelagert Gruppen oder Häufchen, bestehend, je nach der erreichten Teilungsstufe, aus größeren oder kleineren Zellen, die aber in jedem einzelnen Häufchen gleich groß und im allgemeinen gleich weit vorgeschritten sind. — Neigt hingegen eine Gruppe der Zellen erster Generation zur Hervorbringung wurmförmiger Spermien, so bleibt sie nur eine kurze Weile an der Schlauchwand und gerät verhältnismäßig früh tiefer in die Höhlung des Schlauches hinein, wo sie sich bald unter Auseinanderweichen der Zellen lockert, beides wohl deshalb, weil ihre Entwicklung in viel kürzerer Zeit zu einem Punkte gelangt, wo jede der Zellen eines beträchtlichen Spielraumes zur Ausstreckung nach zwei Seiten hin bedarf. — Die in beiden Fällen freigewordenen Stellen der Schlauchwand können nun früher oder später zu einer neuen Produktion von Ursamenzellen schreiten. Sehr oft geschieht dies erst nach längerer Pause, während deren ein solcher Flächenbezirk meistens von einem Bündel der beinahe reifen, aus dem Inneren wieder nach der Peripherie hingewanderten Samenfäden der einen oder anderen Form derart eingenommen wird, daß die Spitze des Bündels in die plasmatische Substanz der Wandung eingesenkt ist und hiermit deren produktive Thätigkeit behindert. Auf andere Stellen, denen nur Rundzellen oberflächlich anliegen, mag auch der starke Innendruck, welcher in den mit Zellen und fertigen Samenfäden vollgepfropften Hodenröhrchen zeitweise herrscht, hemmend einwirken. Auf den erwähnten Wechsel des Orts und der Anordnung der Samenfäden werde ich später noch zurückkommen. Hier will ich nur noch hinzufügen, daß diese Bewegungen wieder Verschiebungen der anderen Elemente und gelegentlich auch Verdrängungen der erwähnten Zellenhäufchen von ihrer ursprünglichen Lagerungsstätte bewirken.

Nun könnte man meinen, daß diese Art fortwährender Samenproduktion, dieses so oft wiederholte, an verschiedenen Stellen nacheinander erfolgende Einsetzen des spermatogenetischen Prozesses für den Beobachter sehr günstig sein müsse durch Darbietung aller Entwicklungsstufen in jedem untersuchten Individuum. Leider ist es jedoch bei weitem anders. Es waltet da ein sehr merkwürdiges Verhalten ob, das sich vielleicht auch an anderen Tieren wiederfinden dürfte, mir jedoch bei *Paludina* besonders auffällig gewesen ist. Wenn man nämlich an einem einzelnen Individuum die Häufchen der Samen-

zellen untereinander vergleicht, so zeigt sich, daß sie zwar auf verschiedenen, jedoch weit auseinanderliegenden Staffeln der sehr langen Entwicklungsleiter sich befinden. Mit anderen Worten: es sind in jedem männlichen Individuum zu irgend einem Zeitpunkt jedesmal nur einige Glieder der langen Kette vertreten. Im besonderen aber ergibt sich dabei, daß, so weit es den mitotischen Zellteilungsprozeß anlangt, alle zu einer und derselben Zellgeneration gehörenden Elemente im ganzen Hodengewebe, und zwar in beiden Ansammlungen desselben, genau oder doch fast genau auf der gleichen Stufe des Prozesses stehen. Es ist dabei wahrscheinlich der rasche Ablauf desselben von einigem Einflusse, was ich bald noch näher zu erklären versuchen werde. Etwas anders ist es deshalb auch mit der letzten Zellgeneration, die keiner Teilung unterworfen ist, sondern sich zu den Samenfäden ausbildet, eine Umgestaltungsperiode, die selbst wieder aus einer großen Reihe von Phasen zusammengesetzt ist und offenbar eine lange Zeit in Anspruch nimmt. Da pflegen sich denn aus dieser Periode in jedem Männchen, ja sogar im einzelnen Präparate eine größere Anzahl von Abstufungen vorzufinden, ohne jedoch eine vollständige oder eng geschlossene Reihe zu bilden, sondern immer noch lückenhaft, übrigens immer gruppenweise verteilt, d. h. so, daß in jedem einzelnen Häufchen nur eine Phase vertreten ist. Andererseits haben auch die Zellen erster Generation als solche eine längere Lebensdauer, weil sie vor ihrem Eintritt in die Mitose Zeit zu ihrem eigenen und eigenartigen Heranwachsen und Individualisieren brauchen. Es kommt deshalb vor, daß sich an verschiedenen Stellen eines Präparates einesteils Spermatogonien in solchen Anfangszuständen, anderenteils solche mit späten Stadien der Mitose darbieten. Für die Kernprozesse hingegen gilt das oben Gesagte. Trifft man z. B. Zellen der zweiten Generation im Schleifenstadium, so ist im gesamten Hodengewebe des Individuums massenhaft das Gleiche zu finden, und zwar in Samenzellen dieser Größe ausschließlich nur dieses Stadium anzutreffen, während in den übrigen der Teilung unterworfenen Zellgenerationen noch die eine und andere Phase vertreten ist, hingegen die viel größere Anzahl der Zwischenstufen fehlt. Diese letzteren kommen dann wieder in anderen Individuen zum Vorschein. Es trifft sich freilich ausnahmsweise, daß z. B. in einem Häufchen, dessen Zellen sich im Stadium der Faser-

spindel mit „Äquatorialplatte“ befinden, eine oder ein Paar dieser Zellen ein wenig vorausgeeilt sind, so daß die Teilplatten schon mehr oder weniger voneinander abgerückt sind. Und ähnliches geringes Vorausseilen oder Zurückbleiben einzelner Zellen findet sich hier und da auch in den anderen Stadien. Diese kleinen und seltenen Abweichungen ändern jedoch kaum etwas an der im großen und ganzen sich bewährenden Regel.

Wenn es nun schon nach dem vorerst Mitgeteilten unzweifelhaft ist, daß an jeder einzelnen Stelle der samenerzeugenden Fläche nur von Zeit zu Zeit eine Neuproduktion von Spermatogonien stattfindet, so ist aus dem jetzt Hinzugefügten meines Erachtens weiter zu schließen, daß eine periodische Neuproduktion jedesmal an sehr vielen Stellen genau gleichzeitig in Gang kommt, und daß die gleichzeitig entstandenen Zellen sich *a tempo* weiterentwickeln. Während sie aber damit noch beschäftigt und in ihren Teilungen schon vorgeschritten sind, setzt von anderen Stellen aus ein neuer Nachschub ein, der das gleiche Tempo innehält u. s. w. Ein solcher Gang der Dinge ließe sich in gewissem Grade vergleichen mit einem von einem großen Chore gesungenen Kanon, bei dem man zu jedem einzelnen Zeitpunkt nur eine kleine Anzahl der in der ganzen Melodie enthaltenen Töne gleichzeitig zu hören bekommt. Das plötzlich abgetötete Organstückchen giebt aber ebenfalls nur das Bild des in einem bestimmten Zeitpunkte nebeneinander Vorhandenen. Nur möchte ich den Vergleich insofern nicht zu weit treiben, als ich nicht behaupten will, daß die Zwischenzeiten der Nachschübe so genau geregelt und so gleich abgemessene seien, wie bei einem Kanon, und daß also, wie in letzterem immer bestimmte Töne zusammenklingen, so auch in unserem Falle immer genau bestimmte Entwicklungsstufen nebeneinander vorkommen. Wenn aber jene Pausen nur überhaupt beträchtliche sind, und wenn andererseits die Mitosen alle gleichmäßig rasch ablaufen, und damit auch zur unmittelbaren Folge die Zellteilung haben, d. h. Überführung in die nächste Zellgeneration, so kann offenbar kein späterer Produktionsschub mit einem früheren in der gleichen Nummer der Generationsfolge zusammentreffen, ausgenommen die erste und die letzte Generation. Es ist nämlich leicht erklärlich, daß in der sich nicht mehr teilenden fünften Zellgeneration, die als solche sehr lange im Hoden verweilt, weil sie noch eine langwierige Umgestaltung durchzumachen hat, daß also in dieser sich Gruppen aus mehreren Produktionsschüben

zusammenfinden und daher Gruppen mit je verschiedenen Phasen der Ausbildung nebeneinander vorkommen. Andererseits ist auch das, was ich oben, S. 420, von den Spermatogonien sagte, sehr wohl mit dem obigen Gedankengange vereinbar. Die eben entstehenden werden erst dann in die Mitose hineingeraten, wenn ihre unmittelbaren Vorgänger bereits mindestens zu Zellen zweiter, wenn nicht dritter Generation geworden sind.

Es wäre erwünscht, für das eben charakterisierte Verhalten einen genügend bezeichnenden kurzen Ausdruck benutzen zu können, der auch kein Mißverständnis gestattet. Einen solchen in jeder Beziehung befriedigenden zu finden, dürfte indes schwer sein. Am ehesten könnte man noch auf Grund des eben gemachten Vergleichs die Bezeichnung: „kanonartige Periodik“ gebrauchen, deren ich mich auch, obwohl sie vielleicht etwas zu viel besagt, eventuell noch bedienen werde.

Nach der praktischen Seite hin ergibt sich aber aus dem Gesagten die Notwendigkeit, die Untersuchung auf eine große Anzahl Individuen auszudehnen, wobei man immer noch vom Zufall begünstigt sein muß, um annähernd alle Zustände der Zellen zu Gesicht zu bekommen. BRUNN hat von den Mitosen zu seiner großen Verwunderung fast nur das Knäuelstadium gesehen, diese Kernknäuel aber meist in großen Mengen beisammen gefunden, welche letztere Thatsache ja ganz zu meinen Erfahrungen stimmt. Mit Recht glaubt er, daß trotzdem spätere Kernfiguren wohl vorhanden und ihm nur aus irgend einem Grunde entgangen sein mögen. Wenn nur die Untersuchung extensiv genug und zugleich unter Anwendung der stärksten optischen Hilfsmittel durchgeführt wird, so gelingt es, in Samenzellen von vier verschiedenen Größen alle für die Mitose im allgemeinen charakteristischen Phasen, und in einer dieser Zellgenerationen noch eine ungewöhnliche, besonders eingeschobene, für die Spermatogenese spezifische zu erkennen.

III. Ursprung und Teilung der Samenzellen.

III a) Entstehung der Spermatogonien.

Indem ich jetzt zu der Darstellung meiner Befunde im einzelnen übergehe, beginne ich mit dem, was mich meine Beobachtungen betreffs der Entstehungsweise der primären Samenzellen gelehrt haben, zunächst mit besonderem Hinblick auf diejenigen

unter ihnen, deren Nachkommen die haarförmigen Spermien sind.

Das Hodengewebe von *Paludina* setzt sich bekanntlich aus Blindsäcken zusammen, deren blindes Ende im allgemeinen nach außen gerichtet ist und an die Haut des Eingeweidessackes anstößt. Diese Blindsäckchen sind aber doch so lang gestreckt, daß sie mehr den Namen von Schläuchen verdienen als denjenigen von Ampullen. Manche derselben sind sogar lang genug, um etwas gebogen oder gewunden zu verlaufen, und zwar derart, daß sie auch mit einer Strecke ihrer Langseite der Haut des Eingeweidessackes anliegen können. Ihre eigene Wandung wird zu äußerst, abgesehen von sehr dünnen, zwischen den Schläuchen sich hinziehenden Bindegewebsschichten, von einer fast homogenen, mit sparsamen kleinen blassen Kernen besetzten Haut gebildet.

In Übereinstimmung mit BRUNN und KÖHLER finde ich, daß in den erwachsenen Tieren die Schlauchwandung an ihrer Innenfläche nicht mit einer Lage von Zellen ausgekleidet, sondern von einer kontinuierlichen Schicht eines zarten Protoplasmas überzogen ist (Fig. 1 u. 2), das eine Anzahl großer, eigentümlicher, bald näher zu besprechender Kerne einschließt, letztere stellenweise in reichlicher Anhäufung, anderenteils sparsam zerstreut. Bei sehr jungen Tieren scheint dieses kernhaltige Protoplasma nicht bloß ein Wandbelag zu sein, vielmehr, vom blinden Ende des Schlauches anfangend, eine Strecke desselben ganz auszufüllen, um erst weiter abwärts hohl zu werden und sich als Wandüberzug fortzusetzen. Als ein Syncytium dürfte es aus einer nachträglichen Verschmelzung embryonaler Zellen hervorgegangen sein. Auch wo es als Wandschicht auftritt, ist diese an Dicke sehr ungleich, hier dünn, dort hervorgewulstet. Gegen Ende des Sommers ist sie, durch lange Samenproduktion erschöpft, auf ein Minimum reduziert, beginnt aber schon im November wieder anzuwachsen. Dieses ungeformte Protoplasma ist nun, wie schon BRUNN gefunden hat, reichlich beladen mit goldgelben Tröpfchen oder Kügelchen einer öligen oder doch sehr fetthaltigen Substanz.

Ich bemerke, daß von letzteren nach Einbettung in Paraffin und an Balsampräparaten überhaupt nichts zu sehen ist, falls Alkohol, Sublimat, Pikrinsäure zur Härtung des Objekts angewandt waren, weil die mit jenem Verfahren verbundene Xylolbehandlung oder irgend eine analoge alle fettigen Substanzen aus dem Objekte auszieht. Selbst starker Alkohol extrahiert schon bei gewöhnlicher Temperatur einen grüngelben Stoff, der nur zu einem kleinen Teile den Pigmentzellen der Haut entstammt, größtenteils aus jenen Einlagerungen in das Hodenprotoplasma. Um in letzterem die Erscheinung der goldgelben Kügelchen

als solche wahrzunehmen, muß man entweder ein dem lebenden Tiere entnommenes Stückchen des Hodens in dessen Blute zerzupfen, und zwar ohne allzu weit gehende Zertrümmerung, oder nach Härtung in Sublimat und kurzem Auswässern aus freier Hand einen möglichst dünnen Schnitt anfertigen und diesen nach Aufhellung durch Glycerin untersuchen. Es zeigt sich, daß die goldgelben Körperchen von sehr verschiedener Größe sind, von feinsten Körnchen bis zu 3 und selbst 4 μ Durchmesser. Meist überwiegen die feinen; doch kommen auch Stellen vor, und besonders gehäuft in einzelnen Individuen, wo die großen, tropfenähnlichen vorherrschen. Ich erwähne diese Einzelheiten, weil sie später bei einer kontroversen Frage in Betracht kommen werden, und weil diese fettigen Körperchen, wie schon BRAUN hervorgehoben hat, in die Samenzellen übergehen und eine Art Dotterstoff darstellen, der in den Zellen allmählich verbraucht wird. — Man kann indessen diese Dotterkügelchen auch für Balsampräparate fixieren und so, wenn auch mit anderer Färbung, in haltbarer Weise zur Anschauung bringen dadurch, daß man eine Osmiumsäure enthaltende Lösung, am besten die FLEMMING'sche, zur ersten Härtung benutzt. Die gelben Tröpfchen werden da geschwärzt und in dieser Verbindung widerstehen sie der lösenden Kraft des Xylols und der ätherischen Öle; oder vielleicht bleibt auch nur an ihrer Stelle das reduzierte Osmium zurück. Genug, sie erscheinen als schwarze Körperchen im Balsampräparate wieder. Man sieht dann in den Durchschnitten der Hodenröhrchen das Lumen eines jeden umsäumt von einem Kranze der schwarzen Kügelchen (Fig. 1), was namentlich bei stärkerer Vergrößerung ein sehr zierliches Bild darbietet. Auch kommt erst so die wahre Dicke des Wandbelages oder Keimlagers zur richtigen Anschauung, während in anderweitigen Präparaten nach Extraktion der so zahlreichen Dottertröpfchen die ganze Schicht in sich zusammensinkt und zum Teil wie zerrissen aussieht. Auch ist die Verfolgung des Schicksals der Dotterkörperchen nach deren Übertritt in die Samenzellen nur bei diesem Verfahren möglich, bei dem man freilich auch einige Nachteile mit in den Kauf nehmen muß.

Die erwähnten Kerne des Wandungs-Protoplasmas sind (Fig. 2 *Smk* u. Fig. 3), entsprechend ihrer Einlagerung in eine dünne Substanzlage, sehr abgeplattete Gebilde, in der Flächenansicht aber von stattlicher Größe. Umfang und Form derselben kann man vorzugsweise in Dissociationspräparaten ermitteln, in denen sie vielfach isoliert sich darbieten und sich natürlich meist auf die flache Seite legen. Aus solchen Präparaten würde man freilich nicht erschließen können, wo diese Kerne in situ sich befunden und welchen feineren Teilen sie angehört haben. Es ist deshalb günstig, daß doch auch in Schnittpräparaten einzelne Stellen sich finden, wo ein Teil der Schlauchwand flächenhaft in die Ebene des Schnittes gefallen ist und so eine Flächenansicht und Identifizierung der Kerne gestattet, die übrigens auch durch ihre sonstigen Eigen-

tümlichkeiten erleichtert wird. Hinsichtlich ihrer Form zeigt sich nun, daß sie in der Ansicht auf die flache Seite bald einer ziemlich lang gestreckten Ellipse, bald mehr dem Längsschnitt einer dicken Spindel gleichen oder auch von unregelmäßigem Kontur begrenzt, übrigens aber, obwohl alle von ansehnlicher, so doch von ungleicher Größe sind. Der Längsdurchmesser schwankt zwischen 15 und 34 μ , der Querdurchmesser von 14—24 μ , und es kommen Verhältnisse vor, wie 26 : 8, 24 : 15, 19 : 15, 15 : 14 und andere dazwischen liegende. Der mittlere Durchmesser des einzelnen Kerns aber wechselt nach meiner Schätzung von 14—30 μ , was ich nur anführe, um von der ungleichen Größe dieser Kerne eine ungefähre Vorstellung zu geben. Sie lassen eine sehr deutliche und scharf begrenzte Kernmembran erkennen und sind im Innern sehr reichlich granuliert. Diese Granulierung hat aber das Charakteristische, daß immer neben sehr feinen Körnchen eine Schar größerer, kugelig geformter Innenkörper hervortritt (Fig. 3), die in jedem einzelnen dieser Kerne von ziemlich gleichmäßigem Durchmesser sind, hingegen bei Vergleichung der Kerne untereinander an Größe variieren. Und zwar sind sie um so ansehnlicher, je geringer ihre Anzahl im Verhältnis zur Größe des ganzen Kerns ist. Ihr Durchmesser schwankt demnach von ca. 1—2,5 μ , ihre Anzahl im einzelnen Kerne von 4—20—30. In den letzteren Fällen sind nur sparsam feine Körnchen dazwischen gelagert. Es läßt dies alles vermuten, daß während des Lebens mannigfache Veränderungen an ihnen vor sich gehen mögen, Anwachsen, Teilungen, Verschmelzungen jener größeren und kleineren Inhaltkörperchen, Vorgänge, die möglicherweise zu der noch zu erwähnenden Vermehrungsweise der Kerne in Beziehung stehen. — Was die tinktionellen Reaktionen dieser Kerne anlangt, so hat schon BRUNN bei seinen einfachen Tinktionen gefunden, daß sie durch eine hochgradige Chromatophilie ausgezeichnet sind. Bei meinen Doppel-tinktionen nun zeigte sich, daß sie in allen ihren Bestandteilen nicht nur zunächst beide Farbstoffe, den roten wie den blauen, in reichlicher Menge aufnehmen, sondern auch während der Entfärbung in Alkohol den blauen sehr lange festhalten, demnach erst später als die übrigen Bestandteile des Präparats eine farbige Differenzierung erhalten. Ist aber diese erreicht, so erscheinen die feinen Körnchen teils lichtblau, teils rein rot, während die größeren Innenkugeln eine violette bis kirschrote Färbung zeigen. Letztere Mischfarbe scheint mir dafür zu sprechen — und ich werde später noch weitere Gründe für diese Auffassung bei-

bringen — daß die Substanz der größeren Kugeln aus zweierlei durcheinander gemischten Molekülen besteht, die nach der Tinktion, wenn man jedes für sich betrachten könnte, teils rot, teils blau aussehen würden. Die Dunkelheit des kombinierten Farbeindrucks würde sich aus der abwechselnden und summierten Absorption roter und blauer Lichtstrahlen erklären, wie es ja ganz ähnlich bei der oben, S. 414, sub. Ba aufgeführten kombinierten Farbstofflösung der Fall ist.

Hinsichtlich der Form dieser Kerne aber bedarf das oben Angegebene noch einer Ergänzung. BRUNN hat eine Proliferation dieser Kerne auf dem Wege multipler Teilung beschrieben. Ich habe nun auch öfters tiefe und scharfe Einschnürungen gefunden, durch die der Kern ein gelapptes Aussehen erhält, ferner dicht an einen solchen anschließend einen kleinen runden Kern von sonst ähnlicher Beschaffenheit, was ganz den Eindruck machte, als sei er ein abgeschnürter Teil des größeren. Ferner kam es vor, daß eine Kette von 3 bis 4 ähnlichen Kernen von mittlerer Größe die Stelle eines großen vertrat (Fig. 3 c und d). Hinsichtlich der Deutung dieser Erscheinungen trage ich kein Bedenken, mich BRUNN anzuschließen in der Annahme einer Proliferation auf dem Wege amitotischer Teilung. Diese scheint mir übrigens vorzugsweise in den ersten Frühlingsmonaten reichlich im Gange zu sein. Ich mache noch darauf aufmerksam, daß sich auf diese Weise auch die auffallend ungleiche Größe der besagten Kerne erklärt, die doch ihre Ursache haben muß und sehr wohl darin haben kann, daß einerseits die einzelnen durch reichlichere und geringere Abschnürung von Tochterkernen mehr oder weniger an Substanz und Umfang verloren haben, und daß andererseits manche der kleinen Tochterzellen unter Bewahrung ihres allgemeinen Charakters allmählich wieder zur vollen Größe heranwachsen. Letztere Annahme hat zur Voraussetzung, daß mindestens ein Teil der Tochterkerne zum Ersatz ihrer Mutterkerne und zur Fortführung derselben Funktion bestimmt ist. Daran schließt sich aber die weitere Frage, ob nicht den anderen, und zwar dann wohl der Mehrzahl jener Tochterkerne eine weitergehende Bestimmung, nämlich eine direkte Beziehung zur Spermato-genese zukomme. Hierfür aber kommen die folgenden Thatsachen in Betracht.

Neben jenen großen, zum Teil gelappten oder kettenförmig zerfallenden Kernen sind in dem Wandungsprotoplasma der Hodenschläuche zeitweise in großer Menge kleine runde Kerne sichtbar,

die wohl isoliert, wenn auch meist gruppenweise versammelt sind, je zwei größere Innenkügelchen neben feinen Körnchen einschließen und sich tinktionell wie die großen verhalten. Die Art ihrer Zusammenordnung deutet darauf hin, daß die zu einer Gruppe gehörigen wohl aus einem gemeinschaftlichen Mutterkerne entstanden sein mögen. Von diesen kleinen Rundkernen nun geht unzweifelhaft die Bildung der Samenzellen aus. Nach BRUNN sollen sie durch ein- bis zweimalige mitotische Teilung diejenigen Kerne liefern, um welche sich die Samenzellen erster Generation bilden. Nach meinen Beobachtungen jedoch kommen an ihnen, solange sie im Wandungsprotoplasma liegen, keine Mitosen vor, und sie sind vielmehr bestimmt, unmittelbar zu den Kernen der Spermatogonien zu werden, eine Differenz der Wahrnehmungen, die ich weiter unten hoffe aufklären zu können. In jedem Falle gehen sie mitotischen Teilungen entgegen, mit der Aufgabe, an sich wie durch ihre Abkömmlinge die wichtigste Rolle in der Spermatogenese zu spielen. Es ist nur eben die Frage, ob sie von jenen ersterwähnten großen abstammen, und zwar, da an letzteren mitotische Vorgänge nie zu beobachten sind, als Produkte der vorhin besprochenen amitotischen Abschnürungen. Schon BRUNN hat diese Frage bejaht und diese Art der Abkunft mit aller Bestimmtheit behauptet; und er hat deshalb den großen Kernen des Wandungsprotoplasma den Namen: „Samenmutterkerne“ gegeben. Ich kann meinerseits nur sagen, daß auch ich einen solchen Zusammenhang nach dem Gesamteindrucke der Erscheinungen für durchaus wahrscheinlich halte, um so mehr als ich nicht absehen kann, woher die spermatogenetischen Kerne sonst ihren Ursprung nehmen sollten. Man könnte sich ja vorstellen, daß in einer früheren Lebensperiode des Tieres besondere Mutterkerne vorhanden waren, als deren Abkömmlinge, die jetzt in Rede stehenden durch immer von neuem wiederholte Teilungen sowohl für die Samenbildung als für ihre eigene Fortpflanzung sorgen. Aber eine solche Vermutung würde in dem Tatsächlichen, wie es sich mir darstellte, keine Unterstützung finden. Es spricht dagegen erstens, daß die Rundkerne des Wandbelages oder Keimlagers in jeder sommerlichen Fortpflanzungsperiode zur Bildung von Spermatogonien derart verbraucht werden, daß von ihnen im Herbste nichts mehr zu finden ist und schwerlich noch einige übrig geblieben sein können, von denen, etwa mittels reichlich wiederholter Teilungen, eine neue Epoche der Spermatogenese ausgehen könnte, während anderer-

seits von den „Samenmutterkernen“ immer genug vorhanden sind. Auch ist ein anderer Zweck der Proliferation der letzteren weder einleuchtend noch vermutungsweise zu begründen. Übrigens ist ja auch in anderen Fällen von mehreren Beobachtern als Einleitung des spermatogonetischen Prozesses eine direkte Kernteilung wahrgenommen worden, auf welche dann erst eine Reihe mitotischer Teilungen folgt, so von LA VALETTE (15) und NUSSBAUM (17) und es sind auch analoge Wandungskerne an Hodenröhrchen oder Hodenacinis schon früher als Ersatzkeime aufgefaßt worden, wie von GROBBEN (9).

Es wäre demnach in unserem Falle kaum nötig gewesen, die gleiche Ansicht ausführlicher zu verteidigen, wenn nicht neuerdings, da das Vorkommen amitotischer Kernteilungen nicht mehr zu bestreiten ist, doch die Neigung herrschend wäre, der letzteren mindestens jede nachhaltige und nachwirkende reproduktive Bedeutung abzusprechen und sie sogar als Anzeichen einer gewissen Entartung, namentlich eines Rückschrittes der produktiven Fähigkeit anzusehen. Wenn der direkten Kernteilung überhaupt eine Zellteilung folge, resp. um einen so abgespaltenen Kern eine junge Zelle sich bilde, so sollen doch diese Tochterzellen zu keiner weiteren Vermehrung Anlage haben und namentlich nicht mehr imstande sein, wieder in mitotische Prozesse einzutreten. — Vergl. u. a. E. H. ZIEGLER u. vom RATH (20a, 29, 30). Dieser Ansicht würde ja der vorhin angenommene Verlauf unseres Falles gänzlich widersprechen. Indessen ist die allgemeine Frage des Wertes der amitotischen Teilung doch wohl noch nicht in jenem Sinne spruchreif; und es ist jene ihr ungünstige Meinung, so sehr sie für eine Reihe von Fällen zutreffen mag, doch noch nicht der Ausdruck eines derartig gesicherten allgemeinen Gesetzes, daß im einzelnen Falle die Beurteilung des Thatsächlichen sich danach zu richten hätte. So denkt über die Sache neuerdings auch FLEMMING (8f). Übrigens sind mir Degenerationserscheinungen an den fraglichen Kernen, wie solche RATH an den homologen Wandungskernen bei *Astacus* beobachtet hat, an unserem Objekt in keiner Jahreszeit begegnet. Betreffs unseres Falles aber spricht eben — wenigstens für so lange, als nicht positive gegenteilige Wahrnehmungen vorliegen werden — aller Anschein dafür, daß die großen Proto-plasmakerne der Hodenschläuche als Samenmutterkerne fungieren, indem sich von ihnen durch amitotische Teilung, resp. durch multiple Zer-

schnürungen Tochterkerne abspalten, die später die Kerne der Samenzellen liefern, wie das schon BRUNN angenommen hat.

Wie geschieht das nun? BRUNN hat des weiteren behauptet, daß die auf dem angegebenen Wege entstandenen Rundkerne, während sie noch in dem ungeformten Wandungsprotoplasma eingebettet sind, eine mitotische Teilung durchmachen, auf welche wohl auch eine zweite folge. Diese Angabe kann ich aber, wie gesagt, nicht bestätigen; denn ich habe nicht nur niemals derartiges gesehen, sondern auch gewisse, weiter unten zu besprechende Verhältnisse kennen gelernt, welche jene Angabe als dadurch veranlaßt erklären können, daß BRUNN einige mitotische Teilungen, die in Wirklichkeit an wohlformierten, im Lumen des Schlauchs aber nahe seiner Wandung gelagerten Zellen sich abspielen, infolge einer Mangelhaftigkeit einzelner seiner Präparate irrtümlich in das Wandprotoplasma verlegt haben dürfte. Entgegen seiner Darstellung kann ich nach meinen Wahrnehmungen nur annehmen, daß die von den Samenmutterkernen abgeschnürten Rundkerne selbst und unmittelbar zu Kernen der Spermatogonien werden, resp. ausnahmsweise zu Kernen gewisser runder Mutterzellen der Spermatogonien, von denen ich noch zu sprechen haben werde.

Von letzterer Variante einstweilen abgesehen, ist aber die gewöhnliche unmittelbare Entstehungsweise der Spermatogonien so, wie sie schon BRUNN und KOEHLER geschildert haben. Indem der Rundkern gegen die innere freie Fläche der Protoplasmaschicht vorrückt, wölbt sich ein Buckel der letzteren über ihn empor, und dieser streckt sich allmählich immer weiter in die Höhlung des Schlauchs hinein aus, den Kern unter seiner Kuppel tragend und an seinem entgegengesetzten Ende sich erst halsartig verengernd und dann zuspitzend, worauf er eine Zeitlang mittels eines kurzen, dünnen Fädchens an dem Wandbelag hängen bleibt. Der so herausgewachsene Körper hat also die Gestalt eines auf der Spitze stehenden Kegels mit gewölbter Basis. Da fast immer von einer ganzen Gruppe nahe bei einander gelegener Kerne der nämliche Bildungsprozeß gleichzeitig ausgeht, so sieht man in den Schnittbildern meistens eine Reihe solcher kegel- oder keulenförmiger Zellen, eine dicht neben der anderen, zum Teil sich an den Seitenwänden abplattend, ihre Kerne aber alle nahe der freien Basalfläche tragend (Fig. 1, 2, 4, 9). Jedoch kommt es bei sehr dichter Zusammendrängung dieser herauswachsenden Körper auch vor, daß ein und der andere derselben die umgekehrte Gestalt annimmt,

mit der breiten Basis in den Wandbelag übergehend und sich mit dem zugespitzten Teile in die Lücke zwischen den benachbarten, normal gestellten Kegeln einzwängend; und dann liegt sein Kern außer der Reihe der übrigen in dem breiten, der Wandung nahen Teile des Kegels (Fig. 4 bei a). Die normal gestellten aber bleiben nicht lange im Zusammenhange mit dem Wandungsprotoplasma. Der kurze, von der Spitze ausgehende Faden reißt; und damit ist die Zelle von ihrem Mutterboden abgelöst, worauf sie sich bald zu einer vollkommenen Kugel abrundet und das freigewordene Spermatogonium darstellt. Auch diese Veränderungen machen im allgemeinen die zu einer Gruppe gehörigen Elemente gleichzeitig durch, infolgedessen gewöhnlich ein Häufchen solcher kugelförmigen Spermatogonien in unmittelbarer Nähe der Schlauchwandung zu finden ist (Fig. 1 und 2 *Sg.*). Bei sehr praller Anfüllung eines Schlauchs durch Zellen und Samenfäden können auch die Spermatogonien eines Haufens durch gegenseitige Pressung zeitweise polyedrisch werden. Nur die wenigen umgekehrt gestellten Kegel können den beschriebenen Ablösungsprozeß nicht ebenso schnell mitmachen wie die anderen, bedürfen vielmehr zu diesem Zwecke erst einer Umformung. Nachdem sie durch Abrücken ihrer Nachbarn freien Raum gewonnen haben, schiebt sich die Hauptmasse der Leibessubstanz mit dem Kerne nach dem freien Ende, so daß das aufsitzende Ende dünn und so die Ablösung der Zelle vorbereitet wird. So erkläre ich mir den gelegentlichen Befund einzelner, noch keulenförmiger, in das Häufchen der Kugeln hineinragender Zellen.

Im typischen Verlaufe der Spermatogenese treten die so gebildeten Samenzellen erster Generation, welche nach ihrer Abrundung im natürlichen Zustande gegen 15μ Durchmesser aufweisen und einen bläschenförmigen Kern von ca. 7μ Durchmesser enthalten, ohne vorher zu wachsen, in kurzer Frist in diejenigen inneren Veränderungen ein, die mit der Bildung eines Nebenkerns beginnen, dann in einen mehrgliedrigen mitotischen Prozeß übergehen und eventuell durch diesen hindurch zur Zweiteilung und damit zur Herstellung der zweiten, aus kleineren Zellen bestehenden Generation führen. Ich sagte „eventuell“, weil letzteres nur bei denjenigen Zellen der Fall ist, deren Nachkommen zu haarförmigen Spermien werden. Die Einleitung zur weiteren spezifischen Umbildung beginnt also meist binnen kurzer Zeit nach Ablösung der Primärzelle. Ja es ist sogar, obwohl nicht die Regel, doch gar nicht selten, daß schon zur Zeit der Kegelform der Zellen,

noch während ihrer Anheftung am Keimlager die Bildung des Nebenkerns in Gang kommt und bis zu dessen vollständiger Herstellung abläuft (Fig. 9), und daß dann erst, jedoch vor Beginn der eigentlichen Mitose, die Ablösung der Zelle erfolgt. Dies mußte ich hier vorläufig im allgemeinen erwähnen, obwohl ich nicht sogleich zu einer genaueren Schilderung dieser wichtigen Vorgänge übergehen kann, weil vorher noch gewisse bemerkenswerte Varianten der anfänglichen Schicksale der Zellen erster Generation, resp. modifizierte Entstehungsweisen der Spermatogonien zu besprechen sind und außerdem der feinere Bau der letzteren noch etwas näher ins Auge zu fassen ist.

Anlangend den ersteren Punkt, so sei nochmals betont, daß der eben angegebene Gang der Dinge der regelmäßige und bei weitem vorherrschende ist. In den wärmeren Monaten des Jahres ist bei der Mehrzahl der Individuen im Hoden überhaupt keine Zelle zu finden, die einen Durchmesser von mehr als 14μ hätte; diese größten aber sind ihrem Volumen nach augenscheinlich übereinstimmend mit den noch kegelförmigen, der Wandung anhängenden, sind also Zellen erster Generation, die sich im übrigen entweder durch wiederholte Teilungen in immer kleinere Tochter- und Enkelzellen als Spermatogonien erweisen, oder aber zum anderen Teile, wie wir noch sehen werden, als Bildungszellen der wurmförmigen Spermien fungieren. Daneben kommen jedoch zeitweise, und zwar anscheinend am häufigsten zu Ende des Winters und im ersten Frühjahr, frei in der Höhlung der Hodenschläuche liegend, größere Rundzellen und eigentümliche Zellenkomplexe vor. Bei deren Beschreibung werde ich diejenige Größe des Zellkerns, die nach Obigem den Spermatogonien eigen ist, also einen Durchmesser desselben von 7μ als Normalgröße bezeichnen. Zuerst erwähne ich nun einkernige, meist auch gruppenweise vorkommende Kugeln von $15-16 \mu$ Durchmesser mit entsprechend vergrößertem Kerne, sodann noch größere, zweikernige von 17μ Durchmesser, also nach einer leicht anzustellenden Berechnung von dem doppelten Volumen der Spermatogonien, während ihre beiden Kerne wieder normalen Durchmesser haben (Fig. 6 a), ferner andere zweikernige von $18-20 \mu$ Durchmesser mit wieder vergrößerten Kernen und schließlich vierkernige Ballen von $21-22 \mu$ Durchmesser, also dem vierfachen Volumen der Spermatogonien mit Kernen, die wieder von normalem Durchmesser sind (Fig. 6 c). Eine noch höhere Steigerung der Gesamtgröße und der Kernzahl ist an solchen ungegliederten Kugeln von

mir nicht beobachtet worden; ich habe indessen auf Grund einer bald zu erwähnenden Thatsache Veranlassung, zu vermuten, daß derartiges, doch, wenn auch seltener, vorkommt. — Daran, daß alle diese Gebilde etwa Kunstprodukte seien, im besonderen durch die Behandlung des Objekts abgelöste und dann abgerundete Portionen des Keimlagers, ist gar nicht zu denken. Gegen diesen Verdacht muß ich sie schützen im Hinblick auf eine Äußerung BRUNN's, die sich wahrscheinlich auf sie bezieht. Er schaltet nämlich in seine Besprechung des Knäuelstadiums der Samenzellen folgende Zwischenbemerkung ein: „Zur ungefälschten Erkenntnis dieser Verhältnisse ist es nötig, gewisse Vorsichtsmaßnahmen bei der Beobachtung im Auge zu behalten. Zerzupft man den Hodeninhalte frisch im Blute des Tieres, so bilden sich infolge der weichen, beinahe flüssigen Konsistenz des Protoplasmas zahlreiche Körper, welche die Vorstellung erwecken, als ob die Kerne in runden Zellen eingeschlossen seien. Das gemeinschaftliche Protoplasma ist zerstört worden, und jeder Kern hat einen mehr oder weniger starken Mantel davon erhalten. Durch denselben Vorgang sind auch die bisweilen sehr großen Kernkugeln zu erklären, die schon vielfach zu falschen Vorstellungen veranlaßt haben. . . . Auch auf Schnitten begegnete ich derartigen Kunstprodukten, aber nur selten.“ Obwohl aus dem Zusammenhange seiner Darstellung nicht völlig klar hervorgeht, auf welche Dinge diese Bemerkungen BRUNN's sich beziehen sollen, so erscheint es mir doch, als habe er die hier in Rede stehenden übergroßen, teils ein-, teils mehrkernigen Kugeln im Auge gehabt. Auf diese aber ist seine Auffassung gewiß nicht anwendbar. Vorerst muß ich bemerken, daß in Zupfpräparaten Fetzen des Protoplasma-belags der Schläuche sehr häufig vorkommen, ohne daß sie sich zu Kugeln abgerundet hätten, und daß überdies derartige Bruchstücke des Keimlagers immer mit den diesem eigenen goldgelben Fettkörnchen beladen, die großen kernhaltigen Kugeln dagegen von solchen frei sind. Sodann aber spricht absolut gegen die Deutung der letzteren als mechanisch auf jene Art entstandene Artefakte der Umstand, daß sie nicht bloß nach Zerzupfen des frischen Hodengewebes, sondern auch ebenso oft nach Erhärtung des Organs in Schnitten desselben anzutreffen sind. Außerdem aber fordern die wichtigen, jetzt noch hinzuzufügenden Thatsachen zu einer ganz anderen Erklärung auf. — Es kommen nämlich häufig genug außer den aus einheitlichem Protoplasma bestehenden zweikernigen Kugeln von ca. 17 μ Durchmesser

messer auch ebenso große vor, deren Körper jedoch durch eine zwischen den beiden Kernen hindurchgehende Scheidefläche in zwei gleiche Hälften geteilt ist (Fig. 6b), also eigentlich aus zwei halbkugeligen, mit den ebenen Flächen sich berührenden Zellen besteht. Am Rande dieser gemeinschaftlichen Grenzfläche ist zuweilen ein kleiner Einschnitt als Zeichen einer ringsherum laufenden, seichten, aber spitzwinkeligen Furche zu bemerken. Jede der beiden halbkugeligen Zellen hat natürlich das Volumen einer Spermatoгонie. Dementsprechend finden sich auch unter den vierkernigen Kugeln von über 20μ Durchmesser solche, die in zwei aufeinander senkrechten Richtungen zerklüftet, also ganz ähnlich aus vier Zellen mit je einem Kern zusammengesetzt sind, wie ein Froschei auf der zweiten Furchungsstufe (Fig. 6d). Aus dem Gesamtvolumen des Komplexes ergibt sich für die Größe der Teilzellen das gleiche Resultat wie vorhin. Ja, ich begegnete sogar ein paar-mal Fragmenten noch umfangreicherer Komplexe von keilförmigen Zellen der nämlichen Größe, die so viel erkennen ließen, daß mehr als vier der letzteren, vielleicht acht zu einer Kugel zusammengefügt waren. Diese sind es eben, die mich vermuten lassen, daß auch bis achtkernige ungeteilte Ballen vorkommen mögen. Hinzufügen muß ich noch, daß die zwei- und mehrgliedrigeren Komplexkugeln gewöhnlich in anderen Individuen anzutreffen sind als die ungeteilten. Das kann nach früher (S. 420—422) Gesagtem nicht im geringsten hindern, einen Zusammenhang zwischen beiden Reihen vorauszusetzen. Dieser aber ist, wie ich nicht zweifle, folgender. Unter Umständen, namentlich bei niederer Temperatur, tritt eine Hemmung der eigentümlichen Umbildungen der Hodenzellen erster Generation ein. Anstatt, wie sonst, sofort zur Mitose und typischen Weiterentwicklung überzugehen, wachsen sie zunächst unter Aufnahme von Nahrungsmaterial zu größeren Zellen heran. Sobald sie ungefähr das doppelte Volumen erreicht haben, tritt Zweiteilung des Kerns ein und öfters bald darauf zwischen den beiden jungen Kernen, in einem größten Kreise der Kugel, Ein- und Durchfurchung und damit Zerfallung in zwei gleiche halbkugelige Zellen. Andere Male jedoch bleibt nach der ersten Kernteilung einstweilen die Furchung aus; die Zelle wächst weiter bis annähernd zum Vierfachen des ursprünglichen Volumens, worauf nochmalige Kernteilung, also Herstellung einer vierkernigen Zelle und dann doppelte Furchung mit Spaltung in vier den Kugelraum ausfüllende Zellkörper folgt. Zuweilen scheint auch diese Art der Vermehrung noch einen Schritt weiter zu gehen. So plausibel

mir indes diese Deutung der Dinge schien, sobald ich die erwähnten Befunde gesammelt hatte, so litten doch die Beobachtungen einstweilen noch an einem Mangel, der einige Zweifel in mir aufrecht erhielt, namentlich nach der Richtung hin, ob nicht etwa Zusammentreten und Verschmelzung von Zellen die beschriebenen Erscheinungen verursachen könnte. Gegen einen solchen Modus sprachen freilich die unverkennbare Vergrößerung einzelner Kerne und einkerniger Zellen. Was mir aber noch fehlte, lag darin, daß ich längere Zeit hindurch von dem Vorgange der Kernteilung selbst an diesen großen Gebilden nichts zu Gesichte bekommen hatte, weder Mitosen noch Anzeichen einer direkten Kernzerschnürung. Später aber stieß ich doch auf ein Individuum, das reichliches Material zur Ausfüllung auch dieser Lücke bot, nämlich zahlreiche jener übergroßen, ein- bis vierkernigen Rundzellen, und unter den zweikernigen reichlich solche, deren beide Kerne sich in deutlichster Mitose, namentlich im Knäuel- und Schleifenstadium befanden, resp. in einem Dauerpräparate noch befinden. Es sind also mitotische Prozesse, die in den hypertrophischen Primärzellen des Hodens zur Kernvermehrung und Furchung führen. Eine sich darbietende Frage wäre noch die, ob in mehr als zweigliedrigen Komplexen immer die Furchung erst nach Herstellung von vier oder mehr Kernen eintritt, oder ob auch nach der ersten Zweiteilung der Zelle noch ein weiteres Anwachsen der agglutiniert bleibenden Tochterzellen stattfinden und von erneuter Mitose und Zerklüftung gefolgt sein kann. Jedoch habe ich für letzteren Modus keine Anhaltspunkte gefunden, während für den ersteren die vierkernigen ungeteilten Protoplasmaballen sprechen. Wenn sich nun hierin ein Unterschied gegen den gewöhnlichen Typus der Eifurchungen zeigt, so ist nicht zu vergessen, daß in unserem Falle ein anderes Moment hineinspielt, indem die gesteigerte Zerklüftung an Zunahme der Gesamtmasse durch Wachstum geknüpft ist. Im ganzen haben diese Vorgänge auch Ähnlichkeit mit den Anfangsstadien desjenigen, der im Hoden verschiedener Tiere zur Bildung von Samenfollikeln oder Spermatozysten führt, deren oberflächliche Elemente eine Hüllmembran konstituieren¹⁾. In unserem jetzigen Falle kommt es indessen niemals zu einer solchen und überhaupt nicht zu so kleinzelligen Anhäufungen. Auch ist die Bestimmung des Vorganges eine andere. Das Ziel desselben kann nur darin bestehen, daß auf

1) z. B. auch bei *Dytiscus marg.* (6, S. 186).

einem Umwege wiederum Spermatogonien geliefert werden, und zwar Spermatogonien in dem weiteren Sinne des Worts, daß darin die Ursprungszellen ebensowohl der haarförmigen, wie der wurmförmigen Spermien inbegriffen sind. Wenn zu irgend einem Zeitpunkte die halbkugeligen oder keil- oder pyramidenförmigen Zellen sich voneinander lösen und abrunden, so müssen sie nach ihrer Größe, ihrem Bau und ihren ererbten Qualitäten den direkt entstandenen Spermatogonien gleichen. Auf diesem Wege sind sie auch gelegentlich zu ertappen. In Zupfpräparaten fand ich wiederholt eine Gruppe entsprechend großer kegelförmiger Zellen, die mit ihren in kurze Fäden ausgezogenen Spitzen in einem Punkte zusammenhängen, also radial gegen ein gemeinschaftliches Centrum gerichtet waren, eine Anordnung und ein Rest von Zusammenhang, die sich leicht auf die eben erörterten Verhältnisse zurückführen lassen, hingegen, so viel ich sehe, auf nichts anderes.

Es schiebt sich demnach unter Umständen zwischen die Entstehung der primären Hodenzellen und deren typisch spermatogenetische Teilung, eine intermediäre, andersartige, nämlich mit Wachstum verbundene und der Form nach furchungsähnliche Proliferation ein, deren Endprodukte wieder den Primärzellen gleichen und deren gewöhnliche Rolle übernehmen.

Das letztere ist freilich eine Annahme, die augenblicklich nicht ganz positiv bewiesen werden kann, jedoch höchst wahrscheinlich ist, weil eine andere Verwendung nicht abzusehen ist.

In dem Falle, der in Fig. 6 d abgebildet ist, hat in den 4 keilförmigen Tochterzellen bereits die Bildung des Nebenkerns stattgefunden. Diese Einleitung zur Mitose könnte nun auf die Herstellung eines achteiligen Komplexes hinzielen. Noch wahrscheinlicher ist es jedoch, daß die 4 Zellen nahe daran sind, sich voneinander zu trennen, sich abzurunden und dann unmittelbar in die spermatogenetischen Prozesse einzutreten, ganz analog, wie öfters auch in den noch am Keimlager haftenden kegelförmigen Primärzellen eine antizipierte Herstellung des Nebenkerns erfolgt.

Wenn ich im Hinblick auf die zweierlei Samenfäden unseres Tieres anfangs daran dachte, daß jene irregulär entstandenen Zellen vielleicht ausschließlich dazu bestimmt seien, die wurmförmigen Spermien zu liefern, so mußte ich doch diese Idee bald fallen lassen, hauptsächlich wegen der geringen Häufigkeit jener Vorkommnisse im Verhältnis zu der regelmäßigen massenhaften

Produktion der wurmförmigen Elemente, und weil sich im übrigen zeigte, daß letztere für gewöhnlich auf kurzem Wege aus primären Hodenzellen sich herleiten, wie später noch beschrieben werden soll. Es ist also viel wahrscheinlicher, daß die durch die Furchungen gelieferten Zellen mit den primären Hodenzellen gleich rangieren; und es liegt gar kein Grund vor, zu glauben, daß nicht auch die zur Befruchtungsfunktion bestimmten haarförmigen Samenfäden aus ihnen hervorgehen könnten. Daß andererseits eben diese Zellen zuweilen auch die Entwicklungsrichtung zum wurmförmigen Samenkörper einschlagen können, geht aus einer Thatsache hervor, die ich im Abschnitt V beibringen werde.

Gleichwohl könnte hinsichtlich ihrer Benennung eine etwas unbequeme Frage erhoben werden, die freilich eben nur einen Namen betrifft. Sollen wir sie, weil sie ja Abkömmlinge, zum Teil sogar Enkel der primären Hodenzellen sind, nach der von LA VALETTE eingeführten Terminologie Spermatoocyten nennen oder Spermato gonien, welches letztere ich oben schon gethan habe? Es wird sich aber zeigen, daß sie, um eventuell haarförmige Spermien zu liefern, nach den Gesetzen der Spermato genese bei *Paludina* genau dieselben Schicksale, auch die gleiche Anzahl von Teilungen durchzumachen haben, wie die gewöhnlichen, regulär entstandenen Spermato gonien, also mit diesen den gleichen Wert haben würden. Und das ist ja in sachlicher Hinsicht das Wesentliche. Indem sie aber teilweise auch wurmförmigen Spermien den Ursprung geben, so treten sie auch hiermit wiederum, wie später ebenfalls ersichtlich werden wird, an die Seite gewisser primärer Hodenzellen und sind in einem weiteren Sinne des Worts auch Spermato gonien.

So können wir sagen: Bei *Paludina* haben die Spermato gonien eine zweifache Entstehungsweise, indem sie teils unmittelbar, teils mittelbar aus dem protoplasmatischen Wandbelage der Hodenschläuche entstammen. Die meisten sind primäre, aus dem Keimlager hervorgesprossene Zellen, andere jedoch aus einer intermediären, furchungsähnlichen Proliferation eben jener Zellen hervorgegangen.

Hier ist nun der Ort, auf einen anderen besonderen Punkt einzugehen, um einer gewissen, m. E. nicht zutreffenden Behauptung einige Worte zu widmen. Die früheren Beobachter haben die Meinung ausgesprochen, die Spermato gonien blieben andauernd durch einen Faden in Zusammenhang mit dem Mutterboden, dem sie entsprossen, und ebenso blieben ihre, durch wiederholte Teilung ent-

standenen Tochter- resp. Enkel- oder Urenkelzellen alle untereinander und mit dem Keimlager durch protoplasmatische Fädchen verbunden. Dies kann ich indes nicht bestätigen. Wohl kommen aus besonderen Ursachen stellenweise fadige Zusammenhänge vor, wie ich ja einen solchen kürzlich (S. 435) erwähnt habe und später betreffs der vorletzten Zellgeneration noch zu erwähnen haben werde, ohne daß jedoch in diesen Fällen auch eine Verbindung mit dem Keimlager vorhanden wäre. Aber von einer allgemeinen Kontinuität der zu einer Familie gehörenden Samenzellen unter sich und mit dem Mutterboden hat sich mir nichts gezeigt. Auch habe ich niemals baumförmige Verzweigungen von Fädchen gesehen, wie sie jener Vorstellung gemäß vorauszusetzen wären. Was im besonderen die Spermatogonien anlangt, so erscheinen diese nach Zurücklegung des kegelförmigen Stadiums meist als durchweg kreisförmig begrenzte Körper, ohne daß an ihnen ein hervorragendes Spitzchen oder ein anhängendes Fädchen zu bemerken wäre, wie man das sogar auch aus BRUNN's und KOEHLER's Abbildungen entnehmen kann. Manchmal sind sie durch dichte Zusammenlagerung facettiert, und dann ist für viele derselben gar kein Raum zu einer Verbindung mit der Schlauchwandung vorhanden. Wenn aber nach Dissociation des frischen Objekts manche Samenzellen in eine Spitze mit fadenartiger Verlängerung ausgezogen erscheinen, so sind das offenbar mechanische Verunstaltungen, die durch Ankleben an das Objektglas und seitlichen Zug herbeigeführt worden sind. Und aus ähnlicher Ursache kann auch zuweilen zwischen zwei aneinander haftenden Zellen ein Verbindungsfaden ausgezogen werden. Ein theoretisches Bedürfnis aber, systematische Dauerverbindung anzunehmen, ist gewiß nicht vorhanden. Insoweit etwa die Samenzellen einer Ernährung und der Sauerstoffzufuhr bedürfen sollten, können diese ja auch durch die umspülende Hodenflüssigkeit vermittelt werden. Machen doch auch die Blutkörperchen höherer Tiere, während sie im Plasma schwimmen, allerlei Umbildungen und mitotische Teilungen durch. Selbst die Eier und Samenzellen der Nematoden, deren lang andauernder Zusammenhang mit der Rhachis vorbildlich für ähnliche Vorstellungen geworden ist, lösen sich doch aus dieser Verbindung zu einem Zeitpunkte los, wo ihnen noch sehr wichtige Prozesse bevorstehen. Sogar die schon selbständige Ortsbewegungen ausführenden Samenfäden können noch nachträglich, fern von ihrem Ursprungsorte, gewisse Umgestaltungen durchmachen, wie ich dies schon früher für *Dytiscus* angegeben habe (1f) und auch in unserem jetzigen Falle noch schildern werde. Überhaupt ist die neuerdings herrschende Neigung, im feineren Bau der lebenden Wesen möglichst überall Kontinuität der festeren Bestandteile anzunehmen, auf die Samenzellen um so weniger anwendbar, als ja der ganze spermatogenetische Prozeß auf die Bildung isolierter, mit freier Ortsbewegung begabter Einzelwesen hinausaläuft.

III b. Die ruhende Spermatogonie.

Die jungen Spermatogonien sind also nach ihrer Ablösung kugelförmige, eventuell und vorübergehend durch Pressung poly-

edrische Zellen. Betreffs ihres inneren Baues kommt es zwar, wie gesagt, ziemlich oft vor, daß gewisse vorbereitende Veränderungen, die der Mitose vorangehen, schon vor der Ablösung vom Mutterboden in ihnen ausgebildet sind; jedoch ist dies nicht gerade die überwiegende Regel. Sehen wir also einstweilen hiervon ab und betrachten wir ihren gewöhnlichen Anfangszustand, der relativ ein Ruhezustand ist, etwas näher, und zwar zunächst in seiner möglichst natürlichen Erhaltung, wie er nach Zerzupfung des frischen Objekts im Blute des Tieres, ohne weiteren Zusatz, unmittelbar sich darstellt. Das ist um so nötiger, als dabei Ergänzungen des in Balsampräparaten Wiederzufindenden gewonnen werden.

Die mattgraue Protoplasmakugel von 14—15 μ Durchmesser schließt einen, ein wenig excentrisch gelegenen, bläschenförmigen Kern von 6—7 μ Durchmesser ein, in welchem meist zwei verhältnismäßig große Nucleoli bemerkbar sind. Letztere heben sich wohl von dem übrigen, helleren Inhalte des Kernbläschens deutlich genug ab, sind jedoch kaum stärker lichtbrechend als die Zellsubstanz, vielmehr von fast dem gleichen Aussehen wie diese. Statt der zwei Kernkörperchen kann auch ein einziges, etwas größeres, oder es können andererseits auch drei vorhanden sein, von denen dann mindestens zwei kleiner sind als gewöhnlich (Fig. 5a). Der Zellkörper ist an seinem Umfange von einer feinen, dunkeln Linie eingefaßt; und durch Zusatz von Essigsäure von 1—2 Proz. kommt hier aufs deutlichste eine auch nach innen sehr scharf begrenzte Zellmembran zum Vorschein, von welcher das innere Cytoplasma unter der Einwirkung des Reagens ganz oder teilweise sich zurückgezogen und abgelöst hat (Fig. 5b). Es wird sich später zeigen, daß im Laufe der weiteren Entwicklung eine solche membranöse Hülle ganz von selbst erkennbar und durch organische Veränderungen größtenteils isoliert wird, daß sie indessen bei aller scharfen Begrenzung doch nur eine besonders verdichtete, sonst aber kaum chemisch veränderte Grenzschicht des Cytoplasmas sein dürfte. Um so mehr ist es von Belang, dieselbe auch schon im Ruhezustande als einen dauernden Bestandteil der Zelle nachweisen zu können. — In der Zellsubstanz selbst aber ist außer dem Kerne noch ein anderer Einschuß sehr auffällig, nämlich ein in der Nähe der Zellperipherie eingebettetes, farbloses, aber sehr glänzendes Kügelchen (Fig. 5a, b), das in seltenen Fällen auch durch zwei kleinere vertreten ist. Mit etwa ausgetretenen Nucleolen haben diese

Körperchen keine Ähnlichkeit; sie sind viel stärker lichtbrechend. Auch zeigt sich, daß daneben die beiden Nukleolen im Kern unversehrt weiter bestehen, ferner aber, daß in letzterem selbst niemals ein so dunkel glänzendes Körperchen zu finden ist. Dieser Einschluß der Zellsubstanz erinnert an das im Leibe der Knorpelzellen öfters eingelagerte Fetttröpfchen. Überdies beweisen auch seine Beseitigung durch Xylolbehandlung und seine Schwärzung durch Osmium, daß es aus Fett oder einer fettreichen Dottersubstanz besteht. Dann stellt sich bei starker Vergrößerung heraus, daß die geschwärzte Substanz öfters nicht kompakt ist, vielmehr ein Häufchen dicht zusammengelagerter kleiner Körnchen. Sie dürfte eine Mitgift von Nährstoff für das Spermatogonium sein und aus dem goldgelben Fettstoff des Keimlagers herkommen.

Indem ich es, wie auch BRUNN, für wahrscheinlich halte, daß von jenem etwas in die hervorknospenden Spermatogonien übertritt, will ich jedoch nicht verhehlen, daß dieser Zusammenhang sich nicht so ohne weiteres behaupten läßt. Zunächst wäre es falsch, es für geradezu unvermeidlich zu halten, daß das herauswachsende Protoplasma etwas von den gelben Dotterkügelchen mit sich nehme. Für die Möglichkeit des Gegenteils zeugt sogar ein dem unseren sehr nahe stehender Fall. DUVAL (6 a) beschreibt bei *Helix*, wie eine Anzahl Samenzellen, die er Spermatoblasten nennt, die aber unseren Spermatogonien homolog sind, gleich Knospen aus einer gemeinschaftlichen Mutterzelle hervorsprossen. Letztere, die offenbar einer Portion des bei *Paludina* wahrzunehmenden Keimlagers entspricht, enthält außer einer Anzahl Kerne auch viele fettglänzende Kügelchen, während von solchen in den hervorgesproßten, keulenförmigen, mit jener Mutterzelle noch zusammenhängenden Spermatogonien nichts zu sehen ist und an der Wurzel ihres Stiels eine scharfe Grenze gerade durch das Aufhören jener Einlagerungen gegeben ist. Die Fetttröpfchen werden also bei *Helix* in dem Mutterboden zurückgelassen und es wird nur ein Kern in die Tochterzelle übernommen.

Nehmen wir nun auch an, daß bei *Paludina* wirklich Dotter in die Zellen übertritt, so bedarf doch zweierlei einer Erklärung, nämlich erstens die Farblosigkeit des in den Spermatogonien eingeschlossenen Dotterstoffs und zweitens der Umstand, daß fast immer nur eine kugelige Dottermasse von ziemlich genau bestimmtem, nämlich $2\ \mu$ betragendem Durchmesser zu finden ist, während doch die gelben Tröpfchen des Keimlagers von sehr verschiedener, zwischen weiten Grenzen schwankender Größe sind. BRUNN hat freilich angegeben, die Samenzellen enthielten, gleich den Eiern derselben Species, zahlreiche und zwar gelbe Fetttröpfchen, die sie auch auf ihre Tochterzellen übertragen; jedoch kann ich dieser Schilderung nicht beitreten. Ich habe niemals

goldgelbe Einschlüsse in irgend einer Samenzelle von *Paludina* und habe auch die Dotterkörperchen des eben geschilderten Aussehens nur in den Spermatogonien, nicht in deren Nachkömmlingen angetroffen, wenn ich mich vor Täuschungen, wie sie Zupfpräparate mit sich bringen können, hütete. Ich glaube demnach, daß aus dem Keimlager in das hervorkommende Spermatogonium nur kleinste Dotterkörperchen eintreten, und zwar gerade so viele, daß sie zusammen einen Kugelraum von ca. 2μ Durchmesser ausfüllen würden, daß diese dann, während die Zelle sich individuell abschließt, zu einem runden Haufen dicht versammelt werden und vielleicht sogar zu einem Körper zusammenfließen, dabei aber sehr schnell ihre gelbe Färbung derart verlieren, daß sie ganz farblos werden. Letzteres ist wohl das erste Zeichen ihrer intracellulären Assimilation. Diese macht übrigens sehr bald weitere und weitgehende Fortschritte, in einer Art, die sich namentlich in mit FLEMMING'scher Mischung hergestellten Präparaten gut verfolgen läßt. Die Dotterkugel wird allmählich verzehrt. Und zwar beginnt der Schwund an einem Punkte ihrer Oberfläche, wo sich ein konkaver Ausschnitt bildet, der, größer werdend, zu einer Sichelform des Restes der Masse führt (Fig. 5 c, 9 b), bis auch dieser verschwindet. Öfters dringt auch schon frühzeitig von dem anfänglichen Ausschnitte her die Auflösung in Form feiner Spalten in den Rest der Dottersubstanz ein, wodurch dieser in eine Anzahl keilförmiger oder polygonaler Stücke zerklüftet und durch deren Verkleinerung dann wieder zu einem losen Körnerhaufen wird, um so desto leichter ganz verzehrt zu werden. Dies alles geht freilich langsam vor sich. Die Aufzehrung des Dotters zieht sich bis zum Anfangsstadium der Kernmitose hin. Namentlich ist auch nach der bald zu beschreibenden Herstellung des Nebenkerns oftmals noch ein Rest des geschwärzten Körnerhaufens wahrnehmbar. Wenn jedoch das Knäuelstadium erreicht ist, hat er sich ganz verloren. Und dementsprechend habe ich auch in den Tochter- und Enkelzellen nichts mehr davon finden können.

Betrachten wir nun aber die Spermatogonien in Sublimatpräparaten — in denen sie übrigens, wenn isoliert liegend, um ein wenig geschrumpft, nämlich auf einen Durchmesser von 13 bis 14μ reduziert sind — nach der Doppeltinktion, so ergibt sich, daß aus letzterer der Zellenleib mit roter Farbe hervorgeht. Dabei erscheint die Zellsubstanz, in toto angesehen, fast homogen, obwohl sie dies thatsächlich nicht ist. Hat es nämlich der Zufall

gefügt, daß der Schnitt ein dünnes Segment der Zelle abgetrennt hat, so sieht man dieses differenziert in ein dunkler rot gefärbtes, sehr zierliches Netzwerk feiner Fäden mit engen Maschen und breiten, sternförmigen Knotenpunkten und eine die Zwischenräume des feinen Netzwerkes ausfüllende klare, nur ganz blaß rosafarbige Grundsubstanz (Fig. 8 a¹). Es stellt sich also deutlich eine Zusammensetzung der Zellsbstanz aus einem Spongio- und einem Hyaloplasma oder einer Filar- und Interfilar-Substanz heraus. Das Netzwerk aber ist, wie die Vergleichung derartiger Bilder untereinander ergibt, durch die ganze Zelle hindurch gleichmäßig dicht und nur an der Grenze des Kerns zu einer Membran des letzteren verdichtet. Ich betone die eben geschilderte Struktur der Zellsbstanz besonders noch deshalb, weil sie in einem späteren Stadium eine wesentliche Änderung erfährt.

Im Inneren des Kerns aber sind die feinen Körnchen lichtblau, die größeren Nukleolen hingegen sind in einer dunklen Nüance tingiert, die je nach der angewandten Art der Doppel-tinktion etwas verschieden ausfällt, immer aber auf eine Summierung von Rot und Blau zurückzuführen ist. Im besonderen nach dem oben sub B. b. 1 angeführten Verfahren erscheinen die Nukleolen in einem dunkel violetten oder sogenannten kirschroten Farbentone. Als Ursache dieser Mischfarbe aber ergibt sich ein Strukturverhältnis, das freilich nur bei sehr heller ABBE'scher Beleuchtung mit der Immersionslinse zu erkennen ist. Der Nucleolus zeigt nämlich einen centralen granatroten Teil und eine diesen umhüllende blaue Rinde¹⁾. Ich vermute, daß der centrale Teil an sich hochrot tingiert sein mag, und daß nur, weil die Lichtstrahlen zweimal, unterhalb und oberhalb, eine absorbierende blaue Schicht zu durchdringen haben, jene düstere Abart von Rot verursacht wird. Viel leichter ist übrigens die innere Differenzierung des Nucleolus zu erkennen, wenn man nur einfach mit Methylgrün oder Viktoria-blau tingiert und dann genügend durch absoluten Alkohol entfärbt hat, indem dann der Nucleolus eine ganz farblose helle Mitte zeigt, die von einer blauen Randschicht eingefast ist. Ebenso ist es aber auch meistens, wenn nach dem oben sub B. b. 2 und C angegebenen Methoden tingiert worden war, wahrscheinlich weil

1) Das Gleiche findet sich übrigens bei *Paludina* auch an den Nucleolis anderer Organe, z. B. denen der Leberzellen und an den sehr langgestreckten Zellen einer Drüse des Mantels.

der rote Farbstoff nicht durch die vorher mit blauem imprägnierte Rinde durchzudringen vermag¹⁾. Es besteht also mindestens eine Zeit lang der Nucleolus aus einer erythrophilen Centralmasse und einer kyanophilen Rinde. Daran knüpft sich die Frage, ob dieser Bau der Nukleolen vielleicht von Anfang an und auch schon in den Mutterkernen durchweg vorhanden ist und sich nur oftmals der Wahrnehmung entzieht, oder vielmehr sich aus einer anfänglichen Durchmischung beider Substanzen nachträglich herausbildet. Letzteres würde bedeuten, daß die kyanophilen Moleküle an die Oberfläche rücken, um hier die Rindenschicht zu bilden. Ich kann einen solchen Vorgang nicht für unwahrscheinlich halten, da ich Ähnliches schon früher bei der Entwicklung der Blutkörperchen von *Rana* beobachtet habe (1 d, S. 744).

So, wie ich es eben beschrieben habe, sind die Spermatogonien beschaffen, so lange sie noch nicht in ihren Fortpflanzungsprozeß eingetreten sind, ein relativer Ruhezustand, der kürzere oder längere Zeit andauern mag. Wesentlich der gleiche Bau ist übrigens in der Regel auch während der anfänglichen Kegelform dieser Zellen und ihres Anhängens an dem Keimlager nachweisbar. Wie ich jedoch schon andeutete, wird zuweilen der Ruhezustand in der Art übersprungen, daß ein zur Vorbereitung der Mitose gehöriger Vorgang schon zur Zeit der Kegelform einsetzt und bis zu einem gewissen Grade fortschreitet, worauf erst die Ablösung und Abrundung der Zelle folgt, der innere Prozeß aber jedenfalls sogleich sich weiter fortspinnt. Danach kann man es natürlich diesen Zellen nicht mehr ansehen, ob sie ein kugeliges Ruhestadium durchgemacht haben oder nicht. Auch die einleitenden Vorgänge sind in beiden Fällen im wesentlichen ganz gleich und zeigen nur dem äußeren Umriß entsprechende formale Differenzen, wie ich bald noch näher erläutern werde.

IIIc) Nebenkern und Teilung der Spermatogonien.

Zunächst gilt die Beschreibung derjenigen vorherrschenden Modalität, bei welcher der Beginn der inneren Veränderungen in dem schon kugelförmigen Spermatogonium einsetzt. Sie betreffen gleichzeitig den Kern und den Zellenleib. Fassen wir zuerst den letzteren ins Auge. Die Zellsubstanz erfährt eine allmählich vor

1) Gerade deshalb war ich darauf gekommen, die Methode B. b. 1 zu versuchen, was auch den erstrebten Erfolg hatte.

sich gehende innere Differenzierung, die zur Bildung eines Nebenkerns führt. BRUNN sagt ausdrücklich, er habe von Differenzierung im Protoplasma der Samenzellen nichts gesehen und weiterhin (4, S. 498): „Die Nebekerne habe ich nicht beobachtet“, und auch KOEHLER erwähnt solcher nicht, wohl aber PLATNER. Der Nebenkern ist aber gerade in den Samenzellen von *Paludina* sehr deutlich ausgebildet und in meinen Präparaten scharf hervortretend. Hinsichtlich seiner Entstehung kann ich nach meinen Befunden nur mit LA VALETTE, der zuerst eine solche Bildung in gewissen Samenzellen entdeckt hat (15), darin übereinstimmen, daß er in einer Ansammlung stark verdichteten Protoplasmas besteht, also aus der Zellsubstanz selbst sich herausbildet. Und zwar kann ich diesen Vorgang durch eine Reihe von Zwischenstufen hindurch verfolgen, die jetzt so, wie sie im axialen Schnittbilde sich darstellen, beschrieben werden sollen. Es stellt sich nämlich bald heraus, daß ein Durchmesser der Zelle den Wert einer Hauptachse bekommt; und die Beschreibung soll nun diejenige Ansicht des Objekts wiedergeben, die dann entsteht, wenn die Achse horizontal, d. h. in der Ebene des mikroskopischen Gesichtsfeldes liegt, ein Fall, der in allen Phasen des Vorgangs oft genug zu finden ist. Es ergibt sich nun aus der Vergleichung der Einzelfälle folgendes.

Während anfangs die Leibessubstanz der Zelle von gleichmäßiger Beschaffenheit ist, bildet sich dann zuerst an der Peripherie, dicht an der Zellenmembran eine schmale Zone von hellerem, blasser gefärbtem Aussehen (Fig. 8b), welche hierdurch sowohl die scharf begrenzte dunklere Zellmembran deutlicher hervortreten läßt, als auch mit weniger scharfer Begrenzung von der inneren Hauptmasse des Cytoplasma absticht. Allmählich verbreitert sich die Zone des blassen Außenprotoplasma, jedoch nicht gleichmäßig, sondern am meisten an der von dem excentrisch gelegenen Kern entferntesten Stelle, infolge dessen die entsprechende Hälfte der Zone Sichelform annimmt; und zugleich wird der übrige, mehr nach innen gelegene Teil des Cytoplasma immer dichter, was sich durch größere Dunkelheit, bzw. intensivere Rotfärbung zu erkennen giebt (Fig. 8 b). Es ist offenbar, daß diesem Innenprotoplasma feste Substanz aus dem lockerer werdenden Außenprotoplasma zugeführt wird. Wegen der excentrischen Stellung des Kernes ist auch die Zone des dunkleren Innenprotoplasma in der Mittelgegend der Zelle viel breiter als jenseits des Kernes, wo sie sich nur als schmaler Substanzstreifen

zwischen Kern und Zellmembran darstellt, während sie in der breiten Hälfte ebenfalls Sichelform hat. Unter steigender Verbreiterung der blassen Außensichel wird nun die innere schmaler und würde es noch mehr werden, wenn nicht die Substanz ihrer jenseits des Kernes befindlichen Fortsetzung größtenteils nach der Seite der Sichel herüberwanderte und in diese einbezogen würde. Hierdurch wird der Kern in eine noch mehr excentrische Stellung gebracht und ganz nahe an die Zellmembran hinangeschoben. Diese Stelle der Zelle mag deshalb als Kernpol und der ihm gegenüberliegende Punkt als Gegenpol bezeichnet werden. Die die beiden Pole verbindende Linie also, die durch den Kern und die breitesten Teile der Sichel zieht, können wir als Achse der Zelle ansehen. Weiterhin geht nun in der Innensichel eine fernere sekundäre Verdichtung in folgender Art vor sich. Es treten in ihr, in ziemlicher Anzahl zerstreut, noch intensiver gefärbte, brillant rote Kügelchen von verschiedener Größe auf, jedenfalls durch Zusammenballung feinsten Teilchen entstehend, indem die Zwischensubstanz dabei an Intensität der Färbung verliert (Fig. 8 c). Allmählich rücken dann diese Kügelchen sämtlich nach dem axialen Teile der Sichel und lagern sich hier zu einem dichten Haufen zusammen, der noch eine Zeitlang als ein Konglomerat zu erkennen ist, dann aber zu einem kompakten rundlichen Körper zusammenschmilzt, der mit dem Kerne in Berührung und kleiner als dieser ist, immerhin aber einen Durchmesser von 4–5 μ aufweist und in grellem Rot aus seiner Umgebung hervorspringt (Fig. 8 d). Währenddessen hat sich durch die Konzentrierung der dichteren Substanz auf den rundlichen Nebenkern die Erscheinung der beiden Sichel verwischt, und diese sind bald gar nicht mehr zu unterscheiden, sondern nur noch der kompakte rundliche Körper und das restierende Cytoplasma, das voluminöser und lockerer ist. Ersterer aber ist nicht bloß durch die Intensität seiner Färbung ausgezeichnet, sondern auch durch einen anderen Farbenton, indem er durch eine hochrote Nüance von dem mehr karmoisinroten oder sogar rötlichgrauen Außencytoplasma absticht (Fig. 8 d). Ich erachte diesen scharf begrenzten, verdichteten Teil des Zellenleibes als homolog mit den sonst als Nebenkern der Samenzellen beschriebenen Gebilden und behalte deshalb für ihn die Bezeichnung als „Nebenkern“ bei, obgleich es ungünstig ist, daß dieser Name leicht die Vorstellung erwecken kann, als handle es sich dabei um einen zweiten Kern oder auch nur um etwas kernähnliches. Er soll eben nur einen neben dem Kern in

der Zelle vorhandenen besonderen Körper bedeuten. Dieser Nebenkern ist übrigens offenbar auch homolog der in neuerer Zeit auf pflanzlichem Gebiete beobachteten, vor Beginn der Mitosen ringsum den Kern bekleidenden, verdichteten und als *Kinoplasma* bezeichneten Schicht der Zellsubstanz (vgl. z. B. ROSEN, 21 b). In dieser letzteren Form ist der Prozeß, wie aus Obigem einleuchten wird, auf einer früheren Stufe stehen geblieben, die bei den Tieren eben in der Art überschritten wird, daß sich das *Kinoplasma* ganz nach einer Seite des Kernes hin zu einem rundlichen, zuweilen unregelmäßig eckigen Körper zusammenzieht¹⁾. Auch in seiner weiteren Funktion erweist sich der Nebenkern als ein *Kinoplasma* in demselben Sinne wie dasjenige der Pflanzen.

Die Veränderung der Zellsubstanz geht indessen bei *Paludina* noch etwas weiter, als ich oben geschildert habe. Eine Zeitlang hat das den Nebenkern umlagernde Cytoplasma noch das Aussehen einer zwar blassen und in einer anderen Nuance gefärbten, jedoch anscheinend kontinuierlichen, nur etwa feinkörnigen Substanz. Weiterhin aber wird während der letzten Konsolidierung des Nebenkerns durch fortschreitende Abgabe festen Stoffes an diesen das *Außenprotoplasma* nicht nur wässriger, sondern auch im morphologischen Sinne rarefiziert, nämlich unter Bildung von großen anastomosierenden Lücken in ein lockeres, weitmaschiges Strang- und Fadenwerk verwandelt, das jetzt als solches schon in der ganzen, unverletzten Zelle zu erkennen ist. Da nach dem oben S. 441 Mitgeteilten schon früher und von Anfang an eine dichtere, netzförmig angeordnete Fadensubstanz als ein *Constituens* des Zellenleibes zu erkennen

1) Ich erinnere namentlich an den eckigen Nebenkern in den Samenzellen der Pulmonaten, wie er von PLATNER beschrieben worden und in der That hier schon in der frischen, überlebenden Zelle, selbst bei schwacher Vergrößerung, auffällig und deutlich zu sehen ist. Ich bemerke dabei, daß ich in im Winter frisch eingefangenen Exemplaren von *Paludina* auch Samenzellen dieses Stadiums angetroffen habe, in welchen der Nebenkern demjenigen der Pulmonaten insofern ähnlicher war, als er, wie dieser, von dem Kern etwas abgerückt und merkwürdigerweise zugleich eckig geworden war. Vielleicht hängt das in beiden Fällen damit zusammen, daß zwischen der Fertigstellung des Nebenkerns und dem Beginn des mitotischen Kernprozesses eine Pause eintritt, was also bei den Pulmonaten regulär, bei *Paludina* nur in der Winterruhe der Fall sein würde, die übrigens keine absolute Ruhe ist. Bei *Paludina* hat auch PLATNER den Nebenkern in runder Form abgebildet.

war, so handelt es sich wohl bei der jetzigen Rarefaktion in der Hauptsache darum, daß viele Querverbindungen des Netzes zerrissen und dadurch die Maschenräume größer werden. Aber ich muß doch hinzufügen, daß letztere jetzt völlig farblos, wie ganz leer aussehen, also wohl nur mit Zellsaft erfüllt sein mögen. Zuletzt aber steigert sich dieser Schwund des Außenprotoplasmas derart, daß schließlich der Kern samt dem ihm anhaftenden Nebenkerne in einer Zellflüssigkeit schwebt, nur suspendiert durch eine geringe Anzahl sehr feiner Protoplasmafäden, die im großen und ganzen radial gegen eine an der Peripherie der Zelle übrig gebliebene, kontinuierliche Grenzschrift, die Zellmembran, gerichtet und mit dieser verbunden sind. (Fig. 8e). Hie und da zeigen diese Fäden nach der Peripherie gerichtete Gabelungen und heften sich also mit zwei oder mehr Zweiglein an die Grenzmembran, während ich es zweifelhaft lassen muß, ob auch einzelne Verbindungsbrücken der Fäden untereinander bis zuletzt sich erhalten. Dieser bemerkenswerte, für das vorliegende Stadium charakteristische Bau der Zelle zeigt sich ganz ebenso an solchen Präparaten, die auf Grund einer Vorbehandlung mit Chrom-Osmium-Essigsäure oder Pikrin-Schwefelsäure gewonnen wurden. Daß die ganze Erscheinung nicht etwa auf eine durch die Erhärtungsmittel verschuldete Verunstaltung zurückzuführen ist, lehrt die Vergleichung mit dem intakten Protoplasma anderer in dem nämlichen Präparaten vorhandener Samenzellen früherer Stadien und die Verfolgung des ganzen Entwicklungsganges. Auch konnte ich, nachdem ich diese Verhältnisse einmal kennen gelernt hatte, das Wesentliche derselben sogar auch an frischen im Blute des Tieres verteilten Zellen mit Hilfe des aprochromatischen Trockensystems: 0,95—4 von ZEISS wiederfinden. Es sind also der große, von Zellsaft erfüllte Raum und die diesen durchsetzenden Suspensionsfäden natürliche Bildungen; nur mögen letztere im Leben nicht ganz so fein, sondern etwas breitere und weiche Stränge sein. Wenn ich übrigens dieselben der Anschaulichkeit wegen Suspensionsfäden genannt habe, so will ich doch nicht unterlassen zu bemerken, daß sie nicht sämtlich straff gespannt sind, daß man vielmehr einzelne in einem Bogen oder auch mehrfach gekrümmt verlaufen sieht. Ihre Aufgabe dürfte also nicht eine bloß mechanische, sondern auch die sein, den organischen Zusammenhang des im Nebenkerne konzentrierten Teils der Zellsubstanz mit der äußeren Grenzschrift zu erhalten.

Zur Ergänzung dieser Schilderung muß ich nun auch noch auf diejenigen Fälle eingehen, in denen die innere Umgestaltung schon in den noch kegel- oder keulenförmigen, mit ihrer Spitze dem Wandbelage aufsitzenden Spermatogonien beginnt und mehr oder weniger weit, selbst bis zur völligen Herstellung des Nebenkerns fortschreiten kann. Damit sind natürlich gewisse, wenn auch nicht wesentliche Modifikationen der Formverhältnisse verbunden (Fig. 9 a und b). Der Kern liegt dann immer ziemlich hart an der dem Lumen des Schlauchs zugewandten, gewölbten Basis des Kegels. Die betreffende Stelle der Basalfäche entspricht also dem Kernpole, die Spitze der Zelle dem Gegenpole. Der dem letzteren zugewandten Seite des Kerns liegt der Nebenkern an, welcher unter diesen Umständen selbst eine kegelförmige, nach der Zellspitze hin verjüngte Gestalt anzunehmen pflegt. Da hier das Außenprotoplasma nicht auf einen sichelförmigen Raum verteilt ist, sondern einen breiteren, mehr geschlossenen, fast dreieckigen Bereich einnimmt, so läßt sich seine Beschaffenheit und Struktur fast noch besser erkennen als in den kugelförmigen Exemplaren der Spermatogonien. Es kommt zuweilen auch in der ersteren zu der beschriebenen Rarefizierung des Außenprotoplasmas. Spätestens aber nach Herstellung dieses Zustandes oder schon etwas früher müssen sich auch diese Zellen von dem Keimlager ablösen und abrunden; denn alle späteren Stufen des Entwicklungsfortschritts habe ich nur in abgelösten kugelförmigen Spermatogonien vorgefunden.

Einige Worte muß ich jetzt auch dem Verbleib der Dottersubstanz während der geschilderten Vorgänge widmen, nach Beobachtung an mit FLEMMING'scher Mischung behandelten Objekten (s. oben S. 411 u. 424). Anfangs ist meist noch ein Rest jener Substanz als ein halbmondförmiges oder diffformes Häufchen geschwärzter Körnchen zu sehen, und zwar bald in der inneren, bald in der äußeren Sichel oder an der Grenze beider. Später, wenn der rundliche Nebenkern sich konstituiert, liegt ein etwaiger Rest dieser Körnchen immer im lockeren Außenprotoplasma, eventuell, d. h. wenn es noch kegelförmige Zellen betrifft, immer nahe der Spitze der Zelle. Ist es aber bereits zu der hochgradigen Rarefizierung des Außen-Cytoplasma gekommen, so sind nur selten noch ein Paar jener Körnchen an einem der Suspensionsfäden zu finden; meist ist jetzt der Dotter ganz aufgezehrt.

Nach dieser Schilderung der Entstehungsweise des Nebenkerns liegt es mir nun noch ob, meine Ergebnisse mit denjenigen früherer

Forscher, seien diese auch an anderen Tieren gewonnen, soweit mir solche bekannt geworden sind, zu vergleichen. Zunächst habe ich PLATNER zu erwähnen. Dieser Beobachter hat in seinen ersten, ebenfalls die Sexualzellen von Schnecken betreffenden Arbeiten (18 a—c) behauptet, der Nebenkern entstehe aus Bestandteilen des Kerns, das eine Mal so, daß eine Schleife von Kernsubstanz aus dem Inneren des Kerns herausschlüpfe und durch Verschlingungen einen rundlichen Körper neben dem Kern bilde, das andere Mal so, daß nach Teilung des Nucleolus eine Art direkter Teilung des ganzen Kerns in zwei Tochterkerne stattfinde, von denen der kleinere den Nebenkern darstelle, und er hat diese Vorgänge im Einzelnen sehr genau beschrieben und durch Abbildungen illustriert. Trotzdem sind diese Angaben sicherlich irrig. PLATNER selbst scheint nachträglich, ohne es ausdrücklich zu sagen, von jenen Vorstellungen zurückgekommen zu sein. Seine späteren, ganz anders lautenden, zwar nicht die Spermato gonien, sondern Samenzellen späterer Generation, also die Neubildung eines Nebenkerns nach einer mitotischen Zellteilung betreffenden Äußerungen kommen der Wahrheit näher, ohne übrigens präcisiert zu sein und unter sich ganz übereinzustimmen. Auf diese werde ich noch zurückkommen. — Hingegen decken sich meine Ergebnisse fast vollständig mit denjenigen, die LA VALETTE (15 d) an der kleinen Hausschabe erhalten hat, sowohl betreffs der direkten Hervorbildung des Nebenkerns aus der Zellsubstanz, als auch betreffs der besonderen Form der Erscheinungen, unter denen dieser Vorgang geschieht. Nur in einzelnen Punkten weichen unsere Befunde voneinander ab. So sind nach dem, was ich gesehen habe, die „Cytomikrosomen“, die zum Nebenkern zusammentreten, nicht präformierte Gebilde. In einer vorangehenden Phase und ebenso in später folgenden ist weder der Nebenkern als solcher, noch sind vereinzelt Mikrosomen in der Zellsubstanz bemerkbar. Vielmehr entstehen letztere jedesmal, wenn ein Nebenkern geschaffen werden soll, ad hoc, als relativ ansehnliche Körperchen im dunkleren Innenprotoplasma, wahrscheinlich durch Konfluenz und Abrundung von Knoten des filaren Netzes. Sie sind auch unter sich von ungleicher Größe, was man so lange erkennen kann, bis sie zur Nebenkernmasse gänzlich verschmolzen sind. — Sodann aber möchte ich noch folgende Differenz hervorheben. LA VALETTE giebt an, daß nach Fertigstellung des Nebenkerns außerhalb desselben, im Kernraume zerstreut, noch eine Anzahl glänzender Mikrosomen übrig bleiben. Dies sind jedoch bei *Paludina* nur Zwischenstufen. Hier werden allmählich sämtliche Kügelchen zur Konstituierung des Nebenkerns verwandt. Ja es wird sogar bei *Paludina* nachträglich noch zur Vergrößerung des Nebenkerns Substanz aus dem schon gelockerten Außencytoplasma herangezogen, was eben dessen hochgradige Rarefizierung zur Folge hat, wie ich sie oben beschrieben habe. — Es sind alle diese von mir konstatierten Verhältnisse deshalb nicht ganz unwichtig, weil sie m. E. zu der Ansicht führen müssen, daß der Nebenkern keineswegs aus einem eigenartigen, in die Zellsubstanz eingesprengten Material, sondern nur aus besonders verdichtetem Cytoplasma

besteht. — Im übrigen aber herrscht, wie gesagt, zwischen LA VALETTE's und meinen Ergebnissen eine mir sehr erfreuliche Übereinstimmung, die um so mehr die Richtigkeit der Thatsachen verbürgt, als ich letztere an ganz anders vorbehandelten Objekten festgestellt habe.

Hinsichtlich der Beschaffenheit des fertigen Nebenkerns aber habe ich noch einige Differenzen meiner Wahrnehmungen mit denjenigen PLATNER's zu besprechen. Dieser Autor hat an den Nebenkernen der Samenzellen von Pulmonaten dunkle, strahlig angeordnete Streifen dargestellt, die später, in zwei Portionen auseinanderfahrend, an die Spitzen der Kernfigur rücken und zu den Polstrahlungen werden sollen (18 e). In der That ist in einem seiner Präparate von *Limax agrestis*, das ich seiner Freundlichkeit verdanke, etwas dem ersten Teile der Angabe Entsprechendes, nämlich an dem noch ungeteilten Nebenkern die Streifung zu sehen, während in mehreren anderen seiner der Zwitterdrüse von *Helix pomatia* entnommenen Präparate ein solches feineres Strukturverhältnis kaum, d. h. nur in spärlichen und unbestimmten Andeutungen hier und da zu erkennen ist. Auch in meinen eigenen Präparationen von der letzteren Species ist nichts von einem Zerfall in Stäbchen oder auch nur von einer streifigen Zeichnung zu finden. Ich will es dahingestellt sein lassen, inwieweit letztere, wo sie auftritt, einem naturgemäßen Vorgang entspricht. Für *Paludina*, die PLATNER ebenfalls untersucht hat, beschreibt er diese Strahlen nicht; hingegen bildet er in seiner Fig. 1 der Tafel IX eine Samenzelle ab, in welcher der Nebenkern eine Art Knäuel oder Schleifenkomplex enthält, der eine merkwürdige Ähnlichkeit mit dem Knäuelstadium des eigentlichen Kerns unserer Samenzellen hat. Ich habe nun bei *Paludina* weder von strahligen Streifen, die ja PLATNER an diesem Objekte auch nicht erwähnt, noch auch von seiner Knäuelform des Nebenkerns etwas finden können, weder an meinen zahlreichen Sublimatpräparaten, noch als ich die Hoden zweier Männchen mit denselben Hilfsmitteln wie PLATNER, unter Nachahmung seiner Härtings- und Färbungsweise behandelt hatte. Auch dann zeigte sich der Nebenkern im fertigen Zustande als ein homogener Körper, im unfertigen als ein Aggregat von Kügelchen, unter denen übrigens niemals eines oder zwei sich besonders auszeichneten. — Letztere Bemerkung bezieht sich schon auf das jetzt Folgende. PLATNER beschreibt nämlich an Pulmonaten außer den Strahlungen als Einschluß jedes Nebenkerns ein Paar besondere Kügelchen, die er als Centrosomen ansieht und später an die Spitzen der Faserspindel hinrücken läßt. An letzterer sind solche Körper in der That vorhanden, worauf ich noch zu sprechen komme. An den Nebenkernen aber kann ich sie zu meinem Bedauern selbst an den PLATNER'schen Präparaten von *Limax* und *Helix* nicht finden. Für *Paludina* steht mir keines seiner Präparate zu Gebote. Für diese Gattung übrigens erwähnt er im Texte seiner Darstellung selbst nichts von Centrosomen und bildet auch keine solchen ab. Nur in der Tafelerklärung sagt er betreffs der erwähnten Fig. 1 der Taf. IX, die Fäden seien alle nach dem im Nebenkern ruhenden Centrosoma orientiert, das aber in der Abbildung selbst nicht zu erkennen ist. Vielleicht hat er hier mehr theoretisch

das, was er bei Pulmonaten gesehen hatte oder gesehen zu haben glaubte, auch auf Paludina übertragen. In meinen eigenen Paludina-Präparaten aber habe ich nichts in den Nebenkernen gefunden, was ich als Centrosoma hätte ansprechen können, weder in den mit Sublimat und einigen anderen Fixierungsmitteln noch in den nach dem PLATNER'schen Verfahren hergestellten. Es ist ja mißlich, mit negativen Beobachtungen positiven entgegenzutreten; und ich möchte auch über letztere nicht absprechend urteilen, um so weniger gegenüber einem Forscher, der manche feine Verhältnisse vortrefflich erkannt hat; aber ich muß doch sagen, daß ich nicht in der Lage bin, diese besonderen Angaben PLATNER's zu bestätigen, und kann dem noch folgendes hinzufügen. Um hinsichtlich der Centrosomen, wenn möglich, zu einem positiven Resultate zu gelangen, versuchte ich auch die von M. HEIDENHAIN angegebene Eisen-Hämatoxylin-Färbung. Wirklich gelang es mir damit auch, in dem Stadium der Faserspindel an den Spitzen der letzteren die Centrosomen und zwar als geschwärzte Kügelchen darzustellen, worauf ich noch zurückkommen werde; aber in eben denselben Präparaten suchte ich in den vielen, einer anderen Zellgeneration angehörenden Zellen des jetzt uns interessierenden Stadiums vergebens nach etwas in den Nebenkernen, das ich für ein Centrosoma hätte ansehen können. Ich kann demnach nicht umhin, die bezüglichen Angaben PLATNER's in Zweifel zu ziehen. Und ich kann es einstweilen nicht für ausgeschlossen halten, daß, wenigstens bei Paludina, die Centrosomen nicht präformierte oder doch schon in dem Stadium des Nebenkerns vorhandene Gebilde sind, vielmehr sich vielleicht erst zu einem späteren Zeitpunkte der Mitose ad hoc herausbilden.

Ich gehe nun zu den gleichzeitig mit der beschriebenen Differenzierung des Zellenleibes in Gang kommenden Veränderungen des Kerns über. Die ersten betreffen sein Inneres. Die in der Kernhöhle befindlichen, bis dahin, soviel ich sehe, getrennt gewesenen Körperchen treten sämtlich miteinander durch Fäden in Verbindung und bilden so ein Netz- oder Gerüstwerk. Auch die meist zu zweien vorhandenen Nucleoli liegen nicht in Maschenräumen, sondern in Knotenpunkten des Netzes. Die Fäden und ihre kleineren Konfluenzstellen sind schön und gleichmäßig lichtblau tingiert; die Nucleolen hingegen zeigen noch die oben charakterisierte dunkle Mischfarbe und Zusammensetzung, wobei von ihrer blauen Rinde Verbindungsfäden zu den nächsten Knoten des Netzes ausgehen. So bleibt es auch bis zur Fertigstellung des Nebenkerns und noch eine Zeitlang während der dann folgenden mächtigen Anschwellung des Kernbläschens. Letztere ist eine in unserem Falle besonders auffällige und weitgehende, den Gang der Dinge wesentlich beeinflussende Thatsache. Die Vergrößerung des Kerns beginnt

vielleicht schon im Stadium der beiden Sichel, jedoch anfangs in sehr langsamem Tempo, so daß sie zu dieser Zeit noch geringfügig und zuweilen kaum zu konstatieren ist. Sobald jedoch der Nebenkern hergestellt ist, steigert sie sich progressiv derart, daß die Kernhöhle schließlich einen Durchmesser erreicht, der mehr als 0,9 desjenigen der ganzen Zelle beträgt (Fig. 8 f und g), dabei im ganzen ihre kugelige Gestalt beibehaltend. Es führt dies zu einem völlig veränderten Aussehen des ganzen Zellgebildes. Da nämlich der Kern bei Beginn dieses Vorgangs sehr excentrisch, nahe dem Kernpole seine Lage hat, so findet sich natürlich Raum zu seiner Ausdehnung am meisten in der Richtung nach dem Gegenpole, in abnehmendem Maße nach den Seiten hin, am wenigsten in der Richtung nach dem Kernpole. Es verschiebt sich also das Centrum des Hohlrums unter Annäherung an das Centrum der ganzen Zelle; und die dem Gegenpole zugewandte Hälfte des Kernumfangs nähert sich diesem mehr und mehr. Hierdurch wird der ihr anliegende Nebenkern allmählich nach dem Gegenpole hingeschoben bis zur Berührung mit der Zellmembran. Und weiterhin wird sogar unter wachsendem Drucke seitens des anschwellenden Kernes der Nebenkern in eine andere Form gepresst, nämlich in diejenige eines plankonvexen oder konkavkonvexen Meniscus, der im optischen Querschnitte sichelförmig erscheint und zwischen Kerngrenze und Zellmembran eingezwängt ist (Fig. 8 g, h, i, k). Die Suspensionsfäden scheinen sich während des Vorgangs, nach einigen Anzeichen zu schließen, selbständig zu verkürzen, indem sie im allgemeinen mehr als früher geradlinig ausgespannt erscheinen. Am Ende dieses Akts ist von ihnen schon deshalb nichts mehr zu sehen, weil die übrigens mit der Auftreibung immer dünner gewordene Kernmembran sich schließlich nicht nur der Zellmembran dicht anlegt, sondern sogar mit dieser, sowie auch mit dem Material der Suspensionsfäden und mit dem Nebenkern zu einer einzigen, auch dann noch dünnen Haut verschmilzt, die nur am Gegenpole eine flach-linsenförmige Verdickung, aus der Substanz des Nebenkerns gebildet, darbietet. Die Verschmelzung dieser Teile kann uns deshalb nicht erstaunlich sein, weil sie ja aus dem gleichen Stoff bestehen, nämlich sämtlich nur verdichtete Partien der wesentlichen Substanz des Zellenleibes sind. Die erwähnte linsenförmige Verdickung am Gegenpole springt

gewöhnlich nach innen hin vor und schneidet so ein kleines Segment des kugelförmigen Hohlraums ab; jedoch kommt es auch gar nicht selten vor, daß sie unter gesteigertem Druck nach außen hin verdrängt wird, somit wie ein kleiner Hügel der Oberfläche der Kugel aufsitzt, im mikroskopischen Bilde die Form eines Fingerringes mit angefügtem Steine nachahmend (Fig. 8 h, i). Wer die so veränderten Zellen ohne Vorbereitung sieht, könnte sie sehr leicht für freie Kerne halten, die mit etwas dickerer Kernmembran versehen sind, namentlich in Dissociationspräparaten mit dem Verdachte, daß sie infolge der angewandten Manipulationen aus den Zellen ausgetreten seien, und dies um so eher, als ja bei der verschiedenen zufälligen Lage der einzelnen Zellen nur in wenigen derselben die lokale Verdickung der scheinbaren Kernmembran im Profilbilde sichtbar ist, sonst aber vielfach nur bei sorgfältigster Beachtung der oberen und unteren Fläche als ein mehr dunkelroter Fleck bemerkbar wird. Bei den ähnlichen Bildern in Schnitten freilich, in denen solche Gebilde meist massenhaft ganz dicht bei einander liegen, würde die irrthümliche Auffassung nicht lange vorhalten. In der That ist aber die Zellsubstanz auf eine sehr dünne Schicht an der Oberfläche reduziert, und der Kern ist nur noch eine sehr große, das Fadenwerk bergende Höhle, die aber vorläufig noch scharf begrenzt ist. Die ganze Zelle aber ist jetzt wirklich ein Bläschen. — Wenn wir nun noch die Frage aufwerfen, wohin denn der Zellsaft d. i. die vorher so reichliche extranukleär angesammelte Flüssigkeit gekommen ist, so kann es darauf nur eine Antwort geben. Sie ist in die Kernhöhle (endosmotisch?) eingedrungen, hat das Material zu deren Vergrößerung und mittels steigenden intranukleären Drucks die Kraft zur Verdrängung und Umformung der festen Zellsubstanz geliefert, so weit nicht etwa in dieser eigene Bewegungskräfte mitgewirkt haben. Falls die Suspensionsfäden an der Kernmembran ziehen und diese damit zugleich ausdehnen sollten, so müßte dies direkt auf Filtration des Zellsaftes in den Kernraum hinein hinwirken. In jedem Falle aber wird diese Einströmung dadurch begünstigt, daß schon vorher der Zellsaft aus den feinen Interstitien der festen Zellsubstanz ausgepreßt war und, in größeren Räumen angesammelt, die Kernmembran unmittelbar umspülte. Hingegen ist das Cytoplasma überall nach außen zurückgewichen; von ihm ist auch in die so sehr vergrößerte Höhle vorläufig noch nichts eingedrungen.

Letztere sieht sehr hell aus, enthält im Verhältnis zu ihrer

Größe nur wenig feste, geformte Substanz; denn das noch in ihr vorhandene Netz feiner, blau tingierter Fäden ist natürlich sehr ausgezerrt und weitmaschig (Fig. 8 f). Auch die beiden Nucleolen erhalten sich während der Aufquellung des Kerns noch längere Zeit hindurch, freilich vielleicht nur scheinbar so lange in ihrer ursprünglichen Verfassung. Es sind nämlich in dem schon beträchtlich ausgedehnten Kerne immer noch, wie früher, zwei größere Knotenpunkte des Netzwerks, ungefähr von der Größe der Nucleolen, zu sehen, denen jedoch die rote Beimischung des Farbentons fehlt, die sie früher auszeichnete. Später aber, in der zweiten Hälfte des betreffenden Zeitraums wird es immer deutlicher, daß die rote Füllmasse der Nucleolen abhanden kommt, unter Veränderungen auch der Rinde derselben, wodurch der Nucleolus als solcher zu existieren aufhört. Zu dieser Zeit sind nämlich in manchen der Zellen die Nucleolen nur vertreten durch zwei Stellen, wo eine Anzahl der Knoten des Netzes zu einem kleinen Kranze aneinander gedrängt sind, der so groß oder nur wenig größer ist, als es früher der Nucleolus war, und ein farbloses, leeres Innere umschließt. Ich glaube dies so deuten zu dürfen, daß die Stellen, wo Fäden von der Rinde des Nucleolus abgingen, sich verdickt haben auf Kosten der Zwischenpartien, die erst dünner wurden und dann Lücken bekamen, sodaß die Rinde schließlich zu einem sphärischen Netzwerk wurde, das durch seine Oeffnungen die erythrophile Centralsubstanz entweichen ließ, sei es daß diese unter Zerfall in ihre Moleküle aufgelöst wurde oder als Ganzes durch eine der Maschen austrat. Ersteres muß ich nach dem unmittelbaren Eindrücke der Erscheinungen deshalb für das Wahrscheinlichere halten, weil ich in diesem Stadium niemals zwischen den Fäden des Netzwerks oder überhaupt in dem ganzen Hohlraume ein rotes Kügelchen habe entdecken können. Auflösung der Nucleolen ist ja auch sonst in vielen Fällen bei Einleitung der Mitose anzunehmen Veranlassung gewesen. Ich selbst habe vor langer Zeit bei *Ascaris nigrovenosa* unter Beobachtung des befruchteten Eies in dessen lebendigem Zustande, an den Pronucleis, kurz vor deren Verschmelzung die so deutlichen Nucleoli unter meinen Augen erblassen und schnell ganz dahinschwinden sehen (1 a, S. 213 u. 228). Auch der neueste Untersucher mitotischer Zellteilungen auf pflanzlichem Gebiete, ROSEN (21 b), hat sich nicht nur von dem Vorkommen einer völligen Auflösung der Nucleolen überzeugt, sondern in gewissen Fällen, in denen dieser Vorgang ein langsamer ist, sogar den Gang der Auflösung

näher verfolgen können, wobei sich zeigte, daß an einem oder einigen oberflächlichen Punkten des Nucleolus die Aufzehrung beginnt und von da aus weiterschreitet, so daß gleichsam angefressene Nucleoli zur Fixierung kamen. Wenn übrigens in unserem Falle Auflösung der Nucleolen früher erfolgen sollte, als man ihr Verschwinden erkennen kann, so könnte dieses Ereignis auch ursächlich mitwirken bei der enormen Anschwellung der Kernhöhle. Durch die Vermischung der Nucleolarsubstanz mit dem Kernsaft würde dieser ja konzentrierter werden und endosmotisch Wasser aus der umgebenden Zellsubstanz anziehen und so unbeschadet der früher von mir hypothetisch berührten Momente zu dem Erfolge beitragen können. — Indessen hat die Sache doch noch eine andere Seite, welche eine Entscheidung in obigem Sinne erschwert. Es wird sich zeigen, daß während der nächstfolgenden Phase des Prozesses, nämlich während des Knäuelstadiums, in derselben Höhle wieder ein bis zwei rote Kügelchen auftauchen. Diese müßten also Neubildungen sein. Wir dürfen jedoch andererseits auch daran denken, daß sie vielleicht mit den Centrankörpern der früheren Nucleolen identisch sind, die sich doch erhalten und nur eine Zeitlang dem Blicke des Beobachters entzogen haben, etwa dadurch, daß sie über die Kerngrenze hinaus in den Bereich der Zellsubstanz entschlüpfpt waren. Das ist um so eher möglich, als während der Anschwellung des Kerns die Kernmembran zwar noch vorhanden ist, aber immer zarter wird, also diese am Umfange der Kernhöhle verdichtete Grenzschicht des Cytoplasma¹⁾

1) So, nämlich als verdichtete Grenzschicht des Cytoplasma habe ich schon im Jahre 1874 als der erste die Kernmembran aufgefaßt und sie deshalb eine „innere Zellmembran“ genannt, die zuweilen auch durch Erweichung und Rückbildung in gewöhnliche Zellsubstanz abhanden kommen könne (1a S. 12, 164 und 1c S. 6 u. S. 19). Es stand dies in notwendigem Zusammenhang mit meiner genetischen Auffassung des Kerns als einer Höhle oder Vakuole im Cytoplasma, in welcher spezifische Kernbestandteile angesammelt und formiert werden. Meine Ansicht wurde eine Zeitlang öfters erwähnt und ausführlich reproduziert, z. B. von STRASBURGER in den beiden ersten Auflagen seiner Schrift: „Über Zellbildung und Zellteilung“ (28a) und von SOLTWEDEL (27). Sie fand jedoch längere Zeit hindurch keinen Anklang und wurde sogar lebhaft bestritten, so von STRASBURGER selbst und von BÜTSCHLI (5a); auch wurden andere Vorstellungen über die Entstehungsweise der Kernmembran und ihr Verhältnis zum Kerninhalte entwickelt, wie außerdem auch von SCHWALBE (24). Später aber wurde meine Auffassung mehrfach wieder aufgenommen, und namentlich zeigt sich zu derselben STRASBURGER in späteren Arbeiten völlig bekehrt. Nament-

zu erweichen beginnt. Daß ein solcher Übertritt sich wirklich ereignen kann, dafür sprechen wiederum die Beobachtungen ROSEN's, nach dessen Angaben in manchen pflanzlichen Zellen die Nucleoli trotz ihrer regulären Tendenz zur Auflösung zuweilen doch ganz oder bruchstückweise in das Cytoplasma hinausrücken und hier leicht wiederzufinden sind, weil sie aus dem zarteren, nur schwach tingierten pflanzlichen Cytoplasma durch dunklere Färbung hervorstechen. In unserem Falle wären die Bedingungen für ihre Bemerkbarkeit um so weniger günstig, als es eigentlich nur der an sich dichtere Nebenkern sein könnte, in welchem die Kügelchen sich verstecken. Ich erinnere daran, daß F. HERMANN in seiner Arbeit über die Samenbildung bei *Salamandra* und *Mus domestica* (11) ein mit dem Nebenkern verbundenes, nach seiner Art der Doppel-tinktion durch besondere Färbung ausgezeichnetes Kügelchen beschrieben und betreffs seines Ursprungs zwar nicht festgestellt, aber doch vermutet hat, daß es wohl aus dem eigentlichen Kern hervorgekommen sein möge. Für unseren Fall wüßte ich freilich etwas Positives zur Unterstützung einer solchen Vorstellung nicht beizubringen. Daran könnte schuld sein, daß rote Kügelchen, eingebettet in eine andere intensiv rote Substanz, sich leicht der Wahrnehmung entziehen. Eventuell nun würde diese Einlagerung

lich hat er sie in 28 c zu öfters wiederholten Malen (S. 481, 483, 530, 533, 534, 569) und ebenso auch in 28 d (S. 30) mit immer erneuertem Nachdruck ausgesprochen, und zwar ganz in Übereinstimmung mit der früher von mir entwickelten Vorstellung, dabei jedoch diese von ihm vorher bekämpfte und erst später angenommene Anschauung durchweg so vorgetragen, daß der Ursprung derselben in Vergessenheit geraten und die Meinung entstehen konnte, sie gehe von ihm aus, wie denn auch HEUSER (13) und GUONARD (10), denen wohl meine älteren Publikationen unbekannt waren, die aus diesen herstammende Auffassung als eigenste Originalansicht STRASBURGER's angesehen haben.

Vermöge ihres Ursprungs eben kann die Kernmembran sich gelegentlich durch Erweichung wieder in lockeres Cytoplasma umwandeln, wie das bei jeder mitotischen Zellteilung geschieht.

Außer dieser gewöhnlichen Kernmembran kann aber, wie ich später gefunden habe, in manchen Zuständen der Zellen sich noch eine zweite, jener auf der Innenseite anliegende ausbilden, die aus inneren Kernteilen ihren Ursprung nimmt, und zwar aus kyanophiler Kersubstanz, indem letztere sich zu einer kontinuierlichen Belagsschicht der Kernmembran umgestaltet. Ein Beispiel dieser Art werde ich weiter unten bei der Umbildung der letzten Samenzellen näher zu schildern haben. Ähnliches kommt aber auch in anderen Zellen vor. Solche Fälle hatte ich im Sinne, als ich in einer früheren Abhandlung (1 d) andeutungsweise von dem Vorkommen einer doppelten Kernmembran sprach, deren eine als cytogene, die andere als karyogene zu bezeichnen sei.

nur vorübergehend sein; in einer etwas späteren Zeit würden jene Kügelchen wiederum in die Kernhöhle hinein ausgestoßen werden. — Dies ist jedoch alles sehr zweifelhaft. Fest steht nur, daß in dem Netzstadium die Nucleoli als solche verschwinden, und daß ihre Rindensubstanz auf die angegebene Art zu einem Teile des intranukleären Netzwerks wird, der anfangs noch unterscheidbar ist, dann aber durch Auseinanderrücken der Knotenpunkte sich in dem übrigen Fadennetze verliert.

Bald aber erfährt dieses eine Umwandlung. Es folgt jetzt das Knäuelstadium (Fig. 8g). Der intensiv blau tingierte Knäuel besteht anscheinend aus einem einzigen ansehnlichen und durchweg gleichmäßig dicken Faden. Es sind nämlich jetzt freie Fadenenden nicht zu sehen, und man könnte sogar an einen in sich selbst zurückkehrenden Faden denken. Mit Sicherheit jedoch läßt sich die Kontinuität deshalb nicht behaupten, weil da, wo der Knäuel den Nebenkern berührt, die Verhältnisse nicht so klar zu durchschauen sind, daß etwaige, gerade in dieser Gegend vorhandene Unterbrechungsstellen des Fadens für ausgeschlossen gelten könnten. Wären solche vorhanden, so würde das verschlungene Gebilde von vornherein aus mehreren Fäden bestehen. Viele Gipfel der Fadenbiegungen kommen der Grenze der Kernhöhle oder, wie man sie jetzt auch nennen könnte, der Zelhöhle ziemlich nahe, so daß der lockere Knäuel den Hohlraum beinahe ausfüllt. In Betreff der feineren Verhältnisse dieses Stadiums sagt BRUNN, der gerade dieses Stadium reichlich angetroffen hat, folgendes: „Charakteristisch ist, daß dem Knäuel eine scharfe Begrenzung gegen das Protoplasma fehlt; der glänzende bestimmte Umriß des Kerns ist verschwunden, und die Binnenräume des Knäuels stehen in direkter Kommunikation mit dem umgebenden Protoplasma“ (4, S. 449). Dies würde ja sehr gut zu dem, was ich an einigen anderen Arten von Zellen schon in diesem Stadium der Mitose gesehen habe, und zu meiner längst geäußerten Ansicht über das Wesen der indirekten Zellteilung stimmen; aber ich muß doch sagen, daß jene Äußerung auf das jetzige Stadium unseres Objekts nicht zutrifft. Richtig ist daran, daß die Kernmembran als besondere Schicht nicht mehr existiert, und zwar deshalb, weil sie mit der Zellmembran und dem Nebenkern verschmolzen ist. Ferner kommt in Betracht, daß die Flüssigkeit, welche früher die Zellsubstanz durchtränkte, größtenteils in die Kernhöhle hinein diffundiert ist, also jetzt die Zwischenräume des Knäuels ausfüllen hilft. Diese Binnenräume kommunizieren nun

mit der peripherischen Zone der Höhle, nicht aber mit dem Cytoplasma. Die Grenzfläche der Höhle aber gegen die dünne, sie blasenartig umgebende Cytoplasmaschicht ist noch scharf ausgesprochen; und da an dieser Grenzfläche eine Flüssigkeit und eine feste Substanz zusammenstoßen, so kann hier von einer Kommunikation nicht gut die Rede sein, außer etwa einer intermolekulären, die ja aber nie fehlt.

In der sehr erweiterten Zellhöhle ist aber jetzt außer dem gewundenen blauen Fadenwerk nicht selten noch etwas anderes zu sehen, worauf ich schon oben hindeutete, nämlich ein rot tingiertes, scharf konturiertes Kügelchen. Dieses hat seine Lage meist zwischen den Windungen des blauen Fadenwerks, durch dieses sehr verdeckt, so daß es, wenn überhaupt, doch nur mit Schwierigkeit zu erkennen ist. Ausnahmsweise jedoch liegt es zur Seite des Knäuels und fällt dann von selbst ins Auge (Fig. 8 g). Es erhält sich bis in das bald zu beschreibende Schleifenstadium hinein, während dessen es noch lange als gesondertes, frei schwebendes Körperchen zu konstatieren ist (Fig. 8 h). Einige Male konnte ich übrigens sogar zwei solcher roter Kügelchen erkennen. Ob diese Zweizahl etwa Regel ist und nur, teils infolge Angeschnittenseins vieler Zellen, teils wegen der Schwierigkeit der Beobachtung, selten festzustellen ist, oder wirklich nur ausnahmsweise vorkommt, oder auch eine typische Zweiteilung des ursprünglichen Kügelchens bedeutet, muß ich dahingestellt sein lassen, ebenso auch, ob sie etwa bestimmt sein mögen, später als Centrosomen zu funktionieren. Letztere Natur ihnen zuzusprechen, wäre ich um so mehr geneigt, als ja auch in anderen Fällen in diesem Stadium schon Centrosomen gesehen worden sind; nur will damit nicht recht stimmen, daß sie so leicht tingierbar sind, und daß sie später wieder zeitweilig verschwinden. Die Ungewißheit ihrer Herkunft resp. ihrer etwaigen Beziehungen zu den früheren Nukleolen habe ich schon oben besprochen. Ihre Existenz im Knäuel- und im Schleifenstadium ist jedoch eine Thatsache, die ich auch in anderen, ebenfalls Gasteropoden betreffenden Fällen, nämlich in den Samenzellen von *Limnaeus stagnalis*, von *Planorbis* und von *Helix Pomatia*, und zwar an diesen Pulmonaten als eine noch leichter zu beobachtende Erscheinung aufgefunden habe. Ich hatte bei *Paludina* diese Thatsache lange Zeit übersehen, weil sich hier der Erkennung Schwierigkeiten gegenüberstellen. Erst als ich durch die viel leichteren Wahrnehmungen an den Pulmonaten auf die Sache aufmerksam geworden war, fand ich sie auch an *Paludina*.

Einige anzuknüpfende Erwägungen verschiebe ich bis zur Besprechung des folgenden Stadiums.

Der Knäuelzustand kann kaum sehr lange andauern; denn es finden sich zwischen den dieses Bild darbietenden Zellen öfters eine ziemliche Anzahl, die schon dem folgenden, dem Schleifenstadium angehören, welches dann wieder in anderen Individuen unvermischt vorliegt. Jetzt sind in dem Hohlraume einige gesonderte Fadenstücke enthalten, deren jedes in einem etwa hufeisenförmigen Bogen gekrümmt ist, also eine Anzahl „Schleifen“, um diesen üblich gewordenen Terminus beizubehalten. Und zwar habe ich oft genug feststellen können, daß vier solcher Schleifen für die Samenzellen von *Paludina* typisch sind. Es ist also entweder ein langer Faden in vier Stücke zerfallen, oder es ist eine schon von Anfang an vorhandene Diskontinuität jetzt durch eine gewisse Streckung der Einzelteile erst erkennbar geworden. Dies ist so gemeint, daß die Fäden unter Ausgleichung ihrer mehrfachen Krümmungen die größere Bogenform annehmen. Fast hat es den Anschein, als ob damit eine Verkürzung und Verdickung der Fadenstücke verbunden sei, also schon jetzt die später viel weiter gehende Kontraktion derselben beginne. In vielen Zellen dieses Stadiums zeigt sich nun eine gewisse typische Anordnung der vier Schleifen, indem diese ihre Scheitelwölbungen sämtlich nach einer Seite hin richten, nämlich nach der der Cytoplasmasichel gegenüberliegenden Seite, also nach der Gegend des Kernpols hin. Und zwar fußt jeder der Bogen mit seinen zwei freien Enden auf jener Sichel und ragt mit seinem Gipfel mehr oder weniger weit über die Mitte des Hohlraums hinweg, öfters bis in die Nähe der gegenüberliegenden Protoplasmawandung, ohne jedoch diese ganz zu erreichen. Manche der gekrümmten Bogenschenkel schmiegen sich in erheblicher Strecke dem seitlichen Umfange der Höhle an, aber auch diese an der Grenzfläche verlaufende Strecke wendet sich schließlich nach innen, so daß die verbindende Scheitelkrümmung in einem gewissen Abstände von dem oberen Pole verbleibt (Fig. 8h). Dieses polare Segment bleibt also frei von blauen Fäden. Es entspricht dies im wesentlichen einer zuerst von RABL bemerkten Anordnungsweise der Schleifen. Der Mittelpunkt des freien Feldes ist aber identisch mit dem oben von mir aus bestimmtem Grunde so bezeichneten „Kernpol“; und es ist also jetzt die Umgebung des Kernpols zu dem RABL'schen Polfelde geworden. Freilich ist die Erscheinung in unserem Falle meist nicht besonders elegant, schon des-

halb, weil viele der Schleifen ganz im Innern der Höhle stecken, ohne mit deren Seitenwand in Berührung zu kommen, außerdem aber auch, weil sich im einzelnen mancherlei Unregelmäßigkeiten einmischen, betreffend sowohl die gegenseitige Stellung der Schleifen zu einander, als auch die Höhenlage ihrer Gipfel. Insofern nämlich jede Schleife als eine ungefähr ebene Figur betrachtet werden kann, so stehen diese Schleifenebenen zuweilen ziemlich parallel zu einander und zur Achse der Zelle; viel öfter jedoch sind sie nicht bloß divergent nach dem Kernpole, sondern auch seitlich in Winkeln gegeneinander gestellt. Ja es kommt sogar nicht selten vor, daß eine Schleife die andere umgreift, ihre Linien sich also kreuzen. Sodann aber kommen die vier Schleifen mit ihren Scheitelkrümmungen fast niemals dem Kernpole gleich nahe, ohne daß doch auch in diesen Differenzen irgend eine Regelmäßigkeit stattfände. Diese Ungleichheit in der Höhenlage der Schleifengipfel ist aber einesteils bedingt durch verschiedene Krümmung der Schleifen, die bald schlanker geformt, bald breit ausgebogen sind; anderenteils aber ist sie verursacht durch wirklich verschiedene Länge der Fäden, eine Ungleichheit, die vielleicht theoretischen Voraussetzungen widersprechen mag, jedoch thatsächlich nicht abzuweisen, zuweilen sogar sehr beträchtlich ist, möglicherweise aber hinsichtlich der Quantität der Substanz durch verschiedene Dicke, namentlich der knopfartig angeschwollenen Fadenenden kompensiert und sekundär entstanden, nämlich Folge vorzeitiger Kontraktion einzelner Schleifen ist. Infolge aller dieser Umstände kommen nur selten so regelmäßige und zierliche Bilder heraus, wie eines in Fig. 8 h dargestellt ist. Immerhin ist in allen diesen Fällen die Orientierung der Schleifen nach den Polen gut kenntlich. Die beiden Enden jedes Fadens fußen nahe bei einander auf der Sichel, und die Scheitelkrümmung sieht nach dem Kernpole hin. Es ist dies eine erste Phase des Schleifenstadiums, die wir als die Phase der geordneten Schleifen bezeichnen können.

In einem bald folgenden Zeitraume aber lösen sich die Schleifen von dem Boden, dem sie aufsaßen, ab und nehmen bald andere Arten von Krümmungen und andere, sehr unregelmäßige Lagen in dem Hohlraume an, der sie birgt (Fig. 8 i). Indem an jedem einzelnen Fadenstücke die freien Enden auseinanderweichen, bekommt es öfters eine haarnadelähnliche Form und geht dann in diejenige eines flachen Bogens oder auch einer S-förmigen oder selbst ein wenig spiraligen Krümmung über. Dabei geraten die

vier Fäden in die mannigfachsten Lagen zu einander und zu der Achse der Zelle, so daß ihre freien Enden nach den verschiedensten Richtungen hinsehen. Teilweise, jedoch eben nur teilweise, schmiegen sie sich auch jetzt der Grenzfläche der kugelförmigen Zelhöhle an. Zellen dieses Zustandes sieht man öfters massenhaft beisammen, aber auch denjenigen der vorigen Erscheinungsweise vereinzelt beigemischt, als Fälle, die in der Entwicklung ihren Genossen ein wenig vorausgeeilt sind. Die jetzigen Krümmungen der Fäden würden es ja an sich kaum noch rechtfertigen, von Schleifen zu sprechen; immerhin können wir in Rücksicht auf den vorangegangenen Zustand den jetzigen als Phase der abgelösten und verlagerten Schleifen bezeichnen (Fig. 8 i). Jetzt ist übrigens öfter als bei der früheren Anordnung zu erkennen, daß die Enden der Fäden wie ein Sondenknopf verdickt sind. Dies ist wohl der Beginn einer Längskontraktion, die, wie ich bald begründen werde, wahrscheinlich mit Zerfallung eines jeden Fadens in vier kurze Stücke verbunden ist. — Da übrigens bei der Umwandlung des vorigen Zustandes in den jetzigen die Frage entsteht, durch welche Kräfte die Änderungen bewirkt werden mögen, und im besonderen, ob etwa zwischen den Schleifen ausgespannte kontraktile Fäden im Spiele seien, so habe ich mich sehr bemüht, solche Linienfäden zu finden, habe aber nichts davon erschauen können. Sollten sie dennoch vorhanden sein, so müssen sie nicht bloß sehr fein sein, sondern namentlich auch der Tingierbarkeit durch die von mir benutzten Farbstoffe gänzlich entbehren, was ich besonders betone, weil es für eine später zu besprechende Frage von Wichtigkeit ist. Hinzufügen muß ich noch, daß von dem einfachen oder doppelten roten oder rotbraunen Kügelchen, das noch zur Zeit der geordneten Schleifen zu konstatieren ist, in der jetzigen Phase nirgends mehr etwas aufzufinden war. Es muß sich also wieder verloren oder durch Eindringen in das Cytoplasma, resp. in die Nebenkernsubstanz versteckt haben.

Von der durch FLEMMING zuerst entdeckten, so wichtigen Längsspaltung der Fäden, die ja für eine Reihe von Fällen festgestellt ist, habe ich an unserem Objekte nichts wahrnehmen können. Eine solche würde auch nicht recht in den weiteren Gang der Dinge hineinpassen, da, wie wir sehen werden, die Fäden nicht als solche, d. h. nicht in Fadenform in das Spindelstadium eintreten. Hingegen tritt eine andere Art der Zerteilung der Fäden ein, nämlich Zerfall derselben in sechzehn, bald sich ab-

rundende Stücke, also jedes einzelnen Fadens in vier solche. Ich finde vielfach, und zwar meist untermischt mit mehr oder weniger Formen des letzt besprochenen Schleifenstadiums, ebensolche blasenartige Zellen, deren große Höhle jedoch nicht mehr die Fäden, sondern statt deren 16 oder beinahe 16 rundliche, zum Teil fast genau kugelige, blau tingierte Körperchen enthält, die ziemlich gleichmäßig im Raume zerstreut und vielleicht durch unsichtbare, aber ganz gewiß nicht durch tingierte Fädchen miteinander verbunden sind, übrigens im Durchmesser die Dicke der früheren Fäden übertreffen (Fig. 8 k). Diesem Befunde gegenüber habe ich mich anfangs skeptisch verhalten, aus Besorgnis vor einer optischen Täuschung, die etwa dadurch bedingt sein könnte, daß die verdickten Enden der Fäden und einzelne Umbiegungsstellen derselben besonders stark hervortreten. Allein die große Zahl der Einzelfälle, in denen niemals etwas von verbindenden Fadenstrecken zu finden war und der Vergleich mit den nebenan liegenden, noch Schleifen enthaltenden Zellen beseitigten jeden Zweifel. Außerdem aber fügt sich der jetzt vorliegende Zustand als notwendiger Uebergang zu dem nächstfolgenden, in Fig. 8 l dargestellten vortreflich in die Kette der Veränderungen ein. Anlangend die Anzahl der Zerfallsstücke, so glaube ich die Zahl 16 als die gesetzmäßige ansehen zu dürfen. Zuweilen konnte ich genau 16 zählen, niemals mehr. Wenn in anderen Einzelfällen nur 13—15 zu unterscheiden waren, so kann dies in Schnittpräparaten sehr wohl durch Anschnitt der Zelle, sonst auch durch gegenseitige Deckung einzelner Innenkörperchen verursacht gewesen sein. Es ist wohl kaum etwas anderes zu vermuten, als daß die Zerfällung der Fäden durch Querteilungen erfolgt, die übrigens nicht einfache Zerspaltungen zu sein brauchen. Zu meinem Bedauern habe ich gerade an den Spermatogonien, deren Größe eine relativ leichtere Beobachtung ermöglicht hätte, keine Zwischenstufen zwischen den Phasen i und k angetroffen; nur bei der gleichen Folge von Veränderungen an den Samenzellen der dritten Generation glaube ich vermittelnde Zustände erkannt zu haben. Danach würde der Faden außer seinen beiden Endanschwellungen noch zwei mittlere bekommen, die auf Kosten der drei verbindenden Fadenstrecken anschwellen, und es würden die letzteren, nachdem sie sehr dünn geworden sind, einreißen, zuerst die mittlere, dann die beiden anderen. Da jedoch bei der Kleinheit der genannten Zellenart die Beobachtung der feinen Innenteile und besonders die Sicherstellung dieser Verhältnisse schwierig ist, so

möchte ich das oben Gesagte nur mit Vorbehalt ausgesprochen haben. Wie aber auch die Zerfällung in vier Stücke herbeigeführt werden möge, so ist doch das Resultat als Thatsache sehr auffallend. Welchen Sinn und Zweck dieselbe wohl haben könne, wird erst aus dem weiteren Verlaufe des Prozesses vermutungsweise sich beurteilen lassen; und ich werde auf diese Frage weiter unten zurückkommen.

So reichlich nun aber einerseits das eben Geschilderte und andererseits die später folgende Hauptphase, nämlich die Faserspindel mit Äquatorialplatte in meinen Präparaten vertreten sind, so stehen mir doch betreffs des Übergangs des ersteren Zustandes in den letzteren leider nur sehr sparsame Beobachtungen zu Gebote, darunter freilich eine m. E. sehr lehrreiche Zwischenform. In einem meiner Präparate befindet sich in einem Hodenschlauche eine Gruppe von acht Zellen, von je 13—14 μ Durchmesser, also acht Samenzellen erster Generation, die alle die in Fig. 81 wiedergegebene Verfassung zeigen. Die Zelle ist ein klein wenig in die Länge gezogen, kurz-elliptisch. Da sich die eine Achse als Hauptachse der Zelle erweist, so können wir die auf ihr senkrechte Ebene als äquatoriale ansehen. In der äquatorialen Zone aber zeigen mehrere der Zellen eine leichte Ausbauchung des Umrisses, so daß die Gesamtform sich derjenigen einer breiten Spindel mit abgestutzten und abgerundeten Spitzen nähert. Die wesentlichste Veränderung aber betrifft den inneren Bau. Während in den vorigen Stadien nur an einer Stelle der cytoplasmatischen Außenschicht eine halbmondförmige Verdickung da war, sind jetzt deren zwei gleich große vorhanden, und zwar an zwei sich diametral gegenüber stehenden Punkten. Nämlich an den Enden der längeren Achse befindet sich je eine solche Anhäufung von dichtem, rot tingiertem Protoplasma, mit der Zellmembran scheinbar verschmolzen, wenigstens ohne bemerkbare Scheidung von dieser, hingegen an der nach dem Hohlraume hinsehenden Seite nicht mehr so scharf begrenzt, sondern wie flockig oder gefranst. Und von diesen letzteren Zacken gehen in der Richtung nach der Äquatorialebene hin divergierende, äußerst feine und blasse, eben noch erkennbare Fäden aus. In der Mittelgegend des hellen Hohlraums aber, und zwar in einer Querzone von einer gewissen Breite, die etwa einem Fünftel der Längsachse entspricht, sind eine Anzahl kleiner, rundlich-eckiger Körperchen zerstreut. In den einzelnen Zellen zähle ich 9—14 solcher Karyosomen. Da jedoch diese Zellen unzweifelhaft sämtlich der Länge nach etwas

angeschnitten sind, so ist die Vermutung erlaubt, daß wohl in jeder sechzehn solcher blau tingierbaren Körperchen vorhanden waren. Daß an diese sich die erwähnten feinen Fädchen teilweise ansetzen, ist nicht unwahrscheinlich, jedoch nicht mit Bestimmtheit zu erkennen. — Es ist nun offenbar, daß hier die Zellen bei ihrer Arbeit, die Faserspindel herzustellen, ertappt sind. Wie aber sind die früheren Verhältnisse in die eben geschilderten übergeführt worden? Mir erscheinen zwei Annahmen aus den That-sachen erschließbar und kaum abweisbar zu sein. Fürs erste muß sich die frühere sichelförmige Anhäufung von cytoplasmatischer, resp. Nebenkernsubstanz in zwei Massen zerteilt haben, die dann durch Wanderung der einen oder beider längs der Grenzfläche der Höhle an entgegengesetzte Punkte der Zellperipherie gelangten, im ersteren Falle unter Beibehaltung der alten Zellachse, im letzteren unter Bildung einer neuen solchen. Andeutungen eines solchen Vorgangs glaubte ich auch hier und da schon im Stadium der zerfallenen Schleifen gesehen zu haben, nämlich zwei verdickte Stellen der cytoplasmatischen Umfassungsschicht, teils nahe bei einander, teils um einen Quadranten und mehr voneinander entfernt; jedoch der Umstand, daß dies immer Zellen betraf, die nicht frei dalagen, sondern von ihresgleichen dicht umgeben waren, ließ eine gewisse Unsicherheit der Beurteilung nicht überwinden. Sollte jedoch zu dieser Zeit noch nichts derartiges sich ereignen, so muß es etwas später geschehen. Daß vielleicht die zwei früher im Schleifenraume sichtbar gewesenen Kügelchen nach Eintritt in die cytoplasmatische Masse Veranlassung zu deren Zweiteilung geben könnten, sei nur als eine ganz unbestimmte Möglichkeit ausgesprochen.

Die sechzehn Teilstücke der Schleifen sind nun alle in eine äquatoriale Zone der Zelle gerückt. Noch liegen sie weder genau in einer Ebene noch sehr nahe bei einander, sondern gleichsam zwischen zwei Wendekreisen zu beiden Seiten des Äquators zerstreut, immerhin diesem viel näher als den Polen. Bei ihrem Zusammenrücken in diese Gegend mögen wohl die feinen Fädchen mitgewirkt haben, die von den beiden polaren Cytoplasmaansammlungen nach dem Äquator hin ausstrahlen; und eben dieselben werden sie später einander noch näher bringen. Der ganze Komplex dieser Fädchen ist übrigens vorläufig noch sehr verschieden von der späteren Faserspindel; denn jener besteht nur aus wenigen, äußerst feinen und deshalb kaum als gefärbt erkennbaren, auseinander gespreizten Fäserchen, deren Gesamtmasse vergleichs-

weise sehr gering ist. Ich will deshalb auch nicht die Möglichkeit bestreiten, daß die jetzigen Fäserchen nicht in ihrer ganzen Länge Ausstrahlungen des Protoplasmas seien, sondern vielleicht nukleäre Lininfäden, die an die Fransen der cytoplasmatischen Sieheln angeheftet sind. Auch andere wesentliche Veränderungen hat der jetzige Übergangszustand noch durchzumachen, wie bald einleuchten wird. Alle die Umgestaltungen aber, die von dem Stadium der zerfallenen Schleifen zu demjenigen der eigentlichen Spindel hinüberführen, scheinen relativ schnell abzulaufen, wenn man dies aus der Seltenheit der Befunde von Zwischenstufen schließen darf.

Sehr häufig dagegen anzutreffen sind kleinere oder größere Häufchen von Zellen, welche durch die eingeschlossene Faser-spindel mit Äquatorialplatte in vollendeter Ausbildung charakterisiert und sehr in die Augen fallend sind (Fig. 8 m u. n). Die sogenannte achromatische Spindel, die aber bei meinen Tinktionsweisen immer lebhaft rot gefärbt erscheint, ist im Verhältnis zu ihrer Höhe sehr breit, so daß der Querdurchmesser dem Höhendurchmesser gleichkommt oder diesen noch um etwas übertrifft. Im Äquator der Spindel sind nach ihrer Herstellung anfangs vier dunkelblau gefärbte Körner, d. h. kurz-spindelförmige Chromosomen, ein jedes etwa von der Gestalt eines Weizenkorns, in Längsstellung nebeneinander angebracht. Die Vierzahl ist sehr bequem in Polaransichten festzustellen, welche im Mittelfelde der Spindel vier runde blaue Flecken zur Anschauung bringen, aber auch ganz gut bei Seitenansichten unter wechselnder Einstellung des Focus. Oft genug sieht man bei höherer Einstellung drei der Körner, wie in Fig. 8 m, bei tiefer dann noch das vierte. Diese vier Karyosomen sind aber nicht auf die ganze Breite der Spindel verteilt, sondern, wie ich schon andeutete, in deren Mitte zusammengedrängt, so daß auch hier derjenige Teil der Spindel, in dem sie sitzen, als Centralspindel von einem diese umhüllenden äußeren Fasermantel unterschieden werden kann. — Sehen wir uns aber die Umgebung der Spindel näher an, so ergibt sich jetzt eine eigentümliche Beschaffenheit der Zelle. Diese ist jetzt eine sehr zartwandige Blase mit rot tingierter, durchweg gleichmäßig dünner Grenzmembran und einer Höhlung, die außer der roten Spindel mit ihren blauen Besatzkörperchen und sehr kleinen polar situierten Centrosomen, entweder gar nichts von sichtbarer fester Substanz enthält oder höchstens von einigen wenigen, überaus zarten Fädchen durchsetzt ist. Gänzlich sind die beiden Cytoplasmaanhäufungen, die eben noch in polarer

Gegenüberstellung auffällig gewesen waren, von ihrem Orte verschwunden. Die Spitzen der Spindel kommen der dünnen Zellmembran recht nahe, sind aber immer noch durch einen merklichen Zwischenraum von ihr getrennt. Letzterer ist in vielen dieser Zellen anscheinend leer, während in anderen mit den stärksten optischen Hilfsmitteln eine den kleinen Raum überbrückende feinfaserige Substanz zu bemerken ist, die sich öfters als aus einigen wenigen, an der Spitze der Spindel entspringenden und nach der Zellmembran hin divergierenden Fäden bestehend erkennen läßt und also einer Polstrahlung im kleinsten Maßstabe entspricht. Wahrscheinlich sind diese zarten polaren Suspensionsfäden der Spindel im Leben jedes Mal vorhanden und nur öfters bei der Erhärtung zerrissen und zusammengeschnurrt. Der Breite nach nimmt in frei liegenden, kugelförmigen Zellen die Spindel $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ des Querdurchmessers der ganzen Zelle ein. Die Spindel ist also rings herum von einer Art Spaltraum umgeben, der, abgesehen von den kurzen Polfäden, anscheinend nur Flüssigkeit, jedenfalls in der Regel nichts Gefärbtes enthält. Das ist sehr verschieden von dem, was bei der gleichen Behandlungsweise an sonstigen Zellen und sogar an den homologen Samenzellen anderer Tiere, z. B. *Helix Pom.*, im Stadium der Faserspindel zu finden ist, indem hier der die Spindel umgebende Zellraum von einem freilich lockeren und blassen Cytoplasma erfüllt ist. Es geht also bei *Paludina* in den Samenzellen fast das ganze Cytoplasma in verdichtetem Zustande in der Faserspindel auf, indem nur ein geringer Rest desselben für die winzigen Polstrahlungen verwandt wird, im übrigen aber die Spindel von Flüssigkeit umspült ist. Noch auffallender als in frei liegenden, kugelförmigen Zellen ist der die Spindel umgebende Hohlraum dann, wenn die Zellen massenhaft zusammengedrängt sind, wie es in Schnittpräparaten häufig zu finden ist. Die Spermatogonien sind dann zu polyedrischen Körpern geworden; und die dünnen Zellmembranen sind so aneinander geschmiegt, daß sie zusammen ein Wabenwerk ausmachen, ähnlich manchen pflanzlichen Zellparenchymen, und in jedem dieser Fächer schwebt frei eine Spindel. In diesem Zustande sind aber sämtliche Einzelzellen etwas größer als sonst die isolierten kugligen Spermatogonien nach der Erhärtung; sie haben im Mittel etwa 15μ Durchmesser und gleichen somit in der Größe mehr den frischen Spermatogonien. Ich glaube mir dies so erklären zu können, daß der Zusammenhalt der Zellen in etwas die mit der Erhärtung sonst verbundene Flächenschrumpfung der Zellmembranen

behindert. Die Spindeln hingegen gehen aus der Härtung mit den gleichen Dimensionen hervor wie in den kugligen Zellen. Infolgedessen liegen sie in einer erheblich geräumigeren Höhle, von der sie im Querdurchmesser nur etwa die Hälfte ausfüllen. Unter diesen Umständen ist von den wenigen zarten Suspensionsfädchen, welche die organische Verbindung der Spindel mit der Zellmembran aufrecht erhalten, in der Regel fast gar nichts mehr zu sehen; und die Spindel bietet den Anblick eines frei in der Höhle schwebenden Körpers. Jene Fädchen mögen bei ihrer Zartheit unter den angegebenen Umständen um so leichter zerrissen und zusammengefahren sein. Reste derselben erhalten sich am ehesten an der Spitze der Spindel.

Von Centrosomen etwas zu sehen, ist mir an unserem Objekte lange Zeit hindurch nicht gelungen, obwohl mir solche in den Samenzellen anderer Tiere, z. B. von *Ascaris meg.*, nach ganz der gleichen Behandlungsweise sehr schön zur Anschauung gekommen waren. Es lag nahe, zu vermuten, daß sie an unserem Objekte besonders klein, zart und leicht zerstörbar seien, vielleicht aber bei anderer Vorbehandlung doch hervortreten könnten. Um etwas in dieser Richtung zu versuchen, unterwarf ich zunächst einige Hodenstückchen einer dahin abgeänderten Vorbehandlung, daß ich der fixierenden Sublimatlösung Eisessig im Verhältnis von $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und 1 Proz. beimischte, kam aber damit nicht zum Ziele; vielmehr hatten diese Zusätze noch die üble Wirkung, daß bei guter Erhaltung der Karyosomen doch die Faserspindel destruiert, nämlich in eine krümlige und schlecht begrenzte Masse verwandelt wurde. Sonstige für Sichtbarmachung jener Strukturelemente empfohlene Fixierungsgemische gaben auch kein besseres Resultat. Auf anderem Wege jedoch erreichte ich mehr, und zwar indem ich meine einfach mit Sublimat fixierten Präparate mit Eisenhämatoxylinlack nach M. HEIDENHAIN tingierte. Die Centrosomen zeigten sich dann zwar nicht an jeder im Spindelstadium befindlichen Zelle, jedoch an vielen derselben, nämlich an den beiden Spitzen der Spindel je ein schwarz gefärbtes Kügelchen, sehr klein, von nur $0,3 \mu$ Durchmesser (Fig. 10 a). Von diesen Kügelchen gehen nach den Polen zu die schon erwähnten divergierenden Fädchen ab. Teilungssymptome habe ich in der Regel an diesen Kügelchen nicht gefunden, jedoch vollendete Verdoppelung derselben in einigen Fällen (Fig. 10 b).

Ich kann mich freilich nicht der Meinung anschließen, daß besagte schwarze Farbenreaktion ein spezifisches Characteristicum der Centrosomen sei. Diese halten sogar den Farbstoff weniger fest, als

dies andere Bestandteile der Präparate thun. Anfangs nämlich färben sich intensiv schwarz: in erster Linie alle kyanophilen Bestandteile, wie die Köpfe der Samenfäden (abgesehen von den wurmförmigen bei *Paludina*), ferner während der Mitose die Karyosomen und ebenso im ruhenden Kerne alle sonst blau färbbaren Körnchen und Fädchen, sowie auch bei *Paludina* die Rindensubstanz der Nucleoli — außerdem aber auch in zweiter Linie die Nebenerne und deren Derivate, z. B. auch den Achsenstrang der wurmförmigen Spermien, hingegen nur schwach das gewöhnliche lockere Cytoplasma. Für die weitere Differenzierung kommt nun alles auf die Zeitdauer der zum Verfahren gehörigen Entfärbungsprozedur an. Wenn man die Wirkung der letzteren näher verfolgt, so zeigt sich folgendes: Zuerst giebt die lockere Zellsubstanz den schwarzen Farbstoff ab; dann thun es ziemlich gleichzeitig die Centrosomen und die Nebenerne, bald darauf auch die Derivate der letzteren, viel später die Chromosomen, und ganz zuletzt auch die Köpfe der reifen Spermien, d. h. bei *Paludina* der haarförmigen¹⁾, während die wurmförmigen schon längst entfärbt sind, was ich weiter unten auf seine Ursachen zurückführen werde. Freilich treten, wie das ja bei allen Tinktionsmethoden so geht, nicht alle Zellen eines Präparats ganz genau gleichzeitig in den nämlichen Grad der Entfärbung ein. Vielmehr ist diese infolge von mancherlei Neben Umständen an einzelnen Zellen etwas weiter vorgeschritten als an anderen.

Auf letztere Art und aus der angegebenen Reihenfolge mag man es denu vielleicht auch erklären können, daß an mancher Faserspindel wohl noch im Äquator die Karyosomen unangegriffen in tiefer Schwärze sich darstellen, ohne daß von den Centrosomen noch etwas zu sehen wäre, an anderen hingegen beiderlei Körperchen gleichzeitig zur Anschauung kommen, während das Umgekehrte, nämlich Hervortreten der Centrosomen neben entfärbten oder auch nur blasser gewordenen Karyosomen, niemals zu finden ist. Wenn also selbst nach Anwendung dieser relativ günstigsten Färbungsweise an so manchen Faserspindeln mit Äquatorialplatte Polkörperchen nicht zur Erscheinung kommen, so würde deren Fehlen nach obiger Deutung nur ein scheinbares sein. Ob indessen diese Erklärung durchweg annehmbar ist, erscheint mir zweifelhaft.

1) Das Gleiche gilt auch für die Samenfäden der Amphibien; und ich will namentlich gegenüber einer Behauptung Fick's (7) hervorheben, daß das Mittelstück bei der Eisenhämatoxylinfärbung gar keinen Vorzug vor dem übrigen Schwanzfaden genießt. Es wird freilich etwas später als letzteres völlig entfärbt; aber das liegt nur daran, daß es dicker ist. Man kann genau verfolgen, wie die Entfärbung von der Oberfläche nach der Achse hin fortschreitet, und sieht deshalb eine Zeitlang, namentlich im Mittelstück, einen axialen schwarzen Streifen. Zu dieser Erscheinung trägt wohl auch bei, daß in der That der Achsenstrang länger der Extraktion des Farbstoffes widersteht, als der ihn umgebende Mantel. Jedoch ist man bei dieser Methode nie sicher, ob man den Achsenstrang in seiner richtigen Breite sieht; denn die schwarze Achse wird im Eisensalzbade mit der Zeit immer dünner, um schließlich ganz zu verschwinden. Noch längere Zeit aber bleibt dann bei ganz entfärbtem Mittelstück der Kopf noch schwarz tingiert. Mit der Zeit indessen wird auch dieser völlig entfärbt. Durch diese Thatsachen ist eine materielle Identifizierung des Mittelstücks mit einem Centrosom nicht zu begründen; und damit ist auch den aus einer solchen Voraussetzung hergeleiteten Folgerungen der Boden entzogen.

Vielleicht stellen die scheinbar negativen Fälle ein vorgeschrittenes Stadium dar, indem das Centrosom, nachdem es seine Schuldigkeit bei Herstellung der Faserspindel gethan hat, entweder überhaupt oder doch von dem Orte an der Spitze der Spindel verschwindet. In dieser Beziehung sei nochmals erwähnt, daß ich in einem Falle, freilich nur an einer einzigen Zelle, an beiden Spitzen der Spindel statt eines Centrosoms je zwei kleinere schwarze Kügelchen ziemlich nahe bei einander vorfinde, was also auf Zweiteilung des Centrosoms als Vorbereitung für die nächste Zellteilung hindeutet. In Verfolgung dieser letzteren Angelegenheit weiter zu sicheren Ergebnissen zu gelangen, war mir bisher unmöglich. Ich muß mich deshalb mit dem Gesagten begnügen.

Wenn wir uns nun fragen, wie dieser Zustand der Zelle aus der oben, S. 462—463 beschriebenen und in Fig. 81 veranschaulichten Zwischenphase der zwei Cytoplasmaanhäufungen hervorgegangen sein mag, so scheinen mir folgende Annahmen naheliegend und naturgemäß zu sein. Zum ersten müssen die dort in der Mittelzone zerstreut gewesenen kyanophilen Körperchen genau in die Äquatorebene, und in dieser ganz nahe aneinander gerückt worden sein. Da ferner statt jener 16 kleinen Körperchen jetzt nur 4 größere da sind, so ist weiter zu folgern, daß je 4 der ersteren von neuem zu einem verschmolzen sind. Dies mag nach der ganzen Vorgeschichte dieser Körperchen einen Augenblick lang als eine hinsichtlich ihres Zwecks schwer begreifliche Umständlichkeit erscheinen. Gleichwohl braucht die vorangegangene Zerfällung der 4 Fäden des Schleifenstadiums in 16 Teilstücke und die Wiedervereinigung der letzteren zu 4 größeren Körpern nicht sinnlos und überflüssig zu sein. Es ist nämlich durch diese Folge von Vorgängen Gelegenheit gegeben, daß Teilstücke aus mehreren Fäden zu einem neuen Karyosom zusammentreten; und im günstigsten Falle werden von den 4 zu einer Einheit verschmelzenden auch nicht 2 aus einem und demselben Faden herkommen, sondern jedes aus einem anderen, so daß der resultierende Körper Substanz aus allen 4 Fäden in sich zusammenfaßt. Darin wäre, indem bei der Verschmelzung die feinsten Teilchen der Einzelstücke durcheinander gemischt werden, ein Mittel gegeben, die Übertragung etwaiger feinerer substantieller Verschiedenheiten der 4 Fäden auf die Karyosomen des Spindelstadiums zu verhindern, also diese qualitativ gleich zu machen. Dies wird auch eine Versorgung der beiden Tochterzellen mit qualitativ gleicher Kernsubstanz begünstigen. Zwar gibt jedes

der vier Äquatorialkörperchen des Spindelstadiums einen Teil seiner Substanz an jede der beiden Tochterzellen ab; jedoch scheint, wie wir sehen werden, nicht oft eine genaue Halbierung jedes einzelnen Karyosoms zu gelingen. Eine solche Ungenauigkeit wird nur wenig auf sich haben, wenn die 4 Körper substantiell gleich beschaffen sind und ein Minus seitens des einen durch ein Plus seitens eines Genossen kompensiert wird, während im Falle differenter Qualität daraus eine Verschiedenheit in den Tochterzellen resultieren würde. — Sei nun aber dieser Gedankengang zutreffend oder nicht, so weisen jedenfalls die von mir beobachteten Thatsachen deutlich eine solche Abwechslung von Zerfällung und Wiederverschmelzung der Karyosomen in unserem Falle nach.

Eine zweite wesentliche Frage aber betrifft die Herstellung der Faserspindel selbst. In diesem Punkte nun kann in unserem Falle m. E. nicht der geringste Zweifel darüber obwalten, daß die rot tingierte und faserige Hauptmasse der Spindel im wesentlichen von der Zellsubstanz geliefert worden ist, und daß im besonderen die beiden vorher dagewesenen, hauptsächlich aus Nebenkernsubstanz gebildeten polaren Menisci zur Herstellung der Spindel verwendet worden und in dieser aufgegangen sind. Denn einerseits ist es undenkbar, daß die Spindel sich aus den winzigen, nicht tingierbaren Lininfäden des Kernes gebildet haben könnte. Wenn wir auch annehmen, daß die in Fig. 81 von den Menisci nach dem Äquator hinziehenden blassen Fädchen nukleäre Lininfäden seien, so würde doch ihre Quantität nur einem kleinen Bruchteile der späteren Faserspindel entsprechen; und außerdem müßte sich ihre Färbbarkeit wesentlich geändert haben; denn die Spindelfasern werden durch Säurefuchsin intensiv rot tingiert. Andererseits aber sind ja die beiden Cytoplasmaportionen, die in Form der Menisci an den Polen ihren Sitz hatten, jetzt nicht mehr an der Peripherie zu finden. Sie können auch nicht in der übrigen peripherischen Substanzlage, der Zellmembran, sich verloren haben; denn diese ist nicht dicker geworden als im vorigen Stadium. Es ist also gar nicht abzusehen, wohin die beiden Massen gekommen sein sollten, wenn sie nicht in die Spindel übergegangen sind, bzw. diese formiert haben. Auch ist allem Anschein nach das aus den beiden Polarsegmenten entwichene Quantum protoplasmatischer Substanz gerade ausreichend zur Herstellung der Spindel, besonders unter Berücksichtigung des Umstandes, daß ja in dieser nicht mehr eine so kompakte Masse, sondern die mehr lockere Fügung eines Faseraggregates vorliegt. Die Umbildung in dieses ist wohl aber kaum anders als so zu

denken, daß die Menisci zu einem gewissen Zeitpunkte, vielleicht unter Mitwirkung eines in jedem derselben steckenden Centrosoms, in die Höhle hinein divergierende Pseudopodien, Substanzstrahlen ausstrecken, von denen einige auf die Karyosomen treffen, sich an diese heften und sie nach dem centralen Teile der Zelle hinüberziehen, so zur Centralspindel zusammentretend, während andere Ausläufer sich entweder mit ihnen entgegenkommenden Strahlen direkt verbinden oder auch bis zum entgegengesetzten Pole hin verlängern und nach der axialen Gegend der Zelle verschieben, um durch Zusammenlagerung hier die Außenspindel, d. i. den Fasermantel der Centralspindel zu bilden. Wenn die zwischen den Menisken und den Karyosomen ausgespannten zarten Fädchen der letzten Zwischenphase Lininfäden sind, so mögen sie wohl den Ausstrahlungen des Cytoplasmas gewissermaßen als Leitfäden dienen, an denen entlang jenes sicher zu seinen Zielen hingelangt. Der bei weitem größte Teil der Masse jedes Meniscus würde so in die Spindel hinübertreten, während ein sehr kleiner Rest sich zu den wenigen und kurzen, von den Spindelspitzen aus, resp. von den Centrosomen nach außen hin divergierenden Fädchen umbilden würde, die den Polstrahlungen der Eier entsprechen. Jedenfalls geht aus der vergleichenden Betrachtung der letzten Stadien so viel mit Sicherheit hervor, daß die Materie der Spindelfasern Zellsubstanz ist, und zwar hauptsächlich aus demjenigen Teile derselben stammend, der sich in dem Nebenkern verdichtet hatte, welcher letztere allerdings bei *Paludina* fast die gesamte Zellsubstanz in sich aufgenommen hat, wie aus früher Dargelegtem ersichtlich war ¹⁾.

Ein Zellkern als Ganzes existiert nun gewiß nicht mehr. Wenn man, nachdem schon längst die Kernmembran als differenzierte Schicht verschwunden und in dem Zellenleibe aufgegangen war, doch in den beiden, dem jetzigen vorangegangenen Stadien die große Höhle der Zelle allenfalls noch

1) Die Entstehung der sog. „achromatischen“ Spindel aus Zellsbstanz oder doch unter wesentlicher Beteiligung der letzteren ist betreffs anderer Zellen schon von mehreren Autoren behauptet und der Lehre FLEMMING's, der ihre Bildung aus Kernbestandteilen, den später sog. Lininfäden, annimmt, gegenübergestellt worden, zuerst wohl von STRASBURGER an gewissen Pflanzenzellen (28 b u. c), ohne daß jedoch daran erinnert worden wäre, daß damit ein wesentlicher Faktor der von mir im Jahre 1874 ausgesprochenen Auffassung des ganzen Prozesses, nämlich das Eindringen von Zellsbstanz in den Kernraum und die Zusammensetzung der bipolaren Figur aus Cytoplasma und alten Kernbestandteilen bestätigt wurde (vgl. 1 a, S. 220 ff. und 1 b).

als sehr vergrößerte Kernhöhle auffassen und damit wenigstens diesen geschlossenen Raum als Repräsentanten des Zellkerns ansehen konnte, so geht das doch jetzt nicht mehr an; denn dieser Raum ist größtenteils durch Zellsubstanz erfüllt; und die Höhle existiert nur noch als ein schmaler, schalenförmig die Spindel umgebender Spalt, der überdies in den Polgegenden von Protoplasmafäden durchsetzt ist ¹⁾. Die Spindel selbst aber kann nicht als metamorphosierter Kern angesehen werden, sowohl wegen ihrer Entstehungsweise, als wegen ihrer Zukunft, die nachweislich darin besteht, daß ihre beiden Hälften in den Leib der Tochterzellen übergehen oder, wie für unser Objekt beinahe gesagt werden darf, zum Leibe der Tochterzellen werden. Die Karyosomen aber sind 4 getrennte Körperchen, die nur eine, wenn auch gewiß sehr wichtige, Art der stofflich verschiedenen Bestandteile des Kerns repräsentieren, und sie sind überdies in Protoplasmafäden

1) In unserem Falle ist immerhin noch etwas von einer Höhle vorhanden, die sogar scharf genug begrenzt ist. In vielen anderen Zellen hingegen, und zwar in solchen, die einen im Verhältnis zum Kern viel größeren Leib, also viel reichlichere Zellsubstanz besitzen, schwillt eine innere Schicht des nach der Spindelbildung in größerer Menge übrig bleibenden Cytoplasmas unter Aufnahme von Kernsaft derart an, daß sie von allen Seiten her tief in den die Spindel umgebenden Hohlraum eindringt und sich in aufgelockertem Zustande dieser nähert, so daß die Höhle ganz unscharf begrenzt oder überhaupt nicht mehr zu unterscheiden ist. FLEMMING hat betreffs solcher Fälle sich dahin ausgesprochen, das Zellprotoplasma sei in diesem Stadium in eine äußere dunklere und eine innere hellere Lage differenziert; und das ist ja richtig, bedarf aber m. E. der Ergänzung, daß die Differenzierung auf die eben angegebene Art herbeigeführt wird, wie ich das schon im Jahre 1874 angab, indem ich schrieb, des Protoplasma innere, der Kernhöhle benachbarte Schicht sauge allmählich den Kernsaft auf, indem sie dabei anschwellend in den Raum der Kernhöhle eindringe (1 a, S. 221—222). So hat später die Sache auch STRASBURGER in seinen neueren Schriften dargestellt (28 c, S. 484, 485, 491), jedoch auch hier wieder, ohne daran zu erinnern, daß ich mich längst in dem gleichen Sinne ausgesprochen hatte. In manchen Zellen also wird um diese Zeit der Rest der Kernhöhle durch Ausfüllung mit lockerem, wasserreichem Cytoplasma in einen unscharf begrenzten, etwas blasserem Centralteil des Zellenleibes umgewandelt. Allmählich findet sich dann Ausgleichung der Dichtigkeit mit dem äußeren Cytoplasma ein. In sich furchenden Eiern vollends verschwindet sogar sehr schnell der helle Hof um die Spindeln, und ist in gewissen Fällen das Fasersystem dieser Spindeln mit den von den Polstrahlungen ausgehenden seitlichen Bogenlinien des Dotters in unmittelbarer Berührung. Damit ist auch jede Spur einer Kernhöhle abhanden gekommen.

eingelagert. Sie können demnach, auch wenn wir sie in Gedanken zusammenfassen, weder qualitativ, noch der Form nach als ein Kern gelten. Der Zellkern ist eben im morphologischen Sinne nicht mehr da; er ist dadurch untergegangen, daß seine Bestandteile auseinandergelassen und teilweise molekulär mit der Zellsubstanz vermischt, teilweise als sichtbare Körperchen in diskrete Strukturteile des Cytoplasmas eingefügt sind. Wenn aber kein Zellkern vorhanden ist, so kann auch von keiner Kernteilung, weder einer indirekten noch sonst wie zu benennenden, die Rede sein. Vielmehr können die weiter folgenden Veränderungen nur eine Neubildung zweier junger Kerne zum Ziele haben, wobei natürlich diejenigen spezifisch nukleären Materialien, die zur Konstitution des früheren Kerns gehört haben, unter Verteilung auf die beiden neuen Kerne Verwendung finden werden. Und wenn dabei auch teilweise das Prinzip morphologischer Zweiteilung zu wichtiger Mitwirkung gelangt, so betrifft diese doch nicht den Kern als solchen, sondern eine Anzahl geformter Überreste desselben.

Ein weiterer Schritt nämlich ist die bald eintretende Zweiteilung der Karyosomen, deren jedes, obwohl vor kurzem aus vier kleineren Stücken zusammengebacken, doch in der Zwischenzeit eine kompakte Masse gewesen war. Die vier Körperchen zerfallen in acht, und zwar durch Längsspaltung jedes einzelnen. Diese greift also nicht in der Äquatorialebene ein, sondern in einer auf dieser senkrechten, wenn auch nicht gerade meridionalen Ebene. Das ergeben während und nach erfolgter Zerfallung sowohl Seitenansichten als auch solche vom Pole her. Erstere gestatten zwar keine genaue Zählung, lassen jedoch so viel erkennen, daß eine größere Anzahl jetzt schlanker Spindelkörperchen in einer Ebene nebeneinander gruppiert sind (Fig. 8 n). Und zwar halten diese in der Regel sehr genau die gleiche Front inne; und nur ausnahmsweise zeigt sich eines nach einem Pole hin etwas verschoben. In Polansichten aber sind oft genug gerade acht kleine rundliche Querschnitte der blauen Körperchen in einer Ebene sichtbar, andere Male freilich nur sieben oder sechs, darunter aber ein oder zwei viel größere, was auf manchmal ungleichzeitige Längsteilung der einzelnen Karyosomen hinweist, die auch zuweilen in der Längsansicht bemerkbar ist (Fig. 8 n und o). Die Körperchen sind jedoch nicht in einem Kranze um ein Mittelfeld herum angeordnet, sondern zum

Teil nach innen gerückt, also unregelmäßig in einem centralen Felde der Äquatorebene der Spindel zerstreut. Sie müssen also nach der longitudinalen Zerspaltung seitlich auseinanderweichen. Bemerkenswert ist noch, daß diese Querschnitte der Karyosomen, auch wenn deren acht beisammen sind, nur selten gleich groß erscheinen, und daß kleinere unregelmäßig zwischen größeren verteilt sind. Die Gesamtheit der Umstände gestattet nicht, diese Ungleichheit auf Schiefschnitte zu beziehen, die eine Anzahl der Körperchen in ihrer dicken Mitte, andere näher dem schmalen Ende getroffen hätten, und ebenso auch nicht auf die seltenen Fälle von Längsverlagerung einzelner derselben. Es scheint demnach, daß wirklich öfters die Zerfällung zwei etwas an Größe verschiedene Teilstücke liefert. Darauf bezog sich das, was ich oben, S. 469, über ungenaue Halbierung der Karyosomen und die dadurch gesteigerte Wichtigkeit ihrer qualitativen Übereinstimmung gesagt habe. Außerdem aber zeigen sich ziemlich oft statt der acht kleinen Querschnitte nur sieben oder sechs, dann aber unter diesen ein bis zwei ungewöhnlich große, Fälle, die wohl auf ungleichzeitige, bei einzelnen Gliedern der Gruppe verzögerte Teilung schließen lassen.

Bisher hatten die Karyosomen die Äquatorebene noch nicht verlassen. Dies erfolgt jedoch einige Zeit darauf in der bekannten Weise. Es bilden sich zwei Gruppen von je vier Karyosomen, die nach den beiden Polen hin auseinanderweichen. Daß sich dabei jedes Paar von Schwester-Karyosomen auf die beiden Gruppen verteile, ist unter den obwaltenden Umständen nicht durch positive Anhaltspunkte zu begründen, jedoch aus theoretischen Gründen sehr wahrscheinlich. Bei der Bewegung nach den Polen hin bleiben die vier Körperchen jeder Gruppe immer nebeneinander in einer Querebene angeordnet; und so im Gleichschritt vorrückend, gelangen sie, und zwar anscheinend sehr rasch, bis nahe an die Spitzen der Spindel, wo sie ohne sofortige Umwandlung wieder etwas länger verweilen; denn sie sind in dieser Endlage sehr oft anzutreffen, während sie viel seltener auf ihrer Wanderung ertappt werden. — Der Weg aber, den sie zurückgelegt haben, ist erheblich länger, als es die ursprüngliche Form der Spindel und der ganzen Zelle gestatten würde. Diese werden nämlich während des Vorgangs in axialer Richtung gedehnt, so daß Formen entstehen, wie sie in Fig. 8p u. q wiedergegeben sind. Fassen wir einen Zeitpunkt nahe vor dem Schlusse der Wanderung ins Auge (Fig. 8q), so

sehen wir zwischen den beiden Karyosomengruppen ein relativ langes cylindrisches Bündel geradliniger, rot tingierter Verbindungsfäden ausgespannt, das an sich schon etwas länger ist als die frühere Achse der Spindel, entsprechend aber auch schmalere, als diese früher in der Äquatorebene war. Die Art der Tingierung und alle sonstigen Verhältnisse lassen keinen Zweifel darüber, daß das Bündel der Verbindungsfasern ein Teil der früheren Spindel ist. Es müssen also bei der unter Spannung und vielleicht auch aktiver Kontraktion erfolgenden Geradstreckung der Fasern die Mittelteile derselben näher an die Zellachse herangerückt sein. Jenseits der Karyosomengruppe ist einstweilen noch eine kurze Fortsetzung des Faserkörpers bemerkbar, indem eine Anzahl Fäden nach einem nahen Punkte hin konvergieren und so in den beiden Polarsegmenten je ein niedriges, kegelförmiges Endstück der Figur formieren. Dieses wird aber bald, indem die Karyosomen noch etwas weiter vorrücken, fast ganz abgeflacht, so daß die Spindel jetzt zu einem beträchtlich längeren, faserigen Cylinder wird, dessen Enden die beiden Querreihen der blauen Körperchen einnehmen. Gleichzeitig wird aber auch die ganze Zelle, deren Umriß durch die Zellmembran markiert ist, zu der Form eines Cylinders mit gewölbten Endflächen umgewandelt. Die kleinen Zwischenräume zwischen diesen Endflächen und den Karyosomengruppen werden von einer blaßrot tingierten, zarten Substanz ausgefüllt, deren Struktur nicht genauer zu erkennen ist. Die Mechanik dieser Umgestaltung der äußeren Form der Zelle dürfte nicht leicht zu erklären sein. Sie ist jedenfalls eine Folge der Ausstreckung des inneren Faserkörpers. Da jedoch letzterer nicht starr genug erscheint, um leicht einen wirksamen Druck desselben auf die Polgenden der Zellmembran annehmen zu lassen, so dürfte noch ein anderer, verschleierter Faktor mitwirken. Falls etwa trotz des Mangels positiver Nachweisbarkeit von den Seitenflächen der Spindel einige zarte Fäden quer nach der Zellmembran hinüber ausgespannt sein sollten, so müßte die Annäherung der Mantelfasern der Spindel an die Zellachse auch einen Zug auf die Zellmembran in der Richtung zur Achse hin ausüben, was weiter ein Ausweichen des flüssigen Teils des Zellinhalts nach den Polen und damit Verlängerung der Zelle zur Folge haben würde.

Betreffs der weiteren Veränderungen der Karyosomen habe ich öfters so viel gesehen, daß diese aus ihrer kurzen, gedrungenen Gestalt wieder in fadige Form übergehen, und daß diese gebogenen oder geschlängelten Fäden zu einer Art dichten Knäuels

zusammentreten, also das Dispirem FLEMMING's. Bei der Umbildung zu Fäden scheint es aber so zuzugehen, daß das Körperchen sich nicht einfach verlängert, sondern zuerst ein Loch bekommt und damit in einen kleinen Ring verwandelt wird, der dann, an einer Stelle aufbrechend, einen anfangs kurzen, später sich verlängernden Faden liefert; doch spreche ich das nur mit Vorbehalt aus, da mir aus dieser Übergangszeit nur einige wenige, deutlich in diesem Sinne sprechende Bilder aufgestoßen sind.

Währenddessen geht aber auch mit dem anderen Hauptbestandteil der Zelle eine wesentliche Veränderung vor sich. Das Bündel der Verbindungsfasern verliert seine parallelfasrige Struktur und schwillt zu einer fast homogen erscheinenden, etwas blasser rot tingierbaren Masse an, also zu gewöhnlichem Cytoplasma, das bald die ganze Zelle ausfüllt. Auch in den polaren Segmenten ist dann der kleine Raum zwischen Zellmembran und Knäuel von kontinuierlichem Protoplasma eingenommen. So ist wieder die Zellsubstanz in derjenigen Verfassung, die ihr im Ruhezustande der Zelle zukam, hergestellt, und zwar hauptsächlich auf Kosten der Spindelfasern. Die beiden blau tingierten, dichten Knäuel liegen jetzt ganz im Protoplasma eingebettet. Als Zellkerne können sie einstweilen noch nicht angesehen werden. Denn sie repräsentieren nur eines, wenn auch ein sehr wichtiges, der qualitativ verschiedenen Konstituentien eines Zellkerns, nämlich die kyanophile Kernsubstanz, und es fehlt zur Vollendung noch der Einschluß in eine von Kernsaft erfüllte Höhle, es fehlt die Nukleolarsubstanz und die Kernmembran.

Bald aber lockern sich die Knäuel etwas, und es werden helle, farblose Interstitien zwischen den blauen Fäden sichtbar. Und weiterhin sind an Stelle der beiden Knäuel richtige bläschenförmige Kerne vorhanden mit einer rot tingierten Kernmembran, einem oder zwei kirschroten Nucleolis und einer größeren Zahl feiner blauer Innenkörnchen, von denen ich es wegen der Kleinheit und Feinheit des Objekts zweifelhaft lassen muß, ob sie bis zur nächsten Mitose durch zarte Fäden netzartig verbunden bleiben oder für eine Zeitlang isoliert werden. Abgesehen von dieser Umordnung der kyanophilen Substanz kann die Vervollständigung und Neugestaltung des Kerns nur dadurch erreicht worden sein, daß zwischen den Knäulfäden und um sie herum eine Flüssigkeit, Kernsaft, sich ansammelte, in Form eines Tropfens und mit dem Aussehen einer Vakuole im Protoplasma, daß ferner in diese hinein

Nukleolarsubstanz ausgeschieden wurde und eine Grenzschicht des Protoplasmas zur Membran sich verdichtete¹⁾.

Das Ganze ist also jetzt eine von gleichmäßigem Cytoplasma erfüllte Zelle mit zwei bläschenförmigen Kernen von gewöhnlicher Beschaffenheit. Und in diesem Zustande verharrt das Gebilde kürzere oder längere Zeit. Von den oben, S. 431, erwähnten zweikernigen Doppelspermatogonien unterscheidet es sich sowohl durch die erheblich geringeren Dimensionen des Ganzen und der Kerne als auch durch die Gestalt, indem jene kuglig oder doch annähernd so geformt sind, dieses hingegen länger gestreckt, einem Cylinder mit gewölbten Endflächen und höchstens ganz flach ausgebauchter Mantelfläche ähmlich ist.

Erst nach Herstellung dieses Zustandes folgt die Zweiteilung des Zellenleibes, und zwar auf dem Wege einfacher Durchschnürung im Äquator. Eine anfangs oberflächliche konkave Einsenkung wird bald spitzwinklig und geht in eine scharfe Ein- und Durchschnürung über, wobei die in der Trennung begriffenen Hälften sich zu Kugeln abrunden und nach der vollständigen Zertrennung zuweilen noch eine Zeitlang in Berührung beisammen bleiben, später aber sich voneinander mehr entfernen. Dies sind die Samenzellen zweiter Generation.

III d) Die folgenden Zellgenerationen.

Auf die beschriebene erste mitotische Teilung im Hoden folgen nun noch drei andere, so daß im ganzen fünf Generationen von Samenzellen gebildet werden. Diese Behauptung steht in Widerspruch zu einer Angabe von BRUNN, der nur drei Generationen annimmt, ohne indessen diese Meinung näher zu begründen. Die Sache verhält sich aber folgendermaßen.

Unmittelbar kann man aus den mikroskopischen Bildern die Zahl der Generationen nicht erkennen; denn welche Orientierung der Schnittrichtung man auch wählen möge, so zeigt sich doch

1) Ich kann demnach nicht umhin, auf Grund sowohl der hier dargestellten Beobachtungen, wie anderer Fälle mitotischer Zellteilung in den wesentlichen Hauptpunkten diejenige Ansicht über die Neubildung der Kerne bei der indirekten Zellteilung festzuhalten, welche ich schon im Jahre 1874 und 1876 (1 a- c) ausgesprochen habe, nur daß mir damals, weil ich zu jener Zeit bloß am lebenden Objekte und mit weniger vollkommenen Hilfsmitteln untersuchte, das Aggregat fadiger Substanz, das als Anregungs- und Ausgangspunkt für die Kernbildung dient, unsichtbar geblieben war.

nirgends eine Schichtung oder Aufreihung jener, vielmehr, wie schon früher erörtert wurde (S. 418), ein buntes Durcheinander der verschiedensten Entwicklungsstufen. Unter diesen Umständen ist man ganz darauf angewiesen, aus der verschiedenen Größe der Samenzellen auf die Anzahl der Generationen zu schließen, was aber auch nur dann thunlich sein wird, wenn eine gewisse Regelmäßigkeit der Abstufungen mit größeren Intervallen sich herausstellt. Ich führte deshalb sehr zahlreiche, möglichst genaue Messungen der Zelldurchmesser aus, und zwar unter Benützung des apochromatischen Öl-Immersion-Objektivs 1,30 — 3 von ZEISS und eines in Hundertstel eines Millimeters eingeteilten Okular-Mikrometers. Als ich nun die so erhaltenen Zahlen verglich, zeigte sich zu meiner Befriedigung die eben ausgesprochene Voraussetzung erfüllt. Es ergaben sich an den Sublimatpräparaten einschließlich der Spermatogonien fünf Größenstufen von folgenden Durchmessern: 1) 13—14 μ , 2) 10—11 μ , 3) 8—9 μ , 4) 6—7 μ , 5) 5—6 μ . Die beiden letzten Stufen sind durch den unmittelbaren Augenschein noch leichter zu unterscheiden, als die angegebenen Zahlen vielleicht vermuten lassen würden, und zwar erstens deshalb, weil die meisten Zellen der vierten Stufe sich mehr der Zahl 7, die meisten der fünften Stufe sich mehr der Zahl 5 nähern, und zweitens aus dem allgemeinen Grunde, weil bei der einfachen Besichtigung nicht die lineare, sondern die viel bedeutendere Flächendifferenz zur Geltung kommt. Es würden also schon nach dem Ergebnisse dieser Messungen fünf Generationen anzunehmen sein.

Ich kam aber dann noch auf folgende Erwägung. Es handelt sich ja durchweg um Zweiteilung in zwei gleich große Tochterzellen. Nun ist einerseits gar kein Grund vorhanden, anzunehmen, daß dieser Vorgang mit einem Substanzverluste verbunden sei, und andererseits ist es bei der raschen Folge der Teilungen höchst unwahrscheinlich, daß in den kurzen Pausen die Tochterzellen wachsen sollten. Es ist also zunächst zu vermuten, daß das Volumen jeder Tochterzelle der Hälfte des Volumens ihrer Mutterzelle gleich ist und gleich bleibt, bis sie selbst wieder zur Teilung gelangt oder, wie die Zellen letzter Generation, anderweitige bedeutende Umwandlung erfährt. Ich beschloß nun, durch Rechnung zu ermitteln, wie sich zu diesem supponierten Prinzipie die Ergebnisse der Messungen stellen mögen. Das Volumen einer kugligen Zelle läßt sich ja aus dem Diameter, resp. dem Radius nach

der bekannten Formel $\frac{4}{3} \pi r^3$ berechnen; und für die zweite bis fünfte Stufe ist das so erhaltene kubische Maß mit dem halben Volumen der vorangegangenen Stufe zu vergleichen. Zu meiner Genugthuung ergab sich auf diese Art eine sehr gute Übereinstimmung der zu vergleichenden Zahlen, wie die hier folgende tabellarische Zusammenstellung zeigt:

Maasse der 5 Generationen der Samenzellen von Paludina vivipara.

a	b	c	d	e	f	g
Generation	Durchmesser der Zellen μ	Angenommener mittlerer Durchmesser μ	Radius μ	Volumen der Zelle berechnet als $\frac{4}{3} \pi r^3$ Kub.- μ	Volumen d. Zelle berechnet d. Halbierung desjen. der vorigen Generation Kub.- μ	Bemerkung
I = Spermogonien	13—14	13,5	6,75	1288		Gute Übereinstimmung der Kolonnen e und f.
II	10—11	10,5	5,25	606	644	
III } Spermocyten	8—9	8,5	4,25	322	322	
IV }	6—7	6,5	3,25	144	161	
V = Spermioblasten, unmittelbar nach ihrer Entstehung	5—6	5,5	2,75	87	80	

Man sieht, daß die in der Kolonne e stehenden, nach dem Durchmesser berechneten Volumina der zweiten bis fünften Stufe sehr annähernd jedesmal der Hälfte des Volumens der vorangegangenen Generation gleichkommen. Und ich vermute, daß die Übereinstimmung noch vollkommener sein würde, wenn noch genauere Messungen zu Grunde gelegt werden könnten. Übrigens ließe sich in solchen Fällen eine gewisse Übersicht über die Sachlage schon gewinnen auf Grund der Thatsache, daß der Durchmesser einer Kugel sich zu dem Durchmesser einer zweiten Kugel von dem halben Volumen der ersteren ungefähr wie 5 : 4 verhält, was ja auch zwischen zwei aufeinander folgenden Zahlen der Kolonne c der Fall ist. Durch diese Verhältnisse bewährt sich nun meine Annahme der fünf Zellgenerationen vollends, und zugleich sprechen sie dafür, daß in der That während dieser Zellteilungsfolgen weder Verlust noch Zuwachs von Substanz stattfindet. Insoweit das Gleiche

auch für andere Fälle der Spermatogenese vorausgesetzt werden darf, würde sich übrigens das hier betonte Prinzip der wiederholten Halbierung, wie ich meine, auch heuristisch fruchtbar erweisen können, indem schon aus dem Verhältnis der Durchmesser der ersten und letzten Generation die Anzahl der dazwischen liegenden zu erschließen wäre, natürlich mit Vorbehalt der Bestätigung durch Wahrnehmung, und indem ebenso auch Lücken in der Reihe zu erneuter Untersuchung auffordern würden¹⁾.

1) Ein Beispiel mag dies erläutern. FLEMMING (8 d) nimmt bei *Salam. mac.* während der Spermatogenese im engeren Sinne drei Generationen von Samenzellen an, die er mit *b*, *c* und *d* bezeichnet und deren Durchmesser er auf 29, 19 und 14,5 μ bestimmt hat. Die unten entworfene, der obigen analoge Tabelle zeigt nun, daß bei Berechnung der Zellvolumina nach den Durchmessern das Volumen der letzten Generation überraschend genau $\frac{1}{8}$ desjenigen der ersten Generation beträgt (vgl. Kolumne γ , I und IV), was auf zwei Zwischengenerationen statt der einen von FLEMMING angenommenen hinweist. Weiter zeigt sich, daß das Vol. IV beinahe der Hälfte des Vol. III gleichkommt, daß hingegen letzteres nur wenig mehr als $\frac{1}{4}$ des Vol. I beträgt. Es müßte also bei Teilung von FLEMMING's *b*-Zelle in zwei *c*-Zellen fast die Hälfte der Substanz eingebüßt worden sein. Man wird zugeben, daß dies sehr unwahrscheinlich ist. Ich wage deshalb die Vermutung, daß noch eine, FLEMMING entgangene, zwischen *b* und *c* liegende Generation von ca. 23 μ Durchmesser vorhanden ist. Schiebe ich diese hypothetisch dazwischen, so stimmt alles recht wohl. Ja es würde sich sogar dann mit nur einer einzigen geringfügigen Abänderung der von FLEMMING angegebenen Durchmesser eine mathematisch genau dem Postulate entsprechende Reihe ergeben (s. Kolumne ϵ). In die folgende Tabelle habe ich demnach die von mir vermutete, als zweite einzuschiebende Generation mit aufgenommen:

Samenzellen von *Salam. mac.*

α	β	γ	δ	ϵ
Generation	Zell- durchmesser μ	Volumen berechnet aus dem Radius Kub.- μ	Volumen be- rechnet durch Halbierung d. vorigen Gen. Kub.- μ	Theoretisch berichtigte Durchmesser μ
I = <i>b</i> nach FLEMMING	29 nach FL.	12 767		29
II, von mir supponiert	23	6 369	6383,5	23,1
III = <i>c</i> nach FL.	19 n. FL.	3 589	3191,5	18,3
IV = <i>d</i> nach FL.	14,5 n. FL.	1 596	1595,5	14,5

Sollte aber etwa die hier supponierte Zellgeneration von ca. 23 μ Durchmesser nicht aufzufinden sein, so würde gleichwohl die hier angestellte Betrachtung eine Belehrung enthalten, betreffend den bei dem Übergange von *b* nach *c* eintretenden Substanzverlust. — Auch

Diese fünf Generationen von Samenzellen entstehen nun, die erste auf dem Wege der anfangs beschriebenen Hervorsprossung aus dem Keimlager, die anderen durch vier aufeinander folgende mitotische Teilungsakte, deren ersten an den Spermatogonien ablaufenden ich ja ausführlich geschildert habe, während ich betreffs der folgenden bald noch Näheres beibringen werde. Zuvor möchte ich nur noch folgendes bemerken: Meinem Nachweise gegenüber kann ich die Angabe BRUNN's, nach der auf die Bildung der Spermatogonien nur ein oder zwei mitotische Teilungen folgen sollen, nur als auf unvollkommener Beobachtung beruhend ansehen. Der Fehler dürfte mit dem anderen zusammenhängen, daß BRUNN geglaubt hat, an den kleinen Kernen des Keimlagers einen bis zwei mitotische Vermehrungsakte gefunden zu haben, wo solche aber nach meinen Wahrnehmungen nicht vorkommen (s. oben S. 429). Danach würden im ganzen auch bei ihm, wenn auch in etwas unbestimmter Weise, vier aufeinander folgende mitotische Cyklen herauskommen, von denen er jedoch nur zwei auf eigentliche Samenzellen bezogen hat. Ob etwa seine Behandlung der Objekte mit heißer Sublimatlösung stellenweise Verbackung herbeigeführt und diese so dem Wandungsprotoplasma ähnlich gemacht haben mag, oder welche sonstigen äußeren Umstände zu seiner Behauptung beigetragen haben mögen, kann unerörtert bleiben. Auf eine gänzliche Aufklärung der Differenz muß ich schon deshalb verzichten, weil BRUNN keine Messungen der Samenzellen angestellt hat, die allein eine Vergleichung ermöglichen würden. Die von mir erbrachten Nachweise aber, so wie auch die jetzt noch anzuführenden Einzelheiten beziehen sich alle auf wohl formierte und allseitig scharf begrenzte, im Schlauchlumen liegende oder aus diesem bei der präparatorischen Dissociation ausgetretene Zellen, deren Stufenfolge durch Bestimmung der Durchmesser gesichert ist.

Was nun die Art und Weise der weiteren Zellteilungen anlangt, so verlaufen diese im großen und ganzen so wie die erste, oben genauer beschriebene. Es wiederholen sich also die gleichen

RATH (20 b) nimmt bei *Salam. mac.* eine Zellgeneration mehr an als FLEMMING. Jedoch würden die von ihm beobachteten neu hinzukommenden Zellen an den Anfang der Reihe zu stehen kommen; denn sie sind größer als die von FLEMMING's erster Generation, und zwar bis 45μ im Durchmesser, was nicht recht mit dem hier vertretenen Prinzipie stimmen will. Vollständige Aufklärung der Verhältnisse bei *Salam. mac.* wird erst von weiteren darauf gerichteten Untersuchungen zu erwarten sein.

Erscheinungen in immer kleinerem Maßstabe. Trotz der recht gering werdenden Dimensionen sind namentlich die zierlichen Bilder des Schleifen- und des Faserspindelstadiums und der folgenden, einem Dyaster entsprechenden Phase mit starken Linsensystemen sehr wohl zu erkennen und gestatten auch oftmals eine Zählung der Karyosomen. In einzelnen Punkten stellen sich Besonderheiten heraus, auf die ich noch eingehen werde, während es im übrigen, insoweit die Vorgänge mit denjenigen der ersten Teilung sich decken, keiner erneuten Schilderung bedarf. Nur zwei Punkte der Übereinstimmung möchte ich noch besonders hervorheben, nämlich erstens, daß jedesmal auf die früher angegebene Weise ein Nebenkern gebildet wird, und zweitens, daß, entgegen dem in anderen Fällen von Spermatogenese Gefundenen, an unserem Objekte sämtliche Teilungen mit einem bläschenförmigen Ruhezustande des Kerns abschließen.

Einer besonderen Besprechung bedarf der Übergang des Schleifenstadiums in dasjenige der Faserspindel. Jedesmal tritt wiederum Zerfällung der kyanophilen Fäden ein, und zwar bei der zweiten und dritten Zellgeneration in sechzehn zu Kugeln sich abrundende Teilstücke, bei der vierten Generation in eine vielleicht noch größere, aber nicht bestimmbare Zahl feinsten Körnchen. Und zwar geschieht dies schon zu einer Zeit, wo noch ein einheitlicher, ungeteilter Meniscus als Verdickung der cytoplasmatischen Schicht vorhanden ist, also ähnlich wie in Fig. 8k, nur in kleinerem Maßstabe. Wie mir die Zerfällung der Fäden in runde Teilstücke nach Beobachtungen an der dritten Zellgeneration vor sich zu gehen schien, habe ich schon oben bei den Spermatogonien angegeben.

An den Zellen zweiter Generation habe ich etwas weiteres zur Überführung nach der Faserspindel hin nicht finden können, halte es jedoch für wahrscheinlich, daß jetzt die Zweiteilung des Meniscus mit der in ihm enthaltenen Nebenkernmasse, die Versammlung der kleinen Karyosomen in einer äquatorialen Zone und überhaupt die Herstellung eines Zustandes folgen wird, wie er oben an den Spermatogonien geschildert (Fig. 8l) und als zur Herstellung der Faserspindel unmittelbar gehörig bezeichnet wurde.

Für die Zellen der dritten Generation hingegen treten nach meinen Befunden neue Thatsachen hinzu. Hier schiebt sich nämlich eine Reihe von Vorgängen ein, die auf die Bildung eines sogenannten

Viererstadiums hinausläuft, wie es auch bei *Salam. mac.* schon durch FLEMMING und neuerdings durch vom RATH (20b) und, wie ich aus letzterer Abhandlung entnehme, bei verschiedenen niederen Tieren durch BOVERI, HANKING, BRAUER gefunden und studiert worden ist. Dieses ist dadurch charakterisiert, daß in der erweiterten Kernhöhle sechzehn kleine rundliche Karyosomen, angeordnet in vier Gruppen zu vier Einzelkörperchen, vorhanden sind. Ein solcher Zustand entsteht aber bei *Paludina* auf anderem Wege als nach RATH bei *Salam. mac.*, nämlich in unserem Falle aus dem Schleifenstadium hervorgehend und vermittelt durch die erwähnte Zerteilung der vier Fäden in je vier Stücke. Neben den Zellen mit sechzehn gleichmäßig zerstreuten Kügelchen finden sich in der dritten Generation zunächst auch solche, in welchen jene Innenkörperchen zu acht Paaren angeordnet sind, die wiederum in ungefähr gleichen Abständen voneinander und näher der Grenzfläche der Höhle situiert sind. Und zwar liegen die beiden Körperchen jedes Paares dicht bei einander und sind etwas gegeneinander abgeplattet (Fig. 11a). Sodann aber treten je zwei solcher Paare zu einer Gruppe von vier Körperchen zusammen und zugleich noch näher, schließlich ganz dicht an die Grenzfläche der Höhle hinan (Fig. 11b). In diesen Vierergruppen wird allmählich die gegenseitige Anschmiegung der Einzelkörperchen noch inniger als vorher. In manchen derselben erkennt man die Zusammensetzung aus vier Teilen noch ganz gut, in anderen unvollkommener, während wieder andere scheinbar zu einem einheitlichen Körperchen zusammengeschweißt sind. Ob hier eine vollständige Verschmelzung oder nur eine Art Verklebung stattfindet, läßt sich nicht entscheiden. Jedenfalls aber bleibt, wie die Erscheinungen des folgenden Stadiums lehren werden, eine erleichterte Teilbarkeit in vier Stücke zurück. Sehen wir von letzterer einstweilen ab, so ist schon jetzt erreicht, was in den früheren Zellgenerationen erst in einer folgenden Phase, nämlich während der Bildung der Faserspindel erzielt wurde, nämlich ein Gehalt an vier größeren kernförmigen Karyosomen, die wohl auf demselben Wege wie sonst in eine Faserspindel eingefügt zu werden bestimmt sind. Als Sinn und Zweck aber des beschriebenen, in Zerfallung und Wiedervereinigung bestehenden Zickzackkurses wird sich auch aus dem weiteren Verlaufe der Dinge nichts anderes entnehmen lassen, als was ich schon betreffs des analogen Geschehens in den früheren Zellgenerationen oben auf S. 468 zur Erwägung gestellt habe. Es ist wiederum gestattet, zu vermuten,

daß jeder der vier Fäden des Schleifenstadiums zu jeder der vier Gruppen einen Beitrag liefert zum Zweck besserer Vermischung der kyanophilen Substanz und damit zur Ausgleichung etwaiger qualitativer Verschiedenheiten, die den vier Schleifen angehaftet haben könnten. Die Vereinigung der vier runden Körperchen, bestehe sie nun in einer völligen Verschmelzung oder auch nur in einer innigen Anschmiegun, giebt jedenfalls Gelegenheit zu einem Austausch von Molekülen differenter Art und damit zu einer gleichmäßigeren Durchmischung und Verteilung derselben. Eine solche scheint ja überhaupt eine der wesentlichsten Aufgaben aller mitotischen Prozesse zu sein. Wenn nun aus der durch FLEMMING entdeckten Längsspaltung der Chromosomen und der damit gegebenen Möglichkeit der Überweisung je eines Spaltstücks an je eine der beiden Zellhälften so deutlich hervorleuchtet, daß es darauf ankommt, den beiden Tochterzellen möglichst gleichwertige Kernsubstanz zuzuführen, so dürfte doch zu diesem Zeitpunkte die Erreichung jenes Zieles schon in hohem Maße vorbereitet sein mittels derjenigen Durchmischung des Materials, welche die Substanzverschiebungen während des Netz-, Knäuel- und Schleifenstadiums mit sich gebracht haben. Bei den Samenzellen nun geschieht in dieser Richtung noch etwas mehr, und diese Steigerung der auch sonst obwaltenden Tendenz erscheint mir wohl erklärlich. Wenn die Ausgleichung und gleichmäßige Verteilung der spezifischen Kernsubstanz im allgemeinen die Bestimmung hat, die Eigenschaften der Mutterzelle auf beide Tochterzellen zu übertragen¹⁾, so hat das bei den Samenzellen noch den umfassenderen Sinn der Vererbung der Eigenschaften des väterlichen Organismus auf seine Nachkommenschaft. Danach geht aus den besprochenen Thatsachen das Bestreben hervor, möglichst viele Eigenschaften des Vaters auf jedes Mitglied der Nachkommenschaft zu vererben. Und dies ist unleugbar gleichbedeutend mit Einschränkung der Variabilität, mit Sicherung eines

1) Diese Tendenz kann bei den somatischen oder Gewebszellen wohl nur da in vollem Maße vorausgesetzt werden, wo es sich bei der Zellteilung um einfaches Wachstum oder Ersatz einer gleichförmigen Zellenmasse, also um Erzeugung gleichwertiger Zellen handelt, während die namentlich in der embryonalen Entwicklung und ebenso bei der Regeneration komplizierter Organe so wichtigen Differenzierungen der Zellen an feinere Modifikationen der Mitosen geknüpft sein dürften, die zum Teil vielleicht auch der mikroskopischen Erforschung zugänglich sein können.

höheren Grades von Konstanz der Art. Daß für eine solche, wenigstens in den höher organisierten Abteilungen der jetzt lebenden Tierwelt obwaltende Tendenz noch einige Reihen anderer Thatsachen aus der Geschichte der Samenelemente zu sprechen scheinen, indem sie als weitere Hilfsmittel für dieselbe angesehen werden können, habe ich schon früher an einer anderen Stelle betont¹⁾.

Zwischenvorgänge, die ich nicht gefunden habe, die aber vermutlich wiederum durch einen der Fig. 8b entsprechenden und nur durch die geringere Zahl von vier rundlichen Körperchen in der Äquatorialzone unterschiedenen Zustand hindurchgehen, führen auch an der dritten Zellgeneration zu einer Faserspindel, deren Bild sich kaum von demjenigen der früheren unterscheidet. Wiederum liegen anfangs vier weizenkornförmige Karyosomen in der Äquatorebene der Spindel. Von deren Zusammensetzung aus je vier kleinen Körperchen ist jetzt meist nichts mehr zu bemerken, und nur hier und da zeigen sich Spuren davon als leichte seitliche oder terminale Einkerbungen. Gleichwohl tritt bei ihrer folgenden Selbstteilung eine Abweichung von dem gewöhnlichen Verhalten in der Art ein, daß außer Längsspaltung zugleich eine quere Zertrennung

1) In diesem Sinne habe ich nämlich schon in meiner Arbeit über das Sperma von *Dytiscus marg.* (1f) der bei Vertebraten, Hexapoden und Mollusken so allgemein in den Hoden auftretenden Vereinigung der Spermien zu Bündeln, sowie auch den bei vielen Insekten außerdem noch in einem späteren Stadium wieder sich einstellenden Agglutinationen der Spermienköpfe, darunter auch der von mir nachgewiesenen paarigen Kopulation der *Dytiscus*-Spermien die Aufgabe zugeschrieben, einen Stoffaustausch und Ausgleich zwischen den Köpfen der Samenfäden zu bedingen und dadurch einen höheren Grad von Konstanz der Art herbeizuführen. Wenn hinsichtlich der Phylogenese die Wichtigkeit des Variierens mit Recht ganz besonders und fast ausschließlich betont worden ist, so muß doch auf der anderen Seite und gerade bei Anerkennung des Prinzips der Veränderlichkeit der hohe Grad von Konstanz, der den meisten Arten jetziger Lebewesen höherer Stufen eigen ist, unsere Verwunderung erregen. Zu deren Erklärung liefert nun zwar die Geschichte der weiblichen Keimzellen, der Eier, soweit sie bis jetzt bekannt geworden ist, keine hervorragenden Anhaltspunkte; wohl aber glaube ich, daß betreffs der Vererbung von väterlicher Seite die erwähnten an den Samenelementen teils während ihrer Entstehung, teils nach dieser zu verschiedenen Zeiten auftretenden, so eigentümlichen Erscheinungen in der angegebenen Richtung verwertbar sind.

erfolgt, so daß jedes Karyosom wieder in vier Teilstücke zerfällt. Von den so entstandenen sechzehn Körperchen wandern dann je acht nach dem einen und dem anderen Pole hin, in einer Front vorrückend, zuletzt aber sich zu einem rundlichen Häufchen gruppierend. Es ergibt sich also bei der Entstehung der vierten Zellgeneration in der That eine Verdoppelung der Anzahl der Karyosomen, wie es ähnlich auch schon an gewissen Samenzellen anderer Tiere, z. B. bei *Salam. mac.* seitens RATH'S wahrgenommen worden ist. In diesen letzteren Fällen erklärt sich die Verdoppelung einfach daraus, daß nach der Darstellung des genannten Forschers die im Viererstadium zusammengruppierten vier Kügelchen niemals miteinander in innige Berührung treten, sondern einander nur genähert bleiben und so auch in die Spindel gelangen, worauf einfach aus jeder Gruppe zwei nach je einem Pole vorrücken. Aber auch in unserem Falle der Vereinigung der vier Körperchen zu einem größeren dürfte doch an den Berührungsflächen nur Kontinuität von geringerer Widerstandsfähigkeit hergestellt, also ein gewisser Grad von Spaltbarkeit zurückgeblieben sein, die den Zerfall in vier statt der sonstigen zwei Stücke begünstigt. — Im übrigen aber hat die Verdoppelung in unserem Falle keine weiteren bemerkbaren Folgen, indem die sich anschließenden Vorgänge im wesentlichen ganz so wie sonst verlaufen. Im besonderen ist hier kein Ausbleiben des nächsten Ruhestadiums zu konstatieren. Vielmehr bildet sich aus den beiden Karyosomenhäufchen und um sie herum wieder je ein bläschenförmiger Kern, der sehr fein verteilte, hellblau tingierte Körnchen und einen Nucleolus enthält. Währenddessen ist auch wieder der Zellraum auf Kosten der Faserspindel ganz von lockerem Protoplasma erfüllt worden. Und bald darauf folgt dann wieder mittels Durchschnürung der Zelle im Äquator ihre gänzliche Zweiteilung. So ist die vierte Generation der Samenzellen in Form isolierter, kugliger, einen bläschenförmigen Kern einschließender Gebilde hergestellt.

Diese schreiten dann zu einer abermaligen Zweiteilung, welche die letzte der Serie ist. Auch in ihrem Verlaufe zerfallen die Schleifen in eine größere Anzahl feiner Körnchen, die sich freilich nicht zählen lassen. Sehr klar und bestimmt hingegen ist die Frage der Zahl der Karyosomen an der Faserspindel dahin zu entscheiden, daß in deren Äquator wieder wie früher vier etwas längliche Körperchen nebeneinander aufgepflanzt sind. Durch

einfache Längsspaltung werden diese wieder zu acht, deren je vier wieder an die beiden Pole der Spindel wandern, um hier zur Neubildung zweier junger bläschenförmiger Kerne das Ihrige beizutragen. Dies ist im Vergleich zu der Anzahl von Karyosomen, die in der vorigen Zellgeneration in die Bildung der neuen Kerne eintraten, eine Reduktion der Zahl auf die Hälfte. Hierin liegt nun zwar ein Punkt der Übereinstimmung mit dem, was seit WEISMANN's ersten Anregungen und Einblicken in einer Reihe anderer Fälle von Spermatogenese gefunden wurde; jedoch sind auch wesentliche Unterschiede hervorzuheben. Fürs erste ist die Reduktion hier nicht an Überspringen eines Ruhestadiums geknüpft, vielmehr gewissermaßen durch ein solches Ruhestadium vermittelt. Hauptsächlich bemerkenswert aber ist, daß es bei der Vierzahl bleibt, daß nur eine relative, die vorangegangene Verdoppelung wieder aufhebende und die typische Zahl definitiv wiederherstellende Reduktion statthat. Denn die besprochene Zweiteilung ist die letzte in der Reihe, und es ist keine Gelegenheit zu einer nochmaligen Reduktion gegeben. Die jetzt entstandenen Zellen, die dazu bestimmt sind, sich auf bald zu beschreibende Weise in Spermien umzuwandeln, haben also Kerne, die ebenso wie die Samenzellen zweiter Generation auf Grund von vier Karyosomen sich gebildet haben¹⁾. Dies steht nicht in Übereinstimmung mit dem, was z. B. bei Salamandra und von O. HERTWIG auch bei *Ascaris meg.* festgestellt worden ist; und es entspricht überhaupt nicht dem Begriffe der Reduktionsteilung, wie er von WEISMANN begründet worden ist, und ihrer angenommenen Bedeutung für die Fortpflanzung. Diesen Mangel an Analogie kann ich hier nur auf Grund meiner Wahrnehmungen konstatieren, ohne etwa daraus weitgreifende Schlüsse ziehen zu wollen, weil ja die Samenbildung bei *Paludina* überhaupt mit ganz ungewöhnlichen Abweichungen und Komplikationen verknüpft ist, wie auch meine weitere Darstellung zeigen wird.

Aber wenn auch bei *Paludina* keine absolute Reduktion der Zahl der Karyosomen erreicht wird, so ergibt sich dagegen eine um so größere Reduktion der Masse der kyanophilen Substanz, also nach der herrschenden Vorstellung der Masse der Vererbungssubstanz. Da, wie ich nachgewiesen habe, während der

1) Ob die Vierzahl auch für die Mitosen der sonstigen Körperzellen von *Paludina* typisch ist, hatte ich nicht Gelegenheit zu ermitteln.

Spermatogenese kein Wachstum der Zellen eingreift, vielmehr ausschließlich wiederholte Halbierung ihrer Substanz stattfindet und dabei auch die Karyosomen sichtlich proportional kleiner und kleiner werden, so ist schließlich in den Samenbildungszellen das Quantum der kyanophilen Substanz sogar auf ein Sechzehntel desjenigen der Spermatogonien reduziert. Ich möchte zur Erwägung stellen, ob eine so resultierende Reduktion der Masse nicht ebenfalls von Bedeutung, ja sogar für gewisse Postulate WEISMANN'S verwertbar sein kann, und für diese sogar in höherem Maße als die Reduktion der Zahl. Letztere hat ja, wo sie eintritt, sicherlich die Wirkung, unter späterem Hinzutreten der Karyosomen der andersgeschlechtlichen Keimzelle die für die Species typische Zahl zu erhalten, und sie dient also diesem besonderen morphologischen Charakter. Hingegen wird sie sonstigen physiologischen Einfluß, namentlich betreffs Vererbung anderer Qualitäten nur dann und nur insoweit ausüben können, als damit zugleich Reduktion der Masse verbunden ist, z. B. dann nicht, wenn die Reduktion der Zahl durch Verschmelzung je zweier Chromosomen zu einem herbeigeführt wird. Ist doch überhaupt die Zahl der Karyosomen nur für eine bestimmte Zeit des Teilungsvorgangs giltig, an eine vorübergehende Anordnungsweise der Moleküle geknüpft, die im Ruhestadium wieder aufgelöst wird¹⁾, und steigert sich doch sogar während der Mitose die reguläre Zahl zu gewissen Zeitpunkten auf das Doppelte und Vierfache. Ist aber das Quantum der spezifischen Kernsubstanz das Maßgebende, so ist eigentlich jede Zellteilung eine Reduktionsteilung. Nur wird bei den somatischen Zellen meistens die Reduktion durch nachträgliches Wachstum wieder ausgeglichen, während bei den Fortpflanzungszellen keine selbständige Substanzvermehrung nachfolgt, sondern nur diejenige, die bei der Befruchtung von der andersgeschlechtlichen Keimzelle geliefert wird. Im Hinblick auf letzteren Zuschuß würde Reduktion auf die Hälfte genügen. Wenn nun bei *Paludina* durch viermalige Halbierung der Samenzellen sogar Verringerung auf ein Sechzehntel erzielt wird, so lehrt dies zunächst, daß dieser Bruch-

1) Die von mehreren Seiten ausgesprochene Meinung, daß die Selbständigkeit der Karyosomen sogar auch während des Ruhezustandes erhalten bleibe, scheint mir für die meisten Fälle in den Thatsachen keine genügende Begründung zu finden und auch dadurch nicht annehmbarer zu werden, daß man den Begriff einer physiologischen Individualität zu Hilfe nimmt, die doch kaum gesondert von morphologischer Individualität zu denken ist.

teil für den Zweck der Befruchtung und zugleich der Vererbung der väterlichen Eigenschaften genügt. Nebenbei aber ist nicht zu übersehen, daß sowohl in unserem wie in vielen anderen Fällen die resultierende Kleinheit der einzeln Samenelemente und deren vermehrte Anzahl besondere Vorteile für die Sicherung der Fortpflanzung mit sich bringen. Auch die Beziehungen dieser Verhältnisse zu allgemeineren Vererbungstheoremen dürften Beachtung verdienen, z. B. betreffs der Idee WEISMANN's, daß es auf Vermeidung der Anhäufung allzu vieler verschiedenartiger Ahnenplasmen ankomme. Obzwar mit jener Art von Reduktion keine unmittelbare Vernichtung lästiger Teilchen verbunden ist, so hat sie doch deren Verteilung und wahrscheinlich auch ungleiche Verteilung auf eine größere Anzahl von Individuen zur Folge, indem ja die individuelle Verschiedenheit der Nachkommenschaft auch auf eine solche der Fortpflanzungszellen, im besonderen der Samenelemente hinweist. Und da die überwiegende Mehrzahl der letzteren zu Grunde geht, ohne zur Funktion zu gelangen, so werden auch dadurch sehr viele atavistische Besonderheiten sogar aus der Species eliminiert werden können. — Ich habe mir diese Hindeutungen gestattet, um die berührten Punkte zur Erwägung zu stellen, ohne hier einer weitläufigeren Diskussion derselben Raum gewähren zu können.

Die Zellen fünfter Generation, die dazu bestimmt sind, durch Umgestaltung zu den haarförmigen Spermien zu werden, sollen eben deshalb im folgenden als Spermioblasten bezeichnet werden¹⁾. Bevor ich aber zu dieser Metamorphose übergehe, muß ich erst noch einiger zuweilen vorher eintretender Besonderheiten gedenken, welche die Samenzellen vierter und fünfter Generation, und zwar mehr das Äußerliche derselben betreffen, jedoch nicht übergangen werden können.

Zunächst habe ich zu erwähnen, daß die Zellen der beiden letzten Generationen zuweilen aus der rundlichen in Kegelform

1) So gern ich die von LA VALETTE, diesem um unsere Kenntnis der Entwicklung der Samenelemente so sehr verdienten Forscher eingeführten Benennungen: „Spermatogonie“ und „Spermatocyte“ annehme, so kann ich doch aus sprachlichen Gründen nicht umhin, seinen dritten Terminus: „Spermatide“ zu vermeiden; denn die damit gemeinten Zellen sind ja nicht Abkömmlinge des Samens, sondern im Gegenteil Vorstufen seiner Elemente. Hingegen deckt sich die oben von mir vorgeschlagene Bezeichnung vollständig mit der Bedeutung der betreffenden Zellen.

übergehen, was mit ihren Aggregationen zusammenhängt. Die aus einer Gruppe gleichzeitig und dicht nebeneinander entstandener Spermatogonien durch wiederholte Zellteilungen hervorgegangene kleinzellige Schar von Spermatocyten nimmt oftmals die Form eines runden, auf einer Seite der Schlauchwandung anliegenden, auf der anderen tief in die Höhlung des Schlauchs vorspringenden Haufens an. Zuweilen nun geschieht es, daß ein solcher Zellkomplex ganz von der Wandung des Schlauchs abgelöst wird, und dann werden die oberflächlich gelegenen Zellen des Haufens kegelförmig. In Dissociationspräparaten sieht man gelegentlich so beschaffene Aggregate kleiner Zellen, oder Fragmente solcher flottieren. Sie sind nicht von einer endothelähnlichen Cysten- oder Follikelhaut umgeben. Daß aber die oberflächliche Lage kegelförmiger Zellen nicht einer Hüllhaut gleichwertig ist, geht daraus hervor, daß die kleinsten dieser Häufchen ganz und gar aus einer Schicht solcher Kegellzellen bestehen, die, radial gestellt, einen kleinen, centralen, von einer strukturlosen Substanz erfüllten Raum umschließen, welche letztere wohl durch Untergang einer oder einiger centraler Zellen entstanden sein mag (Fig. 7a). Wenn nun Komplexe dieser Art durch die Präparation zertrümmert waren, so stieß ich einige Male auf die Thatsache, daß je zwei der kleinen Kegellzellen, die durch ihren Kern von wenig über 2μ Durchmesser als solche der fünften Generation gekennzeichnet waren, daß also je zwei solche Zellen mit ihren Spitzen verwachsen waren, d. h. in einen gemeinschaftlichen kurzen Stiel ausliefen, der entweder homogen erschien oder eine longitudinale Trennungslinie zeigte (Fig. 7b). Ich schließe daraus, daß bei dieser Art der Anordnung die Zweiteilung der kegelförmigen Zellen vierter Generation als Längsteilung auf Grund einer quergestellten Teilungsfigur erfolgen mag, und daß der gemeinschaftliche Stiel ein Rest des Zusammenhangs der beiden Zellenleiber ist. Jedoch ist dieser Modus nur eine ziemlich selten auftretende Variante; denn für gewöhnlich sehe ich auch in der vierten Generation die Teilung an runden Zellen sich vollziehen. Übrigens ist an den so entstandenen Spermioblasten die Kegelform wohl nur ein vorübergehender Zustand; sie dürften sich nach Lockerung des gegenseitigen Zusammenhangs wieder abrunden, bevor sie sich weiter ausbilden. Jedenfalls habe ich während des Bestehens der Kegelform an ihnen nur ein gleichförmiges Cytoplasma und einen bläschenförmigen Kern im Ruhezustande bemerkt, also jeden Anfang einer

Umbildung zu Samenfäden vermißt. — Hinzufügen möchte ich noch, daß die eben geschilderten Erscheinungen zu der oben, S. 436 ff., erwähnten und von mir bestrittenen Annahme eines fadigen Zusammenhangs sämtlicher Zellgenerationen beigetragen haben können.

Ein anderes bemerkenswertes Vorkommnis ist folgendes. Außer den regulären einkernigen Spermioblasten von $5,5 \mu$ Durchmesser finden sich auch, und dann zuweilen ziemlich reichlich, größere von dem doppelten, seltener von dem drei- bis fünffachen Volumen mit je 2—5 Kernen, und zwar Kernen, die in ihrem Durchmesser genau denjenigen der kleinen regulären Spermioblasten gleichen. Ich werde später mitteilen, wie auch diese mehrkernigen Gebilde zur Samenbereitung beitragen, indem aus jedem derselben so viel Samenfäden hervorgehen, als Kerne darin steckten. Hier aber erhebt sich die Frage nach der Entstehungsweise jener mehrkernigen Spermioblasten. Die zweikernigen nun würden sich leicht so erklären lassen, daß an einer Zelle vierter Generation nach Ablauf der Mitose und nach Herstellung der beiden jungen Kerne die Teilung des Zellenleibes ausbleibt. Das mag auch teilweise wirklich so sein. Und für die vierkernigen könnte man allenfalls supponieren, daß das nämliche schon an einer Zelle dritter Generation geschieht, und daß nach einer weiteren Kernverdoppelung die nämliche Trägheit des Zellenleibes sich geltend macht. Hingegen wäre eine solche Deutung auf die drei- und fünfkernigen wegen der ungeraden Zahl nicht anwendbar, auch nicht mit der Hilfshypothese, daß einer der Kerne einen Verdoppelungsprozeß mehr durchlaufen habe als der andere oder die anderen; denn letzterer Vermutung würde absolut entgegenstehen, daß auch bei ungerader Zahl sämtliche in dem Gebilde enthaltenen Kerne den gleichen und richtigen Durchmesser von etwas über 2μ haben. Es bleibt demnach m. E. nur übrig, anzunehmen, daß zuweilen, und wahrscheinlich gerade während der auf S. 489 erwähnten Aggregation die Zellenleiber von 3—5 kleinen einkernigen Spermioblasten miteinander verschmelzen und zu einem mehrkernigen Ganzen sich abrunden, und zwar daß dies im lebenden Körper aus inneren Ursachen geschieht. Denn an Artefakte durch Zusammenfließen während der Präparation ist deshalb nicht zu denken, weil diese Dinge sich nicht bloß nach Dissociation frischen Materials, sondern auch in Schnitten gehärteter Hodenstückchen finden.

IV. Erste Periode der Ausbildung der haarförmigen Spermien.

Ich bin nun an dem Punkte angelangt, wo es sich um die Ausgestaltung der Samenfäden selbst handelt.

Die ersten Veränderungen an den Spermiblasten betreffen fast gleichzeitig den Zellenleib und den Kern, beginnen indes doch wohl etwas früher an dem ersteren. Und zwar wiederholen sich im Cytoplasma ganz diejenigen Vorgänge, die in den früheren Zellgenerationen zur Bildung des Nebenkerns geführt haben. Auch hier entsteht ein solcher auf dem früher geschilderten Wege durch Verdichtung des Cytoplasma. Wenn der Nebenkern fertig ist, so stellt er einen runden, brillant rot sich tingierenden Körper dar, von einem Durchmesser, der reichlich der Hälfte desjenigen des Kerns gleichkommt und letzteren anfangs in einem Punkte berührt, bald aber ihm in etwas größerer Ausdehnung angeschmiegt ist (Fig. 12b). Die Linie, welche durch die Mittelpunkte des Kerns und Nebenkerns bestimmt ist, erweist sich bald als Achse der Zelle, die dann auch zur Achse des Samenfadens wird. Die so vereinigten beiden Körper sind wieder, wie in dem entsprechenden Stadium der früheren Zellgenerationen, von einer Höhlung umgeben, die sie von der jetzt erkennbaren, zwar sehr feinen, jedoch deutlich rot tingierten Zellmembran trennt und von einigen sehr zarten, die organische Verbindung herstellenden Fäden durchsetzt ist. Diese Höhle ist am seitlichen Umfange erheblich breiter als in den beiden Polgegenden, wo sie nur schmale Spalten darstellt. Denn der Kern liegt jetzt sehr excentrisch, dem einen Pole sehr nahe, ohne jedoch die Zellmembran zu berühren; und das Gleiche gilt von dem Nebenkern. Ich werde denjenigen Punkt der Zellperipherie, der dem Kern am nächsten ist, wieder Kernpol, den entgegengesetzten Gegenpol nennen.

Inzwischen hat sich auch der Kern durch folgende Vorgänge wesentlich verändert. Während die Nebenkernbildung im Gange ist, verschmelzen die zahlreichen sehr feinen (hellblauen) Körnchen im Kern zu einigen größeren, jetzt nach Tingierung dunkler blau erscheinenden Klümpchen von unbestimmter Zahl und ungleicher Größe; und diese Klümpchen legen sich bald an die innere Fläche der Kernmembran an, nur denjenigen kleinen Abschnitt derselben freilassend, der mit dem Nebenkern in Berührung und jetzt sogar anscheinend mit diesem verschmolzen ist, hingegen am übrigen größeren Teile der Kernwandung ziemlich gleichmäßig verteilt

(Fig. 12 b). Anfangs etwa halbkuglig nach innen vorspringend, platten sie sich bald darauf ab, indem sie sich ausbreiten, bis sie alle miteinander zu einer kontinuierlichen Schicht zusammenfließen (Fig. 12 c). So ist eine aus kyanophiler Substanz bestehende, relativ dicke innere Belagsschicht der Kernmembran gebildet, die etwa drei Viertel der letzteren überzieht, nur an der Gegenpolseite des Kerns fehlt und an der Grenze dieses Segments mit einem zugeschärften Rande versehen ist. Die blau tingierte Kapsel hat also an der Gegenpolseite ein Loch, das durch den Nebenkern abgesperrt ist (Fig. 12 d). An ihrer Außenfläche ist aus optischen Ursachen die sehr feine eigentliche Kernmembran jetzt kaum mehr oder doch nur schwer zu erkennen. Hingegen ist in ihrer Höhlung jetzt eine überraschende Erscheinung aufgetreten, nämlich ein sehr kleines aber scharf begrenztes, brillant rot gefärbtes Kügelchen, von dem bis dahin nichts zu sehen gewesen war (Fig. 12 b, c, d). Daß es wirklich im Inneren des Kerns liegt, bleibt nicht im geringsten zweifelhaft. Dies hebe ich zur Verhütung eines Mißverständnisses deshalb hervor, weil etwas später ein anderes rot färbbares, freilich beträchtlich größeres Körperchen als außen dem Kerne anliegend zu beobachten ist, wovon noch besonders die Rede sein wird. Hinsichtlich der Herkunft jenes intranukleären Kügelchens aber kann ich nur vermuten, daß es einem Nucleolus entspricht, dessen kyanophile Rinde abgelöst und mit der übrigen gleichartigen Substanz nach der Kernwandung hingezogen wurde. Nach seiner Befreiung, resp. bei seinem ersten Hervortreten liegt es in der Mittelgegend oder sogar näher dem blinden Ende der blauen Kapsel, wandert jedoch allmählich nach der Gegenpolseite hin, bis es mit dem Nebenkern in Berührung tritt und dann in diesem sich verliert (Fig. 12 e). Und zwar scheint es mir, daß es mit diesem wirklich verschmilzt und in dessen Substanz aufgeht. Dies kann deshalb etwas unsicher erscheinen, weil bei meiner Tinktionsweise beide in Rede stehende Körper in gleicher Weise rot gefärbt werden; und es wäre ja denkbar, daß mittels anderer Behandlung selbständige Fortexistenz des Kügelchens auch nach seinem Austritt aus dem Kern sich erweisen ließe. Indessen kann ich dies aus dem Grunde nicht gerade für wahrscheinlich halten, weil auch in den folgenden morphologischen Veränderungen kein Kügelchen von dieser Kleinheit eine besondere Rolle spielt. Nach dem Austritt des (roten) Kügelchens aber enthält die (blaue) Kapsel in ihrem Innenraum keine sichtbaren Formbestandteile mehr, sondern nur eine farblose, homogene, wahrscheinlich flüssige

Substanz. In diesem Zustande verharrt sie längere Zeit, während außerhalb die beiden bald zu schildernden Ereignisse vor sich gehen; und sie behält dabei einstweilen auch ihre durch den Nebenkern gedeckte weite Öffnung, zuweilen mit der geringfügigen Veränderung ihrer Gestalt, daß sie sich gegen die Öffnung hin etwas streckt und verschmälert, so daß der optische Durchschnitt nicht mehr drei Vierteln eines Kreises, sondern mehr einer Hufeisenform entspricht.

Die Vorgänge aber, die sich weiter an dem protoplasmatischen Teil der Zelle abspielen, sind folgende. Zuerst trennt sich von dem Nebenkern etwa ein Viertel seiner Masse ab, und dieses Stückchen wandert längs des Kernumfangs, außerhalb desselben nach der entgegengesetzten Seite der Zelle, wo es sich am Kernpole in der Spalte zwischen Zellmembran und Kern festlegt (Fig. 12 f u. g), mit beiden in Berührung, als ein rundliches, nur durch die Einklemmung etwas abgeplattetes Körperchen. Man kann es auf der Wanderung an den verschiedensten Stellen zur Seite des Kerns ertappen; am öftesten sieht man es natürlich da, wo es zur Ruhe gekommen ist und liegen bleibt, also am vorderen Pole. Es hat etwa das vierfache Volumen des aus dem Kern ausgetretenen roten Kügelchens, so daß keine Veranlassung vorliegt, es mit diesem zu identifizieren. Es ist m. E. einfach eine Portion des den Nebenkern ausmachenden verdichteten Cytoplasmas, mit der Bestimmung, später zu dem Spitzenstück zu werden, mit dem eine Zeit lang der Samenfaden bewaffnet ist. — Insoweit es sich um das Thatsächliche handelt, ist die eben besprochene Erscheinung auch schon von PLATNER (18 e) ganz ähnlich gesehen und ebenfalls zur Anlage des Spitzenstücks in Beziehung gesetzt worden: PLATNER glaubte jedoch das bewußte Körperchen als das Centrosoma der Zelle ansehen zu sollen und nahm somit an, daß das Centrosoma zum Spitzenstück werde, ohne indessen diese Meinung irgendwie zu begründen. Wahrscheinlichkeit kann ich derselben aber nicht zusprechen, zuerst schon deshalb nicht, weil mir jenes Körperchen so leicht sichtbar und auffällig gewesen ist, während ich sonst bei der gleichen Vorbehandlung selbst in denjenigen Stadien, wo Centrosomen am ehesten zu erwarten und am leichtesten zu finden gewesen wären, beim besten Willen nichts von solchen zu erkennen vermochte. Außerdem ist jenes Protoplasma-klümpchen im Verhältnis zum Durchmesser der Zelle doch wohl viel zu groß für ein Centrosoma. Ich kann es wohl für möglich halten, daß das Material des früheren Centrosoma mit darin steckt, aber

nicht jener Identifizierung beipflichten, vielmehr nur feststellen, daß die Substanz des Spitzenstücks ein abgetrennter Teil des Nebenkerns ist.

Einige Zeit darauf zerfällt der größere Rest des Nebenkerns von neuem, und zwar diesmal durch zwei aufeinander senkrechte Meridianfurchen in vier gleiche Teile, die auf den Innenseiten aneinander haften bleiben, nach außen hingegen mit getrennten Wölbungen vorspringen. Man sieht deshalb bei der Aufsicht auf den Gegenpol eine sehr zierliche vierteilige Rosette (Fig. 12 *q*); und noch deutlicher ist das Bild, wenn solche Rosetten, durch den Schnitt von ihren Zellen quer abgetrennt, isoliert im Gesichtsfelde liegen und bei der Aufsicht ihren Querschnitt darbieten. In der Seitenansicht der Zelle wird der gefurchte Zustand des Nebenkerns fast nur dann deutlich, wenn eine der Trennungsfurchen in der oberen Mittellinie liegt; und dann hat es den Anschein, als sei der Nebenkern nur in zwei Stücke zerfällt (Fig. 12 *g, h*). Allein die ersterwähnten Bilder lassen über die Vierteilung nicht den geringsten Zweifel übrig. — Übrigens hat schon BRUNN in diesem Stadium an der gleichen Stelle vier, gleichsam die Ecken eines Quadrats einnehmende Pünktchen bemerkt, die er jedoch glaubte für den optischen Ausdruck eines Ringes halten zu müssen, der flaschenhalsähnlich dem geöffneten Kern aufsitze. Die vier Pünktchen waren jedenfalls die vier vorspringenden Ecken der Rosette. Thatsächlich aber deckt diese die überdies schon verengte und bald ganz verschwindende Öffnung der blauen Kapsel zu. Der Randteil der letzteren biegt sich nämlich um diese Zeit allmählich nach innen und wächst dann zusammen, so daß schließlich der rosettenförmig gewordene Nebenkern einer geschlossenen Hohlkugel anliegt.

Der Nebenkern ist also jetzt ein durchfurchter solider Körper.

Als solchen hat ihn auch schon PLATNER (18 *e*) ganz richtig erkannt und als vierteiligen Nebenkern gedeutet, auch eine Abbildung der Rosettenform, ähnlich der meinigen, geliefert, jedoch mit der Abweichung, daß von ihm im Centrum der Rosette ein besonderer kleiner Kreis gezeichnet ist, um den herum sich die vier anderen Stücke gruppieren. Das centrale Ringlein soll den optischen Querschnitt eines Fadens bedeuten, der nach PLATNER'S Annahme, vom Kern ausgehend, die Mitte der Rosette durchsetzen, dann in den Schwanz übertreten und hier dessen Achsenstrang darstellen soll, was mutatis mutandis auch mit BRUNN'S Angaben übereinstimmen würde. Ich muß indes sagen, daß ich von einem solchen Faden weder im Querschnitt noch in der Längsansicht etwas habe sehen können. Gerade die erwähnten isolierten Rosetten meiner Präparate zeigen, daß die vier

Teile mit ihren inneren, etwas abgerundeten Kanten nahe zusammenstoßen, so wie ich es in Fig. 12 g gezeichnet habe. Ein so dicker Centralfaden, wie ihn PLATNER sowohl innerhalb der Rosette wie auch an Längsansichten der Zelle außerhalb jener dargestellt hat, existiert ganz gewiß nicht. Sollte aber ein viel feinerer, etwa demjenigen gleichend, den PLATNER selbst in den viel größeren Spermiblasten der Pulmonaten abbildet, wirklich existieren, so würde er dennoch in unserem Falle unsichtbar bleiben; denn innerhalb der Rosette würde er sich in dem Schatten der in der Achse zusammenstoßenden Teile verlieren, und außerhalb derselben würde er keinen Raum finden, sich zu zeigen, weil die Rosette vorn dem Kern und hinten der Zellmembran dicht anliegt. In letzterem Punkte kann ich auch die PLATNER'schen Figuren 9 e u. f seiner Taf. IX, die hinter der Rosette noch ein reichliches Protoplasmafeld enthalten und damit schon in diesem Stadium die Zelle birnförmig erscheinen lassen, nicht naturgetreu finden. Ich darf aber nicht unterlassen zu erwähnen, daß in solchen Präparaten, die aus Härtung mit FLEMMING'scher Lösung hervorgegangen sind, in der Achse der Rosette oder nach deren Verlängerung in der Achse des entsprechenden Stäbchenbündels ein feiner schwarzer Strich sichtbar ist, den ich indessen glaube nur für einen Osmium-Niederschlag in dem kapillaren Raume zwischen den vier Kanten der Stäbchen halten zu müssen. Denn er reicht immer nur so weit wie der letztere; weder am Kern noch jenseits nach dem Schwanz zu ist eine Fortsetzung der Linie zu sehen, obwohl in den späteren Stadien nach der letzteren Richtung hin Raum vorhanden wäre. Übrigens werde ich bald zeigen, daß bei *Paludina* das Hauptmaterial für den Achsenstrang in dem rosettenförmigen Körper selbst gegeben ist.

Zuvor will ich nur noch bemerken, daß sich inzwischen die Gesamtgröße der ganzen noch runden Zelle vermindert hat, indem ihr Durchmesser von $5,5 \mu$ auf $4,5 \mu$ herabgegangen ist, hauptsächlich durch Abgabe von Zellsaft nach außen, d. h. durch Austritt derjenigen Flüssigkeit, die zwischen der Zellmembran und dem Kern-Nebenkern-Komplex angesammelt war, also unter Verschmälerung des betreffenden Spaltraums, zum geringeren Teile auch durch eine eben merkliche Zusammenziehung des Kernbläschens selbst. Indem dann beides weiter fortschreitet, geschieht die Kernverkleinerung in stärkerem Maße. Das Kernbläschen kontrahiert sich bis zum Verlust seiner Höhle und wird dadurch zu einer soliden und kompakten, durch die Tinktion dunkelblauen Kugel von ca. $1,5 \mu$ Durchmesser (Fig. 12 i). Jedoch erfolgt diese Kontraktion nicht in einfacher Weise konzentrisch. Vielmehr ist sie mit besonderen Verschiebungen der kyanophilen Substanz verbunden, die ein ganz eigentümliches Zwischenstadium verursachen (Fig. 12 h). Eine Zeit lang nämlich erscheint die blaue, jetzt ge-

schlossene Kapsel im optischen Querschnitt nicht als einfacher Ring von rund herum gleichmäßiger Dicke, sondern in der durch die Figur wiedergegebenen Form. Die Kernsubstanz ist hauptsächlich in zwei quergestellten plankonvexen Menisci angesammelt, die einen Spalt zwischen sich lassen, der zuweilen von einigen sehr feinen Fäden überbrückt ist. Am Rande dieses Spalts wird vermutlich der Rest des Kernsafts ausgetrieben; denn der Spalt wird immer schmaler, bis schließlich die beiden blauen Schichten in Berührung kommen und zu einem soliden Körper vereinigt werden (Fig. 12 i).

Der Zwischenraum zwischen diesem jetzt kompakten Kern und der Zellmembran ist durch die Verdichtung des ersteren kaum breiter geworden, weil zugleich die Zelle im ganzen durch Abgabe von Flüssigkeit nach außen sich weiter zu verkleinern fortfährt und schließlich auf $3,5 \mu$ im Durchmesser reduziert wird. Der Achsenteil dieses kleinen Bläschens ist jetzt durch eine Kette von drei soliden Körperchen eingenommen, deren mittelstes blau, die anderen rot tingiert sind, nämlich der Anlage des Spitzenstücks, der Kernkugel und dem viergeteilten Nebenkern. An den Polen berühren der erst- und der letztgenannte die Zellmembran; seitlich aber wird die Verbindung der letzteren mit den axialen Teilen nur durch einige wenige, überaus feine Fädchen vermittelt, die nicht immer gut erhalten sind.

Nun tritt die erste Spur des Schwanzes in die Erscheinung als ein äußerst feiner und kurzer fadenförmiger Auswuchs der Zellmembran an der Stelle, wo ihr innen der rosettenförmige Körper anliegt (Fig. 12 i). Von einem direkten Zusammenhang mit diesem oder von einem Durchtreten durch denselben, oder gar von einem Hineinragen des Fädchens in den Kern, der ja übrigens jetzt ein kompakter Körper ist, ist nichts zu sehen; und ich habe keinen Grund, etwas anderes anzunehmen, als daß das Fädchen einfach aus der Zellmembran, dieser gesonderten peripherischen Schicht des Cytoplasma, hervorgesproßt ist. Nach seiner ersten Entstehung ist dieser Anhang so zart und, wie es scheint, auch so leicht einer Schädigung durch die angewandten Reagentien fähig, daß er nicht sehr oft in seiner natürlichen Form zu sehen ist. Dann an Länge und Stärke wachsend, wird er allmählich widerstandsfähiger und leichter erkennbar. Sein Wachstum erfolgt, wie ich vermuten muß, nur auf Kosten der Zellmembran, die ja auch weiterhin bis fast zur Unkenntlichkeit dünn wird. Diesen Anhang können wir zutreffend als „primären Schwanzfaden“ benennen. Denn er repräsentiert nicht die Anlage

des ganzen künftigen Schwanzes, sondern nur die Anlage desjenigen hinteren, etwa $\frac{2}{5}$ des ganzen Schwanzes ausmachenden Abschnitts, den schon BRUNN unterschieden hat, und den ich als Endstück aufgefaßt habe (1 h). Zu der Vervollständigung durch das Hauptstück ist aber schon das Material vorbereitet.

Überhaupt sind jetzt schon alle Formbestandteile des haarförmigen Spermiums der Anlage nach vorhanden; und die kommenden Vorgänge laufen im wesentlichen auf Längsstreckung der gegebenen Teile hinaus. Bei ihrer Schilderung werde ich mich von nun an gelegentlich der jetzt berechtigten und unzweideutigen Bezeichnungen: „vorn“ und „hinten“ bedienen.

Die erste der weiteren Veränderungen betrifft den rosettenförmigen Körper mit seiner Umgebung. Er streckt sich in der Richtung seiner Achse mehr und mehr aus, indem er unter Verringerung seines Querdurchmessers länger wird, und zwar mit seinem hinteren Ende kaudalwärts vordrängt und dabei den hinteren Pol der Zellmembran mit dem hier angefügten Schwanzfaden vor sich her treibt. Dadurch wird auch die hintere Hälfte der Zellmembran in die Länge gezogen, und die ganze Zelle erhält damit Birnform (Fig. 12 h, i). Selbstverständlich beteiligen sich an der Längsstreckung des Nebenkerns alle vier Lappen der Rosette; und zwar werden diese hiermit in vier Stäbchen verwandelt, die, dicht aneinander gefügt, mit je einer Kante in der Achse zusammenstoßen. — Diese Beobachtung stimmt in der Hauptsache überein mit einer Wahrnehmung, die schon BÜTSCHLI (5 b) bei der Samenbildung von mehreren Insekten und LA VALETTE (15 d) bei *Stenobothrus dorsalis* gemacht haben, indem diese Forscher ebenfalls ein Paar in der Zelle aus dem Nebenkern gebildete längliche Körperchen mit dem Schwanz in Verbindung treten sahen. Wenn sie nun in den erwähnten Fällen nur zwei solche Stäbchen fanden, so ist demgegenüber bei *Paludina* an der Vierzahl nicht zu zweifeln. Übrigens ist diese Differenz nicht von großem Belange, um so weniger, als die Zusammensetzung aus vier parallelen Stäbchen nur ein vorübergehender Zustand ist.

Indem nämlich das Stäbchenbündel sich immer mehr in die Länge streckt, verliert sich mit der Zeit jede Spur der Längsfurchung. Die vier Stäbchen scheinen zu einem einheitlichen homogenen Cylinder zu verschmelzen. Mit der fortschreitenden Streckung ist natürlich auch Verschmälerung verbunden, jedoch soviel ich sehe, keine Substanzverminderung, die LA VALETTE in seinem Falle angenommen hat. — Es ist übrigens noch die sonder-

bare Thatsache zu erwähnen, daß während der Längsstreckung des aus der Verschmelzung der Stäbchen entstandenen Körpers dessen Wurzelteil anfangs stärker verschmälert wird als der distale Teil, ja anscheinend sogar Substanz aus dem ersteren nach dem letzteren hinströmt, so daß dieser Körper für eine Zeit lang die Form einer schlanken Keule annimmt (Fig. 12 k) und erst mit weiterer Streckung wieder cylindrisch wird. Das hat schon BRUNN ebenfalls bemerkt, abgesehen von seiner Deutung dieses Körpers als einer aus der Kernwandung herausgewachsenen Röhre, von der er sagt: „Die dickste Stelle befindet sich immer am entferntesten vom Kopfteil, und erst wenn die Verdickung bis zum Ende des definitiven Mittelstücks vorgeschritten ist, findet eine vollständige Ausgleichung der Stärke dieses Abschnitts statt“ (12, S. 463).

Dies ist außerdem auch insofern richtig, als der Stäbchenkörper in der That die Hauptmasse des vorderen Abschnitts des Schwanzes liefert. Und zwar geschieht dies nach meiner Beobachtung auf folgende Weise. Je mehr er sich in der Richtung nach hinten ausstreckt, desto mehr wird durch ihn auch die hintere Hälfte der Zellmembran in die Länge gezogen und zu einem ihn umgebenden Schlauche umgewandelt, bis sie sich schließlich dem axialen Cylinder dicht anschmiegt (Fig. 12 i, k, l). Damit ist derjenige vordere Abschnitt des Schwanzes angelegt, den BRUNN als sehr verlängertes Mittelstück angesehen hat, den ich jedoch in meiner früheren bezüglichlichen Abhandlung (1h) aus dort entwickelten Gründen als vereinigttes Mittel- und Hauptstück, resp. als ungliedertes Hauptstück gedeutet habe, und dem sich hinten der inzwischen gewachsene Primärfaden als Endstück anschließt. Die Teile brauchen sich nur weiter in die Länge zu dehnen, um den beim reifen Spermium wahrzunehmenden Zustand zu erreichen (Fig. 12z σ^1 σ^2).

Indes ist bei letzterem an dem Schwanze weniger Detail der Struktur zu erkennen als in dem eben geschilderten Entwicklungsstadium. Denn der vom Nebenkern gelieferte Centralteil des Hauptstücks ist offenbar ein Achsenstrang. Nun ist in den ausgereiften haarförmigen Spermien von Paludina auch im vorderen Abschnitt kein Achsenfaden zu erkennen, woran vermutlich die außerordentliche Feinheit des ganzen Gebildes schuld hat. Durch die eben erläuterte Entwicklung wird es aber in noch höherem Grade als außerdem durch Gründe der Analogie wahrscheinlich, daß auch im reifen Zustande das Hauptstück des Schwanzes von einem Achsenfaden durchzogen sein dürfte, dessen Hülle eine Fort-

setzung der Zellmembran ist und hinten in einen soliden Ausläufer, das Endstück, übergeht. Der in der Entwicklungszeit noch bestehende Unterschied in der Dicke der beiden Abschnitte wird mit der Zeit viel geringer, sowohl durch weitergehende Längsstreckung des vorderen als auch durch Dickenwachstum des hinteren, namentlich in seinem an den ersteren anstoßenden Teile. Schließlich ist der Übergang des einen in den anderen ein so glatter, oder doch in einzelnen Fällen die Absetzung an dieser Stelle eine so minimale, daß es nur durch aufmerksamste und feinste Beobachtung BRUNN hat gelingen können, die Gliederung des Schwanzes in zwei Abschnitte zu erkennen, was ich dann bestätigen konnte. Wegen des Näheren muß ich auf BRUNN's (4) und meine bezügliche Abhandlung (1h) verweisen. Wenn aber meine durch die Entwicklungsgeschichte gestützte Auffassung richtig ist, daß der vordere Abschnitt derjenige Teil des Schwanzes ist, der unter Mitbeteiligung des Nebenkerns auf die beschriebene Weise entstand, daß also der durch den Nebenkern gelieferte Achsenfaden gerade so weit reicht wie der vordere Abschnitt, so liegt darin ein weiterer, zu den von mir früher beigebrachten hinzutretender Grund dafür, den vorderen Abschnitt nicht mit BRUNN für ein ungewöhnlich langes Mittelstück zu betrachten, sondern das Hauptstück darin inbegriffen zu sehen; denn wo sonst ein Achsenfaden deutlich ist, beschränkt er sich ja nie auf das Mittelstück allein. Wenn andererseits mehrfach als etwas Typisches angenommen worden ist, daß am hinteren Ende aller Samenfäden der Achsenstrang nackt hervortrete, so muß ich es mir versagen, hier in eine umfassende Diskussion dieser Ansicht, die ich nicht teile, einzutreten, und will nur bemerken, daß die Entstehungsweise des Schwanzes bei *Paludina* nicht für jene Ansicht spricht. Es wäre ja allenfalls denkbar, wenn es auch nicht beobachtet ist, daß der Achsenstrang nachträglich auch in den Primärfaden, also in den hinteren Abschnitt hineinwachse; aber ein besonderer Umstand spricht selbst gegen eine solche Vermutung, nämlich die sehr geringe Färbbarkeit des Endstücks, durch die es besonders von dem vorderen Abschnitte absticht, da ja der Achsenstrang gewöhnlich der am stärksten färbbare Bestandteil des Schwanzes ist.

Nun muß ich aber wieder auf einen früheren Zeitpunkt zurückgreifen, um die während der Ausbildung des Schwanzes an den vorderen Teilen des Spermioblasten sich vollziehenden Umgestaltungen zu schildern, was mit wenigen Sätzen geschehen kann. Zu der Zeit, wo der rosettenförmige Nebenkern sich schon etwas ge-

streckt hat und damit die ganze Zelle birnförmig geworden ist, also etwa zwischen den in den Figuren 12i und 12k veranschaulichten Zuständen, beginnt auch der in Gestalt einer soliden, blaugingierbaren Kugel vorhandene Kern sich in der Richtung der Achse auszustrecken und damit den vorn ihm anliegenden Protoplastmakörper und durch diesen auch den vorderen Pol der Zellmembran vor sich her zu schieben. Der Kern selbst wird dabei zuerst ellipsoidisch (Fig. 12k), dann zu einem Cylinder mit gewölbten Endflächen (Fig. 12l), der schließlich eine Länge von etwa 5μ erreicht. Sodann aber wird er am vorderen Ende zugespitzt (Fig. 12m). Und damit ist eine erste Periode seiner Umgestaltung vollendet. — Die Zellmembran schließt sich natürlich dieser Längsdehnung und Formveränderung an, wodurch sie dem seitlichen Umfange des cylindrischen Kerns bis fast zur Berührung genähert wird. Doch bleibt diese schlauchförmige Hülle noch lange deutlich sichtbar, ja sogar längere Zeit noch durch einen feinen Spalt von dem Kern getrennt, während sie sich im Bereiche des Schwanzes schon dicht an den Achsencylinder angelegt hat und deshalb hier bei ihrer Zartheit und der übereinstimmenden Färbung nicht mehr zu unterscheiden ist. Hierdurch und durch den Unterschied in der Breite ist auch eine scharfe Absetzung des Schwanzes von dem vorderen Komplex bedingt. — Das vor dem Kern befindliche Cytoplasma - Körperchen bleibt während der Streckung des Kerns eine Zeit lang noch rundlich. Gegen das Ende jenes Vorgangs aber streckt es seinerseits eine Spitze nach vorn hinaus und wird so zu einem erst stumpfen, dann schlankeren Kegel, dem sich der vorderste Teil der Zellmembran in der nämlichen Form anschließt. So dokumentiert jetzt dieser, nach dem vorderen Ende gewanderte und hier festgelagerte Teil des Nebenkerns auch durch die Form, die er annimmt, seine Bestimmung als Spitzenstück.

Mit den eben beschriebenen Veränderungen ist eine erste Periode der Ausbildung des haarförmigen Spermiums abgeschlossen und eine vorläufige Form desselben hergestellt, die einige Zeit hindurch ziemlich unverändert anzudauern scheint. In dieser Zeit aber und bei dieser Form bekommt das Spermium schon spontane Beweglichkeit und damit die Fähigkeit zur Ortsbewegung, wie gelegentlich in Zupfpräparaten wahrzunehmen ist. Und diese ihre physiologische Eigenschaft ist, wie sich zeigen wird, von Wichtigkeit für die Einleitung der zweiten Periode ihrer Ausbildung.

Hier muß ich nun noch einige Worte den zugehörigen mehrkernigen Spermioblasten widmen, die ich oben auf S. 490 geschildert habe. Die Beobachtung lehrt, daß ein solcher Cytoplasmaballen mit mehreren Kernen fünfter Generation, ohne einstweilen zerteilt zu werden, als gemeinschaftliche Entwicklungsgrundlage für mehrere Samenfäden fungiert, deren so viele aus ihm gebildet werden, als er Kerne enthält¹⁾. Und zwar geschieht dies betreffs der axialen Teile jedes einzelnen Spermiums ganz nach dem Modus, den ich für die einfachen Spermioblasten oben genau beschrieben habe, nur daß eine Zeit lang eine gemeinschaftliche Zellmembran die mehrfachen Anlagen umschließt. Zuerst bildet sich durch Verdichtung aus dem Cytoplasma für jeden Kern ein Nebenkern, an ersteren sich dicht anlegend, und dann treten beide in die früher geschilderten Veränderungen ein. Auffallend ist dabei, daß die mit diesem Vorgange verbundene Rarefizierung des peripherischen Cytoplasma nicht so weitgehend ist, wie in den einfachen Spermioblasten und in den früheren Samenzellen. Die weitere Umbildung habe ich in solchen Komplexen so weit verfolgen können, bis nach Abgabe des Anlagematerials des Spitzstückes der Rest des Nebenkerns eingekerbt, also rosettenförmig geworden war. Vielleicht geht es auch innerhalb der gemeinschaftlichen Zellmembran noch etwas weiter. Jedenfalls muß aber kurz vor oder während der Längsstreckung dieser Anlagen auch Ein- und Durchschnürung der Zellmembran, also Sonderung in zwei oder mehrere Individuen erfolgen. Denn Zusammenhang weiter ausgebildeter, d. h. bis zu der Form der Fig. 12 h, i etc. gelangter Samenkörper war nie wahrzunehmen, würde mir aber bei seiner Auffälligkeit wohl nicht entgangen sein. — Bemerkenswert ist aber noch die folgende Thatsache. Die gegenseitige Stellung der Achsen der innerhalb einer gemeinschaftlichen Hülle sich entwickelnden Individuen ist keine bestimmte, sondern von Fall zu Fall wechselnd. Bei den Doppel-Spermioblasten sind bald die beiden Kerne parallel und gleich gerichtet, so daß die beiden Nebenkernne nahe bei einander liegen, bald divergieren die beiden Achsen mehr oder weniger, selbst bis zu 180°, d. h. bis zur Oppositionsstellung (Fig. 12 t, u, v). Bei mehr als zwei Kernen

1) Ähnliche Doppelspermioblasten scheint auch LA VALETTE bei *Blatta germ.* beobachtet zu haben (15 d, S. 4).

sind die Streckungsachsen meist untereinander divergierend, und zwar in unregelmäßiger Weise. Vierkernige Komplexe zeigen indessen zuweilen eine so regelmäßige Anordnung, wie sie in Fig. 12 w wiedergegeben ist. Diese Verschiedenheiten scheinen also die Entwicklung nicht merklich zu beeinflussen, nur daß später die zur Sonderung der Individuen führenden Einschnürungen der Zellmembran sich jenen Stellungen werden anpassen müssen. — Es drängt sich da eine Frage hervor, die auch am einfachen Spermioblasten aufgeworfen werden könnte. Was ist eigentlich die Ursache, daß die Achse in diese oder jene Richtung zu liegen kommt? Ist das Bestimmende diejenige Stelle des Kerns, an die sich gerade der Nebenkern angelegt hat, und ist die Öffnung der Kernkapsel nach dieser Seite hin eine Folgeerscheinung? Oder ist schon vorher im Kern eine polare Differenzierung gegeben und zugleich dafür gesorgt, daß der Nebenkern sich gerade an einen Pol, und zwar an einen bestimmten Pol anfügt? Es läßt sich ja einstweilen diese Alternative nicht entscheiden; aber das erstere dürfte doch wohl wahrscheinlicher sein.

Im ganzen aber verdient die Thatsache der zwei- und mehrkernigen Spermioblasten noch von einer anderen Seite her Beachtung. Denken wir uns einmal, daß bei Ausbildung zweier Individuen in einer Zelle deren Trennung nicht vollständig durchgeführt würde, so entstände ein Doppel-Spermium, dessen Paarigkeit nicht durch nachträgliche Kopulation zweier Samenfäden herbeigeführt wäre, was bisher nur bei *Dytiscus* von mir wahrgenommen worden ist, sondern in der Entstehung als Zwillingswesen ihre Ursache hätte. Bei *Paludina* ereignet sich das nicht, wie es scheint, auch nicht ausnahmsweise. Es ist indes die Frage, ob nicht manche Vorkommnisse bei anderen Tieren auf ähnliche Verhältnisse zurückzuführen sein möchten. Möglicherweise könnten sich so die von SELENKA (25) bei *Didelphys* beobachteten Zwillingsspermien erklären (vgl. meine Bemerkung in 1g), deren Genese noch nicht untersucht ist. Mit noch größerer Wahrscheinlichkeit ist anzunehmen, daß etwas dem hier Vorausgesetzten Entsprechendes in der Spermatogenese von *Mysis* im Spiele ist, wo nach den Angaben von SARS aus je einer Samenzelle durch „Furchung“ derselben drei Spermien gebildet werden, die noch lange zusammenhängen.

Die oben als Endergebnis der ersten Periode der Ausbildung geschilderte Form des eigentlichen *Paludina*-Spermiums wird später einer Weiterentwicklung zugeführt, zu der ich jedoch nicht un-

mittelbar übergehen kann. Wir müssen die noch unfertigen Gebilde für eine Weile aus dem Auge lassen. Denn der Fortschritt ihrer Umgestaltung ist an sehr merkwürdige Bedingungen geknüpft, hängt von neu hinzutretenden äußeren Verhältnissen ab. Nachdem nämlich jener Zustand erreicht ist, entwickeln sich diese Gebilde nicht an dem Orte weiter, an dem sie sich bisher befunden haben, d. h. an der Wandung des Hodenschlauchs, und auch nicht in fortbestehender Zusammenhäufung mit ihresgleichen, sondern nach Zerstreung der Gruppe in einer Art von Symbiose mit den wurmförmigen Samenelementen. Ich muß deshalb vorerst von letzteren sprechen, und zwar zunächst von ihrer Entstehungsweise, hinsichtlich deren ich an den Angaben früherer Beobachter einiges zu berichtigen und Wesentliches hinzuzufügen habe.

V. Entwicklung der wurmförmigen Spermien.

Diese im reifen Sperma von *Paludina* neben den haarförmigen Elementen in so großer Menge vorhandenen sonderbaren Gebilde, zu deren Charakteristik ich bei einer früheren Gelegenheit (1 h) einen neuen wesentlichen Punkt, nämlich den gänzlichen Mangel an kyanophiler Substanz hinzugefügt habe, entstehen, wie schon LEYDIG und dann auch die anderen Untersucher fanden, gleichzeitig mit den haarförmigen und neben diesen in je einem und demselben Hodenschlauche, und wie diese aus besonderen Häufchen oder Gruppen von Zellen, die sich alle ganz oder doch beinahe auf dem gleichen Punkte der Entwicklung befinden. Doch kommen ausnahmsweise auch vereinzelte Elemente dieser Art vor.

Hinsichtlich ihrer Abstammung stimmen nun beide neueren Beobachter, BRUNN betreffs *Paludina* und KOEHLER betreffs *Murex brandaris*, darin überein, daß sie ihren ersten Ursprung gerade so wie die Stammzellen der haarförmigen Elemente aus dem Keimlager, d. i. dem protoplasmatischen Belage der Wandung des Hodenschlauchs herleiten, nämlich aus je einem hervorknospenden, einen Kern einschließenden Auswuchs desselben. Ich habe alle Ursache, mich dem anzuschließen, obwohl diese Annahme bei *Paludina* gewissermaßen nur auf einem Rückschlusse beruhen, nicht schon während dieser Entstehung selbst erkannt werden kann. Denn man kann es bei unserer Species nicht so, wie dies nach KOEHLER bei *Murex* der Fall sein soll, den einzelnen hervor-

knospenden oder eben abgelösten Samenzellen ansehen, welche der beiden Entwicklungsrichtungen sie einschlagen werden. Vielmehr sind sie anfangs, so tief die Beobachtung einzudringen vermag, alle ganz gleich beschaffen; ja sie machen sogar eine Zeit lang ähnliche Veränderungen durch; und erst in einem späteren Zeitpunkte wird eine Differenzierung der Entwicklungstendenz evident.

Nach BRUNN soll nun dieser Zeitpunkt nicht bloß sehr weit ab liegen, sondern sogar in eine späte Generation der Samenzellen fallen, und zwar in seine vorletzte, die seine vierte Kerngeneration, obwohl nur seine zweite Zellgeneration ist und meiner vierten Zell- und Kerngeneration entsprechen würde (vgl. oben S. 480). Es sollen nach BRUNN die auf die Wurmform hinzielenden Zellen nur „eine Teilung weniger durchmachen“ als die anderen. Dem kann ich nun durchaus nicht beistimmen. Zu diesem Ergebnisse kann BRUNN nur gelangt sein durch Unterlassung von Messungen und durch irrtümliche Schätzung der Größe der betreffenden Zellen; denn nur aus der Größe läßt sich ja die Nummer der Generation erschließen. Nach meinen unzweideutigen Befunden aber tritt gewöhnlich schon in der ersten Zellgeneration, der auch die Spermatogonien angehören, einige Zeit nach deren Ablösung von der Schlauchwand und nach Ablauf gewisser, ihnen allen gemeinsamer Vorgänge die differente Weiterentwicklung ein, die für die zweite Art von Zellen dadurch charakterisiert ist, daß es bei ihnen überhaupt gar nicht zu einer Zellteilung kommt, vielmehr statt deren zur Umbildung in ein wurmförmiges Spermium. Ich will nicht unterlassen, schon hier hinzuzufügen, daß im Hochsommer manchmal ausnahmsweise auch einige Zellen der zweiten Generation die abweichende Entwicklungsrichtung einschlagen, worauf ich noch zurückkommen werde. Das wären also Zellen der viertletzten Generation. Hingegen habe ich an noch kleineren, also an solchen dritter und vorletzter Stufe bisher nie etwas Einschlägiges bemerkt. Sehen wir also zunächst von jenem seltenen Vorkommnis ab, so sind die Bildungszellen der wurmförmigen Spermien — die ich, um ein kurzes Wort zu haben, weiterhin W-Zellen nennen will — es sind also die W-Zellen gewöhnlich Schwesterzellen der Spermatogonien. KOEHLER (14) ist bei *Murex brand.* zu dem gleichen Resultate gekommen. Doch sind betreffs einiger besonderen Punkte auch Verschiedenheiten

der beiden Fälle zu konstatieren. Außerdem mischen sich bei dem letztgenannten Autor einige dem herrschenden Sprachgebrauche entgegengesetzte Bezeichnungen, resp. abweichende Anwendungen bekannter Termini ein, die an der Übereinstimmung des Sachlichen irre machen können, wenn man nicht die einzelnen Angaben genau vergleicht. Er nennt die W-Zellen: „cellules mères des spermatozoïdes vermiformes“, obgleich auch nach seiner Darstellung keine Teilung derselben stattfindet, sondern jede derselben sich in toto zu einem wurmförmigen Samenkörper umbildet. Diese seine cellules mères sind also die Vergleichsobjekte¹⁾. Ferner nennt er „Spermatogonien“ nicht bloß gewisse Zellen erster Generation, sondern auch deren durch mitotische Teilung erzeugte Tochterzellen, obwohl letztere kleiner sind und anders beschaffene, mehr denen der Spermatoocyten ähnliche Kerne haben²⁾. Sehen wir aber hiervon ab und halten wir uns an die zugehörigen Zellen erster Generation, die eigentlichen Spermatogonien, so ist der Schluß, zu dem er gelangt, wohlbegründet, und dieser ist in der Hauptsache mit meinem Befunde in Übereinstimmung. Jedoch sind folgende sachliche Ungleichheiten hervorzuheben. Bei *Murex* lassen sich nach KOEHLER die W-Zellen schon während ihrer Entstehung und namentlich unmittelbar nach ihrer Ablösung als solche erkennen und von den eigentlichen Spermatogonien unterscheiden, denn sie sind von vornherein größer, bekommen eine viel schärfere Begrenzung, sogar eine Hüllmembran, fallen dann in die Höhlung des Schlauchs hinein und wachsen hier noch mächtig an, bevor sie in die ihnen zukommende Umbildung eintreten, während die Spermatogonien kleiner, angeblich nackt und zart begrenzt, überdies längere Zeit durch feine Fädchen mit der Schlauchwand und untereinander verbunden sind und nicht an Volumen zunehmen. Bei *Paludina* nun sind ganz gewiß so

1) „Les cellules mères (d. i. die W-Zellen) se développent parallèlement aux spermatogonies; elles ont la même valeur morphologique que ces dernières; mais il n'y a entre ces deux sortes d'éléments aucune relation de filiation. C'est donc au stade de spermatogonie, que les éléments du testicule commencent à subir une évolution différente (14, S. 121).

2) „Les cellules filles sont des spermatogonies. . . . On remarque, que les spermatogonies les plus âgées, un peu plus petites que les plus jeunes, qui sont voisines de la paroi des ampoules testiculaires, ont un noyau plus homogène , qui se rapproche du noyau des spermatoocytes“ (ibid. S. 122).

bedeutende oder überhaupt auffallende anfängliche Verschiedenheiten beider Arten von Zellen nicht vorhanden; ja ich habe auch feinere nicht bemerkt. Die Zellen der ersten Generation und ebenso auch eventuell die aus der oben, S. 431 ff. geschilderten intermediären Proliferation hervorgehenden, also sämtliche in die spezifischen Weiterbildungen eintretende Zellen sind anfangs alle gleich beschaffen, im Bau und an Größe; und keine von ihnen nimmt nach ihrer Ablösung und Abrundung an Volumen zu. Auch wenn später in einigen von ihnen die zur Wurmform führenden Veränderungen in Gang kommen, so haben diese W-Zellen noch einen Durchmesser von 13—14 μ wie die Spermatogonien. Bei der längere Zeit bestehenden Gleichheit des Aussehens der beiden nur durch ihre Tendenz verschiedenen Zellenarten kann ich unter Verweisung auf das oben, S. 438—441, über die Spermatogonien Gesagte unterlassen, die anfängliche Beschaffenheit der W-Zellen besonders zu beschreiben und mich jetzt zu ihren kommenden eigentümlichen Schicksalen wenden.

Betreffs ihrer eigenartigen Weiterentwicklung sind nun die Ergebnisse BRUNN's bei *Paludina* und KOEHLER's bei *Murex* im wesentlichen ziemlich gleichlautend. Den ersten Abschnitt der Umbildung schildern beide Forscher folgendermaßen. Der Kern der Zelle werde zuerst homogen und zerfalle dann in eine nicht genau bestimmte Anzahl von Stücken durch einen einfachen Prozeß der Fragmentation, der mit regulärer Teilung nichts gemein habe. Von diesen Zerfallstücken erhalte sich jedoch nur eines, während die übrigen weiter zerfallen und dann ganz aufgelöst werden. Das übriggebliebene große Kernfragment aber, das von rundlicher Gestalt ist, lege sich an einen Punkt der Zellperipherie an und sende hier eine Anzahl feiner Fäden aus, die durch die Zellbegrenzung hindurch nach außen vordringen, wo sie auch bald, während die Zelle noch kuglig ist, in schlagende Bewegung geraten und das Wimperbüschel darstellen, das bei *Paludina* auch an den reifen wurmförmigen Spermien dauernd existiert und thätig ist, während es bei *Murex* bei Zeiten wieder verschwindet. Durch die Aussendung der Wimpern hat das Kernstück nur wenig an Substanz verloren. Der große Rest desselben soll nach BRUNN an den entgegengesetzten peripherischen Punkt der Zelle, also an deren vorderes Ende wandern, und zwar hierhin geschoben durch das von hinten her in die Zellsubstanz hineinwachsende Cilienbüschel. Letzteres stelle, so weit es intracellulär verläuft, den faserigen Achsenstrang dar, während der unverbrauchte Rest des Kerns vorn zum Kopfe

des wurmförmigen Spermiums werde. KOEHLER konnte an den homologen Elementen von *Murex*, die auch im reifen Zustande keinen Kopf haben, feststellen, daß der vermeintliche Kern während seiner Wanderung nach vorn zur Herstellung des centralen Faserbündels verbraucht wird; und es wird sich zeigen, daß Entsprechendes, wenn auch in etwas anderer Weise auch bei *Paludina* der Fall ist. Als übereinstimmend aber bei den früheren Autoren ist hervorzuheben, daß nach ihnen ein Fragment des ursprünglichen Zellkerns das Material für das Wimperbüschel und für den Centralfaden liefern soll, während sie sehr wohl erkannten, daß der größere Teil der früheren Kernsubstanz abhanden kommt. Welchen Sinn wohl die Beseitigung so vieler Kernsubstanz haben kann, wird von den Autoren nicht erörtert. (BRUNN, 4, S. 464 ff., KOEHLER, 14, S. 133 ff.)¹⁾.

1) Da die Zeitschrift, die KOEHLER's Abhandlung enthält, weniger verbreitet ist, so seien einige seiner betreffenden Sätze hier in ihrem Wortlaute wiedergegeben: „Les plus jeunes de ces cellules ne renferment jamais qu'un seul noyau, qui présente des grosses granulations de chromatine, disposées parfois sous forme de reticulum grossier. Les cellules plus âgées renferment plusieurs noyaux, trois ou quatre ordinairement, quelquefois plus; mais ces noyaux n'ont pas les mêmes caractères que dans les cellules jeunes. . . . Ces noyaux sont d'ailleurs destinés à disparaître, en se fragmentant en un certain nombre de morceaux, qui se dissolvent dans le protoplasma cellulaire. Je n'ai jamais rencontré dans les cellules d'une certaine taille des figures caryocinétiques. . . . Cette multiplication des noyaux n'est pas, à proprement parler, une division au sens restreint. . . . L'accroissement du nombre des noyaux est sans doute en relation avec l'augmentation de taille, qui doit être assez rapide, de ces cellules. La cellule devenant plus grosse, le noyau s'aggrandit aussi et à un certain moment, il se fragmente, passivement en quelque sorte; car il a déjà probablement perdu beaucoup de son activité. . . . Le premier acte de transformation de ces cellules, ainsi modifiées en spermatozoïdes vermiformes consiste dans la formation d'un faisceau de filaments, qui font saillie à la surface de la cellule. J'ai souvent vu le faisceau s'implanter par sa base sur un des noyaux de la cellule, et je crois comme BRUNN, que ces filaments sont formés par la substance de ce noyau. . . . Un seul de ces noyaux est employé à la formation du filament central. On observe les autres longtemps pendant le développement des spermatozoïdes, mais ils doivent disparaître avant que celui-ci ne soit définitivement constitué. — La multiplication de ces noyaux chez *Murex* est un phénomène différent de la fragmentation décrite chez la *Paludine*. . . . Chez le *Murex* le noyau produit d'autres noyaux aussi gros que lui, formant des masses à contours

Nach meinen Beobachtungen an *Paludina* sind nun zwar einige der Erscheinungen, auf welche die Darstellung beider Autoren sich gründet, leicht wiederzufinden, jedoch ganz anders zu deuten, während ich andere durchaus nicht bestätigen kann. So habe ich in den Samenzellen, von der ersten bis einschließlich der vierten Generation derselben, niemals einen homogen gewordenen Kern gesehen, und ebensowenig etwas als Fragmentation oder direkte Teilung eines Kerns Aufzufassendes. Außerdem aber fehlen in jenen Darstellungen gewisse, die Einleitung des Prozesses betreffende Thatsachen; und durch diese nebst den mittels der Doppelfärbung erreichten Differenzierungen erscheint doch der Zusammenhang der Dinge in einem ganz anderen Lichte. Mein Ergebnis ist folgendes.

Alle Zellen der ersten Generation, auf die es ja hier vorzugsweise ankommt, entstehen auf dem nämlichen, oben bei den Spermatogonien geschilderten Wege, und alle durchlaufen, nachdem sie individualisiert sind, in ganz übereinstimmender Weise eine lange Reihe derjenigen Veränderungen, die bei den Spermatogonien zur Teilung führen, nämlich die Nebenkernbildung und die Mitose bis zum Dyaster. Erst von dieser Phase ab schlägt ein großer Teil der Zellen eine andere Entwicklungsrichtung ein, die ohne Zellteilung nur in einer Umbildung zum wurmförmigen Spermium besteht. Diese letzteren Zellen sind die W-Zellen. Ob die Disposition zu dieser besonderen Entwicklung schon von vornherein in ihnen gesteckt hat, oder erst mit der Zeit unter unbekanntem Einflüssen erzeugt wurde, läßt sich ja einstweilen nicht

arrondis, dont la taille permet de dire, que les cellules sont multinucleées. L'un de ces noyaux fournit le filament central, tandis que les autres continueront à exister pendant longtemps encore et ne disparaîtront que dans la dernière période du développement des spermatozoïdes. Chez la Paludine au contraire la cellule reste toujours uninucleée; ce noyau se fragmente en morceaux, qui disparaîtront successivement dans le protoplasma, et il ne restera plus, qu'un fragment unique, qui formera le bouquet des cils." — Die sogenannten Kernfragmente scheinen sich demnach bei *Murex* relativ länger zu erhalten als bei *Paludina*. Sonst aber dürfte die von KOEHLER betonte Verschiedenheit kaum den Wert haben, den er ihr zuschreibt und kaum die Übereinstimmung mit den Vorgängen bei *Paludina* beeinträchtigen, um so weniger, als ja die Art der Kernvermehrung auch bei *Murex* als Fragmentation anerkannt wird. Und auch gewisse während dieses Vorgangs von KOEHLER wahrgenommene, hier nicht von mir reproduzierte feinere Details können an der Hauptsache nichts ändern.

entscheiden. Jedenfalls aber können wir diejenigen Zellen, denen das besagte Schicksal bevorsteht, schon von ihrer Entstehung an als W-Zellen auffassen, und für diese ergibt sich nun aus obigem:

Auch die W-Zellen, die anfangs ganz den Spermatogonien gleichen, machen genau wie diese die Nebenkernbildung und die Reihe der mitotischen Vorgänge bis zum Dyaster durch. Dann aber tritt folgende Abweichung des Verlaufs ein. Die vier Karyosomen jeder der beiden polaren Gruppen, anstatt wie sonst zusammenzuhalten und in eine rückläufige Metamorphose und neue Kernbildung einzugehen, weichen im Gegenteil seitlich auseinander und runden sich zur Form kleiner Kugeln ab, teilen sich auch sehr bald, gleichzeitig oder successive, ein jedes in zwei Hälften, so daß nahe bei den Polen der Zelle je eine lockere Gruppe von 4–8, eventuell ungleich großen, durch Zwischenräume getrennten, (blau tingierten) Körperchen zur Erscheinung kommt (Fig. 13b). Dieser Anfang der Zerstreuung und Zerteilung der Karyosomen tritt ein, während unter gleichzeitiger Wiederabrundung der Zelle zu annähernder Kugelform die Fasersubstanz der Spindel, d. h. jetzt das Bündel der Verbindungsfasern darin begriffen ist sich zu deformieren, seitlich auszubreiten und in diffuses, die ganze Zelle erfüllendes Cytoplasma umzuwandeln. Beides geschieht gleichzeitig. Daher sieht man auch an den meisten dieser Zellen mit zwei polar situierten Gruppen kleiner, mehr oder weniger voneinander abgerückter kyanophiler Körperchen die frühere, während der Mitose bestandene Zellhöhle verschwunden, d. h. ganz von lockerem Cytoplasma ausgefüllt, das auch zwischen die einzelnen blau tingierbaren Körperchen eingedrungen ist, übrigens durchweg gleichartig erscheint. Zuweilen aber, nämlich wenn man einzelne dieser W-Zellen auf einem etwas früheren Zeitpunkte ihrer Veränderung ertappt, kann man sehr wohl noch einen unzweideutigen Rest der Verbindungsfasern erkennen, nämlich im axialen Teile der Zelle eine sehr merkliche Längsstreifung des Cytoplasma, in der Richtung von der einen Karyosomengruppe zur anderen (Fig. 13a). Auf letztere Erscheinung zu stoßen und sie mehrmals wiederzufinden war mir sehr willkommen. Man kann es ja bis dahin den Zellen gar nicht ansehen, ob sie zu den W-Zellen gehören werden. Nun hatte ich zwar aus den sehr häufig sich darbietenden Zuständen

der Fig. 13 b schon deren Vorgeschichte so erschlossen, wie ich sie hier aufgestellt habe, und zweifelte auch gar nicht an der Richtigkeit meiner Vermutung; aber es fehlte doch ein Mittelglied. Als solches war mir nun die zuweilen noch vorfindliche Spur der Verbindungsfasern sehr erfreulich, die den Zusammenhang mit einem vorangegangenen Dyaster-Stadium positiv begründet und nachweist. — Wie aber dieser Anfangszustand der divergenten Entwicklung als erster Schritt auf dem Wege zur Bildung eines wurmförmigen Spermiums sich erweist, wird bald ersichtlich werden.

Die jetzt unmittelbar in das Cytoplasma eingebetteten kleinen Karyosomen fahren immer weiter auseinander, eine Zeit lang noch die Äquatorialgegend frei lassend (Fig. 13 c), später aber von beiden Polseiten her auch in den Mittelraum eindringend, so daß sie dann unregelmäßig im ganzen Zellraume verteilt sind (Fig. 13 d). Dann ist nicht mehr zu erkennen, welcher der beiden Gruppen jedes einzelne der kyanophilen Kügelchen angehört hat; und es sind dann überhaupt zwei Pole der Zelle einstweilen nicht mehr zu unterscheiden. Der Durchmesser der Zelle bleibt dabei unverändert; er beträgt nach wie vor 13—14 μ . — Der letztbeschriebene Zustand hat offenbar auch BRUNN vorgelegen. Er giebt die Zahl der dunkeln Innenkörper nicht bestimmt an, sagt nur, sie sei eine beträchtliche, mehr oder minder große. Wenn ich aber seine hierauf vorzugsweise bezügliche Abbildung, seine Fig. 8, näher ansehe, so finde ich in den meisten Zellen des dargestellten Häufchens acht solche Innenkörper, in anderen noch einige mehr. Und das stimmt ja im ganzen mit meinem Befunde überein, nur daß nach meiner Wahrnehmung diese Körperchen auf ganz andere Art entstanden sind, als BRUNN annahm. Bei Murex dürften vermutlich, trotz der anders lautenden Angaben KOEHLER's, ihre Herkunft und Entstehungsweise die nämliche sein wie bei Paludina, vielleicht aber andere anfängliche Zahlenverhältnisse obwalten. KOEHLER selbst ist nicht auf ein genaueres Studium der Mitosen eingegangen.

Der weitere Verlauf schließt nun zwei Reihen gleichzeitig vor sich gehender Veränderungen in sich. Die kyanophilen Körperchen zerfallen weiterhin successive in immer kleinere Körnchen, die vermöge ihrer blauen Tingierung eine Zeit lang noch gut erkennbar sind. Währenddessen spielen sich aber auch in der übrigen Zellsubstanz Veränderungen ab. In dem rosa gefärbten Cytoplasma zeigen sich eine Anzahl verdichteter Stellen von

intensiv roter Färbung, die sich dann zu schärfer begrenzten, brillant roten Körpern abrunden (Fig 13 d). Fast immer sind diese roten Kugeln unmittelbar in das restierende, fein netzförmige Cytoplasma eingebettet; und ich halte dies für den natürlichen Zustand. In einer meiner Serien fand ich indes die Sache durchweg so, daß jede dieser hochroten Kugeln in einer Vakuole lag, die ich geneigt bin, für ein Kunstprodukt, jedenfalls aber für etwas Abnormes zu halten, von dem wir absehen können. Nach einiger Zeit treten die 4—6, oder mehr im Zellraum zerstreuten, rot tingierten Körper, denen sich zuweilen noch einige inzwischen gebildete kleine Kügelchen von ähnlicher Beschaffenheit anschließen, zu einer einzigen größeren Masse von gegen $4\ \mu$ im Durchmesser zusammen, die später eine wichtige Rolle zu spielen hat (Fig. 13 f). Es ist aber einleuchtend, daß dieser aus verdichteter Zellsubstanz bestehende Körper seiner Entwicklung wie seinem Aussehen nach analog ist dem Nebenkern in den anderen Samenzellen, wie er sich in diesen vor jeder Teilung und, was hier besonders in Betracht kommt, auch in den Spermioblasten vor ihrer Umbildung in die haarförmigen Samenfäden einfindet. Und wenn in dem jetzigen Falle bei der Einleitung des Vorgangs nicht wie dort die Phase zweier Sicheln zur Erscheinung kommt, so liegt das einfach daran, daß die W-Zellen jetzt kernlos sind, daß also der sich bildende Nebenkern der Anlehnung an einen anderen bläschenförmigen Körper entbehrt. Da nun unter diesen Umständen die Bezeichnung „Nebenkern“, sofern ein eigentlicher oder Hauptkern fehlt, noch mehr als sonst etwas Schiefes an sich haben würde, so werde ich ihn im Folgenden unter dem Namen „Cytoplasmakern“ wieder erwähnen.

Inzwischen sind die zerstreuten kyanophilen Körnchen in immer kleinere Stäubchen zerfallen, die bald auch nicht mehr zu unterscheiden sind und doch in anderer Weise ihre Existenz vertragen. Indem nämlich ihre feinsten Partikelchen gleichmäßig verteilt werden, verleihen sie der den Cytoplasmakern umgebenden, bis dahin rosa gefärbten Zellsubstanz einen Anhauch von violett, oder vielleicht richtiger gesagt, einen eigentümlichen Stich ins Graurote (Fig. 13 g—m). Schon meinen Vorgängern ist es bei ihren einfachen Tinktionen aufgefallen, daß um diese Zeit die Zellsubstanz eine dunklere Färbung annimmt als sonst; diese beruht eben auf der Imprägnierung mit den aus dem Zerfall der Karyosomen herrührenden, stark chromatophilen Molekülen. Der Cytoplasmakern aber behält seine hochrote Farbe; in ihn dringt also

nichts von der Kernsubstanz ein. Die dunklere Nüance der tingierten Zellsubstanz erhält sich bis in die spätere Zeit hinein, wo die Umformung der ganzen Zelle in eine Spindelgestalt beginnt, um noch später wieder einer rein roten Färbung Platz zu machen, worauf ich noch zurückkommen werde.

Nebenher ist aber noch folgendes beachtenswert. Sobald der Cytoplasmakern gebildet ist, zeigt die übrige Zellsubstanz bei starken Vergrößerungen ein außerordentlich lockeres, schwammiges Gefüge. Man sieht helle, schmale Interstitien zwischen gefärbten, gerüstartig verbundenen Bälkchen; und fast regelmäßig, obwohl nicht ausnahmslos, ist auch eine große runde Vakuole oder einige kleinere solche bemerkbar (Fig. 13 e, f etc.). Hierzu sei noch folgendes bemerkt: Die Vakuolen können sich schon zu der Zeit bilden, wo noch distinkte blaue Körnchen im Cytoplasma wahrnehmbar sind. Dann kommt es, obwohl selten, vor, daß sich eine Anzahl der blauen Körnchen gerade der Peripherie einer Vakuole anlagern, und das kann bei schwacher Vergrößerung oder flüchtigem Ansehen die Täuschung hervorrufen, als sei das ein richtiger kleiner Zellkern mit wandständigen „Chromatinkörnern“ (Fig. 13 f); genauere Untersuchung aber, die Berücksichtigung anderer, weiter abliegender blauer Kügelchen und die Vergleichung mit der großen Mehrzahl der gleichartigen Zellen belehren über die wahre Natur der Erscheinung. Es ist also jetzt verhältnismäßig viel Flüssigkeit in diesem Teile der Zellsubstanz angehäuft. Das ist ja auch ganz natürlich, weil eben ein großer Teil der festeren Substanz dieses Bereichs in den Cytoplasmakern übergegangen ist. Noch auffälliger ist diese Rarefaktion der Zellsubstanz später während der Spindelform des Gebildes, vielleicht weil der Cytoplasmakern allmählich noch weiter auf Kosten der übrigen Zellsubstanz wächst. Diese Beschaffenheit des Zellenleibes ist nicht ohne Belang für einige später zu besprechende Punkte.

Der Cytoplasmakern spielt nun des weiteren die Rolle, daß er das Material für den Achenstrang oder Centralfaden sowie für das dem wurmförmigen Spermium eigene hintere Wimperbüschel liefert. Hierin liegt, sofern die Herkunft und der chemische Charakter des Substrates in Betracht kommen, eine wesentliche Abweichung von den Ergebnissen BRUNN's und KOEHLER's, welche die nämliche Rolle einem Fragmente des früheren Zellkerns zugeschrieben haben. Es ist ja nach obigem der in Betracht kommende Lunenkörper nicht ein eigentlicher Zellkern, auch nicht ein

Fragment des früheren Zellkerns, und er enthält auch nichts von der spezifischen kyanophilen Kernsubstanz; vielmehr ist er ein reines Verdichtungsprodukt des Cytoplasma und hat ebenso nach seiner Entstehung wie nach seiner Qualität den Wert eines Nebenkerns. Demnach sind Achsenstrang und Wimperbüschel rein cytoplasmatische Gebilde. Hinsichtlich des Formalen der gesamten Umbildung aber stimmen meine Befunde mit denjenigen der genannten Autoren im großen und ganzen wohl überein, namentlich betreffs des Ganges der Umgestaltung der Gesamtform, während ich über die inneren Vorgänge doch auch Modifizierendes und Ergänzendes zu berichten habe. Zunächst finde ich nicht, daß der Cytoplasmakern vor Beginn seiner formativen Leistungen immer dicht an die Peripherie der Zelle hinrücke. Er liegt um diese Zeit nur mehr oder weniger excentrisch, zuweilen fast im Centrum der Zelle, nur ausnahmsweise dicht an der Peripherie. Wo er aber auch liege, macht er, bevor es zur Bildung des Wimperbüschels kommt, eine Reihe sehr eigentümlicher Veränderungen durch, die den früheren Beobachtern gänzlich und auch mir längere Zeit hindurch entgangen sind, weil sie in Sublimatpräparaten nicht immer gut fixiert und nur hier und da erkennbar sind, während sie in solchen Objekten besonders gut hervortreten, die mit FLEMMING'scher Lösung gehärtet waren. Zuerst wird der Cytoplasmakern hohl durch Differenzierung in eine dunkle Rinde und einen blassen Centralraum, welcher letztere schließlich so hell und scharf begrenzt erscheint, daß er wie eine große centrale Vakuole aussieht (Fig. 13h). Weiterhin aber wird die Vakuole excentrisch, dadurch, daß die Rindensubstanz sich mehr nach einer Seite der Hohlkugel hinüberzieht, infolge dessen diese jetzt bei günstiger Lage im optischen Querschnitt als ein Ring erscheint, dessen eine Hälfte sichelförmig, dessen andere Hälfte eine schmale Linie ist. Unter Steigerung dieser Substanzverschiebung bekommt darauf die dünne Hälfte der Wandung ein Loch, das allmählich größer wird, bis die Rindensubstanz die Form eines die Vakuole nur zur Hälfte umschließenden Schälchens hat (Fig. 13i). Dieses biegt sich dann zu der flacheren Form eines konkav-konvexen Meniscus aus, dessen hohler Seite die Vakuole noch eine kurze Zeit hindurch anliegt (Fig. 13k). Der ganze Vorgang erfüllt offenbar den Zweck einer noch weiter gesteigerten Konzentration der festen Substanz des Cytoplasmakerns durch Ausscheidung von Flüssigkeit in Form der Vakuole. Letztere zergeht meistens bald darauf unter langsamem Eindringen lockerer Zellsubstanz von der

Umgebung her, so daß in der Nachbarschaft des verdichteten Teils eine Zeitlang noch ein größerer, unregelmäßig begrenzter, verwaschener Flecken hellerer Substanz bemerklich bleibt. In selteneren Fällen scheint die Vakuole nach seitlichem Abrücken in das lockere Cytoplasma hinein noch etwas längere Zeit Bestand zu haben neben der von früherher schon vorhandenen. Der verdichtete Cytoplasmakern selbst aber geht inzwischen in die Form eines anfangs gekrümmten (Fig. 13 l), sodann geraden Stäbchens über, welches sich so einstellt, daß es, von geringen Abweichungen abgesehen, in einem Durchmesser der Zellkugel liegt, und das eine etwas zugespitzte Ende nach dem nächstliegenden Punkte der Zellperipherie hinsieht (Fig. 13 m). Dieser Durchmesser wird zur Längsachse des sich formierenden Gebildes; und damit hat nun die Zelle wieder zwei Pole. Darauf streckt sich das Stäbchen immer mehr in die Länge, und zwar gleichzeitig nach beiden Richtungen hin, vielleicht jedoch etwas schneller nach dem ihm näher liegenden Pole zu, jedenfalls diesen früher erreichend. Ist dies geschehen, so wächst es an dieser Stelle noch eine Strecke weit über die Zellgrenze hinaus ins Freie, in Form eines am freien Ende zugespitzten Schwanzanhanges der Zelle, zu einer Zeit, wo diese entweder noch Kugelform besitzt, oder sich schon am vorderen Ende etwas zugespitzt hat, worauf dann bald der Uebergang der ganzen Zelle in eine Spindelform beginnt, so daß mehrenteils ein der Fig. 13 n entsprechendes Formbild zur Anschauung kommt. Ob zu dieser Zeit eine Zellmembran, die beim Heraussprossen des Schwanzes entweder durchbrochen oder ausgestülpt werden müßte, überhaupt als gesonderte Schicht noch existiert, ist mir zweifelhaft. Sollte eine solche feine Hülle den Schwanz anfangs einschneiden, so müßte sie doch in kürzester Zeit mit der Substanz des herausgewachsenen Teils des Achsenstranges völlig in eins verschmelzen, wie die weitere Veränderung lehrt. Es zerfällt nämlich sehr bald der ganze Schwanzanhang in eine größere Anzahl feiner, nach ihrem freien Ende hin schlank zugespitzter Cilien, die pinsel- oder quastenartig an der Ansatzstelle zusammengefaßt bleiben, hingegen unter bald sich kundgebender aktiver Bewegungsfähigkeit divergierend auseinandergespreizt werden können und auch jede für sich schlängelnde Bewegungen auszuführen vermögen. Damit ist das Wimperbüschel hergestellt (Fig. 13 o, p, q), das bei *Paludina* während der ganzen Lebensdauer des wurmförmigen Spermiums als Anhang seines hinteren

Endes Bestand hat und in Thätigkeit bleibt¹⁾. Dessen Ansatzstelle ist also jetzt als hinterer Pol der Zelle gekennzeichnet. Der Zerfall in feine Fäden mag von dem Wimperbüschel aus in den intracellulären Teil des Achsenstranges hinein fortschreiten. Eine längsfaserige Struktur des Achsenstranges ist auch bei *Paludina* namentlich in frischen Exemplaren der noch in der Entwicklung begriffenen Formen öfters zu erkennen, wie schon BRUNN angegeben hat, der dies jedoch als ein Hineinwachsen der Wimpern in die Zellsubstanz ansah. In späteren Stadien und vollends bei reifen Exemplaren ist infolge dichter Fügung der Fasern wenig mehr davon zu sehen. Noch stärker tritt übrigens, nach der Darstellung KOEHLER's an den homologen Bildungszellen bei *Murex* in einem gewissen Stadium der parallelfaserige Bau der Achsenstranganlage hervor, um später auch wieder wegen dichter Zusammenfassung unkenntlich zu werden. Bei *Paludina* scheint indessen ein Stückchen am vordersten Ende der Anlage von dem faserigen Zerfall frei zu bleiben. Inzwischen hat sich aber dieser Strang auch nach vorn hin verlängert; und unter der Einwirkung dieses inneren Vorganges ist auch die gesamte Zelle zu der Form einer Spindel ausgestreckt worden, die anfangs im Querdurchmesser noch ziemlich breit ist (Fig. 13 n). Nachdem dann das vordere, dickere und rundliche Ende des Stranges nahe an dem vorderen, etwas abgerundeten Ende der Spindel angelangt ist, durchbricht es, wie auch BRUNN gefunden hat, nicht die Zellgrenze, sondern bleibt jetzt und auch weiterhin immer von einer dünnen oberflächlichen Substanzlage des Cytoplasmas bedeckt und umhüllt. Mitsamt dieser Umhüllung bildet es die Anlage des späteren Köpfchens des Spermiums. BRUNN hat außer Acht gelassen, daß dieses Verhältnis nicht ganz im Einklang steht mit seiner Behauptung, der Kern werde, nach Abgabe des Wimperbüschels und einer darauf folgenden Wanderung zum vorderen Pole, hier zum Kopfe des Samenfadens. Diese Angabe bedarf, auch abgesehen von der qualitativen Natur des Materials, aus einem doppelten Grunde einer Berichtigung, erstens weil bei weitem der größte Teil jenes Materials zur Herstellung des Achsenstranges verausgabt und nur ein winziger Rest desselben zur Bildung des Köpfchens mit verwandt

1) Auf Grund dieser genetischen Beobachtungen hat sich meine früher (1 h) ausgesprochene Auffassung über das Verhältnis des Achsenstranges zum Wimperbüschel erheblich modifiziert und der Vorstellungsweise der früheren Beobachter genähert.

wird und zweitens, weil dieser Rest nicht das ganze Köpfchen ausmacht, sondern nur dessen Inneres als vorderstes Ende des Achsenstranges ausfüllt. — Die weitere Umbildung besteht nun in der allmählichen Umwandlung der Spindelgestalt der Zelle in die Form einer Schnur, die um ein Vielfaches länger ist als jene. Und zwar beginnt diese Umformung in der Vordergegend der Spindel. Infolge immer weitergehender Längsstreckung des Achsenstranges schiebt dessen vorderes Ende beim Vordrängen seine cytoplasmatische Haube vor sich her und dehnt so den vorderen Teil der Spindelzelle zu einem langen, schmalen, biegsamen Halse aus, unter Verschmälerung auch des Restes der Spindel, während deren hinteres Ende einstweilen nur eine schlankere Zuspitzung erhält, wodurch das Ganze in seinem Umrisse etwa der Form des Infusoriums *Lacrimaria Olor* ähnelt (Fig. 13 o), um so mehr, wenn schon jetzt, was aber selten der Fall ist, auch das Köpfchen sich zu markieren beginnt.

Bevor ich aber in der Schilderung der Formveränderungen fortfahre, muß ich hier einige Worte einschalten über die jetzige tinctionelle Reaktion des Gebildes in ihrer Beziehung zu dem schließlichen Schicksale der in dem Zellkörper in feinsten Verteilung zurückgebliebenen Kernsubstanz. Ich habe dabei anzuknüpfen an das oben, S. 511—512 Erörterte. Die dort erwähnte, nach der Doppeltinction sich zeigende grau-violette Färbung der lockeren Zellsubstanz, die ich als gerade durch ihre Imprägnierung mit Molekülen der kyanophilen Kernsubstanz verursacht angenommen habe, erhält sich bis in die Zeit der Spindelform der Zelle hinein; ja sie macht sich sogar aus bald anzugebendem Grunde zuweilen bei Betrachtung der äußeren Substanzlage noch stärker geltend als früher. Darauf aber, in der Zeit, wo die Spindel vorn einen Hals ausstreckt, verliert sich allmählich der dunkle, ins Bläuliche spielende Ton vollständig, um wieder einem reinen Rosa Platz zu machen, aus dem der Achsenstrang und der Rest des Cytoplasmakerns mit intensiverem Rot hervorspringen; und diese reine Rotfärbung bleibt auch in Zukunft die gleiche und ist auch dem reifen wurmförmigen Spermium in allen seinen Bestandteilen nach der Doppeltinction eigen. Die kyanophilen Stäubchen verschwinden also ganz aus der Zelle, und es entsteht die Frage, wie dies geschehe. Ich sehe nur zwei Möglichkeiten. Entweder die Moleküle werden durch chemische Umsetzung oder Zersetzung derartig verändert, daß ihnen andere Farbenreaktion zukommt, oder aber sie werden aus der Zelle ausgeschieden. Welcher Teil dieser

Alternative der Wirklichkeit entsprechen mag, kann ich nicht mit Sicherheit entscheiden. Ich muß jedoch sagen, daß ich mehr geneigt bin, die zweite Modalität als wahrscheinlichere anzusehen, und zwar aus folgendem Grunde. Ich habe unter den schon eiförmig oder zu Spindeln gewordenen W-Zellen auch einzelne gefunden, die bei genauer Einstellung des Mikroskops auf die horizontale Mittelebene des Objekts in auffälliger Weise erkennen ließen, daß das Innere der Zelle, auch abgesehen vom Cytoplasma-kern, rein rot war, und daß nur eine peripherische Lage von größerer oder geringerer Breite den gemischten Farbenton an sich hatte, und zwar diesen besonders deutlich mit bläulichem Anhauche (Fig. 13 n). Nun wäre es ja denkbar, daß die chemische Veränderung im centralen Teile der Zelle beginne. Aber viel näher liegt doch die Deutung, daß die kyanophilen Moleküle von einem gewissen Zeitpunkte an nach der Oberfläche der Zelle hin geschoben werden, um durch diese hindurch successive ausgestoßen zu werden. Diese Vorstellung ist um so leichter annehmbar, als, wie wir noch sehen werden, gleichzeitig eine Ausscheidung von Wasser aus der Zelle ihren Anfang nimmt, die zur Hinausspülung jener nukleären Moleküle beitragen kann. Wie dem aber auch sei, so steht doch so viel fest, daß um die angegebene Zeit die W-Zelle aller ihrer kyanophilen Substanz ledig wird. Sie hat jetzt weder im morphologischen Sinne einen Zellkern, noch enthält sie etwas von der wichtigsten und am meisten eigenartigen Substanz der Zellkerne.

Die Umgestaltung der Gesamtform geht aber rastlos weiter. Zu der schwanenhalsähnlichen Verlängerung der Spindel am vorderen Teile gesellt sich bald eine ähnliche, nur kürzere am entgegengesetzten Ende, indem auch der hinterste, das Wimperbüschel tragende Teil sich zu einem ähnlichen, schnurförmigen Anhang ausstreckt, der eine Zeitlang noch durch eine spindelförmige Anschwellung in den vorderen schlank cylindrischen Teil übergeht und wie dieser auf deren Kosten sich auch weiter verlängert. Da dies an beiden in etwas wechselndem, namentlich individuell verschiedenem Verhältnis geschieht, so ist der relative Ort der zwischen ihnen liegenden Anschwellung, des Restes der Spindel, etwas unbestimmt. Am gewöhnlichsten hat dieser etwa an der Grenze des hintersten und vorletzten Viertels, selten weiter nach vorn, öfter noch weiter hinten seine Stelle (Fig. 13 p). Er wird entweder im ganzen

immer kürzer und schmaler, bis die Ausgleichung mit den cylindrischen Stücken vollendet ist, oder er zerfällt auch in seltenen Fällen während der Streckung in eine Kette von zwei bis drei kleineren Spindeln mit cylindrischen Verbindungsstücken, deren Ausgleichung nachträglich erfolgt. Im allgemeinen aber wird auf die angegebene Art die Form der Spindel in die einer Schnur verwandelt, und werden überhaupt Gestalt und Bau des wurmförmigen Spermiums im wesentlichen hergestellt, nur daß es einstweilen noch erheblich breiter ist als im reifen Zustande. — Betreffs des Verhaltens des Achsenstrangs in der eben besprochenen Ausbildungsperiode habe ich aber noch einiger eigentümlicher Thatsachen zu gedenken. Die eine ist schon von KOEHLER bei *Murex* beobachtet worden und, obwohl von BRUNN nicht erwähnt, auch bei *Paludina* vorkommend. In der Zeit nämlich, wo das Gebilde noch ganz oder teilweise Spindelform hat, liegt der Faserstrang nicht immer in der Achse, sondern manchmal seitwärts derselben, ganz nahe der Oberfläche in einer entsprechend gebogenen Meridianlinie der Spindel, zuweilen sogar eine wulstige Hervorragung längs dieser Linie verursachend. Erst ebenmäßig mit der Längsdehnung und Einengung jeder Strecke kommt, sobald dieselbe cylindrisch geworden ist, der Strang in deren Achse und damit schließlich in die Achse des ganzen schnurförmigen Gebildes zu liegen. — Sodann aber ist es lehrreich, zu finden, daß zuweilen während der Spindelform der Zelle der Achsenstrang nicht geradlinig oder einfach nach der Krümmung des Meridians gebogen ist, sondern stark geschlängelt verläuft, was schon DUVAL (6) bemerkt hat. Diese Form kann nur dadurch bedingt sein, daß der Cytoplasmakern, resp. der Achsenstrang sich schneller in die Länge ausgestreckt hat, als das ihn umgebende Cytoplasma. Die Umgestaltung des axialen Teils ist demnach das Primäre, während die Formveränderung der übrigen Leibmasse zwar auch als aktiv plastisch charakterisiert ist, jedoch mehr in sekundärem Anschluß an das Längenwachstum des Achsenstranges erfolgt.

Mit der Gesamtstreckung des ganzen Gebildes ist jedoch noch etwas Anderes verbunden, nämlich ein erheblicher Substanzverlust. Wenn das Spermium völlig cylindrisch geworden ist, merkt man schon beim bloßen Ansehen einigermaßen, daß es einen kleineren Raum ausfüllt als die Zelle, aus der es entstanden ist, und die Messungen bestätigen diesen Eindruck. Es ist jetzt im möglichst natürlichen Zustande — d. h. namentlich nach Vermeidung künst-

licher Dehnung¹⁾ — einschließlich des Wimperbüschels 175—200 μ , im Mittel 190 μ lang bei einer Breite, die wenig um 2 μ herum schwankt, hat also, als Cylinder berechnet, ein Volumen von ungefähr 600 Kub.- μ , d. h. kaum halb soviel, als zuerst in der Form einer runden Zelle und noch zur Zeit der Spindelform, eine Differenz, gegen welche die möglichen Fehler in der Messung und der Bestimmung der Mittelwerte doch sehr geringfügig sind. Es hat also eine beträchtliche Verdichtung stattgefunden. Und zwar ist offenbar sehr viel Zellsaft abhanden gekommen, namentlich jenes nach Herstellung des Cytoplasmakerns so reichlich sichtbare interstitielle oder interfilare, und außerdem in einer oder zwei runden Vakuolen angesammelte Fluidum des Zelleibes nach außen abgegeben worden. In der That ist schon während des Übergangs der Spindel- in die Schnurform keine Vakuole mehr zu sehen. Diese gehen ein. Und auch das sonstige schwammige Aussehen des Cytoplasmas hat sich nach und nach verloren; an seiner Stelle ist eine viel kompaktere Beschaffenheit des den Achsenstrang umhüllenden Protoplasmamantels ersichtlich. Dieser Verdichtungsprozeß geht aber nach Gewinnung der Schnurform noch weiter und bewirkt eine fernere, allmähliche Verschmälerung, infolgedessen das ganz ausgereifte wurmförmige Spermium nur einen Querdurchmesser von ca. 1,7 μ , also ein Volumen von nur etwa 450 Kub.- μ hat, was freilich, weil namentlich der Querdurchmesser nicht genau genug ermittelt werden kann, nur als eine ungefähr zutreffende Bestimmung hingestellt werden soll. Noch auf eine andere Art aber giebt sich die nachträgliche Verdichtung kund. Die eben schnurförmig gewordenen

1) Namentlich dürfen zu diesen Messungen nicht Aufstrichpräparate gebraucht werden, die deshalb sehr zur Benutzung verlocken können, weil in ihnen diese Art Samenfäden meist geradlinig ausgestreckt vorliegen, jedoch eben dadurch Irrungen herbeiführen, indem sich zeigt, daß bei jener Procedur die Samenfäden, zuerst an einem Punkte anklebend, mehr oder weniger in die Länge gedehnt werden, so daß Maße herauskommen, die weit über die natürliche Maximallänge hinausgehen. Es sind also zur Messung nur Präparate verwendbar, die mittels Zerzupfung in einem reichlichen Tropfen Flüssigkeit hergestellt sind. In solchen freilich zeigen die wurmförmigen Samenkörper meist so vielfache unregelmäßige Biegungen, daß immer nur wenige Exemplare zu finden sind, an denen sich eine sorgfältige Längenbestimmung ausführen läßt. Es war infolgedessen sehr mühsam, mich der Resultate zu versichern, die in den obigen und in den weiter unten noch anzuführenden Zahlen ausgedrückt sind.

Elemente nämlich, die leicht an ihrer größeren Breite kenntlich sind, lassen immer in ihrem Inneren den dunkeln Achsenstrang leicht erkennen, während dieser an den ganz ausgereiften nur nach besonderer Behandlungsweise hervortritt, besonders nach Antrocknung des frischen Objekts, daher auch leichter am Rande der Dissociationspräparate, sonst aber nur ausnahmsweise. Durch die Verdichtung des Protoplasmamantels ist eben annähernd eine Ausgleichung sowohl des Lichtbrechungsvermögens wie der tinktionellen Farbenintensität herbeigeführt worden. Das Sichtbarwerden aber des Centralfadens im Trockenpräparate erkläre ich mir auf folgende Weise. Bei der Berührung mit der Glasplatte klebt zunächst an dieser das Gebilde mit breiter Fläche an. Infolgedessen kann es sich bei der Verdunstung nicht der Quere nach zusammenziehen, sondern nur im senkrechten Durchmesser, wird also in ein plattes Band verwandelt. Besonders dünn wird dabei infolge Entweichens des immerhin noch größeren Wassergehaltes der Cytoplasmamantel, während der axiale Faden nur wenig an Substanz verliert. So entsteht zu beiden Seiten des letzteren je ein sehr dünner, durchsichtiger Streifen, zwischen denen der dickere und dunkle Strang scharf hervortritt.

Die angegebenen Maße gelten jedoch überhaupt nur für die Mehrzahl der wurmförmigen Spermien, besonders der im Mai bis Juli auftretenden. Nebenher aber gibt es auch noch kleinere.

Es kommt hier eine Thatsache in Betracht, auf die ich schon oben, S. 504 hingedeutet habe. Nach einer Reihe im Mai bis Mitte des Juli untersuchter Paludina-Männchen, welche konstant die oben angegebenen Maßverhältnisse der W-Zellen und der Produkte derselben aufgewiesen hatten, stieß ich später auf andere Individuen, deren Spermatogonien zwar nebst ihren Abkömmlingen sich ganz wie sonst verhielten, deren W-Zellen hingegen, als solche kenntlich durch die in der Figur 13 a—m abgebildeten Zustände, von abweichendem Ausmaße waren, indem neben solchen von dem mir als normal bekannten Durchmesser von 13—14 μ gruppenweise auch andere von nur 10—11 μ Durchmesser vorkamen, und weiterhin noch auf ein Individuum, in welchem durch den ganzen Hoden hindurch solche kleinere W-Zellen vorherrschend waren. Und dementsprechend erschienen auch deren Umbildungsformen proportional kleiner. Ich glaube das so deuten zu müssen, daß unter Umständen auch Samenzellen zweiter Generation die abweichende Entwicklungsrichtung nach der Wurmform hin einschlagen können. Da letztere mit Sistierung der Proliferation ver-

bunden ist, so wäre es ja denkbar, daß entweder unter dem Einflusse besonderer Verhältnisse der Ernährung und der äußeren Temperatur oder vielleicht auch aus inneren Ursachen zeitweilig die Zellproliferation derartig gesteigert wird, daß eine zweite Teilung der Samenzellen erfolgt, bevor die immanente Tendenz zur anderen Art der Weiterentwicklung zum Durchbruch gelangt. Welches aber auch die Ursachen sein mögen, die Thatsache, daß auch Zellen zweiter Generation zu W-Zellen werden können, war nicht abzuweisen. — Da nun nach meinen sonstigen Erfahrungen bei *Paludina* an ein nachträgliches Wachstum solcher Zellen nicht zu denken ist, so war eine notwendige Folgerung die, daß in dem reifen Samen neben größeren auch kleinere wurmförmige Spermien anzutreffen sein müßten. Und das hat sich auch bestätigt. Ich hatte früher auf die Größendifferenzen dieser Gebilde nicht genügend geachtet; und wenn ich in einer früheren Abhandlung (1h) die Länge dieser Samenfäden einfach auf $190\ \mu$ bestimmt habe, so weiß ich jetzt, daß dies nur für die größere Sorte als Mittelzahl giltig ist. Bei ausgedehnter Vergleichung zeigte sich, daß die Länge, das Wimperbüschel mit eingerechnet, zwischen $140\text{--}200\ \mu$ schwankt, auch dann, wenn für Erhaltung der Formverhältnisse im möglichst natürlichen Zustande gesorgt war (vgl. die Anm. auf S. 519). Nun käme es noch darauf an, ob innerhalb des angegebenen Spielraums die Mittelstufen fehlen, so daß schon hinsichtlich der Länge zwei Größenordnungen unterschieden werden könnten. Das kann ich nun nicht behaupten. Es kommen, obwohl in geringer Anzahl, auch Exemplare von $160\text{--}180\ \mu$ Länge vor. Indessen ist das Längenmaß allein für die aufgeworfene Frage nicht entscheidend; denn für diese kommt es ja auf das Volumen, also im Einzelfalle außer der Länge auch auf die Breite an. Länge und Breite stehen aber, wie der Augenschein lehrt, nicht in einem bestimmten, immer gleichen Verhältnisse zu einander, was teils mit der während der Ausreifung nachweisbaren allmählichen Verschmälerung zusammenhängen, teils auch definitive individuelle Verschiedenheit der einzelnen Exemplare bedeuten mag, wie solche auch bei den Samenelementen anderer Tiere vorkommt, im besonderen nach KOEHLER bei *Murex brand.*, und zwar hier ebenfalls an den Samenkörpern zweiter Art, denen im reifen Zustande teils schlankere, teils gedrungene Spindelform eigen ist. Unter diesen Umständen ist eine ganz einwandfreie Entscheidung im Sinne des obigen Postulats nicht möglich gewesen. Davon jedoch konnte ich mich überzeugen, daß unter den

kurzen Exemplaren auch solche vorkommen, die zu den dünnsten gehören, und daß andererseits unter den langen auch ziemlich viele vergleichsweise dicke sich finden; und im ganzen habe ich doch den Eindruck zweier Größenklassen erhalten. So liegt der Schluß nahe, daß die größeren aus Zellen erster, die kleineren aus Zellen zweiter Generation, nämlich den schon erwähnten kleineren W-Zellen ihren Ursprung genommen haben mögen.

Nach allem wären also die Bildungszellen der wurmförmigen Spermien teils Schwestern, teils Schwestertöchter der eigentlichen Spermatogonien. Die Art und Weise der Weiterbildung der kleineren ist im übrigen ganz übereinstimmend mit derjenigen der größeren. Auch bleibt eine Wendung zu dieser Bildungsrichtung nach allem, was ich gesehen habe, auf Mitglieder der beiden ersten Zellgenerationen beschränkt.

Hierdurch ist es auch hauptsächlich bedingt, daß die wurmförmigen Spermien an Masse und Volumen die erst aus der fünften Zellgeneration hervorgehenden haarförmigen um ein Vielfaches übertreffen. Der Spermioblast hat ja nach seiner Entstehung nur ein Volumen, das gleich ist dem sechzehnten Teile desjenigen einer großen W-Zelle und gleich dem achten Teile desjenigen einer kleineren W-Zelle. Hierzu kommt dann freilich noch das ungleiche Maß der mit der Ausbildung und Ausreifung verbundenen Verdichtung. Daß eine solche an beiden Formen so hochgradig eintritt, ist ja beachtenswert genug; aber sie ist doch, wie eine leichte Berechnung ergibt, bei dem haarförmigen Samenfadens noch bedeutender als bei dem wurmförmigen.

So viel über meine die Entwicklung der letzteren betreffenden Beobachtungen, denen ich jedoch noch einiges Historische und Kritische hinzufügen muß.

Nachdem ich schon oben hervorgehoben habe, in welchen wesentlichen Punkten meine bezüglichen Ergebnisse mit denjenigen BRUNN's und KOEHLER's übereinstimmen, und in welchen sie von diesen abweichen oder Ergänzungen bringen, werde ich nun noch die Angaben zweier anderer Beobachter vergleichend heranzuziehen haben. — Zunächst ist auf die älteren, von DUVAL herrührenden, dessen Untersuchung jener der beiden erstgenannten Autoren vorangegangen war (6 b), näher einzugehen, obwohl dies eine etwas umständliche Aufgabe ist. Ich kann diese aber um so weniger umgehen, als DUVAL betreffs eines Punktes, abweichend von den beiden späteren Autoren, zu dem gleichen Resultate gekommen ist wie ich, indem auch er annahm, daß der eigentliche Kern der Zelle an dem Aufbau des wurmförmigen Spermiums gar nicht beteiligt sei, sondern verschwinde. Leider kann

ich mich aber dieser Übereinstimmung deshalb nicht freuen, weil die Beobachtungen, auf die DUVAL seine Ansicht gründet, irrtümlich sind. Er läßt nämlich den eigentlichen Zellkern noch zu einer Zeit bestehen, wo der Achsenstrang angelegt wird, ja sogar, wenn dieser schon in seiner ganzen Länge ausgebildet ist, und zwar als einen neben dem Achsenstrang und von diesem ganz getrennt im Cytoplasma eingebetteten Körper, während doch thatsächlich der Kern um diese Zeit nicht bloß längst aufgehört hat, als geschlossener Körper zu existieren, sondern auch von seinen zerstreuten Bestandteilen keine Spur mehr mikroskopisch erkennbar ist. Nach DUVAL soll erst viel später, wenn die spindelförmige W-Zelle schon eine halsartige Verlängerung ausgestreckt hat, der vermeintliche Kern erblassen und sich verlieren. Mit Recht hat nun BRUNN die Existenz eines neben dem Achsenstrange eingelagerten Kerns bestritten. Wenn er an ein Kunstprodukt denkt, so mag er auch damit für einzelne Fälle das Richtige getroffen haben. In anderen Fällen hingegen dürften gewisse naturgemäße Thatsachen DUVAL's irrtümliche Auffassung veranlaßt haben. Ich nenne zuerst die oben erwähnte, gerade während des von DUVAL ins Auge gefaßten Zeitraums sehr gewöhnlich im seitlichen Protoplasma befindliche Vakuole, an deren Rande sich übrigens, wie bei allen länger bestehenden Vakuolen, öfters eine verdichtete Grenzschicht des Cytoplasma ausbildet, die sich auch stärker färbt. So kann bei flüchtiger Betrachtung der Eindruck eines Zellkerns hervorgerufen werden. Noch mehr aber wird dies der Fall sein, wenn die auf S. 512 erwähnte und in Fig. 13f abgebildete, freilich seltene Erscheinung hinzukommt. Da DUVAL der Vakuole nicht besonders gedenkt, die Zeit ihres Verschwindens aber gerade mit der von ihm angegebenen zusammenfällt, so dürfte sich am ehesten auf diese Mißdeutung seine Angabe zurückführen lassen. Daß es sich übrigens dabei nicht um einen wesentlichen Bestandteil der Zelle handelt, geht schon daraus hervor, daß er zuweilen von vornherein fehlt, und daß andere Male statt der einen Vakuole zwei oder selbst drei in der Zelle vorhanden sein können. Auch BRUNN's betreffende Abbildungen zeigen eine deutliche Vakuole, eventuell zwei solche in einer Spindelzelle. — Nächstdem aber möchte ich doch noch ein anderes Vorkommnis erwähnen. Bei der Entstehung des Cytoplasmakerns aus zusammentretenden Kügelchen ereignet es sich wohl auch einmal, daß eines oder ein Paar der letzteren überschüssig sind oder den Anschluß an die Hauptmasse versäumen, hingegen eventuell mit einander sich vereinigen. Dann bleibt für eine Weile und bis nach teilweiser Herstellung des Achsenstranges im seitlichen Cytoplasma ein kleiner verdichteter Nebenkörper zurück, der erst dann allmählich wieder erweicht wird und in die übrige Zellsubstanz aufgeht. Vielleicht sind DUVAL auch solche Fälle begegnet und von ihm besonders ins Auge gefaßt worden. Bei einfacher Tinktion konnte er sehr wohl jenes Körperchen für einen solide gewordenen Zellkern ansehen, wie ja auch die späteren Beobachter den Hauptkörper in ähnlicher Weise irrtümlich aufgefaßt haben. — DUVAL hat also den wirklichen Zerstörungsprozeß des wahren Kerns nicht beobachtet, der ja in einer viel früheren Zeit erfolgt, und zwar eingeleitet durch eine normale Mitose.

Die Frage aber, aus welchem Materiale der Achsenstrang gebildet werde, d. h. derjenige Bestandteil, den wir so nennen, den er jedoch für den ganzen künftigen Samenfaden hält (s. unten die Anmerkung), diese Frage hat er nicht beantwortet, kaum gestreift, am wenigsten dabei an ein einem Nebenkern verwandtes Gebilde gedacht, vielmehr nach einem solchen, seiner Theorie gemäß, als Material für die Herstellung des Kopfes gesucht, jedoch vergeblich ¹⁾.

Jetzt aber muß ich auch noch PLATNER's gedenken, der in seinen „Beiträgen“ (18 e, S. 143) auch der Entstehungsgeschichte der wurmförmigen Spermien von Paludina eine Seite der Abhandlung widmet, die freilich, ohne von Abbildungen begleitet zu sein, nur einige flüchtige Andeutungen enthält. Bei der Fassung, die diese seitens des Autors erhalten haben, bin ich genötigt, sie hier wörtlich zu reproduzieren. Er sagt: „Ich komme jetzt zur Bildung der großen Spermiosomen. Meine Untersuchungen über die Entstehung der Spermatiden, aus welchen diese hervorgehen, sind noch nicht abgeschlossen. Ich beginne daher mit einem späteren Stadium. Die Spermatide zeigt ein außerordentlich entwickeltes Protoplasma. In

1) Die betreffenden Stellen aus DUVAL's Abhandlung führe ich mit Auslassung einiger unwesentlicher Zwischensätze hier nach ihrem Wortlaute an. Zum Verständnisse derselben muß ich aber einige Bemerkungen über die Terminologie des Autors voranschicken. Er nennt Spermatoblast diejenige Zelle, aus welcher oder genauer in welcher nach seiner Meinung das wurmförmige Spermium gebildet wird. Er hält nämlich den Achsenstrang für den ganzen Körper des Spermiums, indem die übrige Zellsubstanz später von jenem abfalle oder durch Resorption verschwinde. Unter dem von ihm vergeblich gesuchten Globule cephalique aber versteht er einen nach seinen anderweitigen Ergebnissen vorausgesetzten extranukleären Bestandteil der Samenzelle, aus welchem nach seiner (irrigen) Meinung der Kopf jeder Art von Samenfäden gebildet werden soll. Die hier wiederzugebenden Sätze lauten nun:

„On voit ici le spermatoblaste piriforme avec une extrémité légèrement effilée; il contient son noyau; de plus, chose remarquable, il est déjà pourvu de cils vibratiles; il en differt cependant en ce que ces cils pénètrent assez profondément dans le corps cellulaire et semblent s'implanter sur une petite masse, plus foncée que le protoplasma ambiant. Que représente cette petite masse, point de convergence des cils? C'est ce qu'il nous serait difficile de préciser... Ce que nous avons observé le plus souvent, comme état plus avancé d'évolution, c'est la forme, ou dans le spermatoblaste, conservant encore son noyau, est déjà apparu le corps cylindrique du future spermatozoïde“ (d. i. in Wirklichkeit der Achsenstrang) „avec les cils adhérents à l'une de ses extrémités. La petite masse sombre, qui formait le point de convergence des cils, était elle donc le premier rudiment du corps du spermatozoïde? Mais alors, ou est le globule cephalique, dont on constate si facilement la présence précède dans les spermatoblastes de l'Helix? Ce sont là des questions, auxquelles nous ne saurions répondre... Nous pouvons cependant remarquer que sur le sp. vermif. achevé la tête est relativement assez peu distincte, et que par suite il n'est pas étonnant, que le globule céphalique, première trace de son apparition, puisse demeurer complètement invisible... Ici nous voyons le spermatozoïde bien distinct dans le spermatoblaste, et d'autant plus distinct, que par l'effet du réactif“ (?) „il s'est couronné en une série d'ondulations irrégulières“ (Vgl. oben S. 518). „Le spermatoblaste, qu'il contient, renferme encore une trace de noyau, lequel ne prend donc bien évidemment aucune part à la formation du spermatozoïde.“

diesem findet sich ein verhältnismäßig kleiner Kern, dessen Chromatin peripher gelegen ist, und zwar besonders an dem vorderen Ende sich weiterhin anhäuft, wobei sich der ganze Kern mehr und mehr in die Länge streckt, so daß er stäbchensförmig wird. Außerdem enthält die Zelle noch einen dunkeln, rosettenförmig gestalteten Körper, den Nebenkern, sowie endlich das Centrosoma, das dem Kern dicht anliegt und bei seiner Streckung sich an die Spitze begiebt, während am entgegengesetzten Pole des Kerns der Achsenfaden sich ansetzt. Meist gewahrt man im Protoplasma noch eine Anzahl unregelmäßiger Granulationen. Der stäbchenförmige Kern rückt nun mehr und mehr gegen die Spitze der Zelle, die er schließlich nach außen vorstülpt. Das Protoplasma zieht sich dabei an dem Achsenfaden immer weiter herunter, ihn so mit einer Hülle umkleidend. In diesem Protoplasma-rest gewahrt man noch lange den rosettenförmigen Nebenkern, bis er sich schließlich allmählich auflöst. BRUNN giebt hiervon ganz richtige Abbildungen; so ist namentlich in seiner Fig. 11 der rosettenförmige Nebenkern ganz charakteristisch wiedergegeben . . . Das ausgebildete Spermiosoma zeigt nach Färbung mit Alaunkarmin und Bleu de Lyon folgende Abteilungen. Das vorderste Ende des Kopfes ist schwach blau gefärbt und setzt sich hierdurch gegen den daran sich ansetzenden stäbchenförmigen, rot tingierten Teil ab. Es entspricht dem Centrosoma, der darauf folgende Teil des Kopfes hingegen dem Kern. Letzterer geht durch eine schmale blasse Übergangsstelle, die man als Hals bezeichnen könnte, über in den langen Schwanz, der in das bekannte Wimperbüschel ausläuft. . . Die Abweichungen, welche die vorstehende Schilderung von der BRUNN's zeigt, sind, wie man sieht, nur geringe.“

Zunächst kann ich nun der letzteren Bemerkung nicht zustimmen; ich finde keine wesentliche Übereinstimmung zwischen den Ansichten der beiden Autoren; doch ist es nicht nötig, hierauf näher einzugehen. Völlig aber weichen die Angaben PLATNER's von meinen Ergebnissen ab. Denn er läßt den Kern der Zelle, wie bei anderen richtigen Samenfäden, stäbchenförmig und zum Kopfe des reifen Samenkörpers werden, während nach meinen oben dargelegten Befunden der eigentliche Kern auf sehr eigentümliche Weise frühzeitig gänzlich untergeht. Ein Berührungspunkt unserer Ansichten könnte darin zu liegen scheinen, daß auch PLATNER etwas einem Nebenkern Analoges vorhanden sein läßt; aber was er für einen solchen hält, ist keiner und ist nicht identisch mit meinem Cytoplasmakern. Denn jener angebliche Nebenkern PLATNER's soll seitlich in dem den Achsenstrang umhüllenden Protoplasma liegen bleiben und sich später auflösen, ähnlich wie der vermeintliche Kern DUVAL's, während doch in Wirklichkeit der Cytoplasmakern gerade zur Bildung des Achsenstranges und des Köpfchens in früher angegebener Weise verbraucht wird. PLATNER beruft sich zwar auf vermeintlich entsprechende Abbildungen BRUNN's; aber das, was in den letzteren in der seitlichen Zellsubstanz der Spindel liegt, ist weder „rosettenförmig“, noch hat es das dunkle Aussehen eines Nebenkerns, noch hat BRUNN den Fehler begangen, es für einen solchen zu halten. Es ist das sowohl in natura, wie in

BRUNN's Figuren offenbar eine Vakuole, die manchmal auch doppelt in der Zellsubstanz dieser Spindeln existiert. Ich verweise auf das, was ich oben, S. 512 über die Entstehung dieser Vakuole, und S. 523 bei der Kritik DUVAL's sonst über dieselbe gesagt habe. Die oben erwähnte, allerdings in ein früheres Stadium fallende, gelegentliche Anlagerung kleiner „Chromatinkörnchen“ an den Rand einer solchen Vakuole war vielleicht Veranlassung zu PLATNER's Schilderung eines „kleinen Kerns, dessen Chromatin peripher gelegen ist“. Die Rosettenform des vermeintlichen „Nebenkerns“ hat PLATNER wohl mehr von der Bildungsgeschichte der haarförmigen Spermien, wo er sie richtig wahrgenommen hatte, hierher übertragen. Auch ein Centrosoma an der vorderen Spitze des Kerns, resp. beim reifen Samenkörper an der vorderen Spitze des Köpfchens zu finden, war PLATNER jedenfalls per analogiam geneigt auf Grund seiner ähnlichen Ansicht betreffs der haarförmigen Spermien, da ihm der fundamentale Unterschied zwischen beiden Arten von Samenfäden unbekannt war. Aber selbst betreffs der haarförmigen Elemente habe ich seine Annahme oben bestreiten müssen. Inzwischen ist diese Vorstellung, die in allgemeiner Geltung für alle Samenfäden von mehreren Seiten angenommen wurde, auch von BOVERI als unbegründet erkannt worden (3). Ich meinerseits habe an den W-Zellen und den reifen wurmförmigen Spermien von einem Centrosoma überhaupt nichts gesehen. Über die bezüglichen funktionellen Angaben PLATNER's werde ich mich bald noch näher aussprechen. Im ganzen ist es offenbar, daß dieser Forscher diesem Teil der Spermatogenese von Paludina nur sehr flüchtige Beobachtungen gewidmet hat; und so gern ich oben seinen Wahrnehmungen über die Ausbildungsweise der haarförmigen Elemente, trotz einiger Abweichungen meinerseits, Anerkennung gezollt habe, so muß ich hingegen seine Angaben über die Entstehung der wurmförmigen als gänzlich verfehlt erachten.

Nach Erledigung der Entstehungs- und Entwicklungsgeschichte der wurmförmigen Samengebilde muß ich jetzt noch die Aufmerksamkeit für einige Bemerkungen über ihren reifen Zustand in Anspruch nehmen.

Hinsichtlich ihrer Lebenseigenschaften und der Vergleichbarkeit ihrer Abschnitte mit denjenigen anderer Samenfäden verweise ich auf die Darstellungen SIEBOLD's (26), LEYDIG's (16), BRUNN's (4) und auf meine eigenen, in meine erste betreffende Mitteilung (1h) eingefügten Bemerkungen. Anlangend aber ihren feineren Bau kann ich hier einige neue Beobachtungen von mir hinzufügen. Die erste ist folgende. Bekanntlich hat BALLOWITZ (2) an den Samenfäden verschiedener höherer Tiere eine spiralige Struktur der Außensubstanz am Mittelstück und am Hauptstück entdeckt. In schönster Weise zeigte sich mir nun Entsprechendes auch an den wurmförmigen Spermien von Paludina, und zwar in der ganzen Länge

ihres Körpers mit Ausschluß des Köpfchens und natürlich des Wimperbüschels. Die Erscheinung tritt nur hervor an nicht eingetrockneten Exemplaren nach Härtung derselben, sowohl in Dissoziations- wie in Schnittpräparaten, außerdem auch nach halbstündigem Verweilen frischer Isolationspräparate in der feuchten Kammer, jedoch bei weitem nicht an jedem einzelnen Spermium, auch nicht in allen Präparaten, sondern nur hier und da, stellenweise an ganzen Gruppen, so daß unverkennbar äußere Nebenumstände der Vorbehandlung zu ihrer Verdeutlichung beitragen. Das schnurförmige Hauptstück sieht dann wie feingeringelt aus (Fig. 13r). Sollte dies der Ausdruck einer spiraligen Struktur sein, was wohl möglich ist, so würde doch die Spirale nur einen minimalen Steigungswinkel haben. In diesem Sinne war ich um so mehr geneigt, die Sache aufzufassen, als ja nach BALLOWITZ an den Samenfäden anderer Tiere der spiralige Verlauf deutlich ist. Indessen habe ich doch in unserem Falle nicht in positiver Weise darüber ins Reine kommen können, ob sehr flache Spiralwindungen oder geschlossene, aneinander gereihete Ringe vorliegen. Eines von beiden ist aber sicher der Fall. Ob nun freilich diese Struktur schon im lebendigen Zustande voll ausgebildet oder erst durch die Behandlung hervorgerufen sein mag, eventuell ob eine wirkliche Zusammensetzung aus Windungen oder nur ein spiralig herumlaufender Verdichtungsstreifen Ursache der Erscheinung ist, dürfte schwer zu entscheiden sein. Zum mindesten beweist aber diese, daß in dem Molekulargefüge der Hüllschicht, resp. in dem Grade ihrer Kohäsion Ungleichheiten vorhanden sind, die unter Umständen sichtbar werden oder sogar den Zerfall der Schicht in ein spiralisches Band, eventuell in geschlossene Ringe begünstigen. Da die Entstehungsgeschichte der Hüllschicht auf eine derartige Zusammensetzung nicht hinweist, so scheint mir die Annahme berechtigt, daß diese Struktur oder Disposition erst eine Folge sein möchte der ununterbrochen schlängelnden Bewegungen des Spermiums, also auf dem Wege funktioneller Anpassung im Sinne von ROUX (22a) erworben. In der That ist die Ringelung nur an reifen Exemplaren zu finden, die, wie wir noch sehen werden, schon im Hoden ihre Eigenbewegung in Aktion setzen. Einmal ausgebildet, können diese Ringe oder Windungen bei der schlängelnden Bewegung eine ähnliche Rolle spielen, wie diejenigen in der Haut eines Ringelwurms, indem sie auf der konkaven Seite jeder entstehenden Biegung konvergent,

auf der konvexen divergent werden. Bei dieser Annahme wäre nur das auffallend und einstweilen nicht recht einpassend, daß eine ähnliche Struktur auch an dem Mittelstücke vieler Samenfäden und an diesen besonders deutlich hervortritt, obwohl gerade die Mittelstücke anscheinend die schlängelnde Bewegung nicht mitmachen. Indessen würde dies für die einzelnen in Frage kommenden Fälle erst noch besonders zu untersuchen und klar zu stellen sein. In jedem Falle aber ist es bemerkenswert, daß die in Rede stehende Erscheinung an der Außenschicht sich nicht nur auf die funktionell gleichwertigen Samenfäden sehr verschiedener Gattungen, sondern auch auf die der gewöhnlichen Bestimmung entzogenen, jedoch in der schlängelnden Bewegung übereinstimmenden wurmförmigen Elemente von *Paludina* erstreckt.

Was den Achsenstrang anlangt, so sei hier noch folgendes bemerkt. Wo derselbe an beinahe oder ganz reifen Exemplaren unterscheidbar ist, da ist zwar sein Zusammenhang mit dem Wimperbüschel nicht gerade direkt klar zu sehen, weil an der Übergangsstelle die Umbiegung der umhüllenden Mantelschicht zur Endfläche eine gewisse Verdunkelung verursacht; jedoch ist jener Zusammenhang aus den besonderen obwaltenden Verhältnissen mit annähernder Sicherheit zu erschließen. Das hintere Ende des schnurförmigen Körpers ist bei den einzelnen Exemplaren etwas verschieden gestaltet, vielleicht nur infolge wechselnder Kontraktionszustände. Bald ist es etwas zugespitzt, bald abgerundet, bald auch fast quer abgestutzt. Im ersteren Falle wurzelt das Wimperbüschel an der Spitze, in den beiden letzteren an einem centralen Punkte, genauer gesagt an einem sehr kleinen centralen Felde jener Endfläche (Fig. 13 p, q), in welchem die Fußpunkte der Cilien dicht beisammen liegen. Und bis zu eben diesem Punkte reicht von innen her der Centralfaden. Man erhält so unabweisbar den Eindruck, daß das Wimperbüschel eine direkte Fortsetzung des Achsenstrangs, sein aufgefasertes Ende ist, was ja auch schon aus der oben gegebenen Entwicklungsgeschichte hervorging. Ich will aber nicht unerwähnt lassen, daß ganz ausnahmsweise auch Exemplare sich finden, in denen der Achsenstrang nicht ganz bis zur Wurzel des Cilienbüschels heranreicht, ein wenig vor letzterer aufhörend und eine helle Lücke übrig lassend. Sowohl der letztere Umstand wie die Seltenheit des Vorkommnisses gestatten m. E. keinen Zweifel darüber, daß nur eine durch die Austrocknung oder das Erhärtungsmittel verschuldete Zerreißung die Ursache der abnormen Erscheinung ist. — Die Anzahl der Cilien ist ungefähr zwölf; vielleicht sind

es auch einige mehr, jedoch nicht über sechzehn. Die Länge der Cilien beträgt beim reifen Spermium ca. 25μ , während sie in der Ausbildungszeit desselben, wie schon BRUNN mit Recht bemerkt hat, eine Zeit lang viel beträchtlicher ist, und zwar nach meiner Messung bis über 50μ erreicht. Wie ihre nachträgliche Verkürzung herbeigeführt wird, ist nicht positiv zu sagen; möglich wäre es aber, daß das Wimperbüschel bei der mit der Ausbildung verbundenen Längsentwicklung des Spermiums eine Strecke weit in den Körper hineingezogen wird, um unter Zusammendrückung der Cilien den Achsenstrang verlängern zu helfen. Ähnliches hat auch KOEHLER als Ursache des gänzlichen Verschwindens des Wimperbüschels an den homologen Gebilden von *Murex* angenommen.

In der Nähe des vorderen Endes verjüngt sich meistens der schnurförmige Körper zu einer dünneren Strecke, die zuletzt wieder mit einer kleinen Verdickung endet, welche letztere übrigens keine ganz bestimmte Gestalt hat, sondern Verschiedenheiten des Umrisses zeigt. Wohl am häufigsten stellt sie einen länglichen Cylinder dar, der der Länge nach etwas gebogen und am freien Ende abgerundet ist (Fig. 13q). Andere Male ist sie mehr sondenknopfähnlich. Dies ist der sogenannte Kopf des Spermiums, der also durch eine Art Hals in den Körper übergeht. Jedoch sind die betreffenden Differenzen der Dicke nur geringfügig. Ja es kann sogar die terminale Verdickung ganz fehlen. Auch wo sie sich in irgend einer Form zeigt, ist doch eine schärfere Absetzung dieses Teils nicht vorhanden, weder äußerlich noch im Inneren, indem nirgends eine quere Trennungslinie und an der Oberfläche nur eine sehr flache Konkavität hinter der Endanschwellung zu bemerken ist. Zuweilen, wie gesagt, fehlt auch diese, und das Köpfchen markiert sich nur durch etwas dunklere Rotfärbung, welche dadurch verursacht ist, daß hier die Achsenstrangsubstanz überwiegt und nur von einem sehr dünnen Überzuge bedeckt ist. Der Achsenstrang nämlich verjüngt sich ebenfalls in der Halsgegend zu einem dünnen Fädchen, das, in das Köpfchen tretend, hier auch seinerseits mit einer Anschwellung abschließt. An noch nicht ausgereiften Exemplaren kann man das zuweilen gut sehen. Besonders klar aber ist dieses Verhältnis zu erkennen, wenn, wie dies in Sublimatpräparaten nicht ganz selten vorkommt, an diesem Vorderteile des Spermiums die Mantelschicht geborsten und ganz abgelöst ist, so daß das Centralfädchen nackt vorliegt. Man sieht es dann aus dem Inneren des Körpers heraustreten und mit einem Knöpfchen enden, das um ein Weniges, aber immerhin merklich kleiner ist als sonst der sogenannte Kopf.

Ich sage: „der sogenannte“, weil die Bezeichnung „Kopf“ ein Mißverständnis veranlassen kann und in der That bisher mit der nicht zutreffenden Vorstellung einer Homologie mit dem Kopfe anderer Samenfäden verbunden gewesen ist. Wie schon früher (1h), so muß ich auch hier nochmals folgenden wichtigen Punkt betonen. Der sogenannte Kopf des wurmförmigen Spermiums von *Paludina* ist durchaus nicht homolog dem Kopfe anderer richtiger Samenfäden. Denn er ist nicht aus einem Zellkern entstanden, und er enthält außerdem das Endstück des Achsenstrangs, der in ihm mit einer Anschwellung endet, wie sonst im Mittelstück anderer Samenfäden. Seiner Entstehung gemäß enthält außerdem dieses Köpfchen nichts von kyanophiler Substanz. Im besonderen giebt es nach Tinktion mit Methylgrün oder Victoriablau bei der nachfolgenden Entfärbung in Alkohol mindestens gleichzeitig mit dem langen Hauptstück, ja sogar wegen seiner Dünne meist noch früher als dieses den blauen Farbstoff wieder gänzlich ab; und bei all den anfangs dieser Abhandlung aufgeführten Methoden der Doppelfärbung geht es aus der Procedur mit derselben rein roten Farbe hervor, wie auch die übrige Hauptmasse des Gebildes. — Hier muß ich nun eine einschlägige Angabe PLATNER's besprechen, obwohl der von ihm gebrauchte Blaustoff überhaupt nicht in die Reihe derjenigen gehört, die zu differentiellen Färbungen besonders geeignet sind. Und zwar muß ich um so mehr auf seine Behauptung eingehen, als er sie mit seiner Ansicht über die Beteiligung des Centrosoma an dem Aufbau des Köpfchens in Verbindung bringt. PLATNER (18e) berichtet, folgendes gefunden zu haben: Wenn man die wurmförmigen Spermien erst mit Alaunkarmin und dann mit Bleu de Lyon tingiere, so zeige sich schließlich das vordere Ende des Köpfchens schwach blau, alle übrigen Teile des Samenfadens in roter Farbe. Diese Angabe kann ich aber durchaus nicht bestätigen, obgleich ich mir viele Mühe gegeben habe, die Erscheinung herzustellen. Näheres über seine Tingiermethode hat PLATNER nicht mitgeteilt. Bei meinen öfters mit kleinen Varianten des Verfahrens wiederholten Versuchen fand ich aber immer folgendes. Im Alaunkarmin färbt sich zunächst das ganze wurmförmige Spermium blaßrot. Stellt man nun das Objekt in eine, sei es wässerige oder wässerig-alkoholische, beliebig verdünnte Lösung von Bleu de Lyon ein, so wird in kurzer Zeit das ganze wurmförmige Spermium blau, ohne bei kurzem Abspülen in Alkohol etwa streckenweise diese Färbung zu verlieren. Versuchte ich

aber durch lange Einwirkung des Alkohols eine Differenzierung zu bewirken, so gelang auch dies niemals. Wohl wird langsam, d. h. im Verlaufe von Tagen und Wochen die blaue Färbung merklich blasser und geht schließlich in ein mattes Grau über; aber dieses herrscht gleichmäßig über die ganze Länge des Spermiums einschließlich des Köpfchens, auch des vordersten Endes des letzteren. Die rote Grundfärbung kommt nicht wieder zum Vorschein¹⁾. Dabei ist es lehrreich, zum Vergleiche die nebenbei im Präparate vorhandenen, runden Samenzellen ins Auge zu fassen. An diesen zeigt nach der prolongierten Extraktion durch Alkohol der Zellenleib dieselbe mattgraue Färbung, wie die wurmförmigen Spermien; an den Kernen hingegen sind die Karyosomen schön karmoisinrot gefärbt, was nicht verwundern wird, da ja das Karmin eine sogenannte Kernfarbe ist. Die wurmförmigen Spermien bestehen aber, wie sich hier wieder zeigt, ganz und gar aus Cytoplasma, von dem der Achsenstrang auch seiner Entstehung nach nur eine verdichtete Partie ist.

Wenn also das sogenannte Köpfchen der wurmförmigen Spermien, dieses kurze vorderste Stückchen derselben, das übrigens schmaler ist als der übrige schnurförmige Körper, in den es ohne Grenzfläche übergeht, überhaupt als etwas Besonderes betrachtet werden soll, dann würde es nur dem Mittelstücke anderer Samenfäden vergleichbar sein. Die wurmförmigen Elemente des Sperma sind also Samenfäden ohne Kopf. Eines richtigen Kopftheils können sie aber auch entbehren, da sie keine befruchtende Wirkung auf ein Ei auszuüben haben. Wenn ich zur Erleichterung der Beschreibung das kleine keulenförmige Vorderende des wurmförmigen Spermiums oben einige Male als „Köpfchen“ angeführt habe und dies auch im Folgenden thun werde, so weiß der Leser jetzt, daß diese Bezeichnung sich nur auf die Form, hingegen nicht auf eine Homologie beziehen soll.

VI. Syntaxis der zweierlei Spermien und weitere Ausbildung der haarförmigen.

(Fig. 14 a—d und Fig. 12 n—s).

Oben, S. 503, habe ich schon kund gethan, daß die haarförmigen Spermien über das in Fig. 12 m abgebildete Entwicklungs-

1) Wie sich bei diesem kombinierten Färbungsverfahren die haarförmigen Spermien und die Samenfäden anderer Tiere verhalten, werde ich weiter unten mittheilen.

stadium nicht ohne weiteres hinausgelangen, sondern erst nachdem sie ihren bisherigen Ort verlassen und die Zusammenlagerung mit ihresgleichen aufgegeben haben. Ich habe dort auch schon angedeutet, daß sie eine neue Vergesellschaftung aufsuchen, und zwar mit ihren inzwischen in dem nämlichen Hodenschlauche ausgebildeten wurmförmigen Genossen. Dies geht nun aus folgender Erscheinungsreihe hervor. Schon Ende Mai, noch häufiger aber im Hochsommer findet man in vielen männlichen Individuen einzelne oder fast alle Hodenschläuche sehr angeschwollen, auch verlängert und prall angefüllt mit zahllosen Spermien beider Sorten, neben einer verminderten Anzahl von Samenzellen verschiedener Größe, welche letzteren meist dicht an der Schlauchwandung einen sehr schmalen, vielfach unterbrochenen Streifen einnehmen. Die zweierlei Samenfäden aber haben eine eigentümliche gesetzmäßige Anordnung angenommen. Sie sind nämlich in bestimmter Weise zu gemeinschaftlichen Bündeln zusammengefügt. Gehen wir bei der Beschreibung von den wurmförmigen aus, so sind diese jetzt fertig ausgebildeten Elemente zu breiten Bündeln versammelt, in deren jedem oftmals 50—100 und mehr Individuen ihrer ganzen Länge nach parallel und dicht aneinander liegen, alle gleich gerichtet, nämlich so, daß ihre Köpfchen alle an einem Ende des Bündels zusammenliegen und hier entweder in einer Front oder in einer gebogenen Endfläche des Bündels aneinander gereiht sind. Mit diesem ihrem Vorderende sind die Bündel immer gegen die Schlauchwandung gerichtet und an diese, eventuell ihren Zellbelag nahezu anstoßend. Liegt eines longitudinal, so reicht es mit dem Vorderende bis zum blinden Ende des Schlauchs, liegt es schief oder quer, so kommt sein Vorderende einer Stelle der seitlichen Schlauchwandung nahe. Die aus den Köpfchen bestehende Front des Bündels ist so entweder mit den der Schlauchwandung anliegenden Rundzellen in Berührung, oder es hat sogar diese schon verdrängt (und beiseite geschoben, so daß sie unmittelbar mit dem protoplasmatischen Überzuge der Schlauchwandung in Kontakt ist; ja es hat zuweilen den Anschein, als seien die Köpfchen in die Protoplasmaschicht eingesenkt. Diese Bündel bestehen jedoch nicht bloß aus den wurmförmigen Elementen. Vielmehr sind in sie auch zahlreiche haarförmige Spermien eingestreut, zwischen jenen ersteren eingeklemmt und ebenfalls längsgerichtet. Jedes haarförmige Spermium nimmt bei seiner

relativen Kürze nur einen Bruchteil der Länge des Bündels in Anspruch; und es würden selbst in einer und derselben Längsfuge mehrere jener kurzen Samenfäden hintereinander Platz finden. Sie sind deshalb auch thatsächlich anfangs und lange Zeit hindurch nicht in einem Querniveau nebeneinander gereiht, sondern über die ganze Länge und Breite des Bündels unregelmäßig zerstreut und nach allen Dimensionen durch Zwischenräume voneinander getrennt, die von den Körpern der wurmförmigen Elemente ausgefüllt werden. Zuweilen zeigt sich wohl ein gewisser Grad von Regelmäßigkeit in der Verteilung; häufiger jedoch ist diese ungleich, und die haarförmigen Elemente können selbst in einem großen Teile des Bündels sparsam gesät, dafür in einem anderen Bezirke zusammengehäuft, nämlich einander sehr genähert sein. Niemals aber berühren sich bei dieser Anordnung zwei haarförmige Spermien gegenseitig, sind vielmehr immer nach allen Seiten hin durch mindestens ein wurmförmiges voneinander getrennt. Ja es scheint, daß fast immer zwei oder mehrere solche dazwischen liegen, so daß jedes haarförmige Individuum für sich von einer Anzahl wurmförmiger eingeschlossen ist. Natürlich ist unter diesen Umständen in jeder Querzone des Gemengebündels die Zahl der haarförmigen Elemente viel geringer als die der wurmförmigen; doch wird dies größtenteils dadurch wieder ausgeglichen, daß eine Menge anderer Individuen der ersteren Form auf zahlreiche andere Querniveaus des Bündels verteilt sind (Fig. 14). Im ganzen mögen aber vielleicht die haarförmigen in der Minderzahl sein, ein Verhältnis, das sich übrigens bei verschiedenen Bündeln auch wieder dem Grade nach ungleich gestaltet. — Hinsichtlich der Stellung aber, welche jedes einzelne der haarförmigen Elemente im Bündel einnimmt, ist noch als bemerkenswert folgendes hervorzuheben. Im großen und ganzen sind sie den wurmförmigen gleich gerichtet, d. h. ihr Kopfende sieht ebenfalls nach dem Vorderende des Bündels und nach der Schlauchwandung, ein Verhalten, das ihre Normalstellung genannt sein mag. In manchen Bündeln ist nur diese zu finden. Jedoch kommt es auch nicht ganz selten vor, daß in einem dieser Bündel einige wenige der kleinen Elemente die umgekehrte Stellung eingenommen haben, nämlich mit der Spitze ihres Kopfes dem hinteren Ende des Bündels zugekehrt sind, und ausnahmsweise sogar, daß ein etwas größerer Bruchteil der Gesamtzahl, jedoch, so viel ich gesehen habe, immer weniger als ein Zehntel derselben durch die antinormale Stellung sich auszeichnen.

Man kann alle diese Verhältnisse sehr leicht und bestimmt erkennen, obwohl bei der dichten Fügung der Fäden die feinen Schwänze der haarförmigen Gebilde, weil zwischen den Körpern der wurmförmigen verborgen, nicht zu unterscheiden sind, sondern nur die zugespitzten und infolge der Doppelfärbung sehr scharf hervortretenden Köpfe derselben, welche intensiv blau aus der rot tingierten Masse der wurmförmigen hervorspringen (Fig. 14 a—d). Wenn jedoch der Akt des Schneidens einmal das Gefüge eines Bündels gelockert und auseinander gezerzt hat, so kann man darin gelegentlich auch ein ganzes haarförmiges Element zu Gesicht bekommen. Aber auch dann fand ich dieses niemals isoliert, sondern immer mit seinem Kopfe mindestens an einem der wurmförmigen Elemente anhaftend.

Mit dieser Vermengung und Zusammenschließung der zweierlei Spermien ist nun aber der Beginn der zweiten Periode der Ausbildung der haarförmigen verknüpft, und zwar regelmäßig verknüpft; ja sie ist obligatorisch an jene Gemeinschaft gebunden, also durch letztere bedingt. Außerdem aber erweist sie sich als eine besondere Periode auch dadurch, daß mit ihrem Beginne die Umgestaltung nicht etwa einfach an das schon Erreichte anknüpfend und dieses benutzend in der bisherigen Richtung weitergeht, vielmehr zuerst in gewissem Grade rückgängig wird, um einen neuen Weg zur Gewinnung der definitiven Form einzuschlagen.

Und zwar scheint sie unter den neuen Verhältnissen mit raschestem Anlauf in Gang zu kommen. Immer findet sich nämlich jetzt eine gegen früher (Fig. 12 m) veränderte Form des Kopfes, mindestens die bald als erste der zweiten Periode zu beschreibende, oder noch weiter vorgeschrittene. Ferner ist es eine auffallende und wichtige Thatsache, daß meistens die vielen, in einem und demselben Gemengebündel verstreuten haarförmigen Elemente sich sämtlich genau auf der gleichen Stufe der fortschreitenden Ausbildung befinden, während in anderen Bündeln wieder andere, und so bei Vergleichung vieler Bündel sämtliche Stufen der Umgestaltung bis beinahe zur definitiven Form vertreten sind. Wenn ich eben die Thatsache des gleichmäßigen Entwicklungsfortschrittes in je einem Bündel durch das Wörtchen „meistens“ etwas eingeschränkt habe,

so bezieht sich dies auf gewisse seltene Ausnahmefälle von bestimmtem Charakter, von denen ich später noch sprechen werde. Im allgemeinen aber ist die Übereinstimmung der Formen in je einem Bündel ebenso frappant, wie andererseits die Verschiedenheit, welche in diesem Punkte selbst zwischen mehreren in demselben Hodenschlauche nahe nebeneinander befindlichen Bündeln obwalten kann.

Bevor ich nun zur Beschreibung des Umwandlungsvorganges selbst übergehe, muß ich vorher noch einige Worte der Frage widmen, auf welche Weise wohl die beschriebenen Gemengebündel zustande kommen mögen. Hierfür sehe ich nun keine andere Möglichkeit ab, als daß die spontane Beweglichkeit der beiderlei Spermien, ihre Fähigkeit zu aktiver Lokomotion das Resultat herbeiführt. Die Beobachtung frischer Zupfpräparate zeigt gelegentlich, daß schon die auf der Stufe der Fig. 12 m befindlichen Individuen sich bewegen. Diese dürften also, während die wurmförmigen Elemente sich parallel aneinander legen, zwischen diese hineinschlüpfen und so in den Fugen des Bündels sich einbetten. Ein solches Benehmen fällt in das Gebiet des Cytotropismus, um diesen neuerdings von Roux (22 b u. c) aufgestellten und durch neue Beobachtungen begründeten Begriff in Anwendung zu bringen. Freilich sollte man sich vergegenwärtigen, daß alle sogenannten „Tropismen“ nur im allgemeinen die Tendenz zu einem bestimmten Resultate bezeichnen, ohne über die wirkenden Ursachen, über die Hilfsmittel und die Vorgänge, welche zum Ziele führen, etwas auszusagen. Ich bin aber, wie ich nicht verhehlen will, schon lange der Ansicht, daß bei so manchen „Tropismen“ oder durch ein mit „Taxis“ endigendes Wort benannten Vorgängen etwas Psychisches im Spiele ist, daß die betreffenden Wesen, seien es nun einzellige oder vielzellige Geschöpfe oder zellige Elemente eines höheren Organismus, Empfindung besitzen, auf variierende Empfindungen durch wechselnde Bewegungen reagieren, resp. ihre Bewegungen nach jenen einrichten und kraft eines ererbten Triebes die ihrer Empfindung oder ihrer Funktion günstigen Orte aufsuchen. Besonders dürfte für die mit aktiver Lokomotion begabten Samenfäden, also auch für die uns jetzt beschäftigenden keine andere Vorstellung näher liegen. Jedenfalls kann die hier beschriebene Aggregation nur durch eine „Selbstordnung“ erzielt werden. Und diese schafft erst die notwendigen Bedingungen für die Weiterentwicklung der haarförmigen Elemente.

Letztere besteht nun vorzugsweise in einer Reihe von Umgestaltungen des Kopfs. Eine gewisse gleichzeitig weitergehende Streckung des Schwanzes entzieht sich in dieser Periode der Beobachtung und giebt sich erst später kund. Selbstverständlich ist der jetzt zu beschreibende Entwicklungsgang aus Kombination der Formen erschlossen worden, die sich bei Vergleichung zahlreicher Gemengebündel darbieten. In den Abbildungen, Fig. 12 u. 14, habe ich bei weitem nicht alle von mir beobachteten Abstufungen wiedergegeben, sondern nur einige, die indes genügen dürften.

Zuerst ereignet sich nun unter den neuen Verhältnissen etwas ganz Unerwartetes. Der früher schon einmal gestreckte und cylindrisch gewordene Kopf des haarförmigen Spermiums zieht sich wieder zu einer Kugel zusammen. Trotz dieser wieder kugligen Gestalt des Kerns bietet aber das Ganze, falls der Zufall bei der Präparation es aus seiner Lage heraus genügend isoliert hat, einen völlig anderen Anblick dar als der frühere, ebenfalls durch kugeligen Kern charakterisierte Zustand von Fig. 12 i. Denn die Zellmembran liegt jetzt dem Kerne dicht an, vorn in ein kleines, spitziges, auch rot tingiertes Stifftchen, das Spitzenstück übergehend; und der früher in der Zelhöhle gelegene, vierteilige Nebenkern ist ja zum Achsenfaden des vorderen Abschnitts des Schwanzes geworden.

Darauf aber (Fig. 14 a und 12 n) streckt der kugelige Kern selbst vorn ein Spitzchen vor, welches das rote Ansatzstück vor sich her schiebt. Weiterhin wächst jene Kernspitze auf Kosten der Kugel immer mehr in die Länge, an der Basis breiter werdend (Fig. 14 b und 12 o). So ähnelt das Ganze zuerst etwa einem Polsternagel, dann einer Stecknadel mit um so kleinerem Nadelkopfe, je länger der spitzige Teil ausgezogen ist. Schließlich wird auch der Rest der Kugel verbraucht. Danach würde jetzt der Kopf des Spermiums die Gestalt eines Pfiemens haben, wenn er inzwischen gerade gestreckt geblieben wäre. Dem ist jedoch nicht so. Schon während der schlanke Abschnitt hinten noch in eine kugelige Anschwellung übergeht, finden sich an seinem vordersten Teile flache wellige Biegungen ein, erst eine nächst der Spitze, dann dahinter eine zweite, dritte u. s. w. Die jedesmal hinterste Biegung ist aber immer längere Zeit hindurch noch durch ein gerades Stück mit der an den Schwanz grenzenden kugeligen Anschwellung verbunden (Fig. 14 c und 12 p, q, r). Erst in dem Maße, als das gerade Stück sich nach hinten ver-

längert, wird es vorn in die wellige Gestaltung einbezogen, indem diese ebenmäßig rückwärts sich ausdehnt. Die einmal entstandenen, ursprünglich ganz seichten Einbiegungen werden aber allmählich merklich tiefer, und zugleich wird es immer deutlicher, daß sie nicht in einer Ebene verlaufen, sondern sich korkzieherartig um eine ideale Achse herumwinden. Die spirالية Umgestaltung beginnt also an der Spitze des Kopfes und schreitet von hier aus nach hinten fort. Wenn zuletzt auch der hinterste, dickste Teil des Pfriemens die spirالية Umbildung durchgemacht hat, so sind damit reichlich sieben Windungen hergestellt (Fig. 14 d und 12 s). Und damit ist im wesentlichen die charakteristische Form des Kopfes unserer Spermien erreicht, abgesehen von der Anzahl der Spirality Windungen, die später in noch anzugebender Weise auf sechs reduziert wird.

In dieser Gestalt geben nach einiger Zeit auf bald zu schildernde Art die haarförmigen Spermien ihre Association mit den wurmförmigen auf und sind dann natürlich frei, resp. unter anderen Verhältnissen im Hodenschlauch anzutreffen. Hingegen habe ich niemals eine der der Serie n—s der Fig. 12 angehörigen Vorstufen außerhalb der Gemegebündel gesehen. Sie kommen nur in diesen vor. Ihre Entstehung hängt also offenbar von der Aggregation mit den wurmförmigen Elementen ab. Daraus folgt aber, daß die letzteren in ihrem Kontakte mit den ersteren auf diese einen Einfluß ausüben, welcher deren Weiterbildung fördert. Welcher Art diese Einwirkung sein, worin sie bestehen möge, ist ja gänzlich rätselhaft. Ebenso kann ich auch nicht die Frage beantworten, ob zugleich umgekehrt die wurmförmigen Elemente eine Beeinflussung seitens der haarförmigen erfahren mögen, was etwa nach dem Prinzip der Gegenseitigkeit zu vermuten wäre. Es liegt da ein schwieriges, aber ansprechendes Problem vor. In jedem Falle aber waltet in den Gemegebündeln ein physiologisches Verhältnis zwischen den beiden Arten der Spermien ob. Vielleicht könnte man dasselbe eine „Symbiose“ nennen; ich will es jedoch wegen möglicher Einwendungen gegen Anwendung des letzteren Terminus einfach als „Syntaxis“ (Zusammenordnung) bezeichnen.

Auf Grund der eben geschilderten und erwogenen Thatsachen ist aber zugleich die frühere Annahme einer gänzlichen Funktionslosigkeit der wurmförmigen Elemente widerlegt. Wenn sie nach der Begattung im weiblichen Körper keine Thätigkeit weiter auszuüben

haben sollten, so spielen sie doch schon im Hoden eine gewisse Rolle, deren Bedeutung durch die Folgeerscheinungen sprechend illustriert wird.

Nun habe ich aber noch über den weiteren Verlauf der Jugendgeschichte der haarförmigen Spermien zu berichten.

Während der beschriebenen Umbildung war jedes dieser Elemente unverrückt auf seinem einmal eingenommenen Platze geblieben. Bald darauf aber zeigt sich ein neues Phänomen. Um die Zeit, wo die Korkzieherform des Kopfes der haarförmigen ganz hergestellt ist, oder wenig später lockert sich das Bündel der wurmförmigen Elemente, indem diese seitlich etwas auseinanderweichen, entweder in ihrer ganzen Länge, also einander parallel bleibend (Fig. 2 B) oder bei teilweisem Raummangel wenigstens nach vorn hin divergierend (Fig. 2 A). Darauf begeben sich die mit ihrem Spiralkopf ausgestatteten kleinen Samenfäden auf eine Wanderung längs der Fugen zwischen den wurmförmigen Gebilden, und zwar in der Richtung nach dem Vorderende des Bündels, um auf diese Art schließlich vorn aus dem Bündel hinauszuschlüpfen. Der Weg, den zu diesem Zwecke die einzelnen zurückzulegen haben, ist ja sehr ungleich lang, beträgt für die hinten situirten ein Mehrfaches von dem der vorn eingelagerten. Sie müßten demnach *ceteris paribus* zu sehr verschiedenen Zeitpunkten ins Freie gelangen. Allein es geschieht anders. Jene Differenzen werden merkwürdigerweise durch andere Umstände ausgeglichen, entweder für die ganze Schar oder doch für große Abteilungen derselben. Sei es nun, daß die weiter hinten gelegenen Individuen etwas früher mit ihrer Ausbildung fertig werden, also die Reise früher antreten können, sei es daß sie auf dieser schneller vorwärtskommen, genug, sie holen ihre Genossen auf der Wanderung ein. Die nächste Folge davon ist Anhäufung aller oder doch sehr vieler haarförmiger Elemente im vordersten Teile des Bündels und bald darauf eine mehr regelmäßige Zusammenordnung der Quere nach. Entweder bildet sich, über die ganze Breite des Bündels ausgehend, eine von den haarförmigen Elementen reichlich besetzte Querschicht, dies jedoch seltener, oder es formieren sich in ähnlicher Weise mehrere getrennte Rotten, die auch staffelförmig etwas gegeneinander verschoben sein können (Fig. 14 d). Der ganze dahinter gelegene, viel größere Abschnitt des Bündels ist jetzt entweder ganz frei von haarförmigen Elementen oder nur noch von einigen wenigen Nachzüglern besetzt, die den Anschluß versäumt haben.

Besondere Erwähnung verdienen hier noch die zuweilen, jedoch auch dann nur in geringer Zahl vorhandenen, verkehrt in dem Bündel eingebetteten Exemplare. Diese halten in der Entwicklung mit den anderen gleichen Schritt, machen aber dann deren Wanderung nicht mit, wenigstens nicht in der gleichen Richtung. Ich glaube aber annehmen zu dürfen, daß sie in entgegengesetzter Richtung ebenfalls aus dem Bündel auswandern, insofern ich dies aus ihrer Anhäufung im hintersten Teile eines Bündels schließen darf, wobei sie aber immer ihrer geringen Anzahl wegen nur zerstreut, nicht in einer geschlossenen Querreihe anzutreffen sind.

Zu erklären, durch welche Kräfte die Vorwärtsbewegung im Bündel bewirkt werde, hat einige Schwierigkeit. Das Nächstliegende ist ja, die eigene aktive Bewegungsfähigkeit der haarförmigen Elemente heranzuziehen. Allein im freien Zustande wird die Lokomotion derselben durch schlagende Bewegungen des Schwanzes vermittelt, zu denen im Gefüge des Bündels, auch nach dessen Lockerung, nur wenig und ungenügender Spielraum vorhanden ist. Es muß also eine modifizierte Art ihrer spontanen Lokomotion vorausgesetzt werden, oder es könnte auch mithelfen, daß sie durch Bewegungen der sie umgebenden wurmförmigen Elemente vorwärtsgeschoben werden.

Hier ist nun der Ort, um auf den Ausnahmefall zurückzukommen, daß in einem Bündel mehr als eine Ausbildungsstufe der haarförmigen Elemente vertreten ist. Damit hat es folgende Bewandnis. In einem meiner Präparate ist ein Gemengebündel zu finden, in welchem die spiralköpfig gewordenen Elemente bereits vorn versammelt und gruppenweise nebeneinander gereiht sind, während, von dieser Partie getrennt durch eine von solchen Formen entleerte Mittelzone, hinten eine Gegend des Bündels folgt, in der zerstreut Köpfe von einer viel früheren Form sichtbar sind, der Fig. 12 o nahe stehend. Es liegen nun zur Erklärung dieses ungewöhnlichen Vorkommens zwei Möglichkeiten vor. Die eine ist, daß diese Individuen durch irgend eine Ursache in ihrer Weiterentwicklung gehemmt worden sind; jedoch ist dies bei der normalen Ausbildung so vieler anderer Genossen sowohl an sich, wie auch wegen der Gleichmäßigkeit des Zurückbleibens wenig wahrscheinlich. Die andere Eventualität aber, die mir plausibler erscheint, ist ein neuer Nachschub kürzlich aus der ersten Ausbildungsperiode hervorgegangener Individuen. Danach würden in einzelnen Fällen, während die beinahe reifen nach vorn rücken,

neue, soeben mit der ersten Periode ihrer Ausbildung fertige in die Fugen des hinteren Teils des Bündels hineinschlüpfen. Doch kann dies nach dem Gesagten nur ein seltenes Ereignis sein.

Nach dieser Einschaltung sind jetzt die in normaler Richtung auswandernden Elemente wieder ins Auge zu fassen. Wir haben dieselben verlassen, als sie in dichten Querreihen geordnet waren. Jetzt rücken nun diese Kompagnien, eine jede im Gleichschritt, weiter vor, bis die vorderen Spitzen der spiraligen Köpfe zwischen den Köpfchen der wurmförmigen Elemente angelangt, also auch der Schlauchwandung ganz nahe gekommen sind. Zuweilen sieht man die ganze, flache oder stärker gewölbte vordere Endfläche des Bündels von den blauen Spiralköpfen besetzt, andere Male nur einen Teil dieser Endfläche, während eine oder mehrere andere Gruppen der wandernden Spermien auch schon nahe am Ziele sind. An diesem angelangt sich vollends aus der Einklemmung auf die bisherige Weise herauszuarbeiten, würde ihnen wegen Mangels an Raum zu weiterem Vorrücken nicht gelingen. Dennoch werden sie ganz befreit, und zwar wohl dadurch, daß um diese Zeit die wurmförmigen Elemente beginnen sich nach rückwärts zurückzuziehen und so die zwischen ihnen befindlichen kleinen Samenfäden vorn entweichen zu lassen (Fig. 2 A u. B). Thatsächlich ragt ein immer längeres Stück der blauen Spiralen hervor, dann diese ganz, und schließlich sind diese Individuen völlig herausgelöst, während die Schaar der wurmförmigen noch einige Zeit in loser Zusammenlagerung etwas tiefer im Inneren des Schlauchs zu finden ist.

Die gleichzeitig frei gewordenen haarförmigen Spermien vereinigen sich aber sofort wieder unter sich zu neuen Bündeln von je 10—30 gleich gerichteten Individuen, indem die Köpfe sich seitlich genau aneinander legen und namentlich mit ihrem an den Schwanz anstoßenden dickeren Ende fest aneinander haften, während die spitzigen Vorderenden in einem geringen Abstände voneinander bleiben, immerhin so, daß die Köpfe im ganzen gegeneinander konvergieren (Fig. 1 Ch). Der Zusammenhalt ist so innig, daß auch in Dissociationspräparaten solche ganze Bündel vielfach sich vorfinden. Diese Art der Aggregation entspricht nun ganz den auch bei so vielen anderen Tieren im Hoden vorfindlichen Spermien-Bündeln, über deren wahrscheinliche physiologische Bedeutung ich mich in meiner Abhandlung über *Dytiscus* (1 f) ausgesprochen habe. In unserem jetzigen Falle wird es aber völlig klar, was sich sonst nicht oft nachweisen läßt, daß diese Bündel

durch nachträgliche Zusammenordnung von Individuen entstehen, die vorher ziemlich weit voneinander entfernt gewesen waren und sehr leicht aus verschiedenen Spermioblastenhäufchen herstammen können.

In ihrer natürlichen Lage, wie sie in Schnittpräparaten sich darstellt, sind auch diese Bündel immer ziemlich senkrecht gegen die Schlauchwandung gestellt und mit dieser in inniger Berührung. Außerdem findet man aber auch hier und da an einer Wandstelle in ähnlicher Position ein vereinzelt Spermium der gleichen Form oder einige solche lose nebeneinander (Fig. 2). Vielleicht sind das Individuen, die vorher verkehrt im Gemengebündel gesteckt hatten (S. 533 u. 539), dann aus dessen hinterem Ende herausgeschlüpft waren und wegen ihrer geringen Anzahl und räumlichen Zerstreung nicht so leicht Zusammenschluß mit anderen finden konnten. Diese vereinzelt Exemplare lassen gewisse Feinheiten der Struktur noch leichter erkennen, als die in einem Bündel dicht zusammengehäuften. In beiden Fällen zeigt sich bei stärkster Vergrößerung und guter Konservierung des Wandungsprotoplasma, daß die Spitzen der Spermienköpfe in dieses Protoplasma eingesenkt sind, als sei damit die Befriedigung irgend eines stofflichen Bedürfnisses bezweckt. Dieses räumliche Verhältnis waltet sogar dann ob, wenn die Protoplasmafläche an ihrer inneren Fläche von Samenzellen belegt ist. Der Kopf des Spermiums steckt dann teilweise zwischen diesen Zellen, nichtsdestoweniger mit seiner Spitze bis nahe an die Basalmembran der Schlauchwand reichend. Er muß sich also zwischen die Zellen hineingebohrt haben, um an und in die äußere Schicht zu gelangen. Auch ein Bündel sieht man nicht selten seitlich von Rundzellen umlagert, so daß der Eindruck entsteht, es habe sich auch unter Verdrängung der Zellen seinen Weg zum Wandungsprotoplasma gesucht. Ferner aber zeigt sich an den Spermien dieser Phase auch jetzt noch der gewundene blaue Kopf oftmals von einer roten Linie umsäumt; d. h. die ihn umhüllende Zellmembran ist noch erkennbar. Das Gleiche gilt von dem Spitzenteil, das selbst, wenn es schon in der Protoplasmaschicht steckt, von dieser durch seine intensiver rote Farbe absticht.

In solcher Stellung und Gruppierung nun verweilen diese beinahe reifen Samenfäden wahrscheinlich recht lange Zeit, nach der Häufigkeit des Vorkommens dieser Situation zu schließen. Endlich ziehen sie sich aber doch von der Wandung los, geraten mehr in das Innere der Schlauchhöhle hinein. Die Bündel fahren hier auseinander. Infolgedessen sind dann stellenweise im Hoden zahl-

reiche isolierte Exemplare dieser Art in ungeordneter Lage und in wirrem Durcheinander mit wurmförmigen zu finden. Und in dieser Vermengung gelangen sie auch in den Ausführungsgang und zur Ejakulation.

Wenn man nun die haarförmigen Spermien aus den letzt-erwähnten Bündeln unter sich und mit den später wieder isolierten und ganz reifen genauer vergleicht, so ergibt sich, daß in der Zwischenzeit noch merkliche Veränderungen an ihnen vorgehen. Die Kopfspirale wird unter Minderung ihres Steigungswinkels kürzer und breiter; zugleich aber wird die Anzahl ihrer Windungen von $7\frac{1}{2}$ auf 6 reduziert. Also werden nicht nur die Windungen einander genähert, sondern auch die ganze Spirale etwas aufgedrillt. Außerdem aber wird die sie bekleidende, rot tingierbare Membran dünner, schließlich so sehr, daß sie in ihrer dichten Anlagerung an die blaue Kernsubstanz nicht mehr zu unterscheiden ist. Und auch das Spitzenstück schwindet allmählich dahin. An beinahe reifen Exemplaren kann man es öfters noch in verkleinertem Zustande, als ein kurzes rotes Spitzchen sehen. An ganz reifen aber ist bei *Paludina* jede sichtbare Spur jenes Aufsatzes abhanden gekommen, sehr im Gegensatze zu dem an anderen Gastropoden zu Beobachtenden, z. B. an den reifen Samenfäden von *Helix pom.*, deren blau tingiertem, pfriemenförmigem Kopfe vorn ein rotes Stiftchen als Spitzenstück ansitzt. An dieses Schwinden der eben genannten Bestandteile knüpft sich die Frage, was aus ihrer Substanz werden möge. Darüber kann ich nur eine Vermutung äußern. Um die gleiche Zeit verlängert sich der Schwanz bedeutend, ohne dabei im ganzen dünner zu werden. Das ihm zuwachsende Material kann nun sehr wohl von der protoplasmatischen Kopfscheide und dem mit dieser zusammenhängenden Spitzenstück geliefert werden. Deren Substanz dürfte unter molekulären Verschiebungen größtenteils in den Schwanz hineinwandern, um hier namentlich dem Wachstum des zweiten, hinteren Schwanzabschnitts zu gute zu kommen, der ja anscheinend von vorn herein (vgl. oben S. 496) aus der protoplasmatischen Grenzmembran herausgewachsen ist und aus dieser schon früher das Material zu seiner Vergrößerung bezogen hat. Die Annahme aber, daß die protoplasmatische Hüllmembran des Kopfs nur äußerst verdünnt, jedoch nicht gänzlich beseitigt wird, stützt sich auf die vorauszusetzende Analogie mit den Samenkörpern höherer Tiere, an denen in neuerer Zeit nach den Ergebnissen einiger vortrefflichen Beobachter und auch nach meinen eigenen,

früher mitgeteilten Befunden (1e u. 1f) eine derartige Einscheidung des Kopfs unzweideutig konstatiert werden kann.

Ich bin also nach allen meinen Beobachtungen ganz derjenigen Ansicht, welche zuerst LA VALETTE ausgesprochen hat, daß nämlich überall das reife Spermium nicht nur den Wert einer ganzen Zelle hat, sondern auch an seinem Kopfteile noch von einer peripherischen Schicht der Zellsubstanz eingefaßt ist.

Hiermit wäre das, was ich über das Genetische der haarförmigen Spermien zu sagen hätte, erledigt, wenn ich mich nicht noch mit einer das Spitzenstück betreffenden, sehr eigentümlichen Ansicht PLATNER's auseinandersetzen hätte. Dieser Beobachter hat der vordersten Windung des Spiralkopfes den Wert eines Spitzenstücks zugeschrieben und auf diese Auffassung um so mehr Wert gelegt, als er annahm, daß dieses vermeintliche Spitzenstück aus der Substanz des Centrosoma gebildet werde, was er durch eine besondere tinktionelle Differenzierung stützen zu können glaubte. Es sei bemerkt, daß PLATNER angiebt, die Kopfspirale habe wenig mehr als fünf Windungen, wonach also die bei Zählung von hinten her fünfte Windung diejenige wäre, die hier in Betracht käme. Jene Zahlenangabe ist aber nicht zutreffend; vielmehr sind — abgesehen von dem Plus von $1\frac{1}{2}$ Windungen am unfertigen Gebilde — auch im reifen Zustande, wie schon BRUNN richtig angegeben hat, beinahe sechs Windungen vorhanden, von denen allerdings die erste an den Schwanz stoßende steiler und weniger ausladend ist als die übrigen, außerdem auch nach dem Schwanz zu in ein geradliniges Stückchen ausläuft (Fig. 12z), während andererseits die vorderste aus einem sehr feinen Stück des Fadens besteht, das bei seiner Zartheit und schwachen Färbung leicht übersehen werden kann. Namentlich das allerletzte Ende dieser vordersten Windung bereitet durch seine Feinheit der Wahrnehmung Schwierigkeit. Ich will aber zugeben, daß ihr vielleicht ein Viertel zu einem vollen Umgange fehlt (Fig. 12z). Natürlich kann nur diese letztere als vorderste Windung diejenige sein, auf welche sich die jetzige Diskussion zu beziehen hat, wie auch nur diese sich wirklich tinktionell einigermaßen von den übrigen unterscheidet. Sie erscheint nämlich am ganz reifen Spermium nach jeder Art von Tinktion viel schwächer gefärbt, als alle hinteren Windungen und nach Anwendung von Methylgrün sogar fast farblos, jedoch auch im letzteren Falle ohne scharfe Abgrenzung gegen den gefärbten Teil. Nach Benutzung von Viktoriablau ist der Abfall der Färbung geringer; sie zeigt sich dann in einem zwar blassen, aber deutlichen Blau. Und ähnlich verhält es sich mit allen den Rotfärbungen, denen überhaupt die wesentliche Substanz des Kopfes zugänglich ist, wie denen durch Karmin, Eosin, Safranin. Bekanntlich zeigt sich Entsprechendes auch an den Samenfäden anderer Tiere, nämlich — ganz abgesehen von einem etwa besonders vorhandenen Aufsätze, Spitzenstücke oder Kopfkappe — an dem eigentlich nukleären Teile des Kopfes nach der Tinktion ein auffallend blasser Farbenton des vordersten Teils. Dieser ist nun in erster Linie und hauptsächlich der Zuschärfung des Kopfes nach

vorn hin zuzuschreiben, also dem Umstande, daß man durch eine sehr dünne gefärbte Schicht hindurchsieht¹⁾. Bei *Paludina* ist dies auch in hohem Maße der Fall. Gleichwohl scheint außerdem an dieser Stelle noch eine besondere Beschaffenheit der Substanz im Spiele zu sein, infolge einer Veränderung, die während der letzten Ausreifung eintritt. Es sind nämlich zu der Zeit, wo die spiraligen Köpfe aus den Gemengebündeln austreten, und auch noch eine Weile später die vordersten Windungen merklich besser färbbar als am ganz reifen Spermium. Ich denke mir, daß an diesen wie an anderen Samenfäden während der Reifung der Endteil der nukleären Kopfmasse eine besonders weitgehende Verdichtung erfahren, gleichsam für leichteres Eindringen in ein Ei gestählt und gerade dadurch in seiner Tingierbarkeit beeinträchtigt werden mag. Es ist klar, daß hochgradige Dichtigkeit, wenn sie eine gewisse Grenze überschreitet, der Durchfärbung hinderlich sein muß durch Verengerung derjenigen Interstitien, in welche sonst die Farbstoffteilchen eindringen. — Nun befreit sich aber PLATNER auf ein anderes, von ihm erlangtes tinktionelles Ergebnis. Er fand nach der schon oben erwähnten kombinierten Tinktion mit Vorfärbung in Alaunkarmin und Nachfärbung in Bleu de Lyon den größten Teil der Spirale rot, hingegen ihre vorderste Windung „schwach blau“ gefärbt. Den letzten Teil dieser Behauptung kann ich nun zwar nicht geradezu bestätigen, indem ich bei wiederholter methodischer²⁾ Nachprüfung an der letzten Windung keine bestimmbarere Färbung zu erkennen vermochte, will aber zugeben,

1) Besonders beweisend sind hierfür Beobachtungen an den menschlichen Spermien. Werden deren Köpfe mit Methylgrün gefärbt, so zeigen die auf der flachen Seite liegenden ihren an den Schwanz anstoßenden dicken Teil dunkelblau, während ein vorderes Feld, das die ganze Breite und etwa die halbe Länge des Kopfes einnimmt, nur mit einem Anhauch von Blau behaftet ist oder fast farblos erscheint, ohne übrigens durch eine scharfe Linie von dem dunkeln Teile abgegrenzt zu sein. Sieht man sich hingegen die zufällig auf eine Kante gestellten Köpfe an, so zeigen sich diese auch in ihrem schmalen, d. h. abgeplatteten Vorderteile gesättigt blau, weil jetzt auch vorn eine hohe lichtabsorbierende Schicht wirksam ist. Zugleich ergibt sich, daß der Vorderabschnitt an den einzelnen Exemplaren etwas verschiedene relative Ausdehnung hat, nämlich etwa $\frac{1}{3}$ bis $\frac{2}{3}$ der Gesamtlänge des Kopfes ausmacht, gerade wie auch das helle Feld bei der Flächenansicht. Die Blaufärbung des Vorderteils durch Methylgrün beweist nun absolut, daß dieser ebenfalls nukleären Ursprungs ist, chemisch betrachtet aus der gleichen Substanz besteht wie der hintere und mit diesem in kontinuierlichem Zusammenhange, ein integrierender Teil des Kopfes ist, was ich nicht ohne Grund besonders betone. Trotzdem muß ich aus anderweitigen Erfahrungen, die ich z. T. hier noch flüchtig berühren werde, schließen, daß dem platten vorderen Abschnitte doch auch eine qualitative Verschiedenheit gegenüber dem hinteren anhaftet, die aber nur physikalischer Natur sein kann und vielleicht in einer besonders hochgradigen Verdichtung besteht (vgl. die im Text folgenden Bemerkungen).

2) Bei der zu diesem Verfahren gehörigen Nachfärbung beginnt die blaue Imprägnierung der Spermienköpfe an deren vorderem Ende und schreitet von hier nach hinten fort, während die Entfärbung in Alkohol den umgekehrten Weg verfolgt. Man kann deshalb bei ungenügendem Zeitaufwande für beide Prozeduren außer der vordersten Windung auch noch die nächste und eventuell die zweitnächste blau, alle hinteren hingegen rot finden. Und Entsprechendes gilt auch mutatis mutandis für die noch leichter zu beobachtenden großen Köpfe der Tritonspermien.

daß diese für ein anderes Auge eventuell einen Stich ins Bläuliche zu haben scheinen könnte¹⁾. Wäre dem aber auch so, so würde damit doch ihre Substanz keineswegs als die eines Centrosoma nachgewiesen sein, da sonst nicht das Geringste darüber bekannt ist, daß Bleu de Lyon gerade auf Centrosomen spezifisch tingierend wirke. Überdies zeigt sich, daß bei dem PLATNER'schen Verfahren auch der Schwanz des Spermiums blau gefärbt wird, und zwar sicherer und intensiver als die vorderste Spiralwindung; man müßte also konsequenterweise schließen, daß auch der ganze Schwanz vom Centrosoma abstamme. Daß eine solche Abstammung nicht einmal für das wirkliche Spitzenstück nachweisbar ist, habe ich oben, S. 493, dargegan. Und daß die vorderste Spiralwindung überhaupt nicht ein umgewandeltes Spitzenstück sein kann, geht, auch wenn man von dem Mangel der Abgrenzung und von der gebogenen Form absehen will, aus der ganzen von mir dargelegten Entwicklung genügend hervor.

Über die Bewegungsart der haarförmigen Spermien sowohl, als der wurmförmigen, sowie auch über einige andere Punkte habe ich mich ausführlicher in meiner ersten bezüglichen Mitteilung (1 h) ausgesprochen, auf welche, als das hier Gebotene ergänzend, hingewiesen sei.

VII. Rückblick.

Bei der Fülle der besprochenen Thatsachen wäre es unthunlich, deren Gesamtheit in einer Rekapitulation unterzubringen. Nur einige hervorragende, z. T. eigenartige Züge dieser Spermatogenese gestatte ich mir nochmals hervorzuheben.

Betreffs der Entstehung der haarförmigen Spermien hat sich herausgestellt, daß infolge viermal wiederholter mitotischer Teilung der Spermatogonien und ihrer Abkömmlingszellen im ganzen fünf Generationen von Samenzellen auftreten, deren letzte durch die zu den haarförmigen Spermien sich umbildenden Zellen, d. h. nach meiner Benennungsweise durch die

1) Ich muß das um so mehr für möglich halten, als ich Entsprechendes an den Samenkörpern einiger Wirbeltiere wirklich konstatieren konnte, und zwar gerade nach gründlicher und geregelter Durchführung der PLATNER'schen Tinktion. Am auffallendsten ist die Erscheinung wieder an den Elementen des menschlichen Sperma, an denen der hintere dicke Teil des Kopfes rot, der vordere platte hingegen blaßblau wird. Aber gerade die letztere Thatsache beweist, in Verbindung mit den in der Anm. 1 auf S. 544 beigebrachten, daß die differente Färbung nicht den Sinn haben kann, den PLATNER ihr unterlegt, sondern einer anderen Erklärung bedarf, die sich überhaupt nicht auf eine morphologische Gliederung beziehen wird. Hierüber und über weitere damit zusammenhängende Punkte behalte ich mir eingehendere Äußerungen für ein anderes Mal vor.

Spermioblasten dargestellt wird. Die Teilungen erfolgen ohne zwischengeschobenes Wachstum der Zellen, infolgedessen der Spermioblast, sowie er unmittelbar nach seinem Hervorgehen aus der letzten Teilung beschaffen ist, ein Sechzehntel der Masse des Spermatogoniums enthält. Diese Proportion dürfte auch für die einzelnen wesentlichen Bestandteile der verglichenen Zellen gelten, da überhaupt in den Samenzellen verschiedener Größe das quantitative Verhältnis der konstituierenden Bestandteile zu einander immer sich gleich zu bleiben scheint.

Hinsichtlich der mitotischen und der damit zusammenhängenden Vorgänge stehen ja meine Befunde im großen und ganzen in erfreulicher Übereinstimmung mit dem in analogen Fällen von anderen Forschern Wahrgenommenen. Gewisse Unvollkommenheiten meiner Ergebnisse, besonders auch betreffs der Centrosomen, bedaure ich; sie waren verursacht einestheils durch die besondere Ungunst des Objekts, anderenteils vielleicht auch durch die Art meiner, wegen anderer Vorteile bevorzugten Vorbehandlung. Wenn mir nun, auch abgesehen von Verschiedenheiten der subjektiven Auffassung, in einigen Punkten ungewöhnliche Modifikationen der Erscheinungen entgegengetreten sind, so stellen diese wohl z. T. besondere Eigentümlichkeiten der untersuchten Tiergattung oder Familie dar, wie es sich ja überhaupt schon gezeigt hat, daß bei prinzipieller Übereinstimmung sich doch nicht alles überall nach einer Schablone gestaltet. Einige meiner vielleicht etwas auffälligen Ergebnisse berühren freilich Fragen von allgemeinerer Wichtigkeit. Aus der Gesamtheit meiner die Teilungsvorgänge betreffenden Resultate möchte ich namentlich die folgenden nochmals in Erinnerung bringen.

Der Nebenkern entsteht nachweislich allmählich durch Verdichtung des Cytoplasma. Er erfährt in der Zeit zwischen dem Schleifen- und dem Spindelstadium eine Teilung in zwei gleiche Portionen, die sich nach zwei gegenüberliegenden Polen der Zelle hinbegeben, von wo aus sie durch Ausstrahlungen ihrer Substanz gemeinsam die Faserspindel formieren. Die Faserspindel besteht also hauptsächlich aus modifizierter Zellsubstanz, wie sie sich ja auch nach Erfüllung ihrer Aufgabe wieder in diffuses, den ganzen Zellraum einnehmendes lockeres Cytoplasma ausbreitet.

Die Grundzahl der Karyosomen ist vier. Am Ende des Schleifenstadiums zerfallen jedesmal die vier Fäden in sechzehn Stücke, die sich zu Kügelchen abrunden und vor der Einlagerung in die Faserspindel wieder zu vier Karyosomen von gedrungener Form vereinigen, eine Prozedur, über deren Bedeutung ich mich oben vermutungsweise ausgesprochen habe. In der dritten Zellgeneration nimmt dieser Vorgang die Form des „Viererstadiums“ an und findet sich auch die Abweichung ein, daß an der Faserspindel jedes der vier Karyosomen, statt wie sonst in zwei, diesmal in vier Teilstücke zerfällt, so daß acht Körperchen nach jedem Pole hinwandern. Diese Modifikation hat jedoch bei *Paludina* kein Überspringen eines Ruhezustandes der Kerne zur Folge. In der vierten Generation enthält die Faserspindel wieder vier Karyosomen, welche nach Zweiteilung wie gewöhnlich vier Tochterkaryosomen nach jedem Pol hin abgeben. Dies ist eine Wiederaufhebung der vorangegangenen Verdoppelung. Hingegen ist demnach bei *Paludina* mit der letzten Teilung keine absolute Reduktion der Zahl der Karyosomen verbunden, indem in die Kerne der Spermioblasten wieder vier Karyosomen eintreten, also eben so viele, wie in die Kerne der zweiten und dritten Generation der Samenzellen. Wohl aber ist durch die wiederholte Halbierung eine sehr bedeutende Reduktion der Masse der kyanophilen Substanz bedingt, welche dadurch auf ein Sechzehntel des Betrages, den sie in den Spermato gonien hatte, herabgemindert wird; und es kann auch diese Art von Reduktion nicht ohne Einfluß auf die Vererbungsverhältnisse bleiben.

Bei der Umbildung des Spermioblasten zu dem haarförmigen Spermium wird zuerst, ganz wie früher, ein Nebenkern gebildet. Dieser liefert nach Verschmelzung mit dem aus dem Kerne ausgetretenen Nucleolus das Material sowohl zum Spitzenstück, als auch zu einem wesentlichen Bestandteile des Schwanzes, nämlich dem in der Entwicklungszeit noch kenntlichen Achsenstrang. Letzteres geschieht so, daß der betreffende abgetrennte Teil des Nebenkerns sich nach vierfacher Einkerbung zu einem Bündel von vier Stäbchen ausstreckt, das,

umhüllt von der sich anschmiegenden Zellmembran, den vorderen Abschnitt des Schwanzes bildet, welchem ein aus dieser Membran herausgesproßter Faden als hinterer Abschnitt des Schwanzes angefügt ist. Der die Art der Verwendung des Nebenkerns betreffende Teil der Beobachtung deckt sich größtenteils mit früheren Befunden von BÜTSCHLI, LA VALETTE und PLATNER. Jedoch war des letztgenannten Autors angeblich aus dem Kerne hervorsproßter Centrifalfaden nicht zu konstatieren.

In Betreff der wurmförmigen Samenfäden aber hat sich folgendes herausgestellt: Diejenigen Zellen, die zu den wurmförmigen Spermien sich umbilden, gehören der ersten oder ausnahmsweise der zweiten Zellgeneration an. Sie gleichen anfangs ihren Schwesterzellen und machen dann, ganz wie diese, einen mitotischen Prozeß durch bis kurz vor das Dispiremstadium. Jetzt beginnt die abweichende Weiterentwicklung damit, daß in den beiden Polgegenden die je vier Karyosomen auseinanderweichen und dabei durch Zweiteilung an Zahl zunehmen. Diese jetzt in diffuses Cytoplasma eingebetteten kleinen Körperchen, welche die gesamte kyanophile Substanz der Zelle darstellen, zerstreuen sich weiterhin im ganzen Zellraume und zerfallen nach und nach in immer feinere und feinere Stäubchen, die sich dann eine Zeitlang nur noch durch den dunkleren Farbenton der Zellsubstanz verraten, bis auch dieser verschwindet. Zweifelhaft bleibt nur, ob die Moleküle der kyanophilen Kernsubstanz schließlich chemisch zerstört oder an der Oberfläche der Zelle ausgeschieden werden. Auf eine oder die andere Art aber werden sie gänzlich beseitigt. Danach ist und bleibt fernerhin diese Bildungszelle kernlos im weitesten Sinne des Wortes. Denn derjenige dunklere Innenkörper, der zur Bildung des Achsenstranges verbraucht wird und den früheren Beobachtern als ein Fragment des Kernes gegolten hat, ist thatsächlich protoplasmatischer Natur und hat den Wert eines Nebenkerns, der ersichtlich durch Verdichtung eines Teiles des Cytoplasma neu entsteht. Da ein eigentlicher Kern fehlt, so habe ich ihn

als Cytoplasmakern bezeichnet. Wenn nun die schon früher (1h) von mir ermittelte und kundgegebene Thatsache, daß die wurmförmigen Spermien gänzlich eines Gehaltes an kyanophiler Substanz entbehren, bisher in genetischem Betracht noch rätselhaft war, um so mehr als nach den früheren Autoren ein Fragment des Kerns bestehen bleiben sollte, so ist diese Sache jetzt völlig aufgeklärt, bis auf den einen Punkt, ob es ein chemischer oder ein mechanischer Vorgang sein mag, durch den jene Substanz nach ihrem molekulären Zerfall schließlich ganz beseitigt wird.

Meine früher ausgesprochene Vermutung aber, daß die wurmförmigen Spermien doch wohl nicht so gänzlich funktionslos sein dürften, ist jetzt bestätigt. Die oben geschilderte Syntaxis der zweierlei Samenelemente ist mit Erscheinungen verknüpft, die den sicheren Schluß begründen, daß die haarförmigen Spermien zu ihrer letzten Ausbildung eines allseitigen und anhaltenden Kontakts mit den wurmförmigen bedürfen, daß letztere in dieser Richtung einen seiner Wirksamkeit nach bestimmten, seinem sonstigen Wesen nach freilich noch rätselhaften Einfluß ausüben. Und das ist wohl keine unwichtige Funktion. Ob aber damit die Leistungsfähigkeit der wurmförmigen Samenelemente erschöpft und ihre Rolle ausgespielt ist, werden erst zukünftige Forschungen zu lehren haben.

VIII. Litteratur.

- 1) AUERBACH, a) Organologische Studien, Heft I u. II, Breslau 1874.
 - b) Zur Lehre von der Vermehrung der Zellkerne. Centralbl. f. d. med. W., 1876.
 - c) Zelle und Zellkern. Beitr. zur Biologie der Pflanzen, herausg. v. F. COHN, II, 1876, S. 1—21.
 - d) Zur Kenntnis der tierischen Zellen. Sitzsber. der Berl. Akad. d. Wissensch., 1890, S. 735—749.
 - e) Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophilie der Keimsubstanzen, ebenda 1891, S. 713—750.
 - f) Über merkwürdige Vorgänge am Sperma von *Dytiscus marg.*, ebenda 1893, S. 185—203.
 - g) Zu den Bemerkungen des Herrn Dr. BALLOWITZ, betr. das Sperma von *Dytiscus margin.* Anat. Anz., VIII, Nr. 18—19, 1893.
 - h) Spermatologische Mitteilungen. Jahresber. der Schles. Ges. über 1894, Zoologisch-botanische Sektion, S. 11—38.
- 2) BALLOWITZ, Weitere Beob. über den feineren Bau der Säugetier-Spermatozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool., LII.
- 3) BOVERI, Über das Verhalten der Centrosomen bei der Befruchtung des Seeigelleies. Verhandl. der Phys.-med. Ges. zu Würzburg, N. F. Bd. XXI, 1895.
- 4) MAX v. BRUNN, Untersuchungen über die doppelte Form der Samenkörper von *Paludina viv.* Arch. f. mikr. Anat., XXIII, S. 413—499, 1884.
- 5) BÜTSCHLI, a) Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle. Abhandl. d. Senkenbergischen naturf. Ges., Bd. X.
 - b) Entwicklung der Samenfäden. Zeitschr. f. wiss. Zool., XXI.
- 6) DUVAL, a) Recherches sur la spermatogénèse, étudiée chez quelques Gasteropodes pulmonés. Revue des Sc. Nat., VII, No. 3, 1878.
 - b) Recherches sur la spermatogénèse. Journal de micrographie, T. III, p. 22.
- 7) R. FICK, a) Befruchtung des Axolotl-Eies. Anat. Anz., VII, 1892.
 - b) Reifung und Befruchtung des Axolotl-Eies. Zeitschr. f. wiss. Zool., LVI, 1893.
- 8) FLEMING, a) Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung, Leipzig 1882.
 - b) Beiträge zur Kenntnis der Zelle, II, Arch. f. mikr. Anat., XVIII, 1880.

- c) Entwicklung der Samenfäden bei *Salamandra*, ebenda, XVIII, S. 233—250, 1880.
- d) Neue Beitr. zur Kenntnis der Zelle, ebenda, XXIX, 1887.
- e) Weitere Beobachtungen über die Entwicklung der Spermatozomen bei *Sal. mac.*, ebenda, XXXI, S. 71—97, 1888.
- f) Artikel: „Zelle“ in „Ergebnisse der Anat. u. Entw.-Geschichte“, herausg. v. MERKEL u. BONNET, Bd. II, 1892.
- 9) GROBBEN, Beiträge zur Kenntnis der männlichen Geschlechtsorgane der Dekapoden. Arb. a. d. zool. Inst. d. Univ. Wien, I, S. 57—94, 1878.
- 10) GUIGNARD, Nouvelles recherches sur le noyau cellulaire. Ann. des sc. nat., 6. Serie, Botanique, T. XX, 1885.
- 11) F. HERMANN, Beiträge zur Histologie des Hodens. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXIV.
- 12) O. HERTWIG, Die Zelle und die Gewebe. Jena 1893
- 13) HEUSER, Beobachtungen über Zellkernteilung. Botanisches Centralblatt, XVII, 1882.
- 14) KOEHLER, Recherches sur la double forme des spermatozoïdes chez le *Murex*. Recueil zoologique Suisse, T. V, p. 101—150, 1892.
- 15) LA VALETTE ST. GEORGE, a) Über die Genese der Samenkörper, Arch. f. mikr. Anat., III, 1867.
 b) Desgl., ebenda, X, 1871.
 c) „ „ „ XV, 1878.
 d) Spermatologische Beiträge, ebenda, XXVII, 1886.
- 16) LEYDIG, Über *Paludina viv.* Zeitschr. f. wiss. Zool., II, S. 125—197, 1850.
- 17) NUSSBAUM, Zur Differenzierung des Geschlechts im Tierreiche. Arch. f. mikr. Anat., XVIII, 1880.
- 18) PLATNER, a) Über die Spermatogenese bei den Pulmonaten. Arch. f. mikr. Anat., XXV, S. 564—581.
 b) Über die Entstehung des Nebenkerns. Arch. f. mikr. Anat., XXVI, S. 343—369.
 c) Zur Bildung der Geschlechtsprodukte bei den Pulmonaten, ebenda, XXVI, S. 599—621.
 d) Die Karyokinese bei den Lepidopteren. Internationale Monatsschr. f. Anat. u. Histol., III, 1886.
 e) Beitrag zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilung. Arch. f. mikr. Anat., XXXIII, S. 125—152.
- 19) RABL, Über Zellteilung. Morphologisches Jahrbuch, X.
- 20) VOM RATH, a) Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Hoden. Zool. Anz., XIV, Nr. 374—376, 1891.
 b) Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese von *Sal. mac.* Zeitschr. f. wiss. Zool., LVII, 1893.
- 21) ROSEN, a) Beitrag zur Kenntnis der Pflanzenzelle, 1. Mitteil., in Beitr. z. Biologie der Pflanzen, herausg. von F. COHN, Bd. V, 1892.
 b) Desgl., 3. Mitteil., ebenda, Bd. VII, 1895.

- 22) W. ROUX, a) Der Kampf der Teile (Leipzig 1881), auch in des Verf. Gesammelte Abh., I, Leipzig 1895, S. 135.
 b) Über Selbstordnung der Furchungszellen. Ber. des Naturw. Vereins zu Innsbruck, März und April 1893.
 c) Über den Cytotropismus der Furchungszellen. Arch. f. Entwicklungsmechanik der Organismen, Bd. I, S. 43—68 u. S. 161—202.
- 23) SCHULZ und JULIUS, Tabellarische Übersicht der künstlichen organischen Farbstoffe, 2. Aufl., Berlin 1891.
- 24) SCHWALBE, Bemerkungen über die Kerne der Ganglienzellen. Jen. Zeitschr. f. Naturw., X, 1876.
- 25) SELENKA, Entw.-Geschichte des Opossum. Wiesbaden 1886.
- 26) v. SIEBOLD, Über die Spermatozoen der wirbellosen Tiere. MÜLLER'S Arch. f. Anat. u. Physiol., 1836.
- 27) SOLTWEDEL, Freie Zellbildung im Embryosack der Angiospermen. Jen. Zeitschr. f. Naturw., XV, 1881.
- 28) STRASBURGER, a) Über Zellbildung und Zellteilung, 1. u. 2. Aufl., Jena 1875 u. 1876.
 b) Desgl., 3. Aufl., Jena 1880.
 c) Über den Teilungsvorgang etc., Arch. f. mikr. Anat., XXI, 1882.
 d) Kern- und Zellteilung im Pflanzenreiche. Jena 1888.
- 29) E. H. ZIEGLER, Die biologische Bedeutung der amitotischen Kernteilung. Biol. Centralbl., XI, S. 372—389, 1891.
- 30) ZIEGLER und vom RATH, Die amitotische Kernteilung bei den Arthropoden, ebenda, S. 744—755.
- 31) WEISMANN, a) Über die Zahl der Richtungskörper und ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena 1887.
 b) Amphimixis. Jena 1891.

IX. Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXI.

Fig. 1. Querschnitte dreier Hodenschläuche nach Härtung mit Chrom-Osmium-Essigsäure. Man sieht an jedem derselben ringsherum das Keimlager mit den durch Osmium geschwärzten Dotterkügelchen (vgl. S. 424). *Sgk* Noch mit dem Keimlager zusammenhängende kegelförmige Spermatogonien. *Sg* Abgelöste und abgerundete Spermatogonien. *Sc* Spermatozyten verschiedener Generationen. *Wz* W-Zellen. *bq* Querschnitte longitudinal im Schlauche gelagerter, bereits gelockerter Bündel der wurmförmigen Spermien. *bh* Bündel beinahe reifer haarförmiger Spermien. — Der Schnitt hat die Hodenröhrchen ganz nahe ihrem blinden Ende getroffen, und zwar die beiden größeren an der Umbiegung der seitlichen in die abschließende Wandung. Man sieht deshalb das Keimlager teilweise im Flachschnitt und ebenso auch diejenigen Zellengruppen, welche scheinbar im Inneren der Schlauchhöhle liegen, thatsächlich aber Häufchen angehört haben, die der Abschlußwandung angelagert waren. Vergr. ca. 200.

Fig. 2. Durchschnitt durch die Grenzgegend zwischen Hoden- und Lebergewebe. *LL* Lebertröhrchen. *A, B, C* Hodenröhrchen, schief durchschnitten. In dem Zwischenraum zwischen ersteren und letzteren befindet sich lockeres Bindegewebe. *Smk* Samenantherkerne in situ, durchschnitten. *Sz* Dem Keimlager anliegende Gruppen von Samenzellen verschiedener Generation. *bq* Querschnitte durch longitudinal im Schlauche gelagerte Gemengebündel. Die unregelmäßig zerstreuten dunkeln Punkte sind Querschnitte der blau tingierten Köpfe eingelagerter haarförmiger Spermien. *Gb* Auswanderung der haarförmigen Spermien aus den Gemengebündeln. Ergänzung zu Fig. 14. Vergr. 300.

Fig. 3. Samenantherkerne in Flächenansicht. *a* und *b*: aus Dissociationspräparaten. *c* und *d*: aus Schnitten. *c*: Abschnürung eines Tochterkerns. *d*: Durch mehrfache Zerschnürung entstandene Kette von Tochterzellen. Vergr. 1000.

Fig. 4. Eine Reihe nebeneinander hervorgesproßter, noch kegelförmiger Spermatogonien. Bei *a* ein solches zwischen seinen Nachbarn eingekeilt und mit seinem breiten Teile auf der Schlauchwandung fußend. Vergr. ca. 320.

Fig. 5. Nach ihrer Ablösung frei liegende Spermatogonien. *a*: frisch im Blute des Tieres. *dt* Dottertropfen. *b*: nach Behandlung mit 1-proz. Essigs., Zellmembran durch Ablösung des Cytoplasma sichtbar. *c*: ein Spermatogonium in der Bildung des Nebenkerns begriffen, Stadium der beiden Sichel, mit FLEMMING'scher Lösung behandelt. Der Dottertropfen ist teilweise verzehrt, halbmondförmig. Vergr. 1000.

Fig. 6. Intermediäre Proliferation der primären Samenzellen (vgl. S. 431—435). *a*: Eine gewachsene und zweikernig gewordene Zelle. *b*: Zweiteilung einer solchen durch Furchung. *c*: Eine noch mehr herangewachsene, vierkernig gewordene Zelle. *d*: Eine ebensolche ist durch Furchung in vier Tochterzellen geteilt; in letzteren ist noch während ihres Zusammenhangs die Nebenkernbildung weit vorgeschritten. Vergr. 1000.

Fig. 7. *a*: Aggregierte Samenzellen vierter Generation. *b*: Eine solche während der Aggregation durch Längsteilung in zwei, noch teilweise zusammenhängende Spermioblasten zerfallen. Vergr. ca. 2200.

Fig. 8. Spermatogonien nach Fixierung mit Sublimat und Doppelfärbung, Teilungsprozeß. *a*: Ruhende Spermatogonie. *a*¹: Dünner Durchschnitt des Zellenleibes, netzförmige Struktur des Cytoplasma. *b*—*e*: Bildung des Nebenkerns (vgl. S. 443—446). *f*: Anschwellen des Kerns, Andrängen des Nebenkerns an die Zellmembran. *g*: Knäuelstadium. *h*: Stadium der geordneten Schleifen. *i*: Stadium der verlagerten Schleifen. *k*: Die vier Fäden sind in sechzehn Kügelchen zerfallen. *l*: Übergang zur Bildung der Faserspindel. *m*: Fertige Faserspindel. *n*: Längsteilung der äquatorialen Karyosomen. *o*: Querschnitt durch die Äquatorialgegend. *p* und *q*: Wanderung der Tochterkaryosomen nach den Polen. Vergr. 1400.

Fig. 9. Kegelförmige Primärzellen mit hergestelltem Nebenkern. Doppelfärbung. *a*: Nach Härtung mit Sublimat. *b*: Nach Fixierung mit Chrom-Osmium-Essigsäure; das Dottermaterial, teilweise verzehrt, nahe dem schmalen Ende gelegen. Vergr. 1400.

Fig. 10. Spermatogonien im Stadium der Faserspindel, mit Sublimat fixiert und mit Eisen-Hämatoxylinlack nach M. HEIDENHAIN gefärbt. An den Spitzen der Spindel die Centrosomen sichtbar, bei a einfach, bei b durch Teilung verdoppelt. Vergr. 800.

Fig. 11. Samenzellen dritter Generation. Bei a acht Paare kleiner Karyosomen. b: Viererstadium (vgl. S. 482). Vergr. 1400.

Tafel XXII.

Fig. 12. Ausbildung der Spermioblasten zu den haarförmigen Spermien. A. a: Ruhender Spermioblast. b—m: Erste Periode der Umbildung (vgl. S. 491—500). B. n—s: Zweite Periode der Umbildung während der Syntaxis; es ist nur die blau tingierte Hauptmasse des Kopfs der Samenkörper in ihrer Umformung dargestellt (vgl. S. 536—537). C: Spermioblasten-Komplexe, in der Weiterbildung begriffen. t, u, v: Doppelspermioblasten in verschiedenen Phasen der Ausbildung. w: Quadruplex-Spermioblast (vgl. S. 501—502). D. z: Ein reifes haarförmiges Spermium. α : Schraubenzieherförmiger Kopf. σ^1 und σ^2 : Die beiden Abteilungen des Schwanzes. Vergr. von a—w = 1300, z = 1000.

Fig. 13. Entwicklung der wurmförmigen Spermien. a: W-Zelle mit noch deutlicher Spur ihres Hervorgehens aus dem Dyaster-Stadium einer Mitose. b: W-Zelle mit zwei polaren Gruppen kleiner Karyosomen. c—g: Weiterer Zerfall und Zerstreung der Karyosomen und Bildung des Cytoplasmakerns. h—n: Umwandlung des Cytoplasmakerns in den Achsenstrang. Der in n am hinteren Pole hinausgewachsene Teil des Achsenstrangs ist bei o in das Wimperbüschel zerfallen. o, p: Weitere Umbildung zur Schnurform. q: Ein reifes wurmförmiges Spermium im optischen Längsschnitt. (NB: o, p, q haben die gleiche Doppeltinktion durchgemacht wie a—n.) r: Ringelung oder Spiralstruktur der Mantelschicht des reifen wurmförmigen Spermiums. Vergr. von a—p und r = 1400, q = 1000.

Fig. 14. Syntaxis der zweierlei Spermien, während deren die zweite Periode der Ausbildung der haarförmigen abläuft, entsprechend Fig. 12 n—s. In a—c sind einige der Zwischenformen angedeutet. Wegen der dichten Fügung erkennt man nur die durch ihre blaue Färbung abstechenden Köpfe. In d ist das Gefüge gelockert und sind die beinahe reifen haarförmigen Spermien auf der Wanderung nach dem vorderen Ende des Gemengebündels. Vergr. ca. 500. Ergänzend hierzu ist Fig. 2.

Berichtigungen.

Auf S. 515, Zeile 5 des Textes von unten ist das Wort „ist“ zu streichen.

Auf S. 521, Z. 4 von oben statt „zweite Teilung“ zu setzen: „Zweiteilung“.

Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 8.

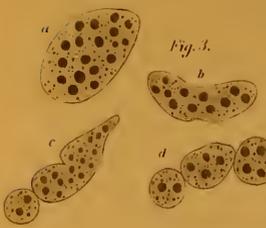
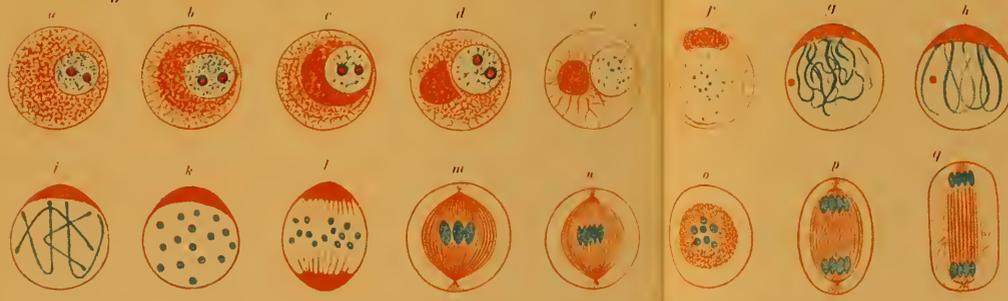


Fig. 3.

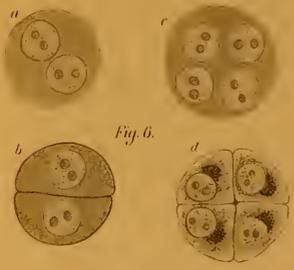


Fig. 6.

Fig. 4.

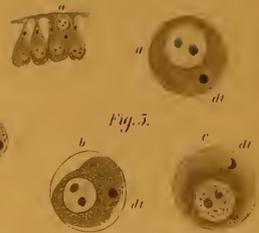


Fig. 5.

Fig. 7.

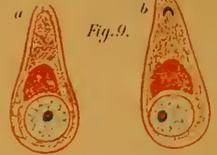


Fig. 9.

Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.

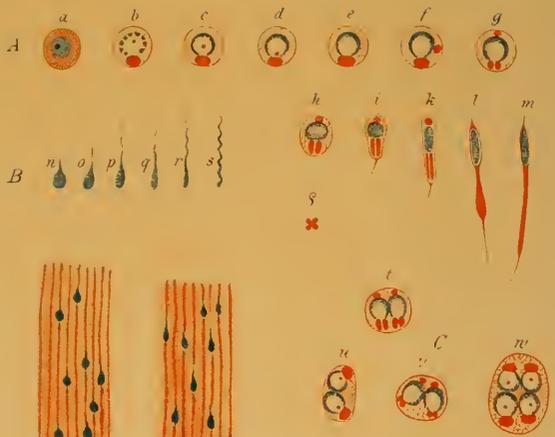


Fig. 14.

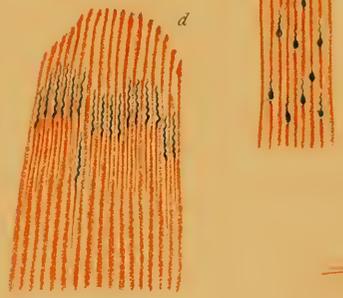


Fig. 13.

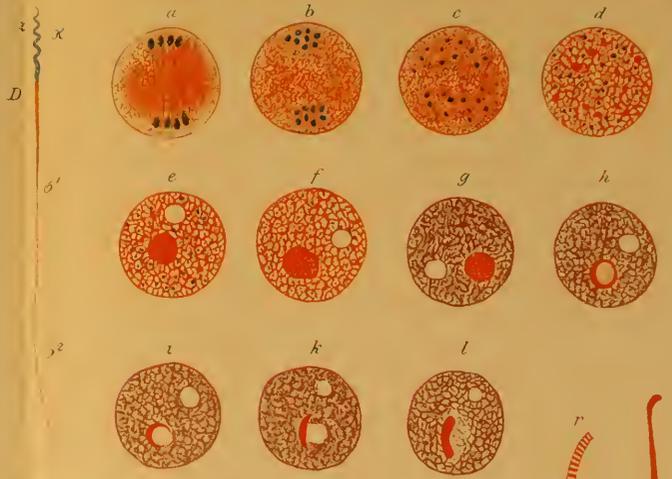


Fig. 13.

