

Untersuchungen über die Morphologie des Neunaugeneies.

Von

Dr. W. Lubosch,

Privatdozenten und Assistenten am anatomischen Institut.

Hierzu Tafel XXIII und 4 Figuren im Text.

Einleitung.

Ueber die Fragen, die sich an den Bau des Neunaugeneies anschließen.

Es dürfte vielleicht zunächst befremden, eine so umfangreiche Untersuchung gerade dem Ei des Neunauges gewidmet zu sehen. Warum nicht dem irgend eines anderen Wirbeltieres, das noch nicht so häufig Gegenstand eingehender Untersuchungen geworden ist wie gerade das Petromyzontenei? — Wenngleich meine Darstellung der Morphologie dieses seltsamen Wirbeltiereies hinreichend die Berechtigung seiner Untersuchung dartun wird, so kann es doch nur förderlich sein, gleich hier einleitend die Fragen zu berühren, die sich gerade mit dem Ei von Petromyzon verbinden und deren Aufhellung mir bis zu einem gewissen Grade durch seine Untersuchung möglich erschien.

Bei Gelegenheit meiner Untersuchungen des reifenden Tritoneneies zeigte mir ein zufällig angelegter Schnitt durch ein unreifes Neunaugenei, daß der Bau seines Keimbläschens nicht nur von dem sonst bei Wirbeltieren, sondern speziell von dem bei Amphibien bekannten völlig abwich. Die chromatische Substanz erschien hier bei oberflächlicher Betrachtung lediglich durch einen ungeheuren, seltsam geformten Kernkörper vertreten zu sein. Weitere Prüfung zeigte, daß hier kein Zufall, sondern Gesetzmäßigkeit vorlag.

Diese Verschiedenheit der Reifungsphänomene bei Eiern, die hinsichtlich ihres Dotterreichtums und ihrer Furchungsverhältnisse einander so nahe stehen wie Petromyzonten- und Amphibieneier, konnte wohl zum Ausgangspunkt für die Erforschung des Wesens jener Kernphänomene genommen werden. Denn worin konnten die Ursachen für solch eine Verschiedenheit liegen?

Unter der Voraussetzung, daß diese Phänomene der morphologische Ausdruck irgend welcher Beziehungen zwischen Eileib und Keimbläschen seien und daß diese Beziehungen beider Eiteile untereinander prinzipiell bei allen tierischen Eiern die gleichen seien, konnte man in erster Linie zu dem Schlusse geführt werden, daß jene Ähnlichkeit nur äußerlich bestehe, daß hingegen im feineren Bau des Petromyzonteneies, durch die Massenverteilung von Protoplasma und Deutoplasma, durch besondere Ernährungseinrichtungen oder ähnliches abweichende Verhältnisse gegeben seien, die möglicherweise von systematischem Interesse sein konnten.

So gewann in zweiter Linie dadurch die Frage nach der systematischen Stellung des Neunaugeneies Bedeutung und damit die der Neunaugen zu den Myxinoiden überhaupt.

Neuere Ansichten¹⁾ trennen zwar die Petromyzonten von den Myxinoiden durchaus und lassen sie lediglich durch Konvergenz einander ähnlich sein. Dieser Ansicht folgend, wäre es überflüssig zu fragen, in welchen Beziehungen das Ei von Myxine und das von Petromyzon steht. Ob beide Eier von einer Urform abstammen, ob das meroblastische vom holoblastischen oder das holoblastische vom meroblastischen? — Aber ich glaube, daß wir trotz alledem ein Recht zu dieser Frage haben; denn im Gegenteil: alle Instanzen zur Entscheidung einer Verwandtschaft müssen herangezogen werden, ehe wir sie aufgeben oder annehmen, und auch der Bau der Eier ist eine solche Instanz, die ja auch bei anderen Wirbeltieren, z. B. Sauropsiden und Säugetieren nicht vernachlässigt wird. Das Myxinoidenei hat nun jüngst durch einen trefflichen Kenner dieser Tiere eine Beschreibung erfahren und gerade auch mit Rücksicht hierauf schien mir die Untersuchung des Neunaugeneies nicht ohne Bedeutung zu sein.

Es gibt schließlich noch einen dritten Punkt, der auf den Bau des Eies und den Ablauf seiner Reifung möglicherweise nicht ohne Einfluß ist, nämlich die Lebensweise des Tieres selbst. Da-

1) FÜRBRINGER, 00.

durch würden die Lebensvorgänge in der Eizelle in deutliche Beziehung zu großen, biologischen Momenten treten. Die Petromyzonten bieten in ihren Geschlechtsorganen ein Beispiel für eine außerordentlich verlangsamte Funktion der Geschlechtsorgane, gleichzeitig bei Mangel jeglicher Periodizität. Denn die Larve bringt im Verlauf von 3 Jahren Ovocyten und Spermatogonien hervor. Während der Metamorphose reifen die Eier, bilden den ersten Richtungskörper noch im Ovarium (HERFORT 93, 01) und werden vom Geschlechtstier abgelegt, worauf das Tier nach einmaliger Erfüllung seiner Bestimmung zu Grunde geht.

Die Neunaugen treten hierdurch in Gegensatz zu den übrigen Wirbeltieren, ganz besonders zu den Teleostiern.

Die erreichten Resultate dieser unter solchen Gesichtspunkten ausgeführten Untersuchung werden einiges Neue bieten und werden möglicherweise auch zur Aufhellung mehrerer in der Literatur enthaltener Streitfragen dienen können. Alle bisherigen Untersucher des Neunaugeneies sind nämlich lediglich auf eine Ergründung der Befruchtungserscheinungen ausgegangen, und haben mehrere Bildungen im fertigen Zustande vor sich gesehen, die erst durch ihre allmähliche Ausbildung verständlich werden. So wird z. B. eine Mikropyle von einigen Autoren beschrieben, von anderen geleugnet. Eine Mikropyle ist meiner Ansicht nach an sich eine äußerst gleichgiltige Bildung. Sie wird erst interessant, wenn wir etwa vermögen, solch ein „Zellorgan“ mit anderen Bildungen anderer tierischer Eier zu homologisieren. Ebenso verhält es sich mit dem „Polplasma“ des Neunaugeneies, das von BÖHM (87, 88), CALBERLA (77) und HERFORT (93, 01) beschrieben worden ist und dessen merkwürdige Aktion bei der Befruchtung KUPFFER (90) und HERFORT (01) beobachten konnten. Schließlich ist von großer Bedeutung der Bau des Follikelepithels. Denn wenn, wie ich (02b) dies an anderer Stelle aus der Literatur wahrscheinlich zu machen gesucht habe, das Epithel und nicht, wie BORN meinte, das Keimbläschen das für die Dotterbildung bedeutsame Organ ist, so muß indirekt natürlich der Bau des Keimbläschens auf irgend eine Weise mit der Einrichtung und der Funktion des Follikel-epithels Hand in Hand gehen. Gerade über den Bau des Epithels bestehen nun sehr abweichende Angaben, die sich mir in lehrreicher Weise vereinbar gezeigt haben.

Diese Uebersicht wird nicht nur die Berechtigung, sondern auch die Wichtigkeit einer Untersuchung des Neunaugeneies dar- tun. Ich werde natürlich die Frage, von der ich ausging, ganz

ausführlich berücksichtigen und genau schildern, welche Veränderungen das Keimbläschen eines Ovocyten durchläuft.

Indes ist sie mir im Verlaufe meiner Arbeiten neben den anderen Fragen mehr in den Hintergrund getreten. So werde ich die Verhältnisse des Eileibes, schon aus theoretischen Gründen, zuerst beschreiben.

Eine kurze Mitteilung über mein Material und die Methoden seiner Behandlung sei vorausgeschickt.

Als Material lagen mir für die jüngsten Stadien die Keimdrüsen von *Ammocoetes Planeri* vor, für die Zeit kurz vor, während und nach der Metamorphose Ovarien von *Petromyzon Planeri*, für die Stadien bis zur Richtungskörperbildung Eier von *Petromyzon fluviatilis* vor. Diese Wahl zweier verschiedener Arten ist dadurch begründet, daß man die Larvenstadien des Flußneunauges kaum anders als durch künstliche Befruchtung gewinnt, daß es aber kaum zu hoffen ist, solche Zucht bis zur Metamorphose zu bringen. Die aus einer künstlichen Befruchtung im Jahre 1901 von mir gezogenen Larven wurden nicht älter als 12 Tage, zu einem neuen Versuch fehlte das Material, und Stellen, wo freilebende *Ammocoetes fluviatilis* zu fangen sind, sind mir nicht bekannt geworden. Außerdem sind die Stadien der Metamorphose des Flußneunauges überhaupt kaum zu erhalten, da die Umwandlung im Meere erfolgt¹⁾. Aus diesem Grunde habe ich mich an das bequeme Material der Bachneunaugen gehalten. Gerade dies Material ist aber ungenügend für die Reifungsstadien, denn ich bin bei dem Fang der in den Schlamm vergrabenen Tiere stets an äußere Umstände gebunden gewesen. Vom Oktober bis Mai regelmäßig alle 4—5 Wochen wird nirgends ein Mühlgraben abgelassen. Hingegen liefern die Küstenstädte sehr bequem Flußneunaugen im Winter, der Hauptfangzeit.

Ich bin mehreren Herren zu Dank verpflichtet, die mich bei dem Fang des Materiales unterstützt haben. In erster Linie meinem verehrten Berater, Herrn F. SCHIKORA, dem fischereikundigen Lehrer in Haynau (bei Liegnitz in Schlesien), der mich in einem von der Deichsa abgezweigten Mühlgraben einen trefflichen Fangplatz kennen lehrte. Sodann dem verstorbenen Professor Dr. NITZSCHE, Lehrer an der Forstakademie Tharandt, der mir im August des Jahres 1901 eine reiche Ausbeute von *Ammocoetes* aus dem Tharandter Teiche zuwandte. In den Besitz von Flußneunaugen bin ich im Winter und Frühjahr 1900/01 durch die liebenswürdige Hilfe des Herrn HUHDORF in Breslau, sowie vor allem des Fischereiaufsichtsbeamten Herrn HOHNHOLZ in Rathenow gelangt. All diesen Herren sage ich meinen besten Dank.

1) LUBOSCH, 01.

Ueber die Fixierung der Objekte will ich hier nicht weiter mich verbreiten. Man findet sie bei jeder abgebildeten Figur in der dazugehörigen Erklärung vermerkt. Meine Erfahrungen sind die gleichen gewesen, die ich vor einiger Zeit beim Tritonenei (02a) gemacht habe. Die gesamte Form der Eier wird durch nichts so vollendet schön erhalten, wie durch heiße Chromsäure in Konzentration von $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ Proz. (nach BORN). Indes ist die Färbefähigkeit dieser Objekte sehr herabgesetzt. ZENKERSCHE Flüssigkeit ist für dotterlose Eier das Ideal eines Fixierungsmittels. Bei dotterreichen Eiern dringen Sublimatgemische schlecht ein, weil hier die Eihüllen schon sehr stark sind, doch liefern sie für das Follikel-epithel und die Eihüllen und peripherischen Dottermassen gute Bilder.

Bei der Einbettung habe ich ein wenig zu verweilen, weil ich den außerordentlichen Wert der von CARNOY und LEBRUN angegebenen schnellen Einbettung hervorheben möchte. Nach der Vorschrift dieser Forscher kommen die im 90-proz. Alkohol aufbewahrten Eier auf 15' in 96 Proz. Alkohol, dann auf 5' in Alk. abs., dann in ein Gemisch von Alk. abs. + Chloroform $\bar{a}\bar{a}$. Hier sinken die Eier zu Boden. $\frac{1}{2}$ Minute, nachdem sie zu Boden gesunken sind, kommen sie in reines Chloroform, dem man nach einigen Minuten das gleiche Volumen Paraffin zusetzt. In 3 Stunden löst sich das allmählich auf und es kommen nun die Eier auf 2—5 Minuten in Paraffin, in dem sie sofort eingeschmolzen werden. Diese Einbettung ermöglicht die Herstellung außerordentlich feiner Serien. Die meisten meiner Abbildungen entstammen Serien von 3, 5, 6, 8 μ Dicke und zwar schneiden sich selbst dotterreiche Eier ohne die geringsten Splitterungen. Die Schnitte wurden auf einem mit Eiweißglycerin fein überzogenen und dann leicht erwärmten Objektträger mit Wasser aufgelegt, sodann bei etwa 30° getrocknet, wobei sie sich ohne Falten glatt ausbreiteten.

Die Färbung ist bei jedem Präparat in der Figur angegeben. Nach vielen Versuchen habe ich schließlich fast nur noch mit Hämalaun und Eisenoxydammonium-Hämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt, beides mit Nachfärbung durch Pikrofuchsin nach KULTSCHITZKY; um eine differente Färbung der Dotterelemente, der roten Blutkörperchen oder gewisser Einschlüsse in dem Nucleolus zu gewinnen, habe ich nach der Färbung in Pikrofuchsin (einige Tropfen der Lösung in 94 Proz. Alkohol) in 94 Proz. Alkohol differenziert, dem ich bis zur kräftigen Gelbfärbung Pikrinsäure zugesetzt hatte. Es resultieren so auf einfachste Weise sehr instruktive Bilder.

Literatur.

Ich will nachstehend nicht ausführlich wiedergeben, was sich über die Beschaffenheit des Neunaugeneies in der bisherigen Literatur findet. Für manche Einzelheit soll dies im späteren Texte selbst geschehen. Hier liegt mir daran, die literarische Geschichte zweier Dinge darzustellen, auf die es für meine Untersuchungen

hauptsächlich ankommt, nämlich die des Keimbläschens und die der eigentümlichen Plasmaverhältnisse am animalen Pol des Eies. Diese letzteren seien zunächst berücksichtigt.

Daß der animale Pol des Petromyzonteneies bei der Befruchtung eine ganz besondere Rolle spielt, hatte KUPFFER bei seinen Beobachtungen gesehen und sehr anschaulich beschrieben: Bei der Betrachtung des animalen Poles zur Zeit der ersten Furche „sah ich in der Polgegend hart nebeneinander 2 konische Kuppen sich erheben, die in ihren Spitzen je eine hyaline kuglige Masse enthielten. Nach einigen Minuten runden sich die Spitzen ab, die Kuppen senken sich und die hyaline Substanz taucht in das undurchsichtige hyaline Plasma ein“. Die zwischen beiden Spitzen entstandene Furche schneidet dann durch, das Ei wird wieder kuglig „und nun erheben sich an derselben Stelle 4 konische Kuppen, eine jede mit hyaliner Substanz“ u. s. w. (90, p. 472 und 473). Diese besondere Beweglichkeit des minimalen Poles liegt in einer schon AUGUST MÜLLER bekannten Beschaffenheit des an dieser Stelle befindlichen Cytoplasmas.

AUGUST MÜLLER (1869) hatte an Keimbläschen, die durch Zerzupfen aus dem Ei isoliert waren, eine Platte entdeckt, die wie ein Deckel dem Keimbläschen aufsaß und „nicht so leicht von ihm weicht“. Von der Oberfläche her erscheine dieser Deckel als helleres Feld, dessen „Mitte sich als ein kreisrundes Fleckchen mehr oder minder markiere, was darauf hindeute, daß die Masse des Deckels hier andere Eigenschaften besitze“. (Ich zitiere dies nach BÖHM, p. 615/16, da mir die Originalarbeit hier nicht zugänglich war.)

In der Folge hat diese Bildung und ihre Deutung stets den ersten Platz bei allen Beschreibungen des Neunaugeneies eingenommen. Von Späteren nicht immer ganz gerecht beurteilt, hat dennoch CALBERLA (1878) bereits die MÜLLERSche Entdeckung in gewissen Einzelheiten weiter aufgehellt. Zunächst hat er richtig angegeben, daß „der ganze Dotter im Ei, soweit er von den im Protoplasma suspendierten Dotterkörnchen undurchsichtig erscheint, von einer körnchenfreien Protoplasmaschicht umgeben“ ist. (Er hebt diese Stelle durch gesperrten Druck hervor.) Sodann führt er den „Deckel“ MÜLLERS auf eine Besonderheit eben jener Protoplasmaschicht zurück. Sie ist am animalen Pol mächtiger, als sonst an der Peripherie. Von hier aus geht „ein Kanal gefüllt mit dotterkörnchenfreiem Protoplasma bis zum Kern“ (p. 441). In einer

kugligen Anschwellung dieses Kanales liegt der Kern des Eies (CALBERLA hatte noch Keimbläschen und Eikern verwechselt, s. bei BÖHM). „Der Eikern ist mit einem Hofe körnchenfreien Plasmas“ umgeben (p. 441). CALBERLA bezeichnet die Oeffnung im dotterhaltigen Teil des Plasmas, von wo aus der Strang nach innen geht, als „innere Mikropyle“ (im Gegensatz zu einer ebenfalls von ihm beschriebenen Oeffnung der Eihäute an dieser Stelle, der äußeren Mikropyle) jenen Gang selbst als „Spermagang“. Seine spätere Darstellung der Befruchtungsphänomene knüpft an die Wichtigkeit dieses Ganges und der am Pol angehäuften Plasmamasse an.



Fig. 1.

Fig. 1. Spermagang nach CALBERLA.

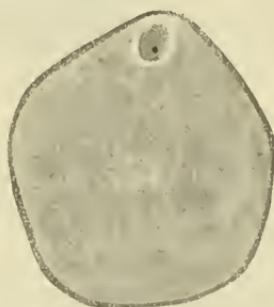


Fig. 2.

Fig. 2. Ei von Ammocoetes nach CALBERLA.

Die Figuren CALBERLAS sind, wie aus meiner Wiedergabe hervorgeht, allerdings roh. Ebenso roh waren seine Methoden (10-stündiges Verweilen der Eier in 1-proz. [kalter] Chromsäure oder $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ —1 Minute Einlegen in $\frac{1}{2}$ -proz. Osmiumsäure). Immerhin aber ist es wichtig, daß er den Strang vom Cytoplasma ableitet. Er hat weiterhin jüngere Larveneier untersucht und gefunden, daß auch hier schon das Keimbläschen mit der Peripherie des Eies durch einen kurzen Strang verbunden sei (cf. Textfig. 2). Er spricht demnach von einem „präformierten Gang von der Eioberfläche zum Eikern“.

Wir werden sehen, daß dieser Gang in der Tat präformiert ist, aber in ganz anderem Sinne, als CALBERLA es damals annahm. Denn er hegte die seltsame Vorstellung, daß das Keimbläschen bei den Larven allmählich aufsteige, am animalen Pol den 1. Rich-

tungskörper bilde, dann wieder in die Tiefe sinke und hierbei einen Strang des Polplasmas mit in die Tiefe nehme.

Während OWSJANNIKOW in seiner vorläufigen Mitteilung (1870) hierauf nicht eingeht, kommt SCOTT, der die Untersuchungen an CALBERLAS Material weitergeführt hatte, auf die Angaben seines Vorgängers zurück (1882). Trotzdem ist seine Figur vom animalen Pol (s. Textfig. 3) gegen die CALBERLAS in gewissem Sinne ein

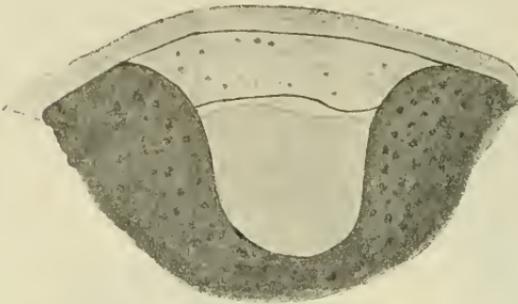


Fig. 3. Animaler Pol nach SCOTT.

Rückschritt. Denn der Zusammenhang mit dem peripherischen Dotterstreifen, den CALBERLA hatte, fehlt in dieser schematischen und falschen¹⁾ Abbildung. Dennoch führt auch er die helle Zone auf Cytoplasma zurück. Er sagt, daß oberhalb des Keimbläschens

helles Cytoplasma ich finde, welches isolierte Massen feiner Körnchen enthält. Den „Spermagang“ CALBERLAS vermochte er nicht aufzufinden.

OWSJANNIKOW hat dann (1885) gelegentlich seiner Untersuchungen über die Eier der Teleostier auch die Eier der Petro-

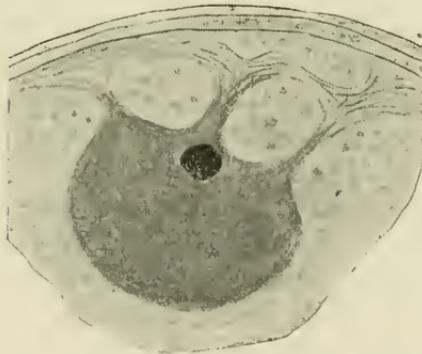


Fig. 4. Animaler Pol nach OWSJANNIKOW.

myzonten untersucht, auch er im wesentlichen im Zustande der Reife und kurz vor der Befruchtung, doch nimmt er zum Ausgang Eier des Flußneunauges, die er im Januar, 5 Monate vor dem Laichen, konserviert hatte. Wie er die Bildung am animalen Pol gesehen hat, zeigt meine Textfig. 4. Er leitet sie demnach vom Keimbläschen ab, wie er es auch ausdrücklich in den

Worten ausdrückt (p. 33) . . . es werden „aus dem Keimbläschen Fortsätze zur uhrglasförmigen Erhabenheit der Eihaut ausgesendet.

1) BÖHM (p. 621) sagt allerdings: „SCOTT beschreibt und bildet ganz richtig den Deckel von A. MÜLLER ab.“

Der Inhalt des Keimbläschens scheint sich durch dieselben nach außen zu entleeren“.

Auch BÖHM hat versucht, das Geheimnis des „Deckels“ zu lösen. Ich kann aber nicht sagen, daß er hierin glücklich gewesen ist. Seine Abhandlung (1888) enthält zwar die Abbildung eines Eies aus der Zeit der Metamorphose, die von allen bisherigen die richtigste ist, indes behauptet BÖHM nun, daß dieser Deckel keine bleibende Bildung sei (p. 625), sondern später verschwinde. Das von KUPFFER und BENECKE beschriebene hyaline Plasma am Pol ist seiner Ansicht nach so entstanden, daß das Keimbläschen immer mehr an den Pol rückt und hier allmählich seinen Inhalt kappenartig austreten läßt. Er sagt ausdrücklich, daß dieses „Polplasma“ seiner Herkunft nach Karyoplasma sei (p. 626). Der neueste Untersucher HERFORT (1901) geht auf diese unreifen Stadien nicht ausführlich ein. Er beschreibt nur das Polplasma, das BÖHM als Karyoplasma gedeutet hatte, schließt sich aber in der Deutung an CALBERLA an, indem er BÖHMS Auffassung als irrig bezeichnet.

Diese Uebersicht lehrt, daß trotz der 4 Jahrzehnte, die seit der ersten Beschreibung verflossen sind, immer noch unbekannt ist, welche Bedeutung, ja sogar welche Form die einzelnen Teile am animalen Pol des Petromyzonteneies besitzen. Daß diese Bedeutung sehr groß sein muß, geht ja aus den Befruchtungsphänomenen hervor, die nach aller Beschreibung gleichmäßig sich durch eine große, aktive Beteiligung dieses Polplasmas auszeichnen. Lediglich eine lückenlose Reihe von Eireifungsstadien gibt uns hier Aufschluß. Denn erstlich ist das, was CALBERLA bei Larveneiern gesehen hat, lange nicht die erste Andeutung des „Spermaganges“. Sodann fehlen allen Autoren Stadien kurz vor dem Laichen des Tieres — ganz abgesehen davon, daß nur eine ganz spezielle Technik und eine exakte Schnittrichtung diese feinen Strukturen deutlich machen kann.

Wesentlich kürzer kann ich mich mit der Geschichte des Keimbläschens fassen. Jüngere Entwicklungsstadien finden sich nur bei CALBERLA und BÖHM beschrieben. Es war ihnen bekannt, daß in Larveneiern das Keimbläschen noch mehr in der Mitte des Eies liegt, und daß schon früh ein großer Nucleolus sichtbar ist. BÖHM hat die genauesten Angaben und zugleich das jüngste Stadium (Ammocoetes von 5 cm Länge), bei dem er eine Kernmembran, ein chromatisches Fadenwerk und einen Nucleolus mit einer Va-

kuole beschreibt (l. c., p. 623, sowie 1887, p. 56), bei fortschreitender Reife steigt das Keimbläschen zum animalen Pol. Uebereinstimmend wird bei den Keimbläschen älterer Eier lediglich ein Nucleolus im sonst klaren Karyoplasma beschrieben (OWSJANNIKOW, p. 34, CALBERLA, p. 441). SCOTT (p. 108) läßt das Kernkörperchen von einer Art chromatischem Netzwerk erfüllt sein. Nur BÖHM (p. 624 u. 56) betont ausdrücklich, daß die Kernfäden nicht mehr nachweisbar seien.

Ueber die definitiven Schicksale des Keimbläschens ist trotz aller Bemühungen eigentlich wenig bekannt geworden. Ich selbst habe hier Lücken lassen müssen, da die Zwischenstadien wohl nur durch Zufall bei geeigneten Eiern gefunden werden können und sich überdies die entscheidenden Vorgänge nach der ungeheuer langen Vorbereitungszeit schließlich wohl sehr rasch ablaufen, ähnlich wie ein Regentropfen an einer trockenen Glasscheibe hängend wohl immer mehr und mehr anschwillt und plötzlich herabfällt

Am nächsten scheint mir OWSJANNIKOW den Tatsachen gekommen zu sein. Er beschreibt, daß die Kernmembran oft Inhalt austreten lasse, daß man oft noch Stücke der Kernmembran in der Tiefe des Eies finde und daß der Inhalt des Keimbläschens, je mehr es sich dem Pol nähere, um so platter werde, um schließlich die Form eines Stabes anzunehmen, der mit seiner Längsachse senkrecht zur Längsachse des Eies stehe (p. 34). CALBERLA und SCOTT erwähnen nichts über diese Endstadien der Reifung.

Nach BÖHM (l. c., p. 56 u. 625/626) wird das Keimbläschen kleiner, verliert seine Membran und breitet sich allmählich kappenförmig über den animalen Pol aus. Der Keimfleck wird dabei chromatinarm und färbt sich schließlich gar nicht mehr mit Chromatinfarben.

Nun ist aber mit diesen Stadien das Schicksal des Keimbläschens nicht abgeschlossen. Denn es fragt sich: Wenn die anfänglich im jungen Ei vorhandenen Chromatinfäden verschwunden sind — wie gehen die Chromosomen der Spindel aus dem nun einzig vorhandenen Nucleolus hervor? Dieser nach der ganzen Sachlage zu postulierende Vorgang ist bisher nie beobachtet worden. BÖHMS Beschreibung eines kernartigen Gebildes im Protoplasma gerade zur Zeit nach der Besamung könnte auf eine Karyomeritenbildung als Vorläufer des 1. Richtungskörpers angesehen werden. BÖHM selbst hält es indes gerade bereits für den nach der Bildung der 1. Polzelle

zurückgebliebenen provisorischen Eikern. HERFORT ist der Einzige, der einen Richtungkörper gesehen und abgebildet hat; er verlegt indessen seine Entstehung bereits in die Zeit, wo die Ovarialeier zu Bauchhöhleneiern werden. Danach wäre BÖHMS Körperchen bereits der definitive Eikern.

Ich wende mich nach dieser orientierenden Uebersicht nunmehr der Darstellung meiner eigenen Beobachtungen zu, und zwar werde ich in 3 Kapiteln die Dotterbildung, die Eihüllen und das Keimbläschen schildern. In einem 4. Kapitel werde ich die systematische Stellung des Neunaugeneies behandeln.

Kapitel I.

Dotterbildung.

1. Dotterkern, vorbereitendes Stadium der Dotterbildung — Auftreten der grob- und feinkörnigen Dottersubstanz. 2. Weitere Differenzierung des feinen Dotters.

Die Bildung des Dotters beginnt nicht sofort mit Ablagerung von Dotterkörnern. Dem Auftreten sichtbarer Dotterelemente geht ein Stadium der Vorbereitung voraus, das sich durch einen Wechsel in der Färbbarkeit des Cytoplasmas bemerkbar macht.

Wenn sich anfänglich der Eileib mit Kernfarbstoffen nur zart färbte, nimmt er sie jetzt intensiv an. Es zeigt sich dies namentlich bei Hämatoxylin und sehr auffällig bei Anwendung von Thionin. Es leuchten auf einem mit Thionin gefärbten Querschnitt durch den Rumpf einer Larve die Eileiber stark aus dem Bilde hervor. In diesem Verhalten spricht sich ein deutlicher Wechsel in der chemischen Zusammensetzung des Cytoplasmas aus, und daß diese Veränderung mit der Dotterbildung in Zusammenhang steht, scheint durch das Auftreten eines Dotterkernes bewiesen. Diesen bekanntermaßen bei vielen Eiern von Wirbellosen und Wirbeltieren beobachteten Körper ist es mir auch beim Neunaugenei nachzuweisen möglich gewesen. Er tritt bereits sehr früh auf, noch vor jener oben erwähnten Veränderung des Plasmas, erscheint also als erstes Symptom der beginnenden Dotterbildung. Bei Eiern von 50—60 μ Größe (junge Eier eines 4 cm langen Ammocoetes, Fig. 22) liegt an derjenigen Seite des Keimbläschens, die dem Zentrum des Eies näher liegt, ein ovales, scharf begrenztes Kör-

perchen. Es erscheint von gleichem Gefüge wie das umgebende Plasma, hebt sich aber durch seine lichtere Färbung von ihm ab. Ich fand es bei fast allen Eiern im Zusammenhang mit stark färbaren Körnchen, die indes nicht in seinem Inneren lagen, sondern seine Peripherie schalenartig umgaben, so daß man durch ihre Anordnung tangentielle und quere Schnitte des Körperchens gut auseinanderhalten konnte. Auch noch auf einem späteren Stadium konnte ich den Dotterkern beobachten (Fig. 23, cf. Figurenerklärung). Hier war bereits der Färbungswechsel im Cytoplasma eingetreten und es fiel der Dotterkern als eine hellere, ovale Stelle darin auf. Seine Lage war im wesentlichen dieselbe wie früher, doch hatte er sich ein wenig vom Keimbläschen weg auf den vegetativen Pol hin entfernt. Auch hier konnten in ihm dunklere Körnchen beobachtet werden. — Es ist immerhin der Bemerkung wert, daß durch die Lage des Dotterkernes sich zuerst Unterschiede in der spezifischen Schwere der Eisubstanzen offenbaren und daß die Richtung des späteren vegetativen Poles dadurch bereits markiert wird. Auf späteren Stadien war es mir nicht mehr möglich, Spuren des Dotterkernes mit Sicherheit nachzuweisen. Vielleicht ist eine, noch bei ganz reifen Eiern dotterfreie Stelle, der von BÖHM beschriebene „Dotterherd“ als Rest dieser Bildung aufzufassen. Vgl. Kap. III.

Die Erforschung der feineren Details des Dotterkernes habe ich nicht als zu meiner Aufgabe gehörig betrachtet. Bei Zerlegung von Eiern junger Ammocoeten und Färbung mit Eisenoxydammonium-Hämatoxylin nach HEIDENHAIN würde es wohl leicht sein, die weiteren hierher gehörigen Fragen zu entscheiden.

Der Dotterkern leitet, wie gesagt, die vorbereitende Phase der Dotterbildung ein. Diese Zeit der Vorbereitung dauert ziemlich lange. Erst bei einem Tier kurz vor der Metamorphose beginnt der eigentliche Prozeß der Bildung von Dotterelementen (Fig. 6). Das Erste, was man hierbei sieht, ist eine sehr zierliche Auflockerung der Oberfläche des Eies, dicht unter den Eihüllen. Hier treten äußerst regelmäßig gestaltete Vakuolen auf. Ihre allererste Entstehung zu beobachten, dürfte Sache des Zufalls bei geeignet jungen Eiern sein. Auf dem Stadium, von dem ich berichte, fanden sie sich bereits an der gesamten Peripherie des vegetativen Poles und von da an eine Strecke weit aufwärts an den Seitenflächen. Es zeigte sich dabei, daß die Vakuolen am vegetativen Pol am größten waren, an den Seitenflächen hin-

gegen, je näher dem animalen Pol, um so kleiner wurden. Die Vakuolen sind, je größer, um so ovaler, und richten dann ihre lange Achse gegen den Mittelpunkt des Eies. Von dieser oberflächlichen Vakuolenschicht erstreckt sich eine schaumige Auflockerung des Cytoplasmas weiter ins Innere des Eies, wobei die Vakuolen immer kleiner werden und sich endlich ganz verlieren. Im Inneren behält vorerst das Cytoplasma sein festes Gefüge.

Gleichzeitig sind auch die ersten Dotterkörnchen aufgetreten. Und zwar liegen sie vorzugsweise um die erwähnten Vakuolen herum, sind an der Peripherie am feinsten und nehmen nach innen hin an Kaliber zu.

Zu dieser Zeit beginnen im Eileibe Differenzierungen aufzutreten, die es nötig machen, jetzt die Aufmerksamkeit auf den animalen Pol des Eies zu richten. (Fig. 6.)

Animaler und vegetativer Pol des Eies sind, wie bereits bemerkt, schon sehr früh voneinander unterscheidbar. Das Keimbläschen liegt schon in jungen Eiern relativ sehr stark exzentrisch. In dem erwähnten Stadium nun macht sich oberhalb des Keimbläschens eine starke, sich dunkler färbende Verdichtung des Cytoplasmas bemerkbar. Sie grenzt nach aufwärts an die Eihüllen und geht seitlich etwa in halber Höhe des Keimbläschens in die schaumige Struktur über. In diesem Bezirk, der solchergestalt kappenförmig auf dem Keimbläschen liegt, fehlen die Vakuolen vollständig; nur allerzarteste Körnchen finden sich in ihm, so daß wir allerdings auch in diesem Bezirk eine Weiten-differenzierung des Cytoplasmas feststellen können.

Die beiden nunmehr verschiedenartig differenzierten Bezirke des Cytoplasmas sollen als Bezirk des feinkörnigen und des grobkörnigen Dotters bezeichnet werden, oder als grober und feiner Dotter. Der feine Dotter stellt die erste Anlage jenes in der Literatur so oft erwähnten und untersuchten „Deckels“ des Neunaugeneies dar.

Sobald nun die Peripherie jetzt ringsum von Körnchen erfüllt ist, macht sich auch ein zarter lamellenartiger Streifen bemerkbar, der noch nach außen von den Dotterschichten gelegen ist und sie gegen die Eihüllen abgrenzt. Er ist am animalen Pol schmal und verbreitet sich stark nach dem vegetativen Pol zu. Dieser Streifen bleibt andauernd bis zu den letzten Schicksalen des Eies dotterfrei und ist nur von zarten Körnchen erfüllt, die gelegentlich eine besondere Anordnung zeigen (cf. unten Kap. II).

Es ist die von fast allen Autoren erwähnte Randschicht, die als *Membrana vitellina* aufzufassen ist.

Während im weiteren Verlaufe der Eireifung der grobe Dotter immer weiter zentralwärts vordringt, gehen im Bereiche des feinen Dotters auffällige Veränderungen vor sich. Auf dem oben beschriebenen Stadium nimmt die Kappe feinen Dotters die ganze Breite zwischen Keimbläschen und *Membrana vitellina* ein. Eier, die ein wenig älter waren und von *Petromyzon Planeri* nach der Metamorphose stammten, zeigten nun das Bild der Fig. 7. Es war also jetzt auch oberhalb der Kappe feinkörnigen Dotters endlich die Entstehung von Vakuolen erfolgt. Diese Vakuolenschicht hatte sich nun aber nur an einer Stelle mehr in die Tiefe gesenkt und zwar gegen die Mitte des Bezirkes von feinem Dotter hin. Diese Mitte hatte sie durchbrochen, so daß anstatt einer Scheibe nunmehr ein Ring von feinem Dotter zwischen animalelem Pol und Keimbläschen gelegen ist. Im Centrum dieses Ringes ist zunächst vakuolisierte Substanz gelegen.

Auf einem abermals etwas älteren Stadium von *Petromyzon Planeri* (Fig. 8) sieht man nun eine höchst interessante Weiterentwicklung. Der Zapfen von vakuolisierte Substanz hat sich flach auf der Oberfläche des Keimbläschens ausgebreitet, also gleichsam den Ring feinen Dotters allseitig unterminiert. Gleichzeitig sind die Massen feinen Dotters stark gewachsen, die Entfernung zwischen animalelem Pol und Keimbläschen ist größer geworden.

An dieser Stelle findet sich nun insofern eine Lücke in meinen Beobachtungen, als ich, wie in der Einleitung erwähnt, die älteren Stadien der Eientwicklung nicht mehr an *P. Planeri*, sondern an *P. fluviatilis* untersucht habe. Es ist also fraglich, ob die Erscheinungen wirklich derart auseinander hervorgehen, daß man das nun folgende Stadium direkt auf das zuletzt beschriebene beziehen darf. Bei der Aehnlichkeit beider Eier scheint mir das aber in gewissen Grenzen erlaubt.

Das Stadium von *Petromyzon fluviatilis* (Fig. 9), das mir den nächsten Anschluß zu bieten scheint, stammt von einem Anfang Dezember 1900 getöteten Tier. Die Abbildung zeigt aufs aller schönsten einen trichterförmigen Kanal, der vom animalen Pol bis zum Keimbläschen hinführt. In seinem oberen Teil ist der Kanal frei von Dottermassen, in der Tiefe sieht man grobkörnigen Dotter, der sich auch flach auf dem Keimbläschen selbst ausbreitet. Dieser

Kanal ist bedeutend enger und länger als der vakuolisierte Kanal des letzten Stadiums. Dafür ist aber auch die Masse des feinen Dotters wieder beträchtlich höher geworden, so daß aus diesem Dickenwachstum des feinen Dotters — entsprechend dem gesamten Wachstum des Eies — auch die Formveränderung jenes Kanales erklärlich wird. Die Erscheinung des groben Dotters in diesem Bezirk beruht auf derselben Gesetzmäßigkeit, mit der auch sonst im Ei in der Umgebung der Vakuolen grober Dotter auftritt.

Zu beiden Seiten des Kanales erscheinen nun die Massen des feinen Dotters nicht mehr einheitlich wie zuvor, sondern von Inseln und Strängen groben Dotters durchsetzt. Stellen wir uns den Ablauf dieses Vorganges vor, durch den es dazu kommt, so gelangen wir zu der Weiterführung jenes durch die vorige Abbildung (Fig. 7) gegebenen Stadiums. Es kriechen nämlich die Vakuolen allmählich von dem Kanal und von der Oberfläche des Keimbläschens aus in den feinen Dotter hinein und zerklüften ihn. Im Anschluß daran entstehen dann inmitten des feinen Dotters grobe Dottermassen. Was aber die ganze Bildung als etwas Besonderes charakterisiert, das ist die scharfe Grenze, die seitlich gegen den groben Dotter besteht und die zarte Schale, die vom feinen Dotter aus sich um das Keimbläschen herumlegt. Bereits auf den beiden früheren Stadien der Figg. 7 und 8 hatte sich diese Schale um das Keimbläschen differenziert und war mit dem feinen Dotter in Verbindung getreten.

Von hier an wird es schwieriger, die Veränderungen zu verfolgen, weil der Reifezustand der Eier selbst bei gleichalten Tieren schwankt. So fand ich z. B. die Eier eines Anfang Januar getöteten Tieres schon weiter entwickelt als die vom Februar und März. Es ist also, da man den Zustand der Eier dem Tiere nicht ansehen kann, schwer, allein durch das Konservieren in bestimmten Intervallen, wie ich es getan habe, eine lückenlose Reihe zu erhalten. Einen großen Einfluß hat offenbar auch die Länge der Zeit zwischen Fang und Tötung, insofern sich bei lange gefangenen Tieren die Reifung verlangsamt. Auch kommt es sehr darauf an, unter den vielen Hunderten von Schnitten eines Eierhaufens nur die völlig oder annähernd längs getroffenen Schnitte der Beschreibung zu Grunde zu legen, da auf Schrägschnitten über die Form des Kanales und seiner Reste nur Irrtümer entstehen können.

Immerhin konnte ich noch drei verschiedene Stadien der Entwicklung des feinen Dotters beobachten, die sich untereinander

und mit den vorhergehenden Stadien zu einer Reihe vereinigen. Zunächst wird die Masse des groben Dotters immer mächtiger (Fig. 10). Sie bildet jetzt einen abgestumpften Kegel, der vom animalen Pol her den feinen Dotter auseinanderdrängt. Nur oberhalb des Keimbläschens selbst findet sich noch vakuolisierte Substanz, die stets deutlich eine grubige Vertiefung in der Oberfläche des Keimbläschens hervorbringt.

Weiterhin (Fig. 11) sinkt nun die Masse des groben Dotters tiefer gegen das Keimbläschen hinein, während sich die Wände des kraterartig ausgehöhlten weißen Dotters darüber einander nähern. Wir finden also auf diesem Stadium von der Membrana vitellina am animalen Pol aus ein Maschenwerk feinen Dotters sich gegen das Keimbläschen hin herabsenken. Die Maschen sind am animalen Pol sehr fein und von feineren Dotterkörnchen erfüllt. Gegen das Keimbläschen hin werden die Maschen größer, die Dotterkörnchen größer. Es läßt sich nicht verkennen, daß hier bereits die Körnchen des groben Dotters, die in der Deckelbildung überhaupt vorkommen, im ganzen genommen viel feiner geworden sind. Seitlich ist auch hier wiederum der feine Dotter scharf gegen das übrige Cytoplasma abgegrenzt und umzieht ebenfalls in zarter Schicht wie früher das Keimbläschen.

Dies ist offenbar das Stadium, das BÖHM von dem Deckel abgebildet hat. BÖHM behauptet nun aber, daß der Deckel keine bleibende Bildung sei, vielmehr zu Grunde gehe, daß aber das „Polplasma“ neu entstehe und dem Karyoplasma seinen Ursprung verdanke¹⁾. Diese Ansicht kann entstehen, wenn man die Zwischenstadien vom Aufsteigen des Keimbläschens an nicht kennt. Ich besitze solche Stadien, allerdings auch nur wenige, da der Aufstieg offenbar sehr rasch erfolgt. Das erste entstammt einem Tier, das den Winter über in Gefangenschaft gewesen war und Anfang März getötet wurde. Das Keimbläschen ist hier an Masse bereits

1) Leider ist bei BÖHM weder in der vorläufigen Mitteilung noch in der ausführlichen Darstellung Genaueres über das Alter der dem Laichen nahen Petromyzonten, überhaupt nicht einmal etwas über ihre Herkunft gesagt. Seine Fig. 6, die aus der Zeit der Metamorphose stammen soll, ist möglicherweise aus viel späterer Zeit. In seiner Fig. 2 scheint mir nicht nur gleichfalls ein älteres Stadium, sondern zugleich ein Schrägschnitt vorzuliegen, weil das kubische Epithel scheinbar sehr hoch auf den animalen Pol hinaufreicht. — Es ist viel sicherer und bequemer, diese Stadien am Flußneunauge zu studieren (cf. Einleitung, p. 676).

verkleinert und liegt ein wenig weiter peripherisch. Gleichwohl ist auch hier die Masse feineren Dotters zwischen animalelem Pol und Oberfläche des Keimbläschens vorhanden, ist wie früher seitlich gegen den groben Dotter abgegrenzt und umgibt das Keimbläschen mit feiner Hülle. Gegen jüngere Stadien verhält sich die Bildung dadurch abweichend, daß die Körnchen des darin vorhandenen groben Dotters noch viel feiner (in der Mitte reichlicher) und zugleich auch spärlicher geworden sind.

Noch kleiner und noch mehr peripherisch gelagert findet sich das Keimbläschen einiger Eier, die dem Ovarium eines Ende März aus Rathenow mir gesendeten und Mitte April getöteten Tieres entnommen worden waren. Die Bauchdecken dieses Tieres waren bereits weich. Die meisten Eier hatten bereits das Keimbläschen verloren, so daß man bei den wenigen Eiern, die es noch zeigten, anzunehmen berechtigt ist, daß es kurz vor seinem Untergange steht. Es geht dies auch aus seiner Größe hervor (Fig. 12). Gleichwohl wird auch hier die nun schon wohlbekannte Bildung nicht vermißt, die gegen früher nur den einen Unterschied zeigt, daß sie jetzt nur noch von feinen Dotterkörnchen erfüllt und im ganzen etwas verdichtet ist.

Wenn ich hieran ein definitives Stadium anschließe, so geschieht es, um zu zeigen, daß mir das von BÖHM und anderen geschilderte Polplasma nicht unbekannt geblieben ist. Die Eier stammen aus demselben Ovarium, das auch das vorige Präparat geliefert hat. Das „Polplasma“ (Fig. 13) bildet einen sich von kreisförmiger Grundebene in das Ei einsenkenden Zapfen, der mit seiner Spitze jenen Punkt bezeichnet, bis zu dem das Keimbläschen aufgestiegen ist. Die Masse des Polplasmas ist fast völlig frei von Dotterkörnchen und besitzt ein sehr dichtes Gefüge.

Es ist ja natürlich nicht ausgeschlossen, daß dennoch der von BÖHM behauptete Wechsel in der kurzen Zeit der Umwandlung des Keimbläschens stattfindet. Indessen ist es im höchsten Maße unwahrscheinlich, daß eine Bildung, die zu so früher Zeit der Eientwicklung auftritt und konstant bis zu den letzten Zuständen des Keimbläschens verfolgt werden kann, nun plötzlich untergehen und durch Kernsubstanz ersetzt werden sollte. Wir haben aber außerdem geradezu Spuren, die das Karyoplasma bei seinem Aufstieg zurückläßt, durch die es zeigt, was aus seinem Inhalt geworden ist (cf. unten p. 710). Es ist natürlich möglich, daß schließlich am animalen Pol die letzten Tröpfchen Karyoplasma sich dem feinen Dotter beimischen, was aber dem Ergebnis meiner

Untersuchungen keinen Abbruch tut, dem nämlich: daß das sog. „Polplasma“ des Neunaugeneies die letzte Phase in der Entwicklung einer Bildung ist, die schon frühzeitig im unreifen Ei durch Differenzierung im Plasma des animalen Poles entsteht.

Die oben erwähnten, so mannigfachen Beschreibungen haben somit eine einheitliche Zusammenfassung gefunden. Es liegt zugleich aber ein Beweis für die Richtigkeit meiner Darstellung in dem Umstande, daß es uns jetzt erst verständlich wird, was die einzelnen Untersucher gesehen und abgebildet haben. Das früheste Stadium hat offenbar CALBERLA vor sich gehabt. Seine oben wiedergegebene Figur (Textfig. 2) entspricht meiner Fig. 7 und 8. Seine Figur (in Textfig. 1 wiedergegebene Abbildung) mit der inneren Mikropyle und dem Spermagang entspricht völlig meiner Fig. 9. Aber BÖHM hat Recht, wenn er sagt, daß CALBERLA spätere Stadien nicht gekannt hat. Ein meiner Fig. 10 entsprechendes Stadium hat offenbar A. MÜLLERS Beschreibung zu Grunde gelegen, denn die Betrachtung von Flächenschnitten durch den animalen Pol hat mir oft das von MÜLLER beschriebene Bild geliefert. Die Abbildungen von OWSJANNIKOW, SCOTT und BÖHM würden dann schließlich etwa meinen Figg. 11 und 12 entsprechen.

Kapitel II.

Die Eihüllen und das Follikelepithel.

Membrana vitellina (Oolemma) — Zona pellucida s. radiata — Das Follikel-epithel und seine Metamorphose — Theca folliculi.

Aehnlich wie die mannigfachen Widersprüche in den Schilderungen der Dotterbildung nur durch die Untersuchung einer annähernd lückenlosen Reihe von Eiern gelöst werden konnte, so wird auch die Lösung einer anderen Frage erst dadurch ermöglicht, daß wir auf frühe Zustände des Eies zurückgehen und ältere und älteste dann darauf beziehen. Diese Frage betrifft die Anordnung und das Schicksal des Follikelepithels. Bevor ich hierauf eingehe, möchte ich in Kürze bemerken, was ich über die Eihüllen im allgemeinen feststellen konnte.

Der Terminologie WALDEYERS (03, p. 288) folgend, seien am Neunaugenei primäre, sekundäre und tertiäre Eihüllen betrachtet. Unter den Eihüllen verdient als besondere Schicht die bereits oben erwähnte dünne, durchaus dem Ei selbst angehörige Plasmaschicht

Erwähnung. Ich habe sie niemals vermißt und auf allen Abbildungen wiedergegeben. Sie ist an das Auftreten des Dotters geknüpft, gelangt daher auch erst bei Eiern zur Beobachtung, die bereits peripherische Dotterablagerungen enthalten (Fig. 1—13). Sie ist sehr schmal und wird nach innen von der Zone der Vakuolen (Rindenschicht des Dotters) nach außen von der Eihaut selbst begrenzt. Diese Plasmaschicht ist bereits von CALBERLA beschrieben worden. Neuerdings beschreibt sie auch BÜHLER (02, 398). Er bemerkt durchaus zutreffend, daß sie nur durch exakte Färbungen und hohe Vergrößerungen zu unterscheiden sei. „Sie gehört, nach ihrem färberischen Verhalten und ihren Verbindungen mit dem Eiprotoplasma zu schließen, dem Ei selbst an, als eine dichtere Protoplasmaschicht.“ Mit BÜHLER betrachte ich sie als *Membrana vitellina*. Diese Membran ist am Ei nicht überall gleich stark, sie nimmt vielmehr gegen den vegetativen Pol ein wenig an Breite zu (cf. Fig. 6). Ich habe an ihr gelegentlich eine interessante Erscheinung gesehen (Fig. 1 und 6), nämlich eine feine Streifung. Bei starker Vergrößerung erwiesen sich diese Streifen dadurch hervorgebracht (Fig. 6), daß die mikrosomenartigen Körnchen, die in ihr vorkommen, sich reihenweise aneinander gelagert hatten — eine Beobachtung, die für die Erkenntnis des Mechanismus der Eiernahrung des Eies weiterhin nicht ohne Bedeutung sein wird.

Nur auf sehr dünnen Schnitten (Fig. 1 u. 2) konnte ich einmal feststellen, daß die *Membrana vitellina* nicht hart an die Eihaut grenzt, sondern durch eine zarte, sehr helle Haut davon getrennt war. Es ist möglich, daß es sich hier um die von MAX SCHULTZE beschriebene, nach innen von dem „Chorion“ gelegene Dotterhaut handelt (cf. R. HERTWIG [03, p. 296]). Indes kann es sich auch um ein rein optisches Phänomen handeln.

Nach außen von diesen soeben beschriebenen Gebilden findet sich die eigentliche Eihaut des Neunaugeneies (*Zona*, *Zona pellucida*, *Zona radiata*). Ich fand diese Membran als eine ursprünglich einfache, sehr kräftige Haut vor, die aber bereits kurz nach der Metamorphose (Fig. 8) zwei Lagen unterscheiden läßt. Bald werden bei weiterer Reifung des Eies beide Lagen dicker und bilden schließlich eine überaus kräftige Decke um das Ei herum. Von diesen beiden Schichten schien die innere mir die festere zu sein. Dieselbe Schicht zeigte auch stets eine viel stärkere Affinität zu Farbstoffen. So hält sie z. B. das Hämatoxylin nach der Beizung mit Eisenoxydammonium viel länger zurück, als die äußere Schicht.

Beide Schichten schienen stets eng aneinander geschlossen und auch zu einander gehörig. Nur an zwei Präparaten bei sehr dünnen Schnitten, die zufällig durch Druck des Deckglases gepreßt worden waren, zeigte sich ein feines Maschenwerk zwischen beiden, ähnlich den Pfählen eines Spaliers. In dem abgebildeten Präparat (Fig. 2) sah man recht deutlich, wie die zarten Elemente der inneren Haut ansaßen und auch an ihr haften blieben, wenn die äußere Membran zurückwich.

Wenn nicht zu dieser Eihaut schon eine sehr beträchtliche Literatur vorläge, so würde ich ihre Beschreibung für eine sehr einfache und durch obige Worte für erledigte Angelegenheit halten. Indes zwingen mich einige Angaben der Literatur, noch ein wenig hierbei zu verweilen. Schon was ich oben erwähnt habe, stimmt nicht mit allem überein, was meine Vorgänger an dieser Eihaut gesehen haben. So ist nach CALBERLA (l. c., p. 438) die innere Schicht viel lockerer als die äußere. Nach BÜHLER (l. c., p. 398) färbt sich die äußere Zone stärker. Diese Abweichungen fallen aber nicht ins Gewicht gegenüber drei weiteren Punkten, die ich nun der Reihe nach erörtern muß.

R. HERTWIG verwertet neuerdings wieder (l. c., Hdbch. p. 296) die Angabe, daß die Zona am animalen Pol verdickt sei. Diese Angabe stammt von CALBERLA her (p. 438/39) und findet sich später in HERFORTS Figuren. Ich selbst habe viele solche Bilder gesehen (z. B. Fig. 13), halte aber eine Darstellung nach solchen Bildern nicht für zutreffend, weil durch kein Mittel nachweisbar ist, daß es sich hier wirklich um exakte Längsschnitte durch die größte Ellipse des Eies handelt. Es leuchtet ein, daß Abweichungen von dieser Schnittrichtung, die sonst gar nicht auffallen mögen, gerade für die Dickendimensionen der Eihaut in Betracht kommen. Den exakten Längsschnitt eines Eies habe ich in Fig. 9 abgebildet. Es ist lediglich Sache des Zufalls, daß ein Ei gerade so getroffen wird. Solch ein Schnitt ist aber gerade sehr lehrreich. Daß er das Ei genau längs trifft, ist daran erkennbar, daß er jenen protoplasmatischen Kanal (s. o.) in ganzer Länge enthält. Hier sieht man nun, daß beide Schichten der Eihaut am animalen Pol verdünnt sind und zwar die innere stärker als die äußere, die am Pol nur eine seichte Einsenkung erkennen läßt.

Möglicherweise hängt die Frage der Mikropyle hiermit zusammen, indem CALBERLA bei schlecht konservierten Eiern im Bereich der von mir in Fig. 8 gezeichneten Verdünnung an der

inneren Schicht eine Kontinuitätstrennung wahrgenommen hat. Eine Mikropyle hat von älteren Autoren noch OWSJANNIKOW (l. c., p. 34) gelegentlich, nicht immer beobachtet und mag ähnlich getäuscht worden sein. Von späteren Untersuchern des Neunaugeneies haben weder BÖHM noch KUPFFER und BENECKE, noch HERFORT eine Mikropyle gesehen. Auch ich selbst habe niemals etwas dergleichen gefunden.

Einige Schlüsse auf die Existenz und etwaige Beschaffenheit der Mikropyle lassen sich ziehen, wenn wir die Verhältnisse des Bdellostomaeies berücksichtigen, die kürzlich durch DOFLEIN eine ausführliche, mit sehr schönen Abbildungen versehene Darstellung gefunden haben. DOFLEIN bildet in Fig. 9 seiner Arbeit den animalen („opercularen“) Pol eines Eies ab, der von einer sehr dicken Eihaut umgeben ist. Diese Eihaut zeigt nun eine Mikropyle, die äußerlich in ihren Formen fast völlig jener alten Abbildung von CALBERLA entspricht.

Leider ist bei DOFLEIN die lineare Vergrößerung nicht angegeben. Nach Vergleich mit seinen sonstigen Figuren und nach den mir von den Zeißschen Mikroskopen her geläufigen Vergrößerungen schätze ich sie auf 200- bis 400fach. Die von mir in Textfig. 1 reproduzierte Abbildung von CALBERLA ist 200fach vergrößert. Man kann also annähernd beide Mikropylen miteinander vergleichen und sehen, daß die des Neunaugeneies reichlich 10mal so groß ist als die des Bdellostomaeies. Sie wären also, da das Neunaugenei ja ganz außerordentlich viel kleiner ist als das Bdellostomaei, ein wahres Scheunentor, während sie, den Größenverhältnissen beider Eier angemessen — unter der Voraussetzung, daß die hypothetische Mikropyle in irgend einer Relation zur Größe der Eier steht — eigentlich bei der von CALBERLA angewendeten Vergrößerung eben kaum noch hätte sichtbar sein müssen.

Es mag also immerhin hier, wie KUPFFER und BENECKE gemeint haben, eine permeablere Stelle vorliegen: eine direkte Kontinuitätstrennung findet sicherlich nicht statt. Dies führt nun auf den dritten Punkt, den nämlich, ob sich die Permeabilität der Zona pellucida überhaupt durch ein typisches anatomisches Merkmal kenntlich mache? Auch diese Angabe, daß nämlich die Zona durch radiäre Streifung ausgezeichnet sei, findet sich zuerst bei CALBERLA (p. 438/39), später tut ihrer BÖHM Erwähnung (p. 623), neuerdings BÜHLER (p. 398). OWSJANNIKOW (p. 34) und HERFORT (p. 60) vermissen sie. Ihnen schließe ich mich an, habe aber

zu erörtern, wodurch möglicherweise diese Abweichungen zu erklären seien?

Radiäre Streifungen sind, wie WALDEYER (p. 289) nachweist, bei den Eiern fast aller Wirbeltiere vorhanden. Indes scheinen mir zwei Gruppen solcher Streifungen unterscheidbar, die auf die Genese der Zona pellucida zurückführbar und in ihrem Wesen durchaus verschieden sein mögen. Diese Genese ist, wie bekannt, nicht ganz klar, zum mindesten nicht überall einheitlich. Bei *Myxine* (CUNNINGHAM) und *Bdellostoma* (DOFLEIN) ist sie z. B. eine sekundäre Eihülle, ein echtes „Chorion“, d. h. ein Produkt des Follikelepithels. Es entsteht da die Eischale aus einzelnen Säulchen, die sich zueinander etwa wie die Schmelzprismen der Zähne verhalten. Jene Säulen, die jede einer Follikelzelle entsprechen, grenzen dann mit feinen Spalträumen aneinander, die später als Porenkanälchen in den jüngsten Schichten deutlich, in den älteren nicht so klar erhalten bleiben. Ähnlich bilden die Follikelzellen bei Säugetiereiern mit bestimmten Fortsätzen die Grundlage der Zona radiata (v. EBNER, RETZIUS). Diese beiden Fälle, die möglicherweise als einzige bei Wirbeltieren ein Beispiel echter sekundärer Eihüllen abgeben, tragen als bleibendes Zeichen ihrer Genese die radiäre Streifung an sich.

Dies aber trifft nicht für all die anderen Fälle zu, in denen die Zona als primäre Eihaut vom Ei selbst gebildet wird. Ebenso wie man sich vorstellt, daß das Spermium einer präformierten Pforte „bedürfe“, um ins Ei hineinzugelangen, ebenso vermeint man, es müsse die Zona präformierte Kanäle für die Zufuhr des Nährmaterials besitzen. Beides scheinen mir durchaus anthropomorphe Vorstellungen zu sein und nicht, wie erforderlich, cytomorphe.

In einer kürzlich erschienenen, sehr interessanten kleinen Schrift von DEWITZ (03) wird der Nachweis gebracht, daß das Spermium sich vorzugsweise — eigentlich ausschließlich — in mikroskopisch feine Lücken und Spalten einbohrt, daß es an völlig glatten homogenen Oberflächen nicht zu haften vermöge. „Indem der vorüberschwimmende Samenfaden mit der Kopfspitze in eine solche Oeffnung gerät, wird er in der Weise gereizt, daß er das Bestreben erhält, sich gänzlich mit dem festen Körper in Kontakt zu bringen.“

Auch die Passage des Spermiums durch eine Eihaut dürfte im wesentlichen durch eine Art von Thigmotaxis erfolgen, und der Durchtritt der gelösten Dotterbildner dürfte, infolge von Kapillari-

tätswirkungen, verbunden vielleicht mit aktiver Anziehung durch lebendes Protoplasma, durch die Eihaut hindurch erfolgen. Es bedarf hierzu keiner Kanäle, sondern es genügt die permeable, poröse Beschaffenheit einer tierischen Membran.

Von Wichtigkeit ist hierbei BÜHLERS Bemerkung p. 427: „Interessant ist — die Erkenntnis, mit welcher Leichtigkeit auch die unverletzte Eihaut von korpuskulären Elementen von ziemlicher Größe in beiden Richtungen durchsetzt wird. Es bedarf hierzu keineswegs breiter vorgebildeter Kanäle, denn, wie schon gesagt, halten sich die durchwandernden Körper nicht einmal an die Radiärstreifung. Offenbar genügt hierfür der Zustand, in welchem sich das Oolemm bei Eiern im Beginn der Degeneration befindet, der demnach einer steifen Gallerte entsprechen mag. Nichts hindert, anzunehmen, daß die Zona auch beim reifen ovulierten Ei eine ähnliche Umwandlung eingeht, und die seiner Zeit viel diskutierte Frage nach dem Eintritt der Spermatozoiden ist gelöst, auch wo keine besonderen Eingangspforten hierfür vorhanden sind.“

Die bei dotterreichen Eiern so oft beschriebenen radiären Streifungen scheinen mir ausreichend dadurch erklärt zu sein, daß sie in einer Art natürlicher Füllung befindliche und in diesem Zustande konservierte Poren der Eihaut darstellen, also keine ein für alle Mal festen, sondern je nach ihrem Füllungszustande bald hier, bald da, bald gar nicht erscheinenden Einrichtungen darstellen. Es wäre ähnlich, wie wenn uns die Lymphbahnen eines Körperabschnittes nur von ihrem etwa noch nach dem Tode erhaltenen natürlichen Füllungszustande bekannt wären, wo wir denn bald die distalen, bald die proximalen Bezirke gefüllt, bald aber auch alles leer fänden. Jeder Fall würde aber zu einer anderen Auffassung der Anordnung jener Bahnen führen.

Völlig in dieser Lage befinden wir uns aber der Literatur beim Petromyzontenei gegenüber. Denn die Beschreibungen der „radiären Streifungen“ lauten eigentlich in jedem Falle anders. CALBERLA meint, die Kanälchen liegen in der äußeren Schicht und durchziehen auch die innere. Bei BÖHM (p. 623) ist die innere allein gestreift, bei BÜHLER ist wieder die innere ganz homogen, die äußere hingegen mit sehr feinen Radiärstrichen versehen. Ich betrachte daher die radiären Streifungen wenigstens am Neunaugenei als erstlich prinzipiell verschieden von denen einer sekundären Eihülle, vielmehr zweitens als den Ausdruck eines durch die Tötung des Eies nur konservierten, während

des Lebens indes transitorischen Füllungszustandes einer permeablen Membran.

Der Leser möge die ausführliche Berücksichtigung dieser Fragen nachsichtig beurteilen und als eine Abschweifung von dem geraden Wege meiner Beschreibung betrachten, zu dem ich mich jetzt wieder zurückwende. Nach der Besprechung der primären Eihüllen dürfte es fraglich erscheinen, ob das Neunaugenei etwa auch irgend welche sekundären, der Schale des Bdellostomaeies homologe Hüllen besitzt. Solange sich das Ei im Ovarium befindet, sicherlich nicht. Das Ei liegt mit seiner Zona pellucida fest in eine bindegewebige Theca folliculi eingeschlossen, an der ich, wie BÜHLER, zwei Lagen unterscheiden konnte. Jede dieser Lagen besitzt eine sehr deutlich ausgeprägte Kernreihe (Fig. 9, 11). Zwischen Ei und Theca indes findet sich das Follikel-epithel, das uns nunmehr in sehr eigentümlichen Verhältnissen entgegentritt. Die erste Entstehung des Follikel-epithels habe ich an anderer Stelle geschildert (Verhandl. der anat. Gesellschaft in Heidelberg 1903). Es ist von Peritonealzellen abzuleiten, die in die Zellnester der Ovocyten hineinwachsen und sich eng an die einzelnen Eizellen anlegen. In Fig. 14 sind einige solcher Follikelzellen abgebildet, doch sind sie schwer von Mesenchymzellen zu sondern. Sie sind dadurch kenntlich, daß sie der Oberfläche des Eies eng angeschlossen sind. Bei älteren Eiern (Fig. 16) bewirkt die durch die Konservierung hervorgerufene allgemeine Zusammenziehung der Gewebe bisweilen sogar, daß die den Kern tragenden Teile der Follikelzellen eine Delle in der Oberfläche des Eies hervorbringen. Es fällt später immer schwerer, Follikelzellen im Ovarium nachzuweisen. Denn sie werden sehr platt und es ist begreiflich, daß man, je größer das Ei ist, um so seltener in einem Schnitt die Kerne einer Follikelzelle nachzuweisen im stande ist; man wird also weite Strecken der Eioberfläche scheinbar frei von Follikel-epithel finden, bis es gelegentlich einmal glückt, den Kern einer solchen Zelle festzustellen. Das Bild solch einer Stelle gibt Fig. 1 wieder. Sie bietet direkten Anschluß an die Fig. 1 der BÜHLERSchen Arbeit, der das Follikel-epithel (p. 397) „als eine Schicht äußerst abgeflachter, weit auseinandergezogener Zellen zwischen Theca und Ei“ beschreibt.

Infolge dieser Uebereinstimmung meiner Befunde mit den Ergebnissen dieser neueren Untersuchung glaubte ich, solchen Bau des Follikel-epithels als sicher bestehend annehmen zu dürfen und suchte nach Erklärungen für die Darstellung, die ich bei älteren

Untersuchern gefunden hatte. Zunächst lag eine Beschreibung von BÖHM (p. 623 und 625) vor, der bei beginnender Metamorphose ein einschichtiges Granulosaepithel aus kubischen Zellen gefunden hatte. Dies Epithel war am animalen Pol niedriger, als am vegetativen. Bei geschlechtsreifen Eiern hat dieser Unterschied noch zugenommen. Das Granulosaepithel bekleidet in einfacher Schicht die Eihaut. Am animalen Pol finden sich ganz platte Zellen, die gegen den vegetativen Pol höher werden. „Mit dem Höherwerden pflegt ein degenerativer Prozeß Hand in Hand zu gehen. Das Protoplasma der höheren Zellen wird von Fäden durchzogen, die das Ansehen einer schleimartigen Substanz aufweisen. Am vegetativen Pol, wo die Zellen sehr groß und hoch sind, ist der Verschleimungsprozeß so weit gediehen, daß man nur in seltenen Fällen den verdeckten Kern nachzuweisen im stande ist.“ —

Diese Beschreibung BÖHMS konnte ich zunächst auf keine Weise bestätigen. Ich dachte an atretische Follikel oder an Irrtümer BÖHMS, zumal ich auch sonst Bedenken hatte, die Reihenfolge seiner Abbildungen, als Wiedergabe verschiedener Reifungsgrade, für richtig zu halten. Indes berichtet auch die alte, überaus sorgfältige Untersuchung von OWSJANNIKOW (p. 33), daß sich auf der Zona eine Lage kleiner, sich mit Pikrokarmine stark färbender Zellen befände. „Da es schwer fällt, Kerne in diesen Zellen zu entdecken, so haben sie Aehnlichkeit mit Dotterelementen.“

Die Erklärung dieser Widersprüche ist nun folgende: Meine obige Beschreibung, sowie die BÜHLERS, beziehen sich auf Eier, die von der Reife noch relativ weit entfernt sind. BÖHMS und OWSJANNIKOWS Darstellung bezieht sich auf ältere, reifere Eier. Das Follikelepithel ist keine schematisch starre Schicht, sondern bringt durch bestimmte Veränderungen auch morphologisch die Bedeutung zum Ausdruck, die es für das Leben der Eizelle besitzt.

Fig. 3 stellt den Rand eines Eies dar, das am 7. März konserviert wurde. Das Tier war im Herbst gefangen und den Winter über im Bassin gehalten worden. Es fehlten ihm noch 2 Monate zur Reife. Der Schnitt war kein Längsschnitt; die abgebildete Partie befand sich in der Nähe des vegetativen Poles. Man sieht die vakuolisierte Randschicht des Dotters, darauf die dotterfreie Membrana vitellina, hierauf die innere stärkere, gefärbte Lage der Zona pellucida, sodann die etwas breite äußere Lage. Es folgt nun eine Lage sehr langer und dabei ziemlich hoher Zellen,

die das Follikelepithel bilden. Es war zunächst schwer, die Zellgrenzen festzustellen, bis es gelang, ein sicheres Merkmal in dem Verhalten der Zona zu entdecken. Es schiebt sich nämlich die Zona stets mit einem kleinen Spitzchen zwischen zwei aneinander stoßenden Follikelzellen ein. Kerne sind auf diesem Stadium noch deutlich nachzuweisen als feinkörnige Gebilde mit starkem Nucleolus. Sonst aber bieten die Zellen ein sehr seltsames Aussehen dar. Ihr Inneres ist dicht erfüllt von Tropfen, die sich mit Pikrinsäure stark färben und dicht aneinandergedrängt der Zellsubstanz das Aussehen eines groben Schaumes verleihen. Man kann die Follikelzellen hier sehr wohl mit Pflanzenzellen vergleichen, namentlich was die Verteilung von Protoplasma und Deutoplasma und die Lage des Kernes anbelangt. Es ist klar, daß eine zarte protoplasmatische Wandschicht vorhanden sein und den Kern einhüllen muß, doch konnte ich sie selbst bei den stärksten Vergrößerungen nicht nachweisen. Dieses Stadium würde der Beschreibung von OWSJANNIKOW wohl angepaßt sein.

Ein weiteres Stadium habe ich in Fig. 4 abgebildet. Die Eier waren älter aber noch nicht völlig reif und besaßen noch ein Keimbläschen. Das Tier war Anfang Mai in Rathenow a. H. gefangen und in Breslau sofort getötet worden. Die allgemeinen Verhältnisse der Randschichten und Zonae sind die gleichen wie vorher. Auch hier sieht man die Zona externa mit feinen Zähnen zwischen die Follikelzellen eingreifen. Die Follikelzellen selbst sind höher geworden. Einen Kern konnte ich in ihnen nicht mehr deutlich nachweisen. Die Masse, von der sie erfüllt waren, lag in einzelnen Tropfen und Schlieren gesondert. In höchst auffälliger Weise sah ich aber bei dieser Fixation, daß die Inhaltmassen der peripherischen Dottervakuolen genau die gleiche Konsistenz und Färbung angenommen hatten, wie die Inhaltmassen der Follikelzellen. Es war das kein vereinzelter Fall; auch sonst waren beide Massen oft ähnlich gefärbt, indes zeigte sich die Erscheinung nie wieder so vortrefflich wie hier.

Endlich fand ich bei den Eiern eines im April getöteten Tieres, die bereits das Keimbläschen verloren hatten, eine weitere Ausbildung des Follikelepithels, die ich in Fig. 5a und b veranschaulicht habe. Bei a ist der Rand eines fast genau längsgetroffenen Eies dicht am vegetativen Pol abgebildet. Man sieht die hohen, breiten Zellen, die wiederum in grubige Vertiefungen der Zona eingelagert sind. Kerne konnte ich in ihnen nicht mehr nach-

weisen, vielmehr nur feinste Fädchen, die zwischen hellen, vakuolenartigen Räumen gelegen waren, außerdem zahllose feinste Körnchen. Die Figur b stellt dasselbe Epithel im Flachschnitt dar und dient zur Ergänzung unserer Vorstellung von der Form dieser Zellen.

Dieses letzte Stadium dürfte wohl der Beschreibung von BÖHM entsprechen.

Zur Vervollständigung unserer Vorstellungen möge noch dienen, daß die Follikelzellen am animalen Pol niemals irgendwie bedeutende Dimensionen annehmen. Dies hat BÖHM ganz richtig gesehen. Vom Pol an nach den Seiten zu ist der Uebergang zunächst kaum bemerkbar, bis plötzlich ungefähr in halber Höhe des Eies ein ziemlich starkes Dickenwachstum des Eies stattfindet.

Ich will gleich an dieser Stelle die außerordentlich große Bedeutung dieser Befunde am Follikelepithel erörtern, die sie für unsere Kenntnis von der Form und dem Leben des Eies besitzen. Wir müssen uns zu diesem Zwecke noch einmal eine ganze Reihe von Beobachtungen ins Gedächtnis zurückrufen, die bereits an früheren Stellen dieser Arbeit mitgeteilt worden waren. Nämlich

- 1) die Entstehung des Dotters in zwei getrennten Phasen;
- 2) die Verteilung des Dotters im Ei selbst;
- 3) die Beschaffenheit der protoplasmatischen Membrana vitellina und der Zonae und
- 4) die Veränderungen des Follikelepithels und seinen an beiden Polen verschiedenen Bau.

Schon allein durch diese Zusammenstellung wird uns ein Einblick in den Mechanismus der Dotterbildung gewährt, wie er klarer kaum jemals sein kann. Wir müssen von der Existenz des Dotterkernes hierbei zweifellos ausgehen. Schon V. HÄCKER (99, p. 123) hat ausgesprochen, daß dies Gebilde mit der Dotterbildung keinen direkten Zusammenhang besitzt, vielmehr nur ein sichtbarer Niederschlag eines Produktes des intracellulären Stoffwechsels sei. Er liefert nach HÄCKER nicht selbst Dotter, setzt vielmehr den Eileib in eine Art chemischer Bereitschaft, auf Grund derer erst später die Dotterbildung erfolgt. Nach den Untersuchungen von GROSS (99) ist das Hühnereidotter, dem das Fischeidotter ziemlich nahe verwandt wäre, ein Körper, der an Eiweiß gebunden einen Nuklein und einen Organischen Phosphor enthaltenden Körper gebunden enthält. Aller Wahr-

scheinlichkeit nach ist in dem Dotterkern nukleinhaltiges Material vorhanden, das in gelöster Form aus dem Keimbläschen nach außen tritt, um sich dann später im ganzen Cytoplasma zu verbreiten, ein Vorgang, der sich durch eine stärkere Basophilie des Eileibes grob äußerlich kundgibt.

Wir gewahren von einer Tätigkeit der Follikelzellen auf diesem Stadium noch nichts. Wir sehen nur, daß an der Peripherie des Eies zuerst Vakuolen mit charakteristischem Inhalt, sodann in der Umgebung dieser Vakuolen die ersten Dotterkörnchen entstehen. Später aber sehen wir die Follikelzellen anschwellen und nach der Produktion eines reichen Inhaltes zu Grunde gehen. Die Beteiligung des Follikelepithels an der Dotterbildung ist für viele tierische Eier bereits sicher nachgewiesen worden (LUBOSCH, 1902b). Bei *Petromyzon* müssen wir aus den destruktiven Veränderungen des Epithels auf eine gleiche Tätigkeit schließen. Bei den Eiern der Knochenfische wird, wie es MILROY (98) chemisch nachgewiesen hat, von den Follikelzellen aus der Ovarialflüssigkeit Phosphor, organisch gebunden, aufgenommen und zu einer Vorstufe des Dotters umgewandelt. Bei *Petromyzon* nehme ich das gleiche an und halte es für sicher bewiesen, daß diese, eine Vorstufe des Dotters bildende Substanz durch die Zona hindurchströmt. Ja, selbst im Ei macht sich diese Strömung gelegentlich noch durch eine radiäre Streifung der Membrana vitellina bemerkbar (s. o. p. 691). In den „Vakuolen“ sehe ich den ersten Niederschlag des in den Follikelzellen bereiteten und ins Ei übergetretenen „Vordotters“. Zwischen dem Inhalt dieser Vakuolen, dem „Vordotter“ und dem durch den Dotterkern im Eiplasmaverbreiteten nukleinhaltigen Körper vollzieht sich nun eine chemische Verbindung, als deren Niederschlag die Dotterkörnchen selbst zu betrachten sind. Eine ganz ähnliche Schilderung gibt DOFLEIN von der Dotterbildung des *Bdellostomaeies*. (S. u. p. 718.)

Sehr deutlich wird uns die Tätigkeit des Follikelepithels aber erst dann, wenn es nicht mehr im stande ist, seine Stoffwechselprodukte an das Ei abzugeben. Vielleicht werden wir, so lange uns der Mechanismus noch nicht im einzelnen übersehbar ist, gut tun, uns vorzustellen, daß dem Dottergehalt des Eies eine bestimmte Grenze gesetzt ist — möglicherweise durch die Menge des Nukleins, das durch den Dotterkern ins Ei hinausgetragen worden ist. Es tritt ein Moment ein, wo der Inhalt der Vakuolen nicht mehr in

Dotter übergeführt werden kann, wo mehr Zufuhrstoffe gebildet, als verbraucht werden. Die Veränderungen des Follikelepithels verlaufen dann weiterhin unter dem Bilde der einfachen Hypertrophie und ihren Folgezuständen und zwar unter dem einer kompensatorischen Hypertrophie (VIRCHOW, Cellularpathologie, p. 274). „Jedes Gewebe besitzt erfahrungsgemäß nur gewisse Möglichkeiten und Grade der Vergrößerung, innerhalb deren es im stande ist, sich regelmäßig zu konservieren; wird dieser Grad, und namentlich schnell, überschritten, so sehen wir immer, daß für das weitere Leben des Teiles Hindernisse erwachsen und daß, wenn der Prozeß besonders akut von statten geht, eine Schwächung des Teiles bis zu vollständigem Vergehen desselben eintritt. Vorgänge dieser Art bilden schon einen Teil jenes Gebietes, das man im gewöhnlichen Leben der Entzündung zurechnet“ (p. 275).

Die Geschichte des Follikelepithels beim Neunauge führt uns diesen Vorgang gleichsam im Paradigma vor. Zunächst schwillt die Zelle an, der Kern ist noch vorhanden. — Sie speichert immer größere Massen in sich auf; der Kern geht zu Grunde. Praktisch ist dies Stadium interessant, weil wir zu dieser Zeit die Vorstufen des Dotters in den Randschichtvakuolen und im Follikel-epithel zugleich sehen können. Schließlich zerfallen die Zellen vollständig. Wir können also zusammenfassend sagen, daß das Follikelepithel am Ende der Entwicklung der Ovarialeier durch Entzündung (vitellogene?) zu Grunde geht. Es ist vielleicht im Wesen derselbe Vorgang, der sich im Untergang der Nährzellen im Insektenovarium zu Gunsten des kleinen Eies vollzieht.

Wenn BÖHM von einer Verschleimung des Follikel-epithels spricht, so ist der Ausdruck wohl mehr aus Verlegenheit, denn als aus richtiger Erkenntnis der Sachlage entstanden. Denn BÖHM sagt weiter, daß die Eier mit diesem verschleimten Epithel in die Bauchhöhle gerieten; er leitet offenbar die Gallertschicht des Eies von diesen „verschleimten“ Follikelzellen ab. Ich habe auch Bauchhöhleneier geschnitten, aber niemals an ihnen auch nur Spuren des Epithels oder irgend welcher Produkte gesehen, die sich auf dies Epithel hätten beziehen lassen. Die sich furchenden Eier und die jungen Larven besitzen außer den Zonae überhaupt keine solche Gallertschicht wie etwa das Froschei. BÖHM hat einfach die früheren Zustände des Epithels nicht gekannt, sonst hätte ihm das nicht entgehen können.

Andererseits aber nehme ich an, daß die von BÜHLER¹⁾ und mir übereinstimmend geschilderten Degenerationsvorgänge am Epithel nicht erst an das Platzen oder die Atresie des Follikels gebundene Erscheinungen, sondern physiologische Vorgänge sind, die das normale Ende des Follikelepithels überhaupt vorstellen.

Was ich über die Geschichte des Follikelepithels beim Neunauge feststellen konnte, scheint mir zur Frage des Corpus luteum in direkter Beziehung zu stehen. Denn fragen wir, welche Bedeutung dem Follikelepithel zukommt, so ist es physiologisch nur aufzufassen als eine Nährzellegruppe, morphologisch nur als Homologon jener z. B. bei Insekten so weit verbreiteten „Nährzellen“ und genetisch nur als modifizierte Keimzellen selbst. Wie die Eizelle durch die Befruchtung ihr selbständiges Dasein beendet, so die Follikelzelle bei Abschluß der Dotterbildung des Eies. Bei Petromyzon wenigstens kann schon deshalb — ganz im Sinne BÜHLERS — dem Follikelepithel keine aktive, produktive, regenerierende Rolle bei der Bildung des Corpus luteum zugeschrieben werden. Ob dies bei höheren Tieren, z. B. den Säugetieren, anders ist, entzieht sich meiner Beurteilung.

Eine von dem verstorbenen Professor BORN gehegte und neuerdings von zweien seiner Schüler zu beweisen unternommene Idee war es, daß das Corpus luteum der Säugetiere eine Drüse mit sog. innerer Sekretion sei, bestimmt, durch Absonderung von Säften die Implantation des Eies im Uterus zu befördern. In einer soeben darüber erschienenen Untersuchung schildert F. COHN (03) die Veränderung der Follikelepithelien am Kaninchenovarium. Die Befunde sind nicht ganz ohne Analogie mit den von mir in ihrem Beginn und in ihrem weiteren Verlaufe von BÜHLER²⁾ ge-

1) BÜHLER beschreibt, daß auch bei ungeplatzen Follikeln sich die erste Rückbildungserscheinung in einer Vergrößerung des Epithels und in der Ansammlung einer dichten homogenen Masse darin zeige, bei noch völlig intakten Hüllen. Er nimmt an, daß die Zellen Dotter von innen her aufgenommen hätten. Später finde auch sogar eine Auswanderung von Dotterbestandteilen aus dem Ei durch die Membranen nach außen statt. Bemerken will ich, daß ich die von mir beschriebenen Erscheinungen stets an allen Eiern des betreffenden Ovarialstückchens und ferner an mehreren, zu verschiedenen Zeiten konservierten Ovarien (s. o.) gesehen habe, daß es sich also nicht um atretische Follikel gehandelt hat.

2) BÜHLERS Untersuchungen werden von COHN nicht erwähnt.

schilderten Vorgängen an Fischeiern. Indes kann ich mich dem Verf. in der Verwertung seiner Beobachtungen nicht anschließen. Folgende Veränderungen wurden von COHN am Granulosaepithel beobachtet.

- 1) Sprungreifer Follikel: Zellkörper von geringer Größe. Die Kerne bilden den Hauptbestandteil des Eies. Zellgrenzen nicht deutlich ausgeprägt. Dichtes Chromatingerüst. Vereinzelte Mitosen.
- 2) Corpus luteum, 20¹/₂ Stunden. Zellkörper nicht viel größer. Kerne ungefähr aufs Doppelte vergrößert. Deutliches Chromatingerüst. Keine Kernteilungsfiguren.
- 3) Corpus luteum, 22 Stunden. Wenig verändert. Keine Mitosen.
- 4) Corpus luteum, 42 Stunden. Starke Vergrößerung des Protoplasmaleibes. Chromatin der Kerne feiner verteilt. Einen oder mehrere Nukleolen. Eine einzige Epithelmitose.
- 5) Corpus luteum, 44¹/₂ Stunden. Protoplasma wabige Struktur durch Einlagerung feinsten tropfenförmiger Gebilde. Kerne fein verteiltes Chromatingerüst. 1—2 Kernkörperchen. Keine Mitosen.
- 6) Corpus luteum, 48¹/₂ Stunden. Feinwabig strukturiertes Plasma. Kern mit fein verteiltem Chromatin. 1—2 Kernkörperchen.
- 7) Corpus luteum, 68 Stunden. Reicher an Vakuolen. Kerne bläschenförmig und hell. Kernkörperchen sind sichtbar.

COHN beschreibt dann weiter, daß die Vakuolen im wesentlichen Fett als Inhalt haben (Osmiumreaktion) und daß zahlreiche Kapillaren sich im Corpus luteum entwickeln. Da von „sonstigen“ Degenerationszeichen im Corpus luteum nichts zu entdecken sei, so hält er diese fettigen Einschlüsse für sekretartige Plasmaproducte, die auf dem Wege der Kapillaren aus dem Corpus luteum dem Körper zugeführt würden (p. 762). Als merkwürdige und beweisende Tatsache wird hervorgehoben, daß der Höhepunkt der Kapillarenentwicklung und die stärkste Entfaltung der Granulosaellen „ungefähr“ mit der Implantation des Eies zusammenfallen. — All dem gegenüber wird eine sehr kräftige, sich durch reichliche Mitosen auszeichnende Vermehrung der Bindegewebszellen zugegeben.

Wenn der Verfasser außer den von ihm beschriebenen noch „sonstige“ Degenerationserscheinungen sucht, so ist schwer zu verstehen, welcher Art die noch sein sollten. Der einzige Unterschied zwischen den Befunden bei Petromyzon und denen beim Kaninchen liegt in der schnellen Vergänglichkeit dort und in dem langen Bestande des Epithels hier. Dies aber kann sehr wohl durch die völlig abweichenden Lebensbedingungen uns verständlich er-

scheinen, unter denen das zum Untergang bestimmte Follikel-epithel bei Fischen und bei Säugern steht. Dort ist der Follikel allerdings von einem reichen Kapillarnetz umgeben (cf. Fig. 7, auch bei OWSJANNIKOW), indes fehlt nach der Ausstoßung des Eies jeder, eine stärkere Gefäßentwicklung bedingende Reiz, wodurch die Zellen außer der trophischen Störung, in der sie sich bereits befinden, noch von ihrer bisherigen Nahrungsquelle abgeschnitten werden. Anders bei den Follikelresten der Säuger, wo durch das sich im Uterus festsetzende Ei gerade im Gegenteil eine ungeheure Welle von Blut den Geschlechtsorganen zugeführt wird, die gleichzeitig Uterusschleimhaut und Corpus luteum ernährt und auch für die Kapillarentwicklung im Corpus luteum verantwortlich gemacht werden könnte. Wenn also auch dem Epithel eine viel größere Bedeutung für den Aufbau des Corpus luteum der Säuger zuzukommen scheint, so ist es doch besser, sich den kausalen Zusammenhang in dieser logischen Form vorzustellen, als den bereits längst zum Untergang bestimmten Zellen die mystische Rolle einer Sekretion fettartiger Tröpfchen in eigens zu diesem Zwecke gebildete Kapillaren zuzuschreiben. Es würde übrigens weiter zur Klärung unserer Vorstellungen beitragen, wenn wir berücksichtigten, daß das Corpus luteum der laichablegenden Tiere nur homolog einem Corpus luteum spurium der Säugertiere ist¹⁾.

Einer anderen Bemerkung von COHN gegenüber habe ich mich in persönlichem Sinne zu äußern. Er führt nämlich zum Beweis der sekretorischen Tätigkeit der Epithelzellen die überaus feine Verteilung des Chromatins in ihren Kernen an und bezieht sich auf Arbeiten von BORN, RÜCKERT und PETER, nach denen dieser Zustand feinsten Chromatinverteilung in Beziehung zu sekretorischer Funktion der Zellen stehe. Da COHNS Arbeit im April 1903 abgeschlossen ist, so hätten meine beiden Arbeiten (1902), die sich gerade ganz ausführlich mit dieser Frage beschäftigen, wohl berücksichtigt werden müssen. Es hätte sich dann wohl auch Gelegenheit geboten, zu prüfen, ob nicht, wie ich meine, die Kernveränderungen gerade im Gegenteil die Folge der gestörten Ernährungsverhältnisse seien, anstatt die Ursache der hypothetischen „Sekretbildung“ darzustellen.

1) Zur Entscheidung der von BORN angeregten Frage scheint es mir unerläßlich zu sein, das Corpus luteum der chorionlosen Mammalia (Ornithorhynchus, Marsupialier) zu untersuchen, bei denen nach der BORNschen Theorie eine nennenswerte Beteiligung des Epithels nicht zu erwarten wäre.

Kapitel III.

Das Keimbläschen.

Die Schilderung des Eileibes und seiner Hüllen mußte ausführlicher gehalten sein, da sie uns einige anscheinend nicht unwichtige Verhältnisse kennen lehren sollte. Die Geschichte des Keimbläschens, deren ich bereits an anderer Stelle Erwähnung getan habe, wird viel kürzer behandelt werden können. Daß ich gerade ihretwegen mit bestimmten Vermutungen an die Untersuchung des Neunaugeneies heranging, habe ich in der Einleitung bemerkt. Es zeigt sich, daß die Veränderungen im Keimbläschen im Verhältnis zu den großen Revolutionen im Eileib höchst einfach sind, gerade deshalb aber vielleicht unser Interesse in mancher Hinsicht beanspruchen.

Ich beginne mit der Schilderung ganz junger Eier, die sich an die Vermehrungsperiode der Eier unmittelbar anschließen. Die fünf in Fig. 14 abgebildeten Eier sind durch Druck leicht aneinander gepreßt. Das jüngste ist das rechts unten gelegene, dessen Cytoplasma noch hell ist und dessen Kern das Innere der Zelle fast ganz einnimmt. Der Kern zeigt sich erfüllt von einem Fadenwerk, das sich mit Kernfarbstoffen stark färbt. Einzelne Chromatinkörperchen liegen isoliert an den Gerüstfäden oder mehr zum Rande hin. Die Peripherie ist von einer scheinbar aus einzelnen Körnchen und Fädchen zusammengesetzten stark färbbaren Membran umgeben. Aeltere Stadien sind durch die 3 größeren Eier repräsentiert; sie zeigen das Fadenwerk sehr viel lockerer, so daß auf einem so dünnen Schnitte wie dem abgebildeten, z. B. links unten, der Inhalt des Keimbläschens hohl erscheint. Auf Schnitten, die mehr getroffen haben, sieht man nun aber schon einen sehr großen Nucleolus im Inneren differenziert, noch deutlich im Zusammenhang mit dem chromatischen Netz. Andererseits haben sich der deutlich färbbaren Kernmembran äußerst regelmäßig kleine chromatische Kügelchen angelagert.

Bei gleicher Vergrößerung sind die Eier in Fig. 15 und 16 gezeichnet, die somit einen direkten Vergleich der Größenverhältnisse zulassen. Sie entstammen einem jüngeren Tier, dessen Ovarium Eier durchweg vom Bilde der Fig. 16 enthielt. Das kleinere Ei fand sich zufällig noch dazwischen vor. Bei diesem (Fig. 15) sehen wir nun den ersten färberischen Unterschied in den Kernsubstanzen, der aber nur bei Anwendung bestimmter

Färbungen hervortritt. Es behält nur der große Nucleolus und einige zerstreute, sowie der Peripherie angelagerte Körnchen die starke Affinität zum Hämatoxylin nach der Beize mit Eisenoxydammonium. Das feine Netz entfärbt sich schneller und nimmt dann leicht einen Plasmafärbstoff an. Färbt man aber z. B. mit Hämalaun und Hämatoxylin progressiv, so tritt hier ein solcher Unterschied noch nicht hervor. In Fig. 16 ist die Veränderung noch deutlicher geworden.

Das in Fig. 17 abgebildete Ei ist nun statt bei 800-facher nur bei 360-facher Vergrößerung gezeichnet. Hieraus wird man die Dimensionen ermessen können, was zur Beurteilung des Verteilungszustandes des feinen chromatischen Netzes von Wichtigkeit ist. Man wird, wenn man sich den Kern der Fig. 17 noch um etwas mehr als die Hälfte vergrößert denkt, sehen, daß die Verteilung noch viel feiner geworden ist als in Fig. 16. Unsere Aufmerksamkeit fesselt der ungeheuere Nucleolus, dessen Dimensionen im Verhältnis zur früheren Größe die Fig. 18 ausdrückt. Um den dritten Teil vergrößert sind sie direkt mit dem in Fig. 16 gezeichneten vergleichbar. Der Nucleolus ist von sehr kompliziertem Bau. Meist umgibt ihn eine Kappe von stark färbbarer chromatischer Substanz, die ihrerseits wieder von größeren und kleineren Substanztropfen erfüllt ist. Der Rest seiner Masse besteht meist aus anders färbbarer Masse, die gewöhnlich an einer Stelle mehr oder minder breit nach dem Karyoplasma hin offen steht (z. B. Fig. 18c₁ und c₂, wo ein Nucleolus bei verschiedener Einstellung gezeichnet ist). Die Färbung des ganzen Keimbläschens fällt ähnlich aus, wie bereits bei den vorigen Figuren bemerkt. Indes darf das nicht etwa als eine „mikrochemische Reaktion“ betrachtet werden, denn man kann die Substanzen je nach Regelung der Differenzierung bald ganz schwarz, bald ganz rosa färben. So sind z. B. die peripherischen Körnchen in Fig. 17 mit deutlichen Uebergangs- und Mischönen gefärbt. Ich wollte aber einen reinen Chromatinstoff wirken lassen und benutzte dazu das Thionin. Da lieferte die Färbung in der Tat den Nachweis, daß zwei chemisch verschiedene chromatische Substanzen im Keimbläschen vorhanden sind. Die eine (Basochromatin) liegt jetzt nur noch in bestimmten Wandbestandteilen des Nucleolus, sowie in einigen durch den Kern zerstreuten und zum Teil an der Peripherie gelagerten Körnchen. Die zweite (Oxychromatin-Substanz, „Nucleolarsubstanz“ im Sinne R. HERTWIGS [1902]) bildet den Inhalt der Räume des Nucleolus, ist fein im Keimbläschen verteilt und findet sich entweder als einziger

Bestandteil gewisser peripherischer Körnchen oder als Grundlage der anderen peripherischen, von basichromatischer Substanz gebildeten Körnchen.

Bei Anwendung der Berlinerblaureaktion von LIST mit nachfolgender Karminfärbung habe ich nur Einschlüsse des Nucleolus blau gefärbt erhalten, das feine Gerüst und die äußeren Schichten des Nucleolus dagegen rot.

Die bisher beschriebenen Veränderungen haben sich in der ersten Zeit der Eireifung vollzogen. Das Keimbläschen ist noch immer rund, aber relativ bereits ziemlich stark exzentrisch. Um die sonstigen Zustände des Eies hier nochmals ins Gedächtnis zu rufen, so sei daran erinnert, daß die Eier, die den Dotterkern zeigten, demselben Ovarium entnommen waren, wie das in Fig. 16 abgebildete Ei, und daß die starke Dunkelfärbung des Eiplasmas aus Fig. 19 im allgemeinen ungefähr mit dem Eistadium der Fig. 17 zusammenfällt.

Wenn das Ei im ersten Stadium der Dotterbildung steht, liegt das Keimbläschen bereits mehr dem animalen Pol genähert. Bei gut konservierten Eiern ist seine Form stets rund. Umgeben ist es stets von einer deutlichen Kernmembran und schwimmt in einer Hülle dichteren Plasmas, das stets frei von Dotterablagerungen bleibt und später, wie im 1. Kapitel geschildert, in Zusammenhang mit dem Polplasma des Eies tritt. Der Inhalt des Keimbläschens stellt sich uns nun je nach der angewendeten Fixierung (die bisherigen Stadien waren, da sie zugleich anderen Zwecken dienen sollten, mit ZENKERScher Lösung fixiert) charakteristische Abweichungen. Zur Illustrierung mögen die Figg. 6, 7, 8, 20 u. 21 dienen. Die Figg. 7 u. 8 entstammen bereits Eiern nach der Metamorphose, wo die äußere Form des Keimbläschens sich zu ändern beginnt.

Fixiert man mit heißer Chromsäure, so erscheint der Inhalt des Keimbläschens fast homogen. Wenn man nur einen einzelnen Schnitt zu Rate zieht, so möchte man überhaupt das Keimbläschen für leer halten. Indes sieht man auf anderen Schnitten Schnittstücke feiner Fädchen, die offenbar Reste des äußerst fein verteilten oxychromatischen Netzes sind; besonders ist zur Illustrierung dieser Tatsache die Doppelfigur 21 bestimmt. Sie zeigt zwei Schnitte eines Keimbläschens desselben Eies, und zwar aus demselben Ovarium, dem Fig. 7 entnommen worden ist. Desgleichen zeigt Fig. 7 die feinen Fädchen aus einem Schnitt, Fig. 8 kombiniert aus einigen Schnitten. Fixiert man in FLEMMINGScher Lösung, was bei diesen

jungen Eiern noch gute Resultate gibt, so sieht man das Keimbläschen (Fig. 6 u. 20) von zahlreichen feinen Fädchen und Körnchen erfüllt. Namentlich habe ich mich bemüht, in Fig. 20 jedes Detail des Keimbläschens absolut genau einzutragen, so daß die Figur als treues Abbild aufzufassen ist, während Fig. 6 mehr den allgemeinen Eindruck bei schwacher Vergrößerung und nur die gröberen Details genau zeigt. Ich fasse Fig. 6 u. 20 nicht als echte Struktur des Keimbläschens auf, sondern wohl zum Teil als Kunstprodukt, als Fällungen, die durch die Wirkung der FLEMMINGSchen Lösung entstanden sind. Andererseits glaube ich nicht, daß das Keimbläschen jetzt schon so leer sei, wie es die Chrompräparate annehmen lassen möchten. Die feineren Strukturen werden hier wohl durch die heiße Chromsäure verdeckt worden sein, wie sich dies auch für das Tritonei hat nachweisen lassen (1902a).

Bei jeder Fixierung aber tritt der ungeheuere Nucleolus zu Tage, der einen ähnlichen Bau zeigt wie früher (Fig. 20; in Fig. 8 ist die Differenzierung nicht so weit geführt worden, in Fig. 21 wurde mit BÖHMERSchem Hämatoxylin gefärbt, wobei die Differenzierungen niemals so deutlich werden.

Sobald nach der Metamorphose die Bildung des „feinen Dotters“ sich am animalen Pol bemerkbar macht, verändert sich die Form des Keimbläschens, indem es sich an der dem feinen Dotter zugewendeten Seite abplattet (Fig. 7, 8, 9, 10). Noch später bewirkt das Eindringen der Vakuolen und des grobkörnigen Dotters oft einen leichten Eindruck im Centrum dieser abgeplatteten Oberfläche (Fig. 10). Sehe ich zunächst von dem Inneren des Keimbläschens ab, so ist die Reihe der Veränderungen seiner Form bis zur Reife sehr kurz. Es verkleinert sich und steigt — immer an den feinen Dotter geknüpft — zum animalen Pole auf. Fig. 12, die bei derselben Vergrößerung gezeichnet ist wie Fig. 6—11 und Fig. 13, zeigt den Raum, den das geschrumpfte Keimbläschen eingenommen hat, bereits beträchtlich kleiner als früher. Ich habe bei einem anderen Ovarium noch spätere Stadien beobachtet, wo das Keimbläschen noch höher lag und fast stabförmig schmal geworden war (s. oben bei OWSJANNIKOW). Bis zuletzt ist am Keimbläschen eine schließlich sehr dicke Kernmembran zu beobachten, bis zuletzt liegt es auch stets in einer sich allerdings immer mehr verfeinernden Hülle feinen Dotters. (In Fig. 12 ist sie außen am Rande der Schrumpfungshöhle zu sehen.) Der schließliche Schwund des Keimbläschens und das

freie Austreten seines Inhaltes ist von mir ebensowenig wie von einem der früheren Untersucher gesehen worden. Dieser Vorgang muß offenbar sehr schnell erfolgen. Ich fand, wie bemerkt, in einem Ovarium im April alle untersuchten Eier vom Zustande der Fig. 13 und nur einige wenige vom Zustande der Fig. 12. BÖHM hat, wie oben ausgeführt, die dotterfreie Stelle in Fig. 13 für den flächenhaft ausgebreiteten Inhalt des Keimbläschens gehalten. Mustert man aber seine Gestalt in Serienschnitten, so ist die Masse viel zu reichlich im Verhältnis zu dem schließlichen Inhalt des Keimbläschens, die Aehnlichkeit der Form aber mit der des „feinen Dotters“ zu groß, als daß man sie übersehen könnte.

Mittlerweile hat sich der Inhalt des Keimbläschens wie folgt weiter verändert. Noch in Fig. 9 und 10 sind Spuren des oxychromatischen Faserwerkes erkennbar. In Fig. 11 und 12 dagegen zeigt das Keimbläschen in Chrompräparaten einen völlig homogenen Inhalt; selbst bei Sublimatbehandlung zeigen sich keine fädigen Bildungen mehr. Das Keimbläschen tritt uns bei solchen Präparaten in ganz diffus-feinkörnigem Inhalt entgegen. Die in früheren Stadien noch vorhandenen peripherischen Körnchen sind sämtlich geschwunden. Nur gelegentlich fand ich (Fig. 9) neben dem Nucleolus einige nach HEIDENHAIN-Färbung schwarze Körnchen. All unser Interesse konzentriert sich also immer mehr auf den einzigen riesigen Nucleolus, der von den jüngsten Stadien an durch die Metamorphose hindurch morphologisch wenig verändert, eine Stätte geheimnisvoll unaufhörlich wirkender chemischer Vorgänge, bestehen geblieben ist. Zunächst ist er wenig verändert, und die selbst an einem Chrompräparate (Fig. 9) darstellbare Struktur ist jener obigen Beschreibung noch angepaßt. Später aber wird es schwächer färbbar (Fig. 11). Ja in Fig. 12 ist es zu einem kaum noch Farbe annehmenden hellen Flecken geworden. Dies stimmt also mit BÖHMS Beobachtungen überein.

Alles bisher Gesagte ist aber nur Vorspiel zu der allerwichtigsten Frage, die sich jedem Leser aufdrängt. In allen sonst bei Wirbeltieren bekannten Fällen bildet sich schließlich wieder, wenn auch nach mannigfachen Umlagerungen, eine Anzahl Chromosomen, aus denen dann die Chromosomen der Richtungsspindel hervorgehen. Hier ist nirgends mehr eine Spur fädiger Kernbestandteile vorhanden. Alles jetzt noch vorhandene Chromatin liegt im Nucleolus. Wie gehen aus diesem Körper die Chromosomen der Richtungsspindel hervor? Noch

niemand hat das gesehen. Ein einziges, leider im übrigen nicht allzuschönes Präparat habe ich erhalten, das wenigstens den Beginn dieser Umbildung zeigt. Es ist das Keimbläschen in Fig. 12, das dicht neben dem nunmehr blassen Nucleolus 2 Gruppen von Körperchen zeigt, die sich sehr dunkel gefärbt haben. Da es sich hier um eine progressive Hämalaunfärbung handelt, so sind Irrtümer über den Grad der Differenzierung und über die Kontraste der Färbung zwischen dem Körperchen und dem Nucleolus absolut ausgeschlossen. Die Körperchen waren gleichsam gelappt, indem das eine 3, das andere 2 Auswüchse erkennen ließ. Auch in dem benachbarten Schnitt fanden sich Fortsetzungen dieser Gebilde.

Aus diesem Befunde entnehme ich, daß ähnlich wie es im vorigen Jahre von HARTMANN für das Echinodermenei beschrieben worden ist, die Chromosomen sich von dem Nucleolus lösen und auf die Spindel hinwandern. Mehr läßt sich vorab auch nicht sagen.

Noch einer Tatsache habe ich zu gedenken, die mir Licht auf eine andere Frage zu werfen scheint, die nämlich, wohin denn nun eigentlich die Masse des Karyoplasma gerät? Manche Autoren, z. B. CALBERLA und OWSJANNIKOW, haben mannigfache „kernartige“ Gebilde beschrieben, die im reifen Neunaugenei liegen sollten. Ich habe bei Eiern, deren Keimbläschen nicht mehr nachweisbar war, durchaus regelmäßig Bildungen bemerkt, wie die in Fig. 13 wiedergegebenen. Es handelte sich um helle dotterfreie Bezirke, die sich oft wie eine Bahn bis zum Protoplasma hinzogen. Ich glaubte ursprünglich, daß sich in ihnen der Nucleolus noch finden müsse, bin aber davon zurückgekommen, als ich festgestellt hatte, daß der Nucleolus noch bis in viel weiter peripherische Lagen des Keimbläschens mitgenommen wird. Es bleibt mir keine andere Deutung übrig, als die, daß es sich hier um das beim allmählichen Aufsteigen des Keimbläschens abgegebene Karyoplasma handele, das noch eine Zeitlang die Bahn des Keimbläschens bezeichnet. Diese hellen Stellen dürfen nicht mit dem von BOEHM beschriebenen „Dotterherd“ verwechselt werden, den ich gleichfalls als eine bei reifen Eiern vorkommende fast homogene, dotterfreie Masse im Innern des Eies gefunden habe und deren Bedeutung mir in keiner Weise klar geworden ist. Vielleicht hängt sie mit den Schicksalen des Dotterkernes zusammen.

Somit würden die letzten Stadien des Keimbläschens diejenigen sein, daß es unter allmählicher Abgabe des Karyoplasma an Volumen sich verringert, während der Nucleolus, seine Färbbarkeit

verändernd, die Affinität zu Kernfarbstoffen auf mehrere aus ihm entstehende Chromosomen überträgt. Später löst sich die Kernmembran auf und die Chromosomen werden frei. Ihr Uebergang in die Aequatorialplatte ist noch nicht beobachtet worden. Für die Lage und Form der ersten Richtungsspindel verweise ich auf die Arbeiten von HERFORT.

Wie wir ohne weiteres sehen, weicht der Modus der Eireifung bei Petromyzon prinzipiell von dem bei Amphibien und selbst bei Selachiern und Teleostiern ab. Er steht den bei vielen Wirbellosen beobachteten Vorgängen so nahe, daß man wohl schon hieraus den Einfluß der phyletischen Stellung des Eies wahrnehmen kann. Inzwischen sei der Vorgang selbst, indem ich die stammesgeschichtliche Bedeutung meiner Untersuchungen in einem besonderen Schlußkapitel erörtern werde, jetzt einer kurzen Analyse unterzogen.

Vorausgeschickt sei, wie wir uns nach den neuesten Annahmen den feineren Bau des Keimbläschens vorzustellen haben. Das ursprüngliche Kerngerüst besitzt eine achromatische Grundlage. Diese ist nicht gleichbedeutend mit dem Plastrin oder Liningerüst, sondern enthält dieses, überkleidet von einer besonderen chromatischen Substanz, der sogenannten „Nukleolarsubstanz“. Diesem solchergestalt aus zwei Substanzen bestehenden achromatischen Gerüst ist die Nuclein substanz angelagert. (Vergl. hierzu die bereits 1902 von mir eingehend benutzte Arbeit von R. HERTWIG 02.)

Bei den Amphibien, deren Eireifungsprozeß wir namentlich durch die Arbeiten von CARNOY und LEBRUN, sowie von FICK¹⁾

1) Es bietet sich mir hier die erwünschte Gelegenheit, einen von mir sehr bedauerten Irrtum in der Benutzung der Literatur ausdrücklich richtig zu stellen. Infolge eines lediglich aus dem Gedächtnis wiedergegebenen Citats aus dem Demonstrationsbericht der Verhandlungen der anatomischen Gesellschaft in Tübingen hatte ich in meiner Habilitationsschrift p. 2 und p. 44 die Annahme ausgesprochen, daß die Mitteilungen von FICK auf dem Anatomentage nur ein Referat über CARNOYS Untersuchungen an der Hand CARNOYScher Originalpräparate seien. Als ich später bei der Korrektur meines Referates für die „Ergebnisse“ die Aufzählung der FICKschen Präparate in dem Demonstrationsbericht von Tübingen nachschlug, bemerkte ich das Versehen und habe die betreffenden Untersuchungen bereits in jenem Referat p. 757 ohne die in der früheren Arbeit gegebene Einschränkung angeführt. Leider ist das

jetzt ziemlich genau kennen, handelt es sich um folgendes: Es wird das achromatische Gerüst sehr fein, so daß es fraglich ist, ob überhaupt noch Nucleinsubstanz an ihm enthalten ist. Die Nucleinsubstanz wird ganz oder zum Teil in Nucleolen umgelagert. Die Nucleolarsubstanz ist erstens als Ueberzug des Liningerüsts, sodann als Grundlage der Nucleinnucleolen, endlich in sogenannten „echten“ oder „Plasma“nucleolen vorhanden. Die Nucleinnucleolen tragen zur Regeneration der chromatischen Substanz bei und geben ihr Nuclein später wieder in Form von Fäden an das Kerngerüst ab (cf. „Ergebnisse“, 1902).

Bei *Petromyzon* besteht Uebereinstimmung anfänglich in der Ausbreitung des achromatischen Gerüsts. Abweichend ist die Aufspeicherung fast sämtlichen Nucleins in einer einzigen centralen Masse. Die sogenannte Nucleolarsubstanz ist hier wie dort zunächst als Bestandteil des achromatischen Gerüsts zu denken, ferner aber bildet sie wie dort die Grundlage zahlreicher, so hier die Grundlage des einen mächtigen Nucleolus.

Die Auffassung, die rein äußerlich dieser Prozeß durch CARNOY und LEBRUN bei den Amphibien gefunden hatte, konnte angegriffen werden, weil hier der Zustand des „achromatischen“ Gerüsts nicht klar analysierbar war. Es konnten die definitiven Fäden niemals ausschließlich auf Nucleolen aus dem Grunde bezogen werden, weil das fädige Gerüst stets nachweisbar war und später wieder deutlich wurde.

Bei *Petromyzon* kann der Ursprung der späteren Richtungschromosomen aus dem Nucleolus nicht geleugnet werden. Es bietet sich also hier rein äußerlich eine völlige Bestätigung der Lehre von CARNOY und LEBRUN, da das achromatische Gerüst hier später nicht mehr in Frage kommt.

Es erscheint aber der Eireifungsmodus im *Petromyzontenei* als eine Vereinfachung des bei Amphibien beobachteten, indem an Stelle der diffusen Nucleolarbildungen eine einzige Nucleolarbildung vorhanden ist. Lediglich unter Berücksichtigung des mit

Versehen dennoch auch noch in einer in kleinem Druck gegebenen Stelle des Referates, nämlich auf p. 773 stehen geblieben, so daß ich an dieser Stelle nachträglich für die Leser jener beiden Arbeiten bemerke, daß die im Jahre 1899 von Prof. FICK in Tübingen gemachten wichtigen Mitteilungen nicht ein Referat sind, sondern die Ergebnisse aus den gleichzeitig demonstrierten Originalpräparaten R. FICKS darstellen.

Kernfarbstoffen färbbaren Gerüsten hätten wir diesen Typus der Eireifung als Synapsistypus von einem Strosistypus zu unterscheiden.

In seinem inneren Wesen aber ist gerade der Modus des Neunaugeneies weit besser geeignet, gegenüber CARNOY und LEBRUNS Schlüssen eine tiefere Erkenntnis dieses Vorganges zu liefern, als das beim Amphibienei möglich war. Immer nämlich unter Voraussetzung, daß das Kerngerüst wirklich gebaut sei, wie oben angegeben, würde allerdings nicht die Form und Zahl der Chromosomen erhalten bleiben, wohl aber die Nukleolarsubstanz, die eben die Rolle eines konservativen Elementes spielt und zugleich die Organisation des Nukleins leitet. Wenn aus dem Nucleolus sich wieder die normale Zahl der Chromosomen entwickelt, so muß in ihm eben ein Element vorhanden sein, in dem die Bedingungen gerade zu dieser Sonderung des Nukleins liegen — sowie in einer bestimmten Mutterlauge nur Krystalle eines bestimmten Systems anschießen. Bereits an anderer Stelle habe ich das sehr wichtige Zitat von GIARDINA angeführt, wonach er sich gelegentlich der Ovogenese von *Dytiscus* wie folgt äußert (01, p. 746):

„Die Konstanz der Chrosomenzahl hängt weder von dem Bestehenbleiben der Chrosomenzahl ab, noch von der Quantität der Chrosomensubstanz, die sich in der Aequatorialplatte verteilt. Sie hängt vielmehr von der Konstanz ab, mit der sich in jeder Mitose gewisse Bedingungen wiederholen, die von jenen ersten beiden unabhängig sind und die für jede Art von Organismen charakteristisch sind.“

Fraglich bleibt nun hierbei nur noch, was wir mit dem verschwindenden feinfädigen Gerüst anfangen sollen. Wenn es wirklich noch Nukleolarsubstanz trägt, so wäre es immerhin ein auffälliges Ende für einen so wichtigen Kernbestandteil; indes muß man berücksichtigen, daß die hierin enthaltene Masse gegenüber ihrem Gros im Nucleolus recht gering, daß sie stets zu sog. „Plasmanukleolen“ zusammengeballt, im Ueberschuß vorhanden ist, und daß man den Untergang solcher überschüssigen „echten“ oder „Plasma“nukleolen schon immer beobachtet hat. Andererseits aber ist es eben sehr fraglich, ob überhaupt noch Nucleolarsubstanz auf dem feinfädigen Gerüste vorhanden ist, oder ob sie nicht schließlich völlig in dem Kernkörper enthalten ist.

Prüfen wir hiernach zum Schlusse noch, inwieweit die Befunde am Neunaugenei meiner früher gegebenen Vorstellung von dem Wesen der Eireifung entspricht. Zunächst wird da, wenn

wir die Dotterbildung bei Petromyzon und bei Tritonen als Ganzes miteinander vergleichen, wohl der Beweis geliefert sein, daß die speziellen Phänomene im Keimbläschen der Tritonen hierbei völlig fehlen können. Die Natur braucht eben keine peripherisch gelagerten Nukleolen, die „besser auf die Dotterbildung einwirken könnten“.

Wir erkennen weiter, daß das Lieblingsobjekt der neueren Literatur, das Amphibienei, uns einen bereits sehr modifizierten Eireifungstypus zeigt, während uns sein Wesen bei dem so viel einfacheren Petromyzontenei reiner entgegentritt.

Man muß auf die stammesgeschichtliche Entstehung der Eizellen überhaupt zurückgehen, um zum richtigen Verständnis dieser Phänomene zu gelangen. Wodurch wurde ursprünglich unter den gleichartigen somatischen Zellen einer Volvox eine oder mehrere Zellen zur Eizelle differenziert? Doch nur durch Aufspeicherung von Nährmaterial und Gewährleistung der Ernährung von außen her, so daß die gewebusbildende Tätigkeit der Zelle sistiert, die Folge ihrer Kernteilungen durchbrochen wurde. Das Primäre ist der Reiz, der das Eiplasma von außen trifft. Die Reaktion auf diesen Reiz kann aber sehr mannigfaltig sein.

Durchaus gemeinsam ist die feine Verteilung des Gerüsts. Sie wäre allein schon dadurch verständlich, daß dieselbe Masse in einem 100-fach größeren Keimbläschen auch sehr viel feiner verteilt sein wird. Aber natürlich muß diese Masse auch an dem Lebensprozeß teilnehmen, muß wachsen und Stoffwechselprodukte abgeben, und das geschieht durch Aufnahme und Abgabe gelöster Stoffe vom Cytoplasma und ins Cytoplasma.

Das Wesentlichste ist die Erhaltung derjenigen Substanzen, an die die Vererbungstendenzen geknüpft sind. Bei Petromyzon sehen wir sie dadurch erfolgen, daß alles Nukleïn von dem achromatischen Gerüst in einen Ort zusammenströmt, um hier nach einer Reihe uns unbekannter Veränderungen nach mehr als 3 Jahren wieder in verjüngter Form zu erstehen. Wir sehen zugleich, daß dieser Typus ein sehr primitiver, schon bei Echinodermen sich findender ist. Meiner Ansicht nach ist dieser Modus angepaßt einer mit geringer Dotterablagerung verbundenen schnellen Eireifung, wie wir sie bei den niedrigsten Metazoen finden, wo die Eizelle sich von dem Zustand der indifferenten somatischen Zelle noch nicht weit entfernt hat. Bei höheren wird der Prozeß diesem primitiven um so ähnlicher bleiben, je langsamer die

Dotterbildung erfolgt, während er um so komplizierter wird, je intensiver die einbrechenden Dottermassen die chemischen Zustände des Eies verändern. Seine größte Komplikation wird er bei solchen Tieren erreichen, die nicht nur sehr dotterreiche Eier, sondern diese auch noch in periodischer Folge zur Reife gelangen lassen.

Ein Stoffwechsel vom Kern zum Ei hin tritt auch beim Neunaugenei in dem Dotterkern zu Tage, der aber niemals durch den Austritt körperlicher Elemente gebildet wurde, wie ja in meiner Abbildung die Kernmembran intakt ist und die kleinen peripherischen chromatischen Massen im Keimbläschen nicht nur dem Dotterkern gegenüber, sondern an allen Seiten der Peripherie liegen. Diese kleinen peripherischen Massen können beim Neunaugenei nur eine sehr geringe Rolle spielen, da sie sich später kaum mehr vorfinden. Soweit sie überhaupt in Betracht kommen, sehe ich sie mit CARNOY und LEBRUN als Elemente an, die von außen Stoffe aufnehmen, um zur Ernährung der Kernbestandteile beizutragen (97, p. 176)¹⁾.

Kapitel IV.

Ueber die systematische Stellung des Neunaugeneies.

Zu der Frage nach der systematischen Stellung des Neunaugeneies liegen nur zwei jüngst erschienene Arbeiten vor, deren ausführliche Erörterung ich bis zu dieser Stelle unterlassen habe. Es ist die große Untersuchung von DEAN (99) über die erste Entwicklung von Bdellostoma und die Beschreibung des unreifen Eies von Bdellostoma von DOFLEIN (99). Beide gehen von den Verhältnissen des Bdellostomaeies aus und ziehen das Petromyzontenei zum Vergleich heran. Beide kommen zu dem Ergebnis, daß die Eier sehr innig miteinander verwandt sind, nicht nur im ganzen, sondern auch z. B. in der Anordnung der Eihüllen. So sagt DOFLEIN z. B. (p. 349): „Vergleichen wir das Ei der Myxinoiden mit demjenigen der Petromyzonten, so wird sich sofort in den wesentlichsten Punkten eine gewisse Uebereinstimmung feststellen

1) Ich bedauere, daß mir eine Arbeit von MONTGOMERY (1898), die durch eine ungewöhnlich eingehende Aufzählung der Literatur hervorragend, im vorigen Jahre entgangen war; ich hätte ihre Ergebnisse unter denen aufzuzählen gehabt, auf die meine Ansicht von der Rolle der Nukleolarsubstanz sich stützt.

lassen. Der Umriss des Eies ist ebenfalls ellipsoid, der Kern an entsprechender Stelle gelagert, die Schale hat eine ähnliche Struktur und eine entsprechende Mikropyle (!). Die auffallenden Unterschiede: die Größe des Eies, damit im Zusammenhang seine Mero-blastie, die Härte der Schale, die Hakenapparate sind alles Erscheinungen, welche sich wohl aus Anpassungen an die verschiedene Lebensweise der Tiere erklären lassen. Jedenfalls ist der Bau der Eier sämtlicher daraufhin untersuchter Cyklostomen näher verwandt, als etwa derjenige der Myxinoideneier mit den ähnlich aussehenden Eiern von Knochenfischen.“

Sowohl DOFLEINS als DEANS Vergleichen aber liegt hauptsächlich die alte Untersuchung von CALBERLA zu Grunde mit ihren Fehlern in den beobachteten und Mängeln in den mannigfachen nicht beobachteten Tatsachen, so daß ich nunmehr auf Grund weiterer Erfahrungen die Homologisierung in vielen Punkten tiefer begründen kann, in einem anderen Punkte indes auch zurückweisen muß. (Eihüllen s. u.)

Halten wir uns zunächst an das junge dotterlose Ei, so fällt die geradezu erstaunliche Aehnlichkeit zwischen den Kernverhältnissen ohne weiteres ins Auge. DEAN bildet mehrere Stadien des Keimbläschens von *Bdellostoma* ab. Auch hier feine Verteilung der achromatischen Masse, auf der zunächst die chromatische in feinen Tröpfchen enthalten ist. Schon zu dieser Zeit ist ein mächtiger Nucleolus vorhanden, dessen Einzahl DOFLEIN ausdrücklich betont. Die Zusammensetzung des ungeheuren Nucleolus entspricht fast völlig der von mir beschriebenen und in den Fig. 18 a, b, c, d abgebildeten. Gegen das Ende der Eireifung bildet er neben einem zweiten achromatischen Gerüst gleichfalls wie bei *Petromyzon* die einzige Stätte, in der Chromatin enthalten ist. Es bilden also das Neunaugen-, *Bdellostoma*- und *Amphioxusei* (SOBOTTA) hinsichtlich ihres Eireifungstypus eine gegen die *Gnathostomen* wohlabgegrenzte Gruppe.

Auch während des weiteren Wachstums prägt sich am Neunaugenei durch seine polare Differenzierung eine bei weitem größere Homologie mit dem *Bdellostomaei* aus, als man erwarten konnte. Beim unreifen Neunaugenei ist animaler und vegetativer Pol nicht nur quantitativ durch die Menge des vorhandenen Dotters unterschieden wie beim Froschei — sondern beide Pole sind auch qualitativ durch ihren ganzen Bau und ihrer Bedeutung für das Leben des Eies voneinander verschieden.

Der vegetative Pol ist der Wachstumspol des Eies.

Hier setzt die Dotterbildung ein, die Follikelzellen sind hier in regster Tätigkeit; sie sind hier schließlich am stärksten in Mitleidenschaft gezogen und demzufolge auch kompensatorisch am größten. Auch die Membrana vitellina (Fig. 6!) ist hier am breitesten. Nach den Seiten hin vermindert sich die Wachstumsenergie, bis sie schließlich am animalen Pol fast gleich Null wird.

Hier aber liegt eine Bildung, die, wie nunmehr wohl klar werden dürfte, lediglich durch die Vergleichung mit einem meroblastischen Ei verständlich wird. Der bereits in früherer Zeit sich auszeichnende und bis zuletzt erkennbare plasmatische Bezirk bleibt stets dotterfrei. Mit feiner Schale umgreift er das Keimbläschen und grenzt außen direkt an die ernährenden Blutkapillaren, während die Follikelzellenschicht hier fast unsichtbar platt bleibt. Dies ist in zweifacher Hinsicht bedeutungsvoll. Erstens und hauptsächlich spielen sich an diesem Polplasma allein nicht nur bei der Befruchtung, sondern auch bei den zwei folgenden ersten Furchungen die Befruchtungs- und Kernteilungsphänomene, begleitet von aktiven Bewegungserscheinungen des Polplasmas, ab (KUPFFER). Man muß also sagen, daß dieses Polplasma die Rolle einer Keimscheibe spielt. Zweitens — und das muß mit dem im vorigen Kapitel Ausgeführten in Zusammenhang gesetzt werden — steht das Keimbläschen hier unter höchst günstigen Ernährungsbedingungen; obwohl in einem dotterreichen Ei liegend, ist seine Ernährung doch direkt von außen her augenscheinlich gewährleistet, womit die in der Einleitung ausgesprochene Vermutung bestätigt wird, daß die abweichenden Kernphänomene des Amphibien- und des Neunaugeneies nur der sichtbare Ausdruck eines ganz abweichenden Baues und ganz abweichender Ernährungsverhältnisse seien.

Der animale Pol bietet aber noch eine Eigentümlichkeit dadurch, daß in ihm zeitweilig ein später von Dotter erfüllter und schließlich verschwindender Gang angelegt wird. Der animale Pol bietet in seiner Umhüllung gleichfalls dadurch eine Besonderheit, daß die Zona hier verdünnt ist (Fig. 8). Eine Mikropyle ist zwar nicht nachweisbar, aber es ist möglich, daß die Dimensionen solcher durchgänglichen Stelle im Verhältnis zum ganzen Ei eben nur gerade dieser Verdünnung entsprechen, wenn wir die Abbildung DOFLEINS von der Mikropyle mit ihren dem Bdellostomaei entsprechenden Dimensionen zu Grunde legen.

Das Bdellostomaei besitzt in seiner Schale eine trichterartige Mikropyle (DEAN, p. 239—243, DOFLEIN, p. 347). Die Schale ist

am Pol kuppelartig vorgewölbt. Der Eikörper selbst (DOFLEIN, p. 347) folgt dieser Vorwölbung und „bildet einen scheibenförmigen Wulst, welcher gegen die Mikropyle vorragt. Diese Bildung erweist sich später bei der Furchung der Keimscheibe von Wichtigkeit (!!). Sie besteht aus fein granuliertem Plasma, welches ziemlich scharf gegen die Dottermassen im Inneren des Eies abgesetzt scheint. In ihrem Bereich befindet sich der Eikern, dessen unmittelbare Umgebung noch feiner granuliert ist als das eigentliche Keimscheibenplasma“. Wenn schon diese Beschreibung geradezu für die Verhältnisse des Petromyzonteneies gelten könnte, so hat DEAN eine sehr interessante Homologisierung der Schalenverhältnisse vorgenommen, indem er der Ansicht ist, daß die Mikropylenbildung auf einen gemeinsamen Ausgangspunkt an den Eiern der primitiven Chordaten hinweise und daß die Verdünnung am animalen Pol der Zona des Petromyzonteneies gleichfalls von dorthier ihren Ursprung genommen habe. Ich glaube, diese Annahme durch Nachweis des zeitweilig angelegten Ganges (Fig. 7—10) noch mehr stützen zu können.

Wie also am *Bdellostomaei* ein vegetativer und ein „operkularer“ Pol unterschieden wird, so haben wir am Neunaugenei einen vegetativen oder Wachstumspol zu scheiden von dem animalen Pol, der mit besonderen Einrichtungen für die Ernährung des Keimbläschens und die Befruchtung des Eies versehen ist.

Weitere Vergleichspunkte ergeben sich noch, wenn wir den feineren Bau des Eies berücksichtigen. Auch DOFLEIN setzt das Follikel­epithel mit der Dotterbildung in Zusammenhang. Stark mit Chromatinfarbstoffen färbbare Massen treten durch die Randschicht des Eies hindurch. Genau wie *Petromyzon* — und ich freue mich dieser Bestätigung — erfolgt die Bildung der „Dotterkörper“ selbst erst später und zwar in der Nähe von „kugeligen Klumpen, mit zahlreichen Vakuolen erfüllt und elliptischen Scheiben“, die DOFLEIN (p. 342) als Veranschaulichung „der Bildung der Dotterkörper und deren Auflösungsstadien während des Verbrauches auffaßt — was meiner Auffassung ziemlich nahe kommt (s. o.).

Nicht ganz kann ich indes DEANS Homologisierung der Zonae beistimmen. Die Zona des *Petromyzoneneies* stammt vom Ei selbst ab. Ihr würde ich vergleichen die Randschicht des *Bdellostomaeies*. Die Schale des *Bdellostomaeies* ist ein Abscheidungsprodukt der Follikelzellen, nachdem diese ihre Rolle bei der Dotterbildung ausgespielt haben.

Hierdurch würde möglicherweise auch die Homologisierung der Mikropystenbildungen in Frage gestellt werden. Man müßte annehmen, daß die hypothetische permeablere Stelle am Pol des Neunaugeneies nur dem Grunde der Mikropyste von *Bdellostoma* homolog sei. Die Mikropyste selbst wäre hier, wie überhaupt die ganze Schale ein Erzeugnis des Follikelepithels in Anpassung an die besonders lange Embryonalentwicklung der *Bdellostomen*, die ja unter Fischen ihresgleichen sucht.

Wir können aus all dem nicht nur schließen, daß die Eier der Cyclostomen unter einander enge verwandt sind, sondern können auch ziemlich genau den Gang ihrer Differenzierung auseinander verfolgen. Die Myxinoiden und Petromyzonten müssen von Tieren abstammen, deren Eier nicht sehr dotterreich, holoblastisch und ziemlich hartschalig ¹⁾ waren und für die Befruchtung einen besonderen Apparat am animalen Pol des Eies besaßen. Im *Bdellostomaei* ist die Dotterbildung soweit vorgerückt, daß die Furchung sich nur auf die Keimscheibe beschränkt. Das Neunaugenei ist ein zwar mit einer Keimscheibe versehenes, indes noch holoblastisches Ei, was darauf hinweist, daß die Petromyzonten den primitiven Cyclostomen viel näher stehend geblieben, vielleicht sogar ihre direkten Nachkommen sind. Der Mikropystenapparat erhält sich bei *Bdellostoma* völlig, bei Petromyzon ist er zurückgebildet, kommt aber in einem seiner Teile während der Entwicklung des Eies stets noch vorübergehend zur Erscheinung.

Wenn es überhaupt auf Grund der Untersuchung von Eiern statthaft ist, Verwandtschaftsverhältnisse zu verfolgen, so ist aus diesen Beziehungen auf eine engere Verwandtschaft zwischen den beiden Klassen der Cyclostomen zu schließen, denn es erscheint mir unmöglich, diese bis ins Kleinste vorhandenen Homologieen zu leugnen oder lediglich durch Konvergenz zu erklären.

Indes schließt sich hier nun die weitere Frage an, welche Einflüsse die so auffällige Differenzierung des *Bdellostomaeies* hervorgebracht haben, was zugleich Licht auf das Verhältnis des erwachsenen Petromyzon zu seiner Larvenform werfen könnte. Die junge Neunaugenlarve schlüpft, wenige Tage alt, bereits aus und

1) Allerdings muß beachtet werden, was Doflein über die Konsistenz der Hülle des *Bdellostomaeies* sagt. Die Hülle ist im Ovarium eine zähe, dicke, gallertige. Erst bei längerem Liegen im Wasser oder unter der Einwirkung von Reagentien wird sie hornartig hart.

vermag sich selbst zu ernähren. Wenn die Bdellostomen kein freilebendes Larvenstadium besäßen, wenn also ihre Jungen erst den vollständigen, zur parasitischen Lebensweise nötigen Apparat ausbilden müßten, so würde die lange Embryonalentwicklung zugleich die kolossale Größe des Eies und seinen Dotterreichtum erklären. Es ist nach DOFLEINS Schilderung wahrscheinlich, daß der Unterschied in dieser Weise stattfindet. Denn DOFLEIN hebt ausdrücklich hervor, daß die Neunaugen ihre Eier völlig sich selbst überlassen, die Myxinoiden indes eine sehr komplizierte Brutpflege besitzen. Es wäre dann — und vielleicht bringen die weiteren Forschungen von DEAN und DOFLEIN hierüber sichere Aufschlüsse — der Dotterreichtum des Myxine- und Bdellostomaeies indirekt eine Anpassung an den Parasitismus des Tieres.

Nun aber folgt logisch daraus folgendes: Wenn etwa Amocoetes, wie es DOHRN wollte, eine noch weiter degenerierte Petromyzonform wäre, wenn also die jetzigen Petromyzonten von noch stärker parasitischen Tieren abstammten, so müßten ihre Eier die Spuren einstigen stärkeren Dotterreichtums an sich tragen, etwa wie man aus der meroblastischen Furchung des Säugetiereies auf Abstammung von dotterreichen Eiern schließt. Da aber die Furchung des Neunaugeneies nicht nur holoblastisch, sondern auch fast äqual ist, so steht sie darin der von Amphioxus sehr nahe, woraus folgt, daß die Eier der Vorfahren von Petromyzon und auch die Urecyclostomen stets nur eine sehr kurze Embryonalentwicklung besessen haben, woraus die von mir bereits anderweitig geltend gemachte Annahme sich ergibt, daß der Parasitismus der Neunaugen sekundärer Art und die Larve die phyletische Rekapitulation freilebender Cyclostomen ist.

Jena, 1. Oktober 1903.

Literatur.

- 1862 R. VIRCHOW, Die Cellularpathologie, 3. Aufl.
- 77 CALBERLA, Der Befruchtungsvorgang beim Ei von Petromyzon Planeri. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XXX.
- 80 VAN BENEDEN, Recherches sur l'embryologie des Mammifères. Archives de Biologie, T. I.
- — Contribution à la connaissance de l'ovaire des mammifères. Ibid.
- 82 SCOTT, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Petromyzonten. Morph. Jahrb., Bd. VII.
- 83 VAN BAMBEKE, Contribution à l'histoire de la constitution de l'œuf. Archives de Biologie, T. IV.
- 85 OWSJANNIKOW, Studien über das Ei, hauptsächlich bei Knochenfischen. Mémoire de l'Acad. de St. Pétersbourg, Serie 7, T. XXXIII, No. 4.
- 87 BÖHM, Ueber die Befruchtung des Neunaugeneies. Sitzungsberichte der Bayerischen Akademie, math.-phys. Kl.
- 88 — Ueber Reifung und Befruchtung des Eies von Petromyzon Planeri. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXII.
- 90 v. KUPFFER, Die Entwicklung von Petromyzon Planeri. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXV.
- 93 HERFORT, Der Reifungsprozeß im Ei von Petromyzon fluviatilis. Anat. Anz., Bd. VIII.
- 97 CARNOY und LEBRUN, La vesicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. La Cellule, T. XII.
- 98 MILROY, The physical and chemical changes taking place in the ova of certain marine Teleosteans during maturation. 16 annual Report of Fishery Board for Scotland.
- MONTGOMERY, Comparative cytological studies with especial regard to the morphology of the nucleolus. Journal of Morphology, Vol. XV.
- 99 DEAN, On the Embryology of Bdellostoma stouti etc. Festschrift für KUPFFER.
- FICK, Mitteilungen über die Eireifung bei Amphibien. Verhandl. d. anat. Gesellschaft in Tübingen.
- GROSS, Zur Kenntnis des Ovovitellins. Diss. inaug., Straßburg.
- HÄCKER, Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Jena, Fischer.
- 1900 FÜRBRINGER, Zur systematischen Stellung der Myxinoiden und zur Frage des alten und des neuen Mundes. Morphol. Jahrb., Bd. XXVIII.

- 1901 GIARDINA, Origine dell' oocite e delle cellule nutrice nel *Dytiscus*. Internationale Monatsschrift f. Anatomie und Phys., Bd. XVIII.
- HERFORT, Die Reifung und Befruchtung des Eies von *Petromyzon fluviatilis*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. LVII.
 - LUBOSCH, Einige Mitteilungen über Vorkommen, Fang und Zucht der Neunaugen. Zeitschr. f. Fischerei, 9. Jahrg.
- 1902 BÜHLER, Rückbildung der Eifollikel bei Wirbeltieren. I. Fische. GEGENBAURS Morphol. Jahrbuch, Bd. XXX, H. 1.
- GIARDINA, Sui primi stadii dell' oogenesi e principalmente sulle fasi di sinapsi. Anat. Anz., Bd. XXI.
 - R. HERTWIG, Die Protozoen und die Zelltheorie. Archiv f. Protistenkunde, H. 1.
 - a) LUBOSCH, Ueber die Nukleolarsubstanz des reifenden Tritonen- eies. Jen. Zeitschrift, N. F. Bd. XXX.
 - b) — Ueber die Eireifung der Metazoen, insbesondere über die Rolle der Nukleolarsubstanz und die Erscheinungen der Dotterbildung. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgesch., Bd. XI.
- 1903 F. COHN, Zur Histologie und Histogenese des Corpus luteum und des interstitiellen Ovarialgewebes. Arch. f. mikr. Anat., Bd. LXII.
- DEWITZ, Was veranlaßt die Spermatozoen in das Ei zu dringen? Archiv f. Anatomie u. Physiologie, Physiol. Abteilung.
 - LUBOSCH, Ueber die Geschlechtsdifferenzierung bei *Ammocoetes*. Verhandl. der anatomischen Gesellschaft in Heidelberg.
 - WALDEYER (R. HERTWIG), Die Geschlechtszellen, in O. HERTWIGS Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere.

Erklärung der Abbildungen.

Sämtliche Abbildungen wurden bei gleicher Höhe des Zeichentisches mit dem Zeichenapparat von Zeiß hergestellt. Das Mikroskop war auf 160 mm ausgezogen und mit den apochromatischen Objekten 4 mm ap. und 2 mm ap. (Hom. Imm.), sowie den Kompensationsokularen 4 und 6 ausgerüstet. Die dadurch erzielten Vergrößerungen von 1 : 300, 1 : 360, 1 : 600 und 1 : 800 sind bei jeder Figur auf der Tafel selbst vermerkt. Die Figuren 1—5 und 14—23 habe ich selbst, die Figuren 6—13 hat Herr E. A. SCHMIDT, Kunstmaler hierselbst, unter meiner Anleitung hergestellt.

Tafel XXIII.

Fig. 1. Ei aus dem Ovarium eines *Petrom. fluviatilis*, getötet Mitte Dezember. Heiße Chromsäure. Serie 3 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Follikelepithel, Theca, Eihüllen. Hom. Imm. 2 mm. Ok. 6.

Fig. 2. Rand eines anderen Eies auf demselben Objektträger, wie Fig. 1. Gleiche Behandlung. Eihaut leicht gedrückt. Hom. Imm. 2 mm. Ok. 6.

Fig. 3. Rand eines Eies aus dem Ovarium von *Petrom. fluvi.*, gefangen im Herbst, getötet Anfang März. ZENKERSCHE Lösung. Serie, 10 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Obj. 4, Ok. 6. Beginn der Vergrößerung des Follikelepithels.

Fig. 4. Rand eines Eies aus dem Ovarium von *Petrom. fluviatilis*, gefangen und getötet Anfang Mai. Schwache FLEMMINGSche Lösung. Serie. 5 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Starke Differenzierung in pikrinsäurehaltigem Alkohol. Obj. 4, Ok. 6. Follikelepithel und Dottervakuolen. S. Text.

Fig. 5. Follikelepithel eines fast reifen Eies von *Petrom. fluviatilis*, gefangen Ende März, getötet 18. April. (Aus demselben Ovarium stammen die in Fig. 12 und 13 abgebildeten Eier.) GILSONsche Flüssigkeit. Serie 10 μ . Obj. 4, Ok. 6. Hämalaun Pikrorubin. a) Follikelepithel eines im Längsschnitt getroffenen Eies aus dem Bezirk dicht neben dem vegetativen Pol. b) Follikelepithel eines dicht daneben liegenden tangential getroffenen Eies.

Die folgenden 8 Abbildungen dienen vorzugsweise zur Erläuterung der Differenzierungen am animalen Pol des Eies und sind sämtlich bei gleicher Vergrößerung mit Obj. 4, Ok. 4 gezeichnet.

Fig. 6. Ei aus dem Ovarium eines *Ammocoetes Planeri* von 14,5 cm Länge. Schwache FLEMMINGSche Lösung. Serie 4 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin.

Fig. 7. Keimbläschen und animaler Pol eines Eies von *Petromyzon Planeri* kurz nach der Metamorphose. Heiße Chromsäure-Serie 7 μ . BÖHMERS Hämatoxylin, Orange G.

Fig. 8. Keimbläschen und animaler Pol eines Eies eines etwas älteren *Petromyzon Planeri*. Heiße Chromsäure. Serie 6 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Das Bild des Keimbläschens ist aus einigen Schnitten kombiniert.

Fig. 9. Animaler Pol und Keimbläschen eines Eies von *Petromyzon fluviatilis*, gefangen im Herbst, getötet Mitte Dezember. Heiße Chromsäure. Serie 5 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Das Bild des Keimbläschens ist aus einigen Schnitten kombiniert. (Aus demselben Ovarium die Eier, denen Fig. 1 und 2 entnommen worden ist.)

Fig. 10. Keimbläschen und animaler Pol eines Eies von *Petrom. fluvi.*, gefangen im November, getötet Anfang Februar. Heiße Chromsäure. Serie 6 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Starke Differenzierung in pikrinsäurehaltigem Alkohol.

Fig. 11. Keimbläschen und animaler Pol eines Eies von *Petrom. fluviatilis*, gefangen im Dezember, getötet im Januar. GILSONsches Gemisch. Serie 10 μ . HANSENS Hämatoxylin. Schrumpfung!

Fig. 12 und 13. Animaler Pol zweier Eier von *Petromyzon fluviatilis*, gefangen Ende März, getötet Mitte April. ZENKERSCHE Flüssigkeit. Serie 10 μ . Beide Eier lagen auf demselben Objektträger. Hämalan Pikrorubin. (cf. Fig. 5.)

Fig. 14. 5 junge Eier *Ammocoetes Planeri* von 6 cm Länge. ZENKERSCHE Flüssigkeit. Serie durch den dorsalen Teil des Rumpfes, 4 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Hom. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Fig. 15. Aus der Keimdrüse eines jüngeren *Ammocoetes Planeri* von 4,4 cm, dessen Eier aber bereits weiter entwickelt waren. Vorfiziert in 1-proz. Chromsäure, dann ZENKERSCHE Flüssigkeit. Längsschnittserie 10 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Hom. Imm. 2 mm. Ok. 6.

Fig. 16. Auf demselben Objektträger enthaltenes älteres Ei. — Gleiche Behandlung. Hom. Imm. 2 mm, Ok. 6.

Fig. 17. Älteres Ei eines *Ammocoetes Planeri* von 11 cm Länge. Sublimat-Eisessig. Querschnittsserie durch den dorsalen Teil des Rumpfes, 8 μ . HEIDENHAIN Pikrorubin. Obj. 4, Ok. 6. (Cf. Photogramm 21 und 21a auf Taf. V meiner Habilitationsschrift, Jena 1902. Dort ist irrtümlich die Schnittstärke auf 6 μ angegeben.)

Fig. 18. Einige Nucleoli aus Eiern, die mit dem in Fig. 17 abgebildeten demselben Ovarium entstammten. Hom. Imm. 2 mm, Ok. 4.

Fig. 19. 2 Eier aus einer zwittrigen Keimdrüse eines *Ammocoetes Planeri* von 4 cm Länge. ZENKERSCHE Flüssigkeit. Serie 7 μ . Hämalan Pikrorubin, starke Differenzierung in pikrinsäurehaltigem Alkohol. Hom. Imm. 2 mm, Ok. 4.

Fig. 20. Keimbläschen eines Eies von *Ammocoetes Planeri* von 14,5 cm. (Aus demselben Ovarium stammt Fig. 5.) Behandlung siehe oben Fig. 6. Obj. 4, Ok. 6.

Fig. 21. 2 Schnitte durch das Keimbläschen eines Eies von *Petromyzon Planeri*, kurz nach der Metamorphose. (Aus demselben Ovarium stammt Fig. 7.) Behandlung siehe oben Fig. 7. Obj. 4, Ok. 4.

Fig. 22. Dotterkern junger Eier von *Ammocoetes Planeri* von 4,4 cm Länge. Querschnitte durch den Rumpf desselben Tieres, von dem andere Rumpfteile längsgeschnitten wurden (cf. Fig. 15). Behandlung siehe oben Fig. 15. Serie, 6 μ .

Fig. 23. Dotterkern aus einem älteren Ei eines *Ammocoetes* vor der Metamorphose (Länge nicht genau bestimmt). Die Figur gibt nur den Bezirk des Dotterkernes wieder. Das Keimbläschen ist nach oben, der vegetative Pol nach abwärts davon zu denken. Das Ei zeigte ein etwas älteres Stadium als das in Fig. 6 abgebildete. ZENKERSCHE Flüssigkeit. Serie 6 μ . DELAFIELDS Hämatoxylin 3 Minuten. Obj. 4, Ok. 6.



Fig 14-23 Lubersitz Fig 6 13 E A Schmidlge

Gustav Fischer