

Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies.

Von

Rudolf Fick,

a. o. Professor und Prosektor der Anatomie in Leipzig.

Mit Tafel XXVII—XXX.

Aus dem anatomischen Institut zu Würzburg.

Vorbemerkung.

Bevor ich auf die Darstellung meiner Untersuchungen eingehe möchte ich es nicht unterlassen, auch an dieser Stelle noch einmal meinem verehrten Freunde Herrn Prof. Dr. OSKAR SCHULTZE meinen wärmsten Dank auszusprechen für die werthvolle Unterstützung, die mir von ihm bei dieser Arbeit zu Theil wurde. Vor Allem verdanke ich ihm die Anregung beziehungsweise Überlassung derselben, sodann die Einführung in die schwierige Technik der Amphibieneier-Untersuchung. Außerdem stellte er mir auch noch eine namhafte Anzahl von ihm selbst seiner Zeit geschnittener Serien namentlich unbefruchteter Eier zur Mitverwerthung bei meiner Untersuchung zur Verfügung. Meine Arbeit ist daher eine Ergänzung und die Fortsetzung von SCHULTZE'S¹ Untersuchung über die Eireifung der Amphibien.

Durch die Güte des Herrn Geheimrath von KÖLLIKER wurde ich in die glückliche Lage versetzt, diese Untersuchung an den Eiern unseres »histologischen Kleinodes« des Axolotls ausführen zu können, wofür ich Herrn Geheimrath von KÖLLIKER auch hier noch meinen ganz besonderen Dank ausspreche.

I. Das Ei und seine Reifung.

1. Methode.

Die Eier wurden in verschiedenen großen Zeiträumen nach der Ablage sammt Hüllen in Chrom-Essigsäure (25 cem 4⁰/₀ige Chromsäure

¹ OSCAR SCHULTZE, Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Erste Abhandlung. Diese Zeitschr. Bd. XLV. 1887.

+ 75 ccm Wasser + 0,4 ccm konc. Eisessig) 24 Stunden fixirt. Die Chromsäuremischung scheint auch durch die Gallerthüllen hindurch sofort den Tod der Eier zu bewirken, so dass sich eine vorherige Entfernung der Hüllen als durchaus unnöthig erwiesen hat; nie habe ich Spuren einer Weiterentwicklung der Eier in der Fixirungsflüssigkeit beobachtet. Erst nach der Fixirung wurden die Eier von ihren Hüllen befreit, wozu ich mich meist der Präparirnadel und Schere bediente. Sodann wurden die hüllenlosen Eier 24 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen und kamen auf abermals 24 Stunden in 60%igen Alkohol, aus diesem auf 24 Stunden in 80%igen Alkohol und von da auf dieselbe Zeit in eine alkoholische Boraxkarminlösung; hierauf Differenzirung in 70%igem salzsauren Alkohol, und Härtung in 90%igem Alkohol (3 Stunden lang). Die gehärteten Eier wurden in Bergamottöl für die Paraffineinbettung vorbereitet (2—4 Stunden) und die Einbettung geschah in Paraffin vom Schmelzpunkt 50°. Bei der Übertragung der Eier aus dem Bergamottöl in das Paraffin leistete der von Born angegebene Sieblöffel vorzügliche Dienste. Bei der Einbettung wurde auch gleich die Orientirung der Eier vorgenommen, indem mit einer heißen Nadel bei allen Eiern, sie selbst gar nicht oder kaum berührend, dem schwarzen Pol eine bestimmte Stellung gegeben wurde. Im Paraffin verblieben die Eier $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, bei längerem Verweilen werden sie hart und brüchig. Auf der Mikrotomklammer wurden die Eier meist so gerichtet, dass das Messer nicht an einem Pol zu schneiden begann, sondern gleich weit von beiden Polen entfernt an einem Punkt des Äquators, so dass auf jedem Schnitt die eine Hälfte der Peripherie pigmentirt, die andere Hälfte unpigmentirt ist und man Aussicht hat, eine radiär gestellte Polspindel gerade längs getroffen auf den Schnitt zu bekommen, also vorwiegend Seitenansichten nicht etwa Polansichten der radiären Spindel zu erhalten. Die Schnitte wurden 5—10—15 μ dick in zusammenhängenden Bändern geschnitten und nach der zuerst im Breslauer physiologischen Laboratorium angewandten Methode mit destillirtem Wasser aufgeklebt. Bei den Axolotleiern eignen sich entschieden etwas dickere Schnitte (von 10—15 μ) besser zur Untersuchung als die ganz dünnen, weil auf letzteren die Elemente, auf deren Untersuchung es ankommt, auf gar zu viele Schnitte vertheilt sind. Richtig eingebettete Eier sind noch nach Monaten gut zu schneiden und zur Untersuchung zu brauchen.

2. Der Zellkörper des Eies.

Durch die Untersuchungen von C. VOGT, WALDEYER, OSKAR SCHULTZE u. A. ist uns das Amphibienei im Allgemeinen und auch das Axolotlei

im Besonderen bekannt. Ich werde daher bei der Struktur des reifen Eies nur einige Einzelheiten und strittige Punkte zu berühren haben.

Was die Größe der abgelegten Eier betrifft, so ist hervorzuheben, dass sie sehr verschieden ist; selbst Eier derselben Laichperiode desselben Weibchens zeigen sehr beträchtliche Größendifferenzen: während die meisten ca. 2 mm im Durchmesser zeigen, fand ich fast immer auch kleinere von 1,5 mm und übergroße bis zu fast 3 mm Diameter; das Durchschnittsmaß aus einer sehr großen Anzahl von Messungen einzelner Eier ist $r = 1,456$ mm, also der Durchmesser $= 2,312$ mm.

Ferner ist auch die Form verschieden; als Regel muss selbstverständlich die Kugelform gelten, doch fand ich oft auch eine große Anzahl deutlich länglicher, großer Eier, die fast an kleine Exemplare der sog. »Ameiseneier« in Größe und Form erinnerten. Unmittelbar nach der Ablage zeigen die Eier häufig Facetten, die durch den Druck der Nachbarer entstanden sind.

Auch in der Farbe machen sich bei den Eiern Unterschiede bemerkbar; während bei der Mehrzahl die schwarze Kappe sich scharf gegen den weißen Theil absetzt, ist oft die Begrenzung der Kappe eine ganz unregelmäßige, ja gar nicht selten bieten die Eier ein ganz scheckiges, fleckiges Aussehen dar unmittelbar nach der Ablage, wo also von »Entwicklungsunregelmäßigkeiten in Folge von Polyspermie« nicht die Rede sein kann.

Über den weißen Fleck am schwarzen Pol, den PRÉVOST und DUMAS¹ »Cicatricula«, K. E. VON BAER² »Keimpunkt«, MAX SCHULTZE³ »Fovea germinativa« nannten, kann ich die Angaben von O. SCHULTZE, namentlich auch HERTWIG gegenüber durchaus bestätigen: auch ich finde ihn oft excentrisch in dem schwarzen Feld des Eies gelegen; ich möchte übrigens für den hellen Fleck, da er den Richtungsspindeln in seiner Lage entspricht, den Namen »Richtungsfleck« vorzuschlagen mir erlauben, da er, wie unten (p. 544) gezeigt werden wird, keineswegs identisch mit der »Grube« ist.

Außer den zwei Gallerthüllen, die bei unserem Konservierungsverfahren entfernt wurden, besitzt das Axolotlei noch eine eigne das Ei direkt umschließende Hülle, die sog. »Dotterhaut«. Sie ist vollkommen homogen, strukturlos und ca. 2,0—2,5 μ dick. Sie stammt

¹ PRÉVOST et DUMAS, Deuxième mémoire sur la génération. Annal. des scienc. nat. T. II. 1824. p. 409.

² K. E. v. BAER, Die Metamorphose des Eies der Batrachier etc. J. MÜLLER's Archiv. 1834. p. 485.

³ MAX SCHULTZE, Observ. nonnullae de ovorum ranar. segmentatione. p. 44.

offenbar vom Follikelepithel ab, dem sie direkt anliegt (Fig. 4) und kann, wie es von VAN BAMBEKE¹ geschehen ist, Chorion oder vielleicht am besten Zona pellucida genannt werden.

Nach innen von dieser finde ich im Gegensatz zu OSKAR SCHULTZE², DUMÉRIL³, JOLY⁴, ROBIN⁵ und STIEDA⁶ eine zweite, bei Weitem zartere Haut und erst dieser möchte ich die Bedeutung einer eigentlichen Zellmembran zuerkennen. Dass diese »innere Dotterhaut« oder besser »Eizellmembran« nicht nur eine dichter geronnene Randschicht, sondern eine wirkliche Membran ist, geht daraus hervor, dass sie sich unter Umständen isolirt vom Dotter abheben lässt. Manchmal finde ich die zwei Dotterhäute von einander und vom Dotter getrennt (Fig. 10); nicht selten ist dann die innere Dotterhaut an der schwarzen Seite, namentlich direkt am Pol stark gefältelt und es hängen ihr oft die äußersten Pigmentschichten ziemlich innig an. Beiläufig will ich erwähnen, dass am schwarzen Pol die äußere Dotterhaut meist fester haftet als an anderen Stellen. Weiter unten bei der Ausstoßung der Richtungszellen und bei der Penetration der Spermatozoën werde ich noch einmal auf die Eihaut zurückkommen müssen und ich verweise daher wegen der zwei Dotterhäute auch auf die dort gegebenen Abbildungen (Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 25, 26, 27). Mit der Befruchtung hat die Bildung der Zellhaut des Eies nichts zu thun, denn sie findet sich schon bei den Eiern in den oberen Theilen des weiblichen Genitaltractus. Ich fand sie zuerst bei Bauchhöhleneiern; an Ovarialeiern jedoch ist sie noch nicht gebildet. Von einer »radiär gestreiften Schicht« nach innen von der (äußeren) Dotterhaut, wie sie bei anderen Amphibien gefunden ist (*Rana fusca*, *Triton taeniatus*)⁷, ist beim Axolotl nichts zu sehen.

¹ VAN BAMBEKE, Nouvelles recherches sur l'Embryologie des Batraciens. Arch. de Biol. par VAN BENEDEN et VAN BAMBEKE. Brüssel 1880. Vol. I. p. 3 (307).

² l. c. p. 488 u. 489.

³ Comptes rend. de l'Acad. des sciences. 47. IV. 1865. T. LX. p. 766.

⁴ JOLY, Étud. sur les metamorph. des Axolotl du Mexique, développement et rotat. de leur embryon dans l'oeuf. Revue des scienc. nat. publié sous la direction de MM. DUBREUIL et E. HECKEL. T. I. No. 4. Julin 1872. p. 7. Pl. I, Fig. 4 ff.

⁵ ROBIN, Observat. sur la fécond. des Urodèles. Journ. de l'Anat. et de la Physiolog. 1874. p. 382. Pl. XV, Fig. 3 u. 4.

⁶ STIEDA, Zur Naturgeschichte des mexikan. Kiemenmolches. Sitzb. d. Dorpat. Naturforschergesellsch. Vortrag in der 84. Sitzung. 20. III. 1875. p. 8 des Separatabzuges.

⁷ LEUCKART, Artikel Zeugung in WAGNER's Handwörterbuch der Physiologie. 1853. IV. p. 795. — WALDEYER, Eierstock u. Ei. p. 75 ff. — LUDWIG, Über die Eibildung im Thierreich. Würzburger Preisschrift 1874. — O. SCHULTZE, l. c. p. 488.

Wie schon O. SCHULTZE angiebt, ist das Pigment beim Axolotl durch das ganze Ei in feinsten Körnchen verbreitet, doch auf der einen Hälfte in viel größerer Dichte, so dass diese Hälfte auf dem Durchschnitt erheblich dunkler aussieht. VAN BAMBEKE¹ machte schon im Jahre 1870 auf eine netzförmige Anordnung des Pigmentes als besonderes Charakteristikum des Axolotleies gegenüber anderen Amphibieneiern aufmerksam und bildete dieses Netzwerk auch bereits in zwei Figuren ab; ich kann seinen Angaben vollständig beipflichten. Die Eier zeigen in der That auf dem Durchschnitt eine bald mehr, bald weniger deutliche, in der Intensität individuell wechselnde Sprenkelung (vgl. Fig. 3). An der Oberfläche ist das Pigment zu einer fast kompakten »Pigmentkruste« zusammengedrängt. Die Dichte und Dicke dieser Pigmentkappe verringert sich gegen den Äquator hin allmählich. Vom Äquator ab kann man von einer Pigmentrinde nicht mehr sprechen, doch finden sich von dieser Regel, wie oben bereits erwähnt, Ausnahmen. Noch allmählicher ist der Übergang der pigmentreichen in die pigmentarmen Theile im Inneren des Eies.

Ich möchte es nicht unterlassen, hier eine Erscheinung zu erwähnen, die gewiss auch schon andere Untersucher pigmentirter Amphibieneier bemerkt haben, dass nämlich bei den in Lack eingeschlossenen Präparaten die dem Deckglasrand benachbarten Pigmentpartien nicht schwarzbraun, sondern ganz hellgelb, wie abgeblasst erscheinen (cf. Fig. 17a), was wohl auf einer Oxydation durch den Luftzutritt beruhen dürfte; auch die Röthe der mit Karmin gefärbten Präparate ist an solchen Stellen abgeblasst. Durch andere Oxydationsmittel, z. B. konzentrirte Salpetersäure, scheint übrigens, wenigstens bei kürzerer Einwirkung, diese Pigmententfärbung nicht bewirkt zu werden.

Über die Natur des Pigmentes kann auch ich nichts Genaueres angeben, doch darf man vielleicht der Vermuthung Raum geben, dass dieser Farbstoff mit dem Phymatorhusin oder dem Melanin identisch ist und ein Abkömmling bezw. Verwandter des Hämatins ($C_{34}H_{35}N_4FeO_5$) ist und sich vielleicht nur bei Thieren mit rothem Blut findet. Der Farbstoff scheint übrigens eine vielleicht sogar freie Eisenverbindung zu enthalten, und zwar wie es scheint vorwiegend Ferroverbindungen, denn bei Zusatz von Ferricyankalium ($K_3(C_3N_3)_2\overset{III}{Fe} = Fe \begin{array}{l} \diagup C_3N_3 - K \\ \diagdown C_3N_3 = K_2 \end{array}$) bildet sich sofort ein intensiver blauer Niederschlag,

¹ VAN BAMBEKE, Sur les trous vitellins, que présentent les oeufs fécondés des Amphibiens. Bull. de l'Acad. R. de Belgique. Brüssel 1870. p. 63f.

offenbar von Kalium-Ferri-Ferrocyanür oder löslichem Berlinerblau $Fe \begin{matrix} \diagup C_3 N_3 - K \\ \diagdown C_3 N_3 = Fe \end{matrix} = K (C_3 N_3)_2 \overset{||}{Fe} \overset{||}{Fe}$, ohne dass nebenher eine dunkelbraune Färbung nachzuweisen wäre, die auf die Anwesenheit einer Ferriverbindung im Pigment zu beziehen wäre. Bei Einwirkung von Ferrocyankalium $(K_4 \overset{||}{Fe} (C_3 N_3)_2 = Fe \begin{matrix} \diagup C_3 N_3 = K_2 \\ \diagdown C_3 N_3 = K_2 \end{matrix})$ entsteht ein an der Luft sich matt bläuender Niederschlag, offenbar Ferro-Ferrocyanür und Ferrokalinferrocyanür $[\overset{||}{Fe} (C_3 N_3)_2 \overset{||}{Fe}_2$ und $\overset{||}{Fe} (C_3 N_3)_2 \overset{||}{Fe} K_2]$. Ich führte die Reaktion in der Weise aus, dass ich von mehreren Eiern die schwarze Kappe abschälte (was sich ganz leicht ausführen lässt) und auf der einen Seite eines Objektträgers mit Aqua dest. verrieb, während ich auf der anderen Seite des Objektträgers die weißen Hälften der Eier gerade so behandelte. Sobald ich nun einen Tropfen einer rothen Blutlaugensalzlösung (Ferricyankalium) zum schwarzen Dotter hinzufügte, trat eine lebhaft blaue Färbung ein, beidem weißen Dotter aber erfolgte nichts, oder nach längerer Einwirkung an den Rändern hier und da ein Anflug von Blaufärbung (ganz pigmentfrei ist ja auch die weiße Hälfte des Eies nicht). Auch mit Gerbsäure ($C_{14} H_{10} O_9$) erhielt ich eine deutliche Eisenreaktion des Pigmentes, während ich mit Rhodankalium ($CNSK$) keine solche bekam.

Der Dotter besteht aus gelblichen Körnern von rundlicher, meist ovaler Form und ich kann O. SCHULTZE nur beistimmen, wenn er sagt, dass es sich nicht um platte Täfelchen, sondern um kugel- oder eiförmige Bildungen handelt. Man sieht in der That unter normalen Verhältnissen, d. h. wenn die Dotterkörner nicht zerfallen sind, auch bei Untersuchung frischen Dotters niemals Seitenansichten der fraglichen Plättchen und ich möchte außerdem glauben, dass man die Dotterelemente, wären sie platte Gebilde, gewiss häufig sich dachziegelförmig decken, oder schuppenähnlich über einander liegen sehen würde; das ist aber nicht der Fall. Die Größe der Dotterelemente ist sehr verschieden; sie schwankt von unmessbarer Feinheit bis zu 13μ und mehr im Längsdurchmesser. Die Größe der Dotterelemente nimmt im Allgemeinen vom schwarzen gegen den weißen Pol hin zu, doch findet man auch in der Gegend des schwarzen Pols einzelne sehr große Elemente und umgekehrt am weißen Pol sehr kleine. In den Abbildungen ist auch auf die Größe der Dotterkörner Rücksicht genommen, ich habe immer eine große Anzahl derselben und immer die größten der betreffenden Gegend, ziemlich vollzählig, direkt mit dem Zeichenprisma in die Figur eingetragen, so dass auch in dieser Beziehung die Abbildungen

unter einander vergleichbar sind. Man sieht, dass keineswegs die Dotterelemente, auch nicht am animalen Pol, von der Bildung des Eies bis zu seiner Reife stetig wachsen, sondern in der Abbildung der ersten Furchungsspindel z. B. sehen wir auffallend kleine Elemente (Fig. 47).

Dass die Dotterkörner einfach Stearintäfelchen, krystallisiertes Fett, Tristearin $[C_3H_5O_3(C_{18}H_{35}O)_3]$ sind, wie z. B. C. Vogt glaubte, ist natürlich auszuschließen; eben so, dass sie etwa aus Cholesterin ($C_{26}H_{43}OH$) bestehen, das sich ja sonst an vielen Orten im Thierkörper auch krystallinisch findet, denn sie zeigen, wie ich mich überzeugt habe, nicht die charakteristischen Cholesterinreaktionen. Es wird sich vielmehr bei ihnen wohl um ein Gemisch von eiweißartigen und von stickstofffreien Substanzen handeln, wenn auch bisher in den Emydin, Ichthin, Ichthidin und Ichthulin benannten Dottersubstanzen nur N-haltige Verbindungen Lecithin, Nuclein und Eiweiß gefunden wurden.

Bei in Sublimat fixirten Eiern zeigten die Dotterkörner in Aqua destillata untersucht einen konzentrisch geschichteten Bau.

Von der eigentlichen protoplasmatischen Struktur der Eizelle ist bei dem dotterreichen Axolotlei natürlich kaum etwas zu sehen; nur unter gewissen später zu besprechenden Bedingungen ist davon einiges wahrzunehmen. Die Eizelle scheint von einem ganz zarten, aus Protoplasmafäden zusammengesetzten lockeren Netzwerk durchzogen zu sein (Fig. 40), das ganz vollgepfropft ist mit Dotter- und Pigmentkörnchen.

Wenn das Ei während der Behandlung im Inneren birst, wenn Spalten im Inneren auftreten, so werden diese erfüllt von einer durch die Reagentien offenbar zur Gerinnung gebrachten, wohl eiweißhaltigen, feinstkörnigen, färbbaren Masse, die gewiss als »Hyaloplasma« oder wie man es wohl am einfachsten nennen kann, als Zellsaft anzusehen ist.

3. Die Reifung des Kernes.

a) Keimbläschen — 1. Richtungsspindel (Fig. 4—4).

Meine Untersuchung erstreckt sich vorwiegend auf die späteren Stadien der Eireifung im Ovarium, wenn die Eizelle bereits eine Größe von ca. 2 mm Durchmesser hat.

Auch bei Eiern von 2,0—2,2 mm Durchmesser hat das Keimbläschen Anfangs noch eine wenig excentrische Lage; es liegt (Fig. 4) in einer gegen den Dotter scharf abgegrenzten kugeligen Höhle (H in Fig. 4) von ca. 0,7 mm Durchmesser. Das Keimbläschen selbst zeigt eine ganz unregelmäßige, zackige Begrenzung (»stark gefaltete Membran«, M in Fig. 4 und 2) und liegt meist der dem Eicentrum benachbarten Wand der Höhle an. Die scharfe Begrenzung, sowie zum Theil auch die rundliche Form und endlich die ziemlich konstante Größe der

Höhle sprechen entschieden dagegen, dass es sich hier nur um ein Kunstprodukt handelt. Ich möchte mich vielmehr in dieser Frage der Hauptsache nach O. SCHULTZE anschließen, der mit GÖTTE meint, dass bei der Eireifung eine Ausstoßung von Kernsaft aus dem dadurch schrumpfenden Keimbläschen stattfände und dass diese Flüssigkeit den erwähnten Hohlraum ausfülle. O. SCHULTZE meint nun, dass bei der Fixirung der Eier dieser Saft gerinne und durch die Gerinnung zusammenschrumpfe und daher den Hohlraum nicht mehr ganz ausfülle, so dass eine wirklich leere, auch nicht von Gerinnseln erfüllte Lücke zwischen Keimbläschen und Dotter auftrete. Diese Lücke hält er mit BAMBEKE und O. HERTWIG für Kunstprodukt.

O. SCHULTZE geht aber weiter und sagt, die den Hohlraum erfüllende Flüssigkeit sei das später an der Ei-Oberfläche auftretende Perivitellin; das kann aber nur zum Theil richtig sein, denn auch schon in dem von uns beschriebenen Stadium findet sich bereits bei manchen Eiern eine ganz ansehnliche Schicht Perivitellin dem Dotter aufgelagert, allerdings vor deutlicher Differenzirung der Zellhaut des Eies (*P* in Fig. 4 und 3). Damit soll jedoch keineswegs in Abrede gestellt werden, dass später beim Emporrücken und Verschwinden des Keimbläschens und seines Hofes sich die im Hof befindliche Perinuclearflüssigkeit dem Perivitellin beigesellt, sich ihm beimischt. Ich halte nämlich dafür, dass der »leere Hof« oder die Höhle nicht leer, sondern von dem ausgetretenen Kernsaft erfüllt sei und dass sich bei der Fixirung vielleicht nur einzelne Gerinnsel darin bilden, wie man in Fig. 4 eines der Wand der Höhle ankleben sieht (*G* Fig. 4), dann muss die übrige Höhle auf den Präparaten leer aussehen, ohne dass ein Kunstprodukt vorliegt; die auffallend starke Schrumpfung des Keimbläschens freilich ist in unseren Präparaten ohne Zweifel zum Theil durch die Fixirungsflüssigkeit bedingt.

Für den Austritt des Perivitellins aus dem Ei macht HERTWIG Dotterkontraktionen verantwortlich, die durch den Eintritt des Wassers durch die Gallerthüllen nach der Eiablage ausgelöst werden sollen, wogegen aber die eben erwähnte Thatsache spricht, dass Perivitellin sich schon an Ovarialeiern findet.

Das geschrumpfte Keimbläschen enthält meist in seinem Inneren, oft aber auch peripheriewärts einen lichterem oder dichteren Haufen großer (bis zu $16\ \mu$ im Durchmesser) und kleiner (bis $3,3\ \mu$ und weniger) Nucleolen (*N* Fig. 4—3), die sich bei unserer Behandlungsweise ziemlich lebhaft roth färben. Sie enthalten sehr häufig eine oder mehrere *Vacuolen*¹. Von einer bestimmten Anordnung der Nucleolen

¹ Nebenbei will ich bemerken, dass sich in den meisten Präparaten feinste

innerhalb des Haufens oder des ganzen Keimbläschens ist nichts zu bemerken; auch außer dem Haufen finden sich immer vereinzelt Nucleolen im Keimbläschen zerstreut. Immer sind einzelne Nucleolen weit schwächer gefärbt als die übrigen, sehen aus, als ob sie in Auflösung begriffen wären, machen einen schattenhaften Eindruck (vgl. NS in Fig. 2).

Bei diesen Nucleolen, die von Alters her immer noch den besonderen, jetzt allerdings wohl überflüssigen Namen »Keimkörperchen« führen, kann kein Zweifel sein, dass wir es mit selbständigen Bildungen zu thun haben, nicht etwa mit Kernnetzknotten, die von vielen Autoren z. B. WALDEYER¹ und E. KLEIN² auch noch Nucleoli genannt werden. Bei den Nucleolen des Keimbläschens liegt es sehr nahe mit STRASBURGER und PFITZNER daran zu denken, dass sie vielleicht eine Art Reservestoffbehälter darstellen. Wie weit die Ansichten über die Nucleolen noch aus einander gehen, erhellt klar aus der übersichtlichen Zusammenstellung WALDEYER's l. c. und ich möchte glauben, dass sich für das Studium der Nucleolen und ihrer Bedeutung kaum ein besseres Objekt finden dürfte als gerade die in den Keimbläschen.

Zwischen den Nucleolen zerstreut sieht man eine große Anzahl einzelner, ganz isolirter, aus kleinsten Körnchen (Mikrosomen) zusammengesetzter chromatischer Fadenstücke (*Chr* in Fig. 2), die die mannigfachsten Formen zeigen. Man sieht kleine rundliche Stäbchen, am häufigsten aber gabelig getheilte, Y-förmige, fast geweihartig zu nennende Figuren, und sehr häufig auch paarweise in ein- oder mehrfachen Achterturen verschlungene, zopfartig mit einander verflochtene Fäden (*Z* in Fig. 2). Lage und Gestalt dieser Chromosomen machen einen sehr unregelmäßigen Eindruck. Die Bilder sind offenbar ganz genau dieselben, die RÜCKERT im Selachierei bei der Reifung des Keimbläschens beschreibt³ und deuten auf eine stattfindende Spaltung der Chromosomen. RÜCKERT's Beschreibung (l. c. p. 120 u. 125 mit Fig. 3 u. 4) passt fast Wort für Wort auch für den Axolotl (vgl. auch Abschn. V

Luftbläschen (?) gerade den Nucleolen aufgelagert finden von verschiedener Größe, die unter gewissen Umständen wie intensiv roth gefärbte Krystalle aussehen können; da sie sich nur auf oder in den Nucleolen finden, könnte man verleitet werden, etwa an eine Gasentwicklung der Nucleolen bei der Behandlungsweise (Säureeinwirkung etc.) zu denken.

¹ WALDEYER, Über Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXII. 1888. p. 43.

² E. KLEIN, Observ. on cells and nuclei. Quart. Journ. of Microscop. Science. Vol. XVIII and XIX.

³ RÜCKERT, Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. Anat. Anz. 1892. Heft 4 und 5.

p. 592 ff.) und eben so stimmen meine Befunde mit den Angaben BORN's¹ über die vielfach in einander geschlungenen Chromatinschleifen bei der Eireifung des Triton taeniatus sichtlich überein. Bei dieser großen Übereinstimmung der Objekte ist daher wohl auch für den Axolotl ein Erhaltenbleiben des chromatischen Kerngerüsts in der ganzen Entwicklung des Keimbläschens im Sinne RÜCKERT's und BORN's anzunehmen.

Sehr oft sind gerade in der Nähe der Chromosomen viele abgeblasste Nucleolen, die oben erwähnten »Nucleolenschatten«, zu finden und im weiteren Verlauf der Chromosomenausbildung für die erste Spindel verschwinden die Nucleolen beim Axolotl vollständig (beim Frosch erhalten sie sich länger); doch möchte ich die Frage eines ursächlichen Zusammenhanges dieser Thatsachen offen lassen. RÜCKERT ist dieser Frage neuerdings näher getreten² und hat die Vermuthung geäußert, dass die Nucleolen einerseits den Chromosomen, sich ihnen innigst anlegend, Chromatin zuführen, andererseits aber bei der Reduktion der Chromosomen es ihnen wieder abnähmen, also wirklich ganz im Sinne von STRASBURGER, PFITZNER und FLEMMING als »Reservestoffbehälter« fungirten. Wenn dem so wäre, müsste man aber entschieden erwarten, dass die Größe und Färbbarkeit der Nucleolen umgekehrt proportional gefunden würde der Größe und Färbbarkeit der Chromosomen. Dem widerspricht aber die von RÜCKERT selbst angeführte Thatsache der gleichzeitigen Massenzunahme und gleichzeitigen Massenreduktion beider Gebilde. O. SCHULTZE hat direkt eine »Rekonstruktion der verschwundenen Chromosomen aus den Nucleolen« angenommen. HOLLGAR hält bei der menschlichen Eizelle den Nucleolus für den einzigen sich erhaltenden Chromatinrest des Keimbläschens.

An unseren Präparaten lässt sich nun auch die von O. SCHULTZE übrigens selbst hervorgehobene, von BORN neuerdings angeführte Lücke ausfüllen, es lässt sich an ihnen das Emporrücken des Keimbläschens an die Oberfläche deutlich feststellen (Fig. 3) (vgl. auch Abschnitt V, p. 595). Das Keimbläschen bleibt bei dem Emporsteigen von der oben besprochenen Höhle umgeben. Oben angelangt plattet sich das ganze bläschenförmige Gebilde stark ab zu einem ellipsoidischen Körper, dessen lange Achse ca. 0,72—0,80, die kurze 0,32—0,30 mm Länge zeigt. Dabei ist das Bläschen auch an der dem Eirand nächsten Stelle doch noch von einer dünnen Dotterschicht von nicht ganz 0,4 mm

¹ BORN, Die Reifung des Amphibieneies u. die Befruchtung unreifer Eier bei Triton taeniatus. Anat. Anz. 1892. Heft 23 u. 24. p. 779.

² RÜCKERT, l. p. 537 c. p. 439.

Dicke überkleidet (Fig. 3). Diese reißt bei der umständlichen Behandlungsmethode selbstverständlich oft ein.

In dem nächstfolgenden Stadium unserer Präparate (Fig. 4) finden wir das Bläschen verschwunden und statt dessen an der hellen Stelle der Oberfläche, am »Richtungsfleck« einen Haufen unregelmäßiger Chromatinstückchen, die gegen das vorige Stadium kontrahirt und abgerundet erscheinen; sie stellen jetzt cylindrische Gebilde dar.

Da in letzter Zeit von verschiedenen Seiten sehr großes Gewicht auf die Zahlenverhältnisse der Chromosomen gelegt wird, so bemühte ich mich, womöglich auch hierüber beim Axolotl ins Klare zu kommen. Freilich macht sich jetzt bereits eine Reaktion gegen diese Zahlenforschung geltend, die mit STRASBURGER davor warnt, den Chromosomenzahlen übertriebenes Gewicht beizulegen, da es sich dabei offenbar um etwas Unwesentliches handle, denn bei ganz nah verwandten Thieren ist sie in der That sehr verschieden: Bei *Ascaris megaloccephala* z. B. ist sie 2, bei *Asc. lumbricoides* 24 etc. Bei den Wirbelthiereiern ist überdies, wie RÜCKERT schon hervorgehoben hat, die Zählung der chromatischen Elemente durch die Dotterkörner sehr erschwert; beim Axolotl gar ist es in Folge der Größe der Kerntheilungsfiguren, die sich durch mehrere (drei bis fünf) Schnitte hinziehen und durch die nicht ganz gleichmäßige Form der einzelnen Fäden einer Figur einfach unmöglich, mit voller Sicherheit die Zahl festzustellen. Leichter ist es wohl in den Furchungszellen und Körperzellen, doch sind mir Angaben darüber nicht bekannt. In den Abbildungen, die BELLONCI¹ von den ersten Furchungsstadien des Axolotl gegeben hat, zähle ich einmal (in seiner Fig. 5) zwölf Chromosomen, andere Male (Fig. 8 u. a.) hingegen nur deren acht. KÖLLIKER² zeichnet etwa fünf bis acht Schleifen.

Auch über die Gruppierung der chromatischen Elemente (Vierergruppen etc.) kann ich keine genaue Angabe machen.

Der Chromosomenhaufen ist, wie Fig. 4 zeigt, von feinstkörnigem, von dünnen Fäserchen durchsetzten Protoplasma, nicht direkt von Dotterkörnern umgeben. Centrankörperchen sind nicht aufzufinden.

Einzelne Nucleolen liegen in der Gegend zwischen den Dotterkörnern zerstreut, doch scheint die überwiegende Mehrzahl derselben ganz der Auflösung anheimgefallen zu sein (beim Froschei erhalten sie sich länger).

¹ BELLONCI, Int. alla Cariocinesi nel segmentat. dell' ovo di Axolotl. Nota R. Academ. dei Lincei 1884.

² KÖLLIKER, Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. I. 1889. p. 53. Fig. 38—40 incl.

b) Erste Richtungstheilung (Fig. 5—11).

Weiterhin formirt sich der Chromatinhaufen zu einer typischen, und zwar zu einer mit ihrer Längsachse tangential zur Eioberfläche stehenden Kerntheilungsspindel, der ersten Richtungsspindel, die bereits von O. SCHULTZE beschrieben und auch abgebildet wurde (Fig. 5 = Fig. 34 O. SCHULTZE'S). Sie ist etwa 70μ lang und 30μ breit. Die Chromosomen haben sich zur Äquatorialplatte geordnet und dabei wieder etwas gestreckt. Die Chromosomen sind aber immer noch deutlich walzenförmig, auf dem Querschnitt vollständig rund, nicht etwa bandförmig wie beim *Ascaris megalocephala*. Nach mehrfacher Abzeichnung der Schleifenstücke in den einzelnen Schnitten mit dem Zeichenapparat und Kombinirung derselben glaube ich über die Anzahl der Chromosomen in der ausgebildeten ersten Richtungsspindel sagen zu können, dass es deren sicher mehr als vier und weniger als zehn sind. Da aber die Anzahl doch wohl eine Potenz von 2 sein wird, so darf man mit größter Wahrscheinlichkeit annehmen, dass es $2^3 = 8$ Chromosomen sein werden und somit höchstens nur halb so viel als im reifenden Keimbläschen.

Die Spindelfasern der ersten Richtungsspindel scheinen sich aus dem feinkörnigen Plasmahof gebildet zu haben, der wohl auch noch als ein Rest der Keimbläschensubstanz angesehen werden muss. Für *Ascaris marginata* giebt freilich KULTSCHITZKY die Entstehung der ersten Spindel aus dem Eizellprotoplasma an. An je ein Chromosom setzen sich offenbar mehrere Spindelfäden an, denn es sind bedeutend mehr Fäden als Chromosomen zu sehen. Es scheint auch eine von Pol zu Pol durchlaufende Centralspindel vorhanden zu sein.

Ein Centrosoma oder eine Polstrahlung konnte ich auch bei der vollständig ausgebildeten ersten Richtungsspindel nicht finden. Sie scheinen hier eben so wie bei *Ascaris* nach VAN BENEDEN und BOVERI und z. B. auch bei *Branchipus* nach BRAUER¹ und bei *Rhynchelmis* nach VEJDOVSKÝ² zu fehlen, während sie bei *Aulastomum* hingegen von PLATNER³ in vollkommener Deutlichkeit beobachtet sind.

BORN⁴ beschreibt an den Spindelpolen der Tritonen »kugelige Ansammlungen körnigen Protoplasmas«, ohne dass es ihm jemals gelungen

¹ BRAUER, Das Ei von *Branchipus Grubii* V. Dyb. von seiner Bildung bis zur Ablage. Anhang zu den Abhandl. der königl. preuß. Akademie der Wissensch. 1892.

² VEJDOVSKÝ, Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. Heft 4. Reifung, Befruchtung und Furchung des *Rhynchelmiseies*. Prag 1888.

³ PLATNER, Die Bildung der ersten Richtungsspindel im Ei von *Aulastomum Gulo*. Mikrosk. Arch. Bd. XXXIII. p. 204 ff.

⁴ l. p. 538 c.

sei, ein Centrosoma zu färben; dafür hat er öfters »helle Kügelchen« an den Polen gesehen.

Um die Spindel herum erscheint eine mehr oder weniger auffallende Anhäufung von Pigment, die zum Theil gewiss darauf zurückzuführen ist, dass die Spindelausbildung das Pigment aus seinem früheren Platz in die Nachbarschaft verdrängt hat, so dass sich in ihrer Umgebung mehr Pigmentkörnchen finden als in der übrigen entsprechenden Eizone.

Nun erfolgt die von O. SCHULTZE beschriebene Drehung der Spindel aus der tangentialen in die radiäre Richtung, und dabei trennen sich die Schleifen im Äquator zu zwei gegenüberliegenden Platten, die, wie es scheint, aus je acht noch nicht weiter getheilten chromatischen Elementen bestehen.

Ob die Drehung in einer bestimmten Ebene, etwa der künftigen Medianebene des Körpers erfolgt, oder ganz zufällig, kann natürlich nicht angegeben werden, ohne eine eigens darauf gerichtete experimentelle Untersuchung. Obwohl O. SCHULTZE bereits eine schiefstehende erste Spindel abgebildet hat, gebe ich doch auch noch zwei solche Abbildungen (Fig. 6 u. 7), da meine Spindeln eine etwas andere Gestalt haben, als die von O. SCHULTZE; die von mir gefundenen sind nicht tonnenförmig (wie sie namentlich beim Frosch vorkommen), sondern an beiden Polen stark zugespitzt.

Mittlerweile ist die Auswanderung des Eies in die Bauchhöhle erfolgt. Meist auf dem Wege in die Tube oder manchmal auch erst in den obersten Abschnitten dieser selbst vollzieht sich dann die Ausstoßung des ersten Richtungskörperchens. Somit findet die erste Richtungstheilung beim Axolotl etwas früher statt als bei den von BORN untersuchten Tritonen, und es hat deshalb der Schluss, den er aus seinen Untersuchungen zieht, dass »bei den Urodelen allgemein« das erste Richtungskörperchen im unteren Theil der Tube ausgestoßen werde, für den Axolotl entschieden keine Geltung. Darin jedoch kann ich BORN und anderen Autoren vollkommen bestimmen, dass die Reihenfolge der Reifestadien nicht immer ganz genau der Reihenfolge der Eier im Genitaltractus entspricht (entgegen den Angaben BOVERI's bei der Spermatogenese der *Ascaris meg.*). Groß sind jedoch die Unregelmäßigkeiten in der Reifung nicht; so habe ich z. B. nie ein abgelegtes Ei gefunden, bei dem ich mit Sicherheit hätte nachweisen können, dass das erste Richtungskörperchen noch nicht ausgestoßen sei; denn daraus, dass man kein Richtungskörperchen an der Oberfläche findet, darf man noch nicht schließen, dass die vorliegende Spindel die erste Richtungsspindel sei, denn das erste Rich-

tungskörperchen kann abgefallen sein und man wird daher oft bei genauer Messung und Vergleichung in solchen Fällen finden, dass es sich nicht um eine erste, sondern um eine zweite Spindel handelt.

Die Bildung der beiden Tochtersterne erfolgt wohl so, dass sich die Spindelfasern kontrahiren und die Chromosomen an den Fäden zu den beiden Polen wandern. Dabei fragt es sich nun, falls wir mit BOVERI und den meisten anderen Autoren in der Spindel, den Polkörperchen und der Polstrahlung eine Vorrichtung zu sehen haben zur Entfernung der beiden Hälften der Äquatorialplatte von einander nach den Polen hin, wo in unserem Falle die Spindelfasern ihren Stützpunkt bei der Kontraktion finden, da hier weder Polkörperchen noch Polstrahlungen nachzuweisen sind. Bei der Furchungsspindel von *Ascaris meg.* fand übrigens BOVERI die von VAN BENEDEN angegebene Polstrahlung auch nicht¹, wie er meint desshalb, weil die Fasern zu dünn seien. PLATNER leugnet überhaupt die von VAN BENEDEN angegebene Polrinne, die bei der Spindelkontraktion als Einziehungsfurche zu Stande kommen soll, und sagt, auch die Polstrahlen konvergirten schließlich nach der Oberfläche. Bei unserem Objekt muss man jedenfalls eine Modifikation des VAN BENEDEN-BOVERI'schen Theilungsmechanismus annehmen in der Weise, dass sich die Spindelfasern des peripheren Pols an die innere Dotterhaut ansetzen (Fig. 7), die des centralen Poles aber vielleicht in Verbindung mit dem Plasmagerüst des übrigen Eikörpers treten und in diesem ihren Stützpunkt bei der Kontraktion finden, falls überhaupt eine solche stattfindet (cf. p. 548).

Auch bei der Ausstoßung des ersten Richtungskörperchens sind unsere Präparate im Stande eine Lücke in unseren Kenntnissen auszufüllen: Es liegen uns vollkommen klare Bilder von dem Abschnürungsakt selbst vor (Fig. 8 und 9). Nach der Ausstoßung finden wir das erste Richtungskörperchen ganz unzweideutig zwischen den zwei Dotterhäuten, d. h. zwischen der »Eizellmembran« und der »Zona pellucida« (Fig. 10) und es drängt sich daher die Frage auf, wie es die Eizellmembran passirt hat. Man könnte nach früheren Abbildungen daran denken, dass es an einer umschriebenen kleinen Stelle dieselbe auflöse und dort aus dem Dotter herausschlüpfe. Wenn wir aber die alte Auffassung auch VAN BENEDEN's, dass es sich bei der Richtungskörperchenabschnürung nur um eine Ausstoßung nutzloser Kerntheile handelt, verlassen und uns der Annahme BÜTSCHLI's² und BOVERI's anschließen, die

¹ BOVERI, Zellenstudien. 2. Heft. Die Befruchtung und Theilung des Eies von *Ascaris megaloccephala*. 1888. p. 108 u. 121.

² BÜTSCHLI, Studien über die ersten Entwicklungsvorg. der Eizelle, die Zelltheilung und die Konjugation der Infusorien. Abhandl. der SENCKENBERG'schen Naturf.-Ges. Bd. X. 1876. p. 213 ff.

die Richtungstheilungen für rudimentäre Zelltheilungen der Eizelle halten, dann müssen wir von vorn herein erwarten, dass sich die »innere Dotterhaut« bei der Richtungstheilung ganz wie jede Zellmembran bei der Zelltheilung verhält, dass das Richtungskörperchen auch von der Zellmembran bekleidet ist. Diese Erwartung wird nun durch die Beobachtung vollkommen bestätigt. Wir sehen (Fig. 8) wie sich zuerst ein von der zarten Eimembran umgebener Vorsprung, eine Art Knospe an der Eizelle bildet, die die periphere Chromosomengruppe der ersten Richtungsspindel enthält. Dieser Vorsprung erhebt sich dann immer mehr über die Oberfläche, die Basis, mit der er dem Ei aufsitzt, verjüngt sich, es bildet sich eine halsartige Einschnürung, die rings von der Zellmembran umgebene Knospe hängt nur mehr durch einen Stiel mit dem Ei zusammen (Fig. 9) und endlich schnürt sich die kleine rudimentäre Eizelle ganz von ihrer großen Schwesterzelle ab, — die erste Richtungszelle ist ausgestoßen (Fig. 10). Die Richtungstheilung beim Axolotl bildet demnach entschieden eine vollkommene Bestätigung der BÜTSCHLI-BOVERI'schen Annahme, und erhebt sie aus dem Bereiche der Hypothesen in das der Thatsachen.

So erklärt sich jetzt auch ganz einfach die Beobachtung von O. SCHULTZE, »dass sich bisweilen außen um das Polkörperchen herum eine Art Membran, vielleicht nur eine dichter geronnene Schicht abgrenzt;« es handelt sich hier eben einfach um eine wirkliche, allerdings sehr zarte Zellmembran und wir sind voll berechtigt das Körperchen eine »Zelle« zu nennen.

Der Vorgang ist zugleich eine Bestätigung meiner obigen Behauptung, dass wir die »äußere Dotterhaut« nicht als die Zellmembran der Eizelle, wie das von früheren Autoren geschehen ist, ansehen dürfen, sonst dürfte die abgeschnürte Richtungszelle nicht nach innen von ihr liegen. Übrigens liegt auch in den Abbildungen von O. SCHULTZE das Richtungskörperchen unter der äußeren Dotterhaut also nach seiner Auffassung noch innerhalb der Eizelle. Auch BÖHM¹ erklärt beim Neunauge das erste Richtungskörperchen ausdrücklich für membranlos, in seiner Abbildung (l. c. Fig. 10) ist aber eine deutliche innere Dotterhaut oder Eizellmembran, die auch das in Abschnürung begriffene erste Richtungskörperchen überzieht, gezeichnet, wenigstens ist der Grenzkontour mindestens eben so ausgeprägt als bei der Bildung des zweiten Richtungskörperchens (l. c. Fig. 15), das nach BÖHM von einer Membran umgeben ist.

Die Bestandtheile der ersten Richtungszelle sind, wie

¹ BÖHM, Über die Reifung und Befruchtung des Eies von Petromyzon Planeri. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXII. 1888.

schon O. SCHULTZE angab: Chromatin, Protoplasma, hier und da Dotterkörner und Pigment. Das Chromatin finde ich beim Axolotl meist im Gegensatz zu BORN's Befunden bei anderen Amphibien noch geraume Zeit nach der Ausstoßung in Asterform (z. B. Fig. 17 a); erst später kontrahiren sich die Chromosomen zu unregelmäßig geformten Klumpen oder Stäbchen. Das Protoplasma der Richtungszelle besteht wohl wesentlich aus dem peripheren Theil der achromatischen Spindel.

Die Gestalt der ersten Richtungszelle ist ungeheuer wechselnd, bald rund, bald oval, bald mehr abgeplattet, fast scheibenförmig. Natürlich wird die Gestalt wesentlich durch die Umgebung beeinflusst, und je nachdem die äußere Dotterhaut (Zona pellucida) dem Dotter straffer oder schlaffer anliegt, wird die Richtungszelle tiefer oder weniger tief in die Eioberfläche eingepresst. Dadurch entsteht ein Grübchen im Dotter; das ist offenbar die Entstehungsweise der von MAX SCHULTZE sogenannten »Fovea germinativa«, die daher nicht wie bisher als eine primäre Einsenkung der Eioberfläche, sondern als eine durch Druck der ersten Richtungszelle verursachte Delle aufzufassen ist. MAX SCHULTZE¹ unterscheidet offenbar auch bereits zwischen dieser »Richtungsdelle« und dem »hellen Richtungsfleck« im Allgemeinen, denn er sagt, dass die »trichterförmige Grube« oft von einem »weißlichen Hof« umgeben sei; mit letzterem hat er nämlich gewiss die helle Stelle am schwarzen Pol gemeint. Das Zustandekommen des hellen Fleckes aber erkläre ich mir durch Auseinanderdrängung des Pigmentes durch den aus dem Keimbläschen aufsteigenden Kernsaft und überhaupt die Reste der Keimbläschensubstanz. Es darf daher nicht, wie es geschehen ist, das Richtungsgrübchen und der Richtungsfleck schlechthin Fovea germinativa genannt werden.

Was das weitere Schicksal der Richtungszellen betrifft, so finde ich in der Litteratur nur ganz spärliche Angaben. Beim Axolotl erhalten sie sich noch lange, oft bis zur Furchung wenigstens in Resten. Allmählich schrumpfen sie und scheinen schließlich der »Pigmentatrophie« anheimzufallen. In späteren Stadien finde ich sie oft weit von der Richtungsstelle entfernt, sie sind an einen anderen Ort verschoben worden. Bei vielen ersten Richtungszellen jedoch finde ich eine Andeutung einer nochmaligen Theilung, die allerdings meist nur in einer Trennung der vielleicht vorher schon zweitheiligen Chromosomen besteht oder in einer Sonderung des Chromatins in zwei Hauptklumpen. Unter

¹ MAX SCHULTZE, l. p. 534 c. Fovea in formam infundibuli excavata saepe albidum praebet colorem et circulo albido circumdata est et in ovis recentibus statim post partum fere omnibus et foecundatis et non foecundatis facile cognoscitur.

den Hunderten von mir untersuchten Eiern fand ich nur eine einzige erste Richtungszelle, bei der eine wirkliche Theilung zu konstatiren war (Fig. 11). In diesem Fall ist die Theilung allerdings bis zu fast vollkommener Abschnürung der beiden ersten Richtungszellen (wohl durch direkte Kern- bzw. Zelltheilung) gediehen, nur auf einem Schnitt scheinen sie noch durch eine schmale Brücke zusammenzuhängen. Auf den anderen Schnitten liegen beide vollständig von einander getrennt neben einander in der Richtungsmulde, jede enthält eine kleine Chromatinportion. Dass es sich hier etwa um die erste und zweite Richtungszelle handelt, ist vollkommen ausgeschlossen, da im nächsten Schnitt die zweite Richtungsspindel zu sehen ist, und es sich überdies um ein Ei aus der Bauchhöhle handelt. Wir haben es hier offenbar zu thun mit einem Analogon einer nochmaligen Theilung des ersten Richtungskörperchens bei niederen Thieren. So wurden ja bereits im Jahre 1852 von KÖLLIKER bei Dorisarten drei Richtungskörper beschrieben, von denen zwei offenbar durch Theilung der ersten Richtungszelle entstanden sind. Auch in unserem Falle würden bei Weiterentwicklung des Eies drei Richtungskörper zu finden gewesen sein.

Dieser Befund beim Axolotl bildet ebenfalls entschieden eine Bestätigung der Annahme BOVERI's, dass die Richtungstheilungen phylogenetisch reducirte weitere Theilungen der Eizelle darstellen.

c) Zweite Richtungstheilung (Fig. 12—18).

Unmittelbar nach Abschnürung der ersten Richtungszelle bildet sich aus dem centralen Theil des ersten Richtungsspindeldiasters die zweite Richtungsspindel. Das Ei befindet sich zu dieser Zeit noch in der Bauchhöhle oder in den oberen Theilen der Tube. Obwohl schon seiner Zeit O. SCHULTZE und nun auch ich selbst nicht das Glück hatten, ein Ei zu finden, in dem eine ganz normale (vgl. p. 548 oben) zweite Richtungsspindel genau tangential steht, ist nach BORN's neuen Angaben doch mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, dass sie auch beim Axolotl zuerst tangential an der Eioberfläche liegt, entgegen der Angabe BOVERI's¹, der allgemein die zweite Richtungsspindel sich nicht in tangentialer Lage bilden lässt. Offenbar ist jedoch das tangential Stadium nur ein sehr rasch vorübergehendes, da auch BORN nur wenige Eier mit solchen Spindeln auffand. Beim frühesten, normalen uns vorliegenden Stadium bildet die zweite Spindel mit der Tangente an die betreffende Eioberfläche einen Winkel von ca. 30—40°, liegt also noch sehr schräg (Fig. 12). Auch hier weichen wieder die von mir beobachteten Spindeln

¹ BOVERI, Referat über Befruchtung in MERKEL-BONNET's Jahresber. 1892. p. 447.

in ihrer Form wesentlich von denen O. SCULTZE's ab, seine sind deutlich tonnenförmig, meine spitzpolig. Aus der schrägen Lage dreht sich die Spindel dann langsam in immer steilere Lagen. (Über die Ursache der Spindeldrehungen s. p. 596 f.) Unterdessen ordnen sich die Chromosomen der centralen Chromatingruppe des ersten Richtungsdiasters, die sich zu einem dichten Knäuel zusammengeballt hatten, zu einer regulären Äquatorialplatte um, ohne sich vorher in ein ruhendes Kerngerüst umgewandelt zu haben. Man beobachtet dabei, dass die Schleifen zuerst noch stark gekrümmt sind, so dass sie auf einem Schnitt mehrfach getroffen eine größere Chromosomenzahl vortäuschen können; erst allmählich strecken sie sich und bilden einen regulären Mutterstern. Wiederum scheinen acht Chromosomen vorzuliegen, ob eintheilig oder bereits zweitheilig, wage ich wie gesagt nicht zu entscheiden, doch erfolgt jedenfalls die Spaltung der Schleifen sehr bald und es bilden sich, was übrigens bei der ersten Spindel auch der Fall ist, sehr früh \leftarrow oder \rightarrow -ähnliche Figuren, dadurch dass die Schleifentheile am einen Ende bereits nach den Polen aus einander gehen, während die Hauptmasse derselben noch eng verbunden mit einander der Länge nach verklebt ist (Fig. 6, 7 und 12), wie das auch BOVERI bei *Ascaris* und BORN bei den Tritonen gesehen haben.

Die a chromatische Spindel scheint sicher zum Theil aus dem centralen Abschnitt der ersten Spindel hervorzugehen, während der periphere ganz mit in die erste Richtungszelle übergeht. KULSCHITZKY¹ hingegen lässt die erste Spindel ganz zu Grunde gehen und die zweite sich ganz unabhängig von ihr entwickeln. Bei der Bildung der zweiten Spindel scheint übrigens die Ausbildung der peripheren Hälfte schneller zu erfolgen, als die Ausbildung der centralen Hälfte, denn ich finde bei einigen Präparaten die periphere Spindelhälfte vollkommen ausgebildet, während die centrale kaum angedeutet ist. Centrosomen und Polstrahlungen sind auch hier wieder nicht zu finden, auch keine deutliche Ansammlung feinstkörnigen Protoplasmas an den Polen, wie es BORN gefunden hat.

Übrigens ist hervorzuheben, dass die zweite Richtungsspindel weit schlanker, zierlicher gebaut ist als die erste, so zart, dass oft der Spindelmantel von den umgebenden Dotterkörnern an einzelnen Stellen oberhalb und unterhalb des Äquators eingebaucht wird, so dass also die Spindelfasern des Mantels nicht in gerader Richtung vom Äquator zum Pol laufen, sondern in nach einwärts konvexen Bögen (Fig. 12, 13 und 14), was bei der ersten Spindel seltener vorzukommen

¹ KULSCHITZKY, Eireifung und Befruchtungsvorgang bei *Ascaris marginata*. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXII. p. 674.

scheint. Öfters tritt diese »seitlich komprimierte« Spindelform freilich auch auf, ohne dass der umgebende Dotter dieselbe bewirkt zu haben scheint. Die Gracilität der zweiten Spindel ist so auffallend, dass es leicht gelingt, wenigstens wenn man kurz vorher erste Spindeln gesehen hat, eine zweite ohne Weiteres an der Zierlichkeit zu erkennen und von den plumpen, dicken ersten Spindeln zu unterscheiden. Ihre Länge beträgt meist nur ca. 50μ oder weniger, die Breite ca. 23μ .

Meist steht die zweite Spindel ganz an der Peripherie, sehr oft gerade unter dem ersten Richtungsgrübchen; dann hat also die erste Richtungszelle die Eiperipherie mitsamt der darin befindlichen zweiten Richtungsspindel nach einwärts eingedrückt (Fig. 13). Sehr häufig aber findet auch das Umgekehrte, ein Vordrängen der zweiten Spindel statt, so dass die erste Richtungszelle seitlich abrutscht und neben der zweiten Spindel ein Grübchen in die Eioberfläche eindrückt (wie Fig. 34 bei O. SCHULTZE). In einem Fall fand ich merkwürdigerweise die Spindel tief im Inneren des Eies.

Ferner ist auffallend, dass um die zweite Spindel trotz ihrer geringeren Größe doch noch mehr Pigment angehäuft ist, als um die erste Spindel, so dass man nicht nur eine mechanische Zusammendrängung sondern auch eine Neubildung von Pigment in der Umgebung der Spindel annehmen muss (vgl. auch die Angaben über Pigmentplattenbildung p. 548).

In diesem Zustand bleibt nun das Ei auf seiner ganzen Wanderung durch den mütterlichen Genitaltractus, bis es beim Durchgang durch die Kloake befruchtet wird, stehen, wenigstens ist es mir bisher bei keinem der Mutter entnommenen Ei gelungen, die Ausstoßung des zweiten Richtungskörperchens zu finden und bei allen Fällen, wo ich ein zweites Polkörperchen vor der Befruchtung ausgestoßen glaubte, fand ich nachträglich doch noch ein oder mehrere an der weißen Seite eingedrungene Spermatozoën, die mir bei der ersten Untersuchung entgangen waren, da sie in der That oft sehr schwer zu finden sind. Es wird demnach auch beim Axolotl die erste Richtungszelle vor, die zweite aber erst nach der Befruchtung ausgestoßen, wie das bereits für den Frosch von O. SCHULTZE¹ und für das Neunauge von KUPFFER und BÖHM² nachgewiesen wurde.

Der weitere Verlauf der zweiten Richtungstheilung ist der, dass sich die schräg stehende Spindel allmählich in eine ganz radiäre Lage stellt, doch erfolgt diese Drehung sehr langsam, denn es liegt mir eine

¹ l. c.

² KUPFFER u. BÖHM, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. München. Febr. 1887.

namhafte Anzahl von Eiern vor, bei denen sich die zwei Spindeln bereits in der Phase des Diasters befinden und doch noch sehr schief gegen die Oberfläche stehen, in Winkeln von $45-70^\circ$ gegen die Tangente (vgl. Fig. 44); in einem Fall sogar noch tangential. Das Auseinanderweichen der Schleifen nach den Polen erfolgt wie bei jeder regulären Kerntheilung ganz in der von FLEMMING zuerst genau verfolgten Weise. In dem Stadium des Diasters verweilt die zweite Richtungstheilung auch beim Axolotl lange Zeit, wie das bei den Tritonen von BORN gefunden wurde.

Sehr auffällig ist die Erhaltung der Form der achromatischen Spindel oder besser der Doppelkegelfigur auch nach vollendeter Wanderung der Schleifen zu den Polen hin. Nach BOVERI'S Ansicht, nach der die Chromosomen durch aktive Kontraktion der Spindelfasern nach den beiden Polen resp. Centrosomen hin gezogen werden, müsste man erwarten, im Stadium des Diasters zwischen den beiden Sternen höchstens »Verbindungsfasern« VAN BENEDEN'S, d. h. dünn ausgezogene Chromatinfäden bzw. die dünn ausgezogene achromatische Brückensubstanz zwischen je zwei Tochterschleifen, aber keine achromatische Spindelfasern zu finden. Es sollten cylinderähnliche oder höchstens tonnenförmige Figuren resultiren; statt dessen finde ich jedoch regelmäßig an beiden Polen ganz spitz ausgezogene, im Äquator aber sehr breite Doppelkegel von ungeheuer zahlreichen achromatischen Spindelfasern durchsetzt (Fig. 43 und 44), als ob die Chromosomen nur an den Fasern zu den Polen hingeglitten, nicht aber durch deren Kontraktion dorthin geführt wären. Oder als ob sich nicht nur in und bei der Spindelachse von einem Pol zum andern durchlaufende Fäden (»Centralspindel« HERMANN'S), sondern auch allenthalben sonst im Spindelraum durchlaufende Spindelfasern befänden. Vielleicht handelt es sich hier doch auch um eine ähnliche Bildung wie bei dem achromatischen Zwischenkörper, dem Mitosom oder Thelyid HENKING'S¹, das er bei der Spermatogenese und Richtungstheilung der Insekten gefunden hat.

Am Äquator zeigt sich außerdem sehr häufig eine Art Verdichtung der beiderseitigen Fäden, so dass eine allerdings nur sehr zarte Platte entsteht, die man entschieden als Andeutung einer Zellplatte auffassen muss (Fig. 43 und 44). In dieser Auffassung werde ich noch bestärkt durch die höchst auffallende Thatsache, dass ich in einzelnen meiner Präparate bei zweiten Richtungsdiastern am Äquator eine förmliche Pigmentplatte finde, wie sie bei der Furchung des Axolotls als

¹ HENKING, Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in d. Eiern der Insekten. I. Diese Zeitschr. Bd. XLIX. 1890.

erstes Zeichen der künftigen Zellscheidewand vorkommt, was auch bereits von BELLONCI¹ bei der Furchung des Axolotleies gesehen und abgebildet ist. Darin liegt wieder ein Beweis, dass es sich bei den Richtungstheilungen wirklich um eine Zelltheilung handelt. Diese Pigmentplatten bei den Richtungsspindeln, sowie manchmal auch die zwischen zwei sich trennenden Furchungszellen stehen in gar keiner Verbindung mit dem Oberflächenpigment, eine Thatsache, die entschieden gegen die Annahme HERTWIG's spricht, dass das Pigment zwischen den Furchungszellen von der Oberfläche hineingezogen sei; es scheint vielmehr an der künftigen »Zellscheidewand« eine Pigmentbildung aufzutreten. Eine Andeutung reicherer Pigmentirung am Äquator giebt auch Fig. 44. Übrigens scheint auch bei der ersten Furchungsspindel der *Ascaris* eine Andeutung von Zellplattenbildung vorzukommen nach BOVERI's² Fig. 44 a und bei *Brachipus* nach BRAUER's³ Fig. 36, 38 und 40. Bei den Tritonen hingegen scheinen nach BORN keine ähnlichen Bilder aufzutreten, wenigstens sagt BORN, dass beim ersten Richtungsdiaster nach der Trennung der Tochterplatten in der Mitte der Kernfigur ein heller Raum auftritt, der nur von »äußerst feinen Fäden« durchzogen ist. Diese Fäden sind wohl als »Verbindungsfäden« im BENEDEN'schen Sinne zu betrachten.

Bei den zweiten Richtungsdiastern fällt weiterhin auf, dass sich häufig die für das zweite Richtungskörperchen bestimmte Chromatinsgruppe schon frühzeitig flach ausbreitet (eine Andeutung davon zeigt Fig. 44 verglichen mit Fig. 43), während die centrale Gruppe für den Eikern oft zu einer ganz scharfen Spitze konvergirt. Ferner quillt sehr häufig die Zellmembran des Eies (innere Dotterhaut) zwischen ersten Richtungskörperchen und zweiter Spindel, da wo sich die periphere Spindelhälfte ansetzt, dick auf und erscheint bei unserer Methode deutlich roth gefärbt (Fig. 43). Diese gequollene Stelle der Eimembran hebt sich leicht von der zweiten Spindel ab, so dass der periphere Pol ganz offen, ohne irgendwelche Anheftung erscheint. Eine eigentliche kuglige Ansammlung von Plasma am Pol im BORN'schen Sinne, wie sie durch Fig. 44 vielleicht vorgetäuscht werden könnte, existirt aber auch bei abstehender (bezw. abgerissener) Eimembran nicht. Auch sonst finde ich manchmal den peripheren Pol nicht spitz, sondern »offen«, wie das auch BOVERI bei der zweiten Richtungsspindel der *Ascaris* abgebildet hat (BOVERI's Fig. 40, Heft II), ohne aber auf den Theilungsmechanismus in diesem Fall oder auf eine Erklärung der Erscheinung eingegangen zu sein. Auch O. SCHULTZE bildet solche offene Pole ab (Fig. 37), eben

¹ l. p. 539 c. p. 5 u. Fig. 40.

² BOVERI, l. p. 542 c. d.]

³ BRAUER, l. p. 540 c. p. 23.

so KULSCHITZKY¹ (l. c. Fig. 17, 18 und 20) und BRAUER² fast in allen seinen Abbildungen der Richtungstheilungen. Man hätte auch hier wieder anzunehmen (cf. p. 542), dass in Ermangelung der Centrosomen und ihrer Polstrahlung einerseits die Zellhaut direkt, andererseits das Zellplasmagerüst als Stützpunkte bei der Spindelkontraktion, falls eine solche stattfindet, benutzt werden.

Die Ausstoßung der zweiten Richtungszelle die bisher noch nicht bei Urodelen beschrieben und abgebildet wurde, entspricht vollständig der Abschnürung der ersten Polzelle. Auch das zweite Richtungskörperchen erhebt sich zuerst rings von der Zellmembran umgeben über die Oberfläche der Eizelle (Fig. 15); dann tritt eine halsartige Einschnürung vom großen Zellkörper ein, so dass der zweite Richtungskörper nur mehr durch einen dünnen Stiel, der von feinsten Fäden (Centralspindel oder »Verbindungsfäden?«) durchzogen ist, hutpilzartig dem Ei aufsitzt (Fig. 16 und 17b). Schließlich wird denn auch noch dieser Stiel durchschnürt, die Isolirung der zweiten Richtungszelle ist vollendet (Fig. 18).

Die Bestandtheile derselben sind ebenfalls die gleichen wie die der ersten Polzelle: Membran, Dotterkörner, Protoplasma, Pigment und Chromatin.

d) Vergleich beider Richtungskörperchen (Fig. 17—18).

Alle Bestandtheile, namentlich auch das Chromatin enthält die zweite Polzelle in kleinerer Menge, so dass sich auch in der Größe ein deutlicher Unterschied bemerkbar macht (Fig. 17 a u. b u. Fig. 18). O. SCHULTZE hat den zweiten Richtungskörper nur bei Anuren beobachtet und fand dort (bei Lupenvergrößerung) »beide Richtungskörper fast regelmäßig genau gleich groß«. Diese Gleichheit musste nach Allem, was wir aus den neueren Untersuchungen über den Gegenstand wissen, sehr auffallen und es war daher von vorn herein zu erwarten, dass beim Axolotl mit seinen großen Elementartheilen sich der theoretisch postulierte Größenunterschied auch thatsächlich nachweisen lasse. Hier und da ist der Unterschied sehr auffallend, wenn nämlich zufällig beide Richtungszellen im gleichen Schnitt nahe bei einander liegen (Fig. 18); da findet man manchmal die erste Polzelle mehr als doppelt so groß wie die zweite. Genauere Messungen an einer größeren Zahl von Eiern, bei denen beide Richtungszellen gut messbar waren, ergaben im Mittel für beide eine ovale Gestalt und beim ersten Richtungskörperchen für den langen Durchmesser $30,4 \mu$, für den kurzen $15,5 \mu$, beim zweiten

¹ l. p. 546 c. ² l. p. 540 c.

Richtungskörperchen aber für den langen Durchmesser nur $10,6 \mu$, für den kurzen $6,5 \mu$. Die erste Polzelle erscheint meist auf zwei bis drei Schnitten hinter einander, die zweite nur auf ein bis zwei Schnitten. Selbstverständlich wurden die Messungen immer an den Schnitten vorgenommen, auf denen die Polzelle am größten, am vollständigsten schien, d. h. in der Mitte ihres Zelleibes getroffen war. Außer durch die Größe unterscheiden sich die beiden Richtungszellen auch noch in Folgendem: Die zweite Richtungszelle ist fast immer dunkler pigmentirt (Fig. 17 und 18), das Chromatin bildet bei ihr meist einen kompakteren Klumpen, nur selten erscheint es auch bei ihr noch in Asterform, nie zeigt sich bei ihm eine Andeutung von nochmaliger Theilung. Durch all diese Umstände wird die zweite Richtungszelle weniger durchsichtig als die erste. Ferner liegt die zweite, im Gegensatz zur ersten, selten in einer tieferen Grube, sondern oft auf der nur sanft eingedrückten Kuppe des Hügels rechts oder links neben dem ersten Richtungsgrübchen (Fig. 18).

Endlich muss ich noch erwähnen, dass in seltenen Ausnahmefällen eine oder die andere Richtungszelle innerhalb der Eizelle zu liegen scheint, nicht zwischen der Eimembran und der Zona pellucida.

4. Die Bildung des Eikernes und seine Wanderung zur Copulation (Fig. 16, 17, 19).

Oft schon vor vollendeter Abschnürung der zweiten Richtungszelle bildet sich die centrale Chromatingruppe des zweiten Richtungsdiasters zu einem selbständigen Gebilde um, das sich aus dem Verbande der Richtungsspindel löst und auf die Wanderschaft in das Eiinnere begiebt (Fig. 17 u. 16). Wir nennen von jetzt an das Gebilde im Anschluss an O. HERTWIG den »Eikern«; Andere, namentlich VAN BENEDEN, gebrauchen bekanntlich die Bezeichnung »weiblicher Vorkern«, oder »weiblicher Halbkern«, doch scheint mir der Name »Eikern« aus den von HERTWIG und Anderen angeführten Gründen namentlich seiner Einfachheit wegen vorzuziehen. Die Ausbildung des Eikernes geht in der Weise vor sich, dass sich aus dem centralen chromatischen Tochterstern der zweiten Spindel ein dichter Knäuel bildet, der oft ganz im Randpigment versteckt liegt (Fig. 32) und kaum 7μ (Durchmesser) groß ist. So wie er die Peripherie verlässt, werden die Chromosomen blasser und breiten sich feinstkörnig im Kern aus, der nun einen ganz mattrosa gefärbten Körper darstellt; ob auch die centrale Hälfte der achromatischen Spindelfasern mit in den Eikern übergeht, wie O. SCHULTZE annimmt, oder ob diese sich vollständig auflöst, wie es BOVERI bei *Ascaris* festgestellt hat, kann ich bei dem dotterreichen Axolotlei nicht sicher an-

geben, doch scheint mir Letzteres wahrscheinlicher. Bald bildet sich um den kleinen Eikern herum eine Membran. Wir haben es hier offenbar mit einer Ruheform des Kernes zu thun, was auch NUSSBAUM schon für *Ascaris* angegeben hat ¹.

In diesem Zustand, ohne besonderes Merkmal, ohne jeden Pigmenthof, ohne eine Andeutung einer »nagelförmigen Figur« etc., höchstens von einer kleinen Lichtung des Dotters umgeben (Fig. 49 und 33), ist dieses kleine blasse Gebilde außerordentlich schwer zu finden, so wie es sich einige $\frac{1}{100}$ mm von der Richtungsstelle entfernt hat, wie ja auch HERTWIG bei Anuren angiebt, ihn überhaupt nur einige Male gefunden zu haben.

Der Eikern nimmt übrigens oft seinen Weg nicht direkt nach der Ei mitte, sondern steuert einem benachbarten Spermakern zu. Auch jetzt ist noch von einer Attraktionssphäre oder einem Centrosoma bei ihm nicht die Spur zu sehen. Die Form ist rundlich elliptisch oder kreisförmig auf dem Durchschnitt und deutet durch pseudopodienartige Auswüchse auf die aktive Beweglichkeit des Eikernes hin.

Bei dieser Wanderung tritt nun ein ganz bedeutendes Wachstum des Eikernes ein und zwar deutlich nachweisbar erst, nachdem der Kern bereits einen beträchtlichen Weg im Ei zurückgelegt hat. Ein bestimmtes Gesetz über die Beziehung zwischen der Kerngröße und der Entfernung von der Peripherie aufzustellen, bin ich jedoch nicht im Stande. Das Verhältnis scheint individuell zu wechseln, doch ist folgende kleine Tabelle vielleicht geeignet, eine ungefähre Vorstellung über das Wachstum zu geben, worin mit »Kernabstand« die ungefähre Entfernung der Mitte des Eikernes von der Eioberfläche und mit »Kerngröße« der Flächeninhalt des betreffenden Kernquerschnittes bezeichnet ist. Der Flächenraum wurde bei den ovalen Kernen als Ellipse (Fläche = $R^2 \pi \cdot \frac{r}{R} = R \cdot r \cdot \pi$) berechnet, nachdem der große Durchmesser ($2R$) und der kleine ($2r$) gemessen war; bei den ganz runden Kernen als Kreis berechnet ($\varrho^2 \pi$), nachdem der Durchmesser (2ϱ) bestimmt war. Da die Form der Kernquerschnitte jedoch natürlich nicht ganz regelmäßig elliptisch oder kreisförmig ist, so entsprechen die Angaben auch nur annähernd der Wirklichkeit, können aber doch als ungefähre Maßstab zur Beurtheilung der Wachstumsverhältnisse dienen.

Die Tabelle enthält nicht Mittelwerthe, sondern konkrete Fälle, Originalmessungen.

¹ NUSSBAUM, *Ascaris* und *Leptodora*. Sitzungsber. der niederrheinischen Ges. Bonn. 5. VIII. 1883.

Kernabstand :		Kerngröße :
1)	10 μ	36,7 μ^2 ($\varrho = 3,5 \mu$)
2)	80 μ	130,7 μ^2 ($\varrho = 6,6 \mu$)
3)	154 μ	245,0 μ^2 ($R = 9,9$; $r = 8,25$) $\frac{3}{4}$
4)	237 μ	294,0 μ^2 ($\varrho = 9,9$)
5)	329 μ	343,5 μ^2 ($\varrho = 10,7$)
6)	460 μ	468,8 μ^2 ($\varrho = 12,5$).

Der Radius ist demnach bei der Wanderung um mehr als das Dreifache gewachsen, denn ganz an der Peripherie war er kaum $3,5 \mu$ groß, der Flächenraum des Durchschnittes also um das Neunfache, der Kubikinhalt um das 27fache (cf. Fig. [19, 33] 16, 17b und 45).

Unzweifelhaft wird bei dieser Vergrößerung des Eikernes eine Vermehrung des Protoplasmas im Kern auftreten, aber es wird doch wohl auch das Chromatin an dem Wachsthum theilnehmen, nicht nur etwa aufquellen, sondern wohl auch an Masse zunehmen, sich wirklich vermehren. Ob dabei die Chromosomenindividuen erhalten bleiben, oder ob die Zahl der Chromosomen wenigstens dieselbe bleibt wie im centralen Pol des zweiten Richtungsdiasters, oder aber, ob sich ganz neue Chromosomen bilden, wie das BRAUER für Branchipus angiebt, darüber sagen mir meine Präparate nichts aus; eben so wenig natürlich über das Verhältnis der Chromosomenzahl und -Entstehung bei den Geschlechtszellen im Gegensatz zu den Körperzellen. Ich kann daher einstweilen nicht Stellung nehmen zu den, wenn sich die That-sachen bestätigen, sehr einleuchtenden Anschauungen BRAUER's über diese Verhältnisse.

II. Das Spermatozoon (Fig. 20—24).

Während es uns jetzt allgemein als fast selbstverständlich scheint, dass bei der Befruchtung des Eies durch den Samen, die Samenfäden die Hauptrolle spielen, war das noch vor wenigen Jahrzehnten ganz anders. Auch die größten Embryologen wie K. E. VON BAER¹ hielten die Samenfäden für unwichtige, accidentelle Gebilde, für Entozoön der Samenflüssigkeit, und schrieben dieser letzteren die Wirkung bei der Befruchtung zu. KÖLLIKER war der Erste, der im Jahre 1844 in seiner philosophischen Doktordissertation nachwies, dass die Samenfäden Elementartheile des Thierkörpers sind und mit aller Bestimmtheit aussprach, dass die Samenfäden die alleinigen Träger der väterlichen Erbmasse bei der Befruchtung sind.

Die Samenfäden des Axolotls sind seit der kurzen Mittheilung von

¹ K. E. v. BAER, Die Metamorphose des Eies der Batrachier etc. MÜLLER's Arch. 1839, p. 503 und Artikel Befruchtung in BURDACH's Physiologie p. 116.

MALBRANC¹ über das Siredonsperma, die eine frühere Mittheilung von DUMÉRIL² berichtigt, neuerdings nur von BALLOWITZ³ bei seinen eingehenden Studien über die Spermatozoën der verschiedensten Thierklassen berücksichtigt. Doch auch BALLOWITZ giebt nur Abbildungen einzelner Theile der Axolotlsamenfäden, so dass dieselben noch nie bei stärkerer Vergrößerung im Ganzen einer Abbildung gewürdigt sind.

Zur Untersuchung sind außer den Samenfäden im Vas deferens auch die in Spermatophoren ins Wasser abgesetzten Spermatozoën sehr wohl zu verwerthen, selbst wenn sie schon mehrere Stunden im Wasser gelegen haben, nur die Bewegungen hören ziemlich bald nach der Absetzung auf und sind auch durch verdünnte Alkalien nicht wieder zu erwecken. Bei Fixirung der zerpupften Trockenpräparate in warm gesättigter Sublimatlösung erhalten sich auch die feinsten Details der Struktur monatelang.

Die Axolotlspermatozoën sind 0,4—0,6 mm lange, sehr dünne Fäden, die bei starker Vergrößerung einen lang ausgezogenen, konischen, hinten etwas verdickten Kopf, ein etwas dünneres Verbindungsstück und einen langen, ganz dünnen Schwanz mit einer undulirenden Membran erkennen lassen (Fig. 20).

1. Der Kopf.

Die Köpfe der Samenfäden sind 0,11—0,13 mm lang und weisen meist eine starke Krümmung nach einer Seite auf. Sie sind sehr quellungsfähig, aber nicht in ihrer ganzen Ausdehnung, denn das »Vorderstück« (Fig. 20 und 21) mit der Spitze bleibt immer ungequollen in einer Länge von ungefähr 0,04—0,06 mm. Wenn der übrige Kopf, was sehr häufig der Fall ist, korkzieherartig gewunden ist oder mehrfache, unregelmäßige Krümmungen zeigt, nimmt dieses Stück nicht an denselben Theil, sondern streckt sich gerade oder behält die sanftere Krümmung, wie sie dem nicht durch Reagentien beeinflussten, abgestorbenen Spermakopf eigenthümlich ist, bei und macht daher einen steifen Eindruck (Fig. 21). Dieses Stück scheint es zu sein, was BALLOWITZ⁴ für den RETZIUS'schen »Spieß« gehalten hat, denn er schreibt dem Spieß ein hinteres fadenförmiges Ende zu, »das sich bis etwa zur

¹ MALBRANC, Über das Sperma vom Siredon. Würzburger Verh. N. F. Bd. III. 1872.

² A. DUMÉRIL, Metamorphose des Batraciens urodèles à branchies externes du Mexique, dits Axolotls, observées à la ménagerie des Reptiles du Musée d'histoire naturelle. Annal. de scienc. naturell. VII. 1867.

³ BALLOWITZ, Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoën. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXVI. 1890.

⁴ l. c. p. 257.

Mitte des Kopfes hinein verfolgen lässt und giebt ihm in seiner Fig. 56 eine Länge von 47 mm, was also etwa 42,3 μ entsprechen würde, während RETZIUS¹ den Spieß nur 15 μ lang gefunden hat.

Ich sehe nun aber am vordersten Ende des Kopfes, besonders deutlich an Hämatoxylinpräparaten, eine ganz ungefärbte, vollkommen starre, dünne Spitze von ca. 9,6 μ Länge (Fig. 20, 24 u. Fig. 23), und ich glaube, dass diese Spitze es ist, die dem RETZIUS'schen Tritonenspieß entspricht. Wenn ich auch keine »Trennung vom Kopf durch einen mehr oder weniger deutlichen Querstrich« finde, so markiert sich der Übergang vom Kopf zum Spieß doch ganz unverkennbar durch eine plötzliche Kaliberabnahme. Das letzte Ende des Kopfvorderstückes erscheint manchmal ein ganz klein wenig angeschwollen (Fig. 24 u. 23); dann hebt sich der dünne Spieß natürlich erst recht deutlich von ihm ab (vgl. auch p. 560). Der starre Spieß läuft in eine ganz feine Spitze aus und erscheint daher in hohem Maße dazu geeignet die Hüllen des Eies zu durchbohren, zu »durchspießen«. Einen Widerhaken, wie er bei *Salamandra atra* schon von CZERMAK² beschrieben ist, kann ich an meinen Präparaten, auch an den dem Samenleiter entnommenen Samenfäden nicht nachweisen. Eben so wenig findet sich eine knopfförmige Anschwellung, wie sie von POUCHET³ bei *Triton cristatus* gefunden und für »eine Art Mund« gehalten wurde.

Der Kopf färbt sich mit Fuchsin, Methylviolett und mit Hämatoxylin sehr intensiv, mit Eosin aber nur schwach.

Bei der Quellung des Kopfes z. B. in Aqua dest. schwillt namentlich das hintere Ende stark auf, so dass der Kopf deutlich kegelförmig wird; in diesem Fall tritt dann hinten eine deutliche Vertiefung auf, in die das Verbindungsstück eingezapft ist. Bei weiterer Einwirkung des destillirten Wassers verquillt der Kopf übrigens bald zu einer ganz breiten, wolkigen Masse.

An leicht gequollenen, erblassten Köpfen der Fuchsinpräparate sieht man, dass die Quellung auch den Achsenfäden im Kopf betrifft, der häufig Spuren bröckeligen Zerfalles zeigt und zwar stets in querer Richtung, nie in Längsrichtung. Diese Zerfallsschollen sind ganz unregelmäßig gestaltet, so dass man nicht etwa von einer Querstreifung des Kopfes sprechen kann. Trotz des beginnenden Zerfalls im Inneren zeigt

¹ RETZIUS, Zur Kenntniss der Spermatozoën. Biol. Untersuchungen. 1884.

² CZERMAK, Über die Spermatozoiden von *Salamandra atra*. Übersicht der Arb. u. Veränderungen der schles. Gesellsch. f. vaterl. Kultur. Breslau 1849.

³ POUCHET, Théorie positive de l'ovulation spontanée et de la fécondat. des mammifères et de l'espèce humaine. Paris 1844. p. 307. »Qui doit correspondre à un organe buccal.«

der Kopf äußerlich meist noch scharfe Kontouren, so dass entschieden auf das Vorhandensein einer resistenteren Randschicht, einer Art Membran geschlossen werden darf. Nebenbei mag erwähnt sein, was MALBRANC bereits bemerkt hat, dass die Köpfe häufig sich vom übrigen Samenfaden ablösen; oft bleibt aber auch das nächste Glied, das Verbindungsstück, dabei an ihnen hängen.

2. Das Verbindungsstück.

MALBRANC, der zuerst beim Axolotl das Zwischenstück zwischen Kopf und Hals fand, nannte es »Schaltstück«. Im Interesse einer einheitlichen Nomenklatur empfiehlt es sich aber wohl, die auch von BALLOWITZ in seinen ausgedehnten Untersuchungen durchgeführte RETZIUS'sche Bezeichnungsweise beizubehalten. Desshalb werde ich für das Schaltstück zwischen Kopf und Schwanz, das von Anderen (z. B. F. HERMANN) auch »Mittelstück« genannt wird, den Namen »Verbindungsstück« gebrauchen, obgleich der Kürze des Ausdrucks wegen auch die Bezeichnung »Hals« ganz zweckmäßig erschiene, die für das Axolotlspermatozoon auch sonst nicht unpassend wäre.

Das Verbindungsstück scheint eine sehr beständige Größe zu besitzen und ist leicht zu messen, weil es im Präparat meist ganz gerade ausgestreckt zu finden ist. Bei einer sehr großen Zahl von Messungen fand ich seine Länge gleich $9,6 \mu$. Die Breite beträgt ca. $1,7 \mu$. Das Verbindungsstück ist vollkommen cylindrisch und ganz glatt kontourirt, d. h. die undulirende Membran setzt sich nicht bis zu ihm hinauf fort. Sehr auffallend ist, dass es bei der gewöhnlichen Fuchsin- oder Hämatoxylinfärbung, wobei die Köpfe alle mehr oder weniger aufquellen, ähnlich wie der Spieß ungequollen bleibt und dieser Umstand lässt es natürlich sehr deutlich gegenüber dem Kopf hervortreten (Fig. 24).

Während aber der Übergang des Kopfes in den Spieß wenigstens im Inneren allmählich erfolgt, ist hier der Übergang ein ganz scharfer, Kopf und Verbindungsstück sind jeder Zeit mit Sicherheit scharf von einander abzugrenzen. Ist der Kopf stark gequollen, so sieht man sehr deutlich, wie das Verbindungsstück noch eine Strecke weit in den Kopf hineinreicht mit einem Zapfen (*Z* in Fig. 22), der an seinem vorderen Ende hier und da noch einen kleinen Stachel (*St* in Fig. 22) erkennen lässt, ganz ähnlich wie ihn BALLOWITZ beim Triton taeniatus abbildet. Die »Einzapfung« des Verbindungsstückes in den Kopf ist oft scheinbar eine excentrische, was jedoch wohl nur auf einer ungleichmäßigen Quellung des Kopfes beruhen dürfte. Eben so sicher, aber nicht ganz so auffallend, ist die Abgrenzung des Verbindungsstückes gegen den

Schwanz. Der Dickenunterschied dieser beiden Theile ist nur gering, aber fast immer deutlich nachweisbar, er beträgt ca. $0,4-0,5 \mu$. Außerdem ist meist auch in transversaler Richtung die Trennung durch einen deutlichen Querstrich markirt.

Das Verbindungsstück besteht aus einem soliden Kern, einem sowohl kopf- als schwanzwärts scharf abgegliederten cylindrischen Stäbchen und einem ziemlich eng anliegenden blassen Mantel (Fig. 22). Eine complicirtere Struktur, etwa einen fibrillären, querstreifigen oder spiraligen Bau des Stäbchens, wie er sich bei anderen Spermatozoën findet, konnte ich nicht nachweisen, was übrigens nach den Erfahrungen von BALLOWITZ auch nicht zu erwarten war.

Auch in der Färbbarkeit unterscheidet sich das Verbindungsstück wesentlich vom Kopf und Schwanz. Mit den Kernfärbemitteln wie Fuchsin und Hämatoxylin etc. färbt es sich im Gegensatz zum Kopf nur wenig. Diese Thatsache legt bereits den Gedanken nahe, im Kopf des Samenfadens allein Kernbestandtheile, im Verbindungsstück und Schwanz aber cytoplasmatische Bestandtheile zu vermuthen. Dafür sprechen aber auch eine große Anzahl von neueren Untersuchungen über die Spermatogenese, so die von KOLOSSOW¹, KOROTNEFF², PRENANT³, PLATNER⁴ und namentlich die von F. HERMANN⁵ über die Histogenese der Samenfäden des Salamanders und der Maus, sowie die von HENKING⁶ bei Insekten. Nach diesen Autoren bethelligt sich am Aufbau des Verbindungsstückes auch der »Nebenkerne« der Spermatide und da dieser zum Theil wenigstens sicher dem Archoplasma BOVERI's entspricht, so drängte sich mir auch von diesem Gesichtspunkte aus die Vermuthung auf, dass im Verbindungsstück vielleicht eine Attraktionssphäre mit Centrosoma zu suchen sei, die dann durch den Samenfaden in das Ei eingeführt werde.

Wir besitzen nun, wie M. HEIDENHAIN⁷ gezeigt hat, ein vorzügliches

¹ A. KOLOSSOW, Beitr. zur Frage von der Entwicklung der Samenfäden bei Säugethieren. Med. Centralbl. Bd. XXX. 1888. p. 562.

² KOROTNEFF, Beitr. zur Spermatologie. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXI.

³ PRENANT, Observat. cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés. La cellule. T. IV. 1. fasc. 1888.

⁴ PLATNER, Beitr. zur Kenntnis der Zelle und ihrer Theilungserscheinungen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXIII. 1889.

⁵ F. HERMANN, Beitr. zur Histologie des Hodens. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIV. 1889.

⁶ HENKING, Über Reduktionstheilung der Chromosomen in den Samenzellen von Insekten. Internat. Monatsschr. für Anat. u. Phys. VII. 1890 u. diese Zeitschr. Bd. LI.

⁷ M. HEIDENHAIN, Über Kern und Protoplasma. KÖLLIKER-Festschrift. 1892.

Mittel, um die Centrosomen der Zellen different zu färben, nämlich die Eisenhämatoxylinfärbung von WEIGERT¹.

Ich war daher einigermaßen gespannt auf den Ausfall eines Versuches mit dieser Methode bei den Spermatozoën. Der Ausfall war entschieden überraschend: Das ganze Verbindungsstück, aber auch nur dieses, färbte sich intensiv schwarz, Kopf und Schwanz waren absolut farblos (Fig. 23).

Weitere Versuche zeigten mir übrigens, dass die Färbung durchaus nicht von der Anwendung »schwefelsauren Eisenammonoxydes«² oder wie wir nach der modernen Nomenklatur sagen würden: Ferri-Ammonsulfates oder des Eisenammonalauns ($NH_4 - SO_4 - Fe = SO_4$) als Beize abhängig ist, sondern ich erhielt die gleiche Reaktion auch mit anderen Ferrisalzen, z. B. mit Eisenchlorid (Fe_2Cl_6), ja auch mit Ferrosalzen, z. B. mit Eisensulfat ($FeSO_4$). Auch das Eisen ist nicht das Ausschlaggebende, die Färbung gelingt eben so gut mit anderen Metallsalzen, z. B. mit Kupfersulfat ($CuSO_4$).

Man lässt irgend eines dieser Salze in ca. 1/10iger Lösung (genau kommt es auf den Konzentrationsgrad nicht an) 1/2—2 Stunden (oder auch noch länger) auf das Trockenpräparat oder das in Sublimat fixirte Präparat wirken, spült mit gewöhnlichem Wasser ab und bringt nun das Präparat in eine Hämatoxylinlösung auf ca. 12 Stunden. Danach wird das Präparat unter öfterer Kontrolle mit dem Mikroskop in der vorher angewandten Beizlösung differenzirt und dann abgespült. Die verschiedenen Salze wirken verschieden rasch: das Eisenchlorid entfärbt sehr rasch, das Kupfersulfat hingegen langsam. Die so behandelten Präparate kann man dann noch mit beliebigen anderen Farben nachfärben. (Irgend welche Vorfärbungen zeigten sich von keinem Vortheil.)

So schlagend und unzweideutig die Thatsache dieser Reaktion des Verbindungsstückes ist, so unsicher ist ihre Deutung. Die Untersuchungen von WEIGERT, HERXHEIMER und M. HEIDENHAIN zeigen, dass außer den Centrosomen auch Nervenfasern, elastische Fasern, Chromatin und Nucleolen dieselbe Reaktion geben.

Dass die Färbung in unserem Falle auf nervöser oder elastischer Substanz beruht ist wohl einfach auszuschließen und wohl auch die Anwesenheit von Chromatin, wenigstens des gewöhnlichen Chromatins, wie wir es im Spermakopf finden, denn der wird bei der Methode vollständig entfärbt. Ob nicht aber vielleicht die Nucleolen der Spermotide in das Verbindungsstück eingehen und diese Reaktion hervorrufen,

¹ WEIGERT, Fortschritte der Medicin. 1885. Nr. 8 und HERXHEIMER, Fortschritte der Medicin. 1886. Nr. 24.

² M. HEIDENHAIN, l. c. p. 448.

das ist eine Vermuthung, die nicht ohne Weiteres von der Hand zu weisen ist.

Andererseits ist es aber ebenfalls höchst unwahrscheinlich, dass das ganze Verbindungsstück ein etwa in die Länge gezogenes Centrosoma darstellen sollte, da es viel zu groß dafür ist. Endlich könnte man auch noch an Archoplasma denken: Die Attraktionskugeln in den Körperzellen entfärben sich aber bei dem geschilderten Verfahren fast total. Ich versuchte es deshalb, durch weitere Differenzirung zur Darstellung feinerer Details im Verbindungsstück, etwa eines oder mehrerer Centrosomen zu gelangen, aber ich erhielt nur eine unregelmäßige, meist allerdings von außen nach innen (vom Mantel zum Stäbchen Fig. 22) und von vorn nach hinten fortschreitende totale Entfärbung des Verbindungsstückes. Bei dieser allmählichen Entfärbung wird demnach zuerst das schwarze »Verbindungsstäbchen« zwischen Kopf und Schwanz dünner, dann wird es konisch mit vorderer Spitze oder aber die Entfärbung geht in der Mitte schneller vor sich, dann entstehen biskuitähnliche Formen etc. und schließlich ist das ganze Verbindungsstück entfärbt. Es lässt sich daher über das Vorhandensein einer Attraktionskugel mit einem oder mehreren Centrosomen im Spermafaden und deren Lage durch diese Reaktion nichts ganz Bestimmtes aussagen, doch ist eben so wenig auszuschließen, dass das Archoplasma bei seiner Verwandlung in einen Samenfadenthail eine Modifikation erfährt, die es in seiner Reaktion der Metallsalz-Hämatoxylinfärbung gegenüber dem Centrosoma ähnlicher macht, dass mit anderen Worten eine kompaktere Archoplasmamodifikation vorliegt, die der Entfärbung hartnäckiger widersteht als das gewöhnliche, ausgebreitete Archoplasma der Körperzellen, so hartnäckig wie wir es sonst nur bei den Centrosomen sehen. Jedenfalls weist uns diese Reaktion, wenn wir überhaupt im Samenfaden eine Attraktionskugel und Centrosoma vorgebildet vermuthen, entschieden auf das Verbindungsstück hin¹. Wir werden im dritten Abschnitt (III. 4) sehen, dass diese Vermuthung durch das Verhalten des Samenfadens im Ei zur vollen Gewissheit erhoben wird, während umgekehrt die neuesten Untersuchungen über die Spermatogenese von BENDA² bei Säugethieren und Vögeln den vordersten Theil der Spermatozoen (Spitzenknopf, Kopf-

¹ Wie ich bereits in der vorläufigen Mittheilung (Anat. Anzeiger, 1892, p. 818) erwähnte, finde ich bei den menschlichen Samenfäden bei Anwendung der gleichen Methode Schwarzfärbung des hintersten Kopfendes und des sog. Mittelstückes.

² BENDA, Verhandlungen der physikal. Gesellsch. Berlin 1894/1892. Nr. 5 und Verb. des 6. Anatom. Kongresses in Wien 1892.

kappe, Vorderstück, Spieß) als »archiplasmatisch« nachzuweisen suchen und so die Befunde PLATNER'S¹ bei *Limax agrestis*, *Paludina vivipara* und Schmetterlingen (*Pygaera bucephala*) zu bestätigen scheinen.

Wie BALLOWITZ², so fand auch ich an den Verbindungsstücken sehr häufig Protoplasmaklumpchen anhängen, jedoch nicht mit der auffallenden Regelmäßigkeit wie er, so dass man sie wohl als zufällig hängen gebliebene Protoplasmareste aus den Hodenkanälchen zu betrachten hat. Durch verdünnte Salzsäure quellen die Verbindungsstücke bläschenförmig bis zu etwa $5\ \mu$ Breite auf; aber auch an anderen Präparaten findet man hier und da Verbindungsstücke, die in ihren hinteren Partien fast kugelförmig gebläht erscheinen, so dass weinpokalähnliche Formen entstehen.

An den Präparaten mit schwarzem Verbindungsstück ist auch der Spieß sehr deutlich zu erkennen; an solchen Präparaten erkannte ich ihn zuerst mit Sicherheit; denn hier endigt der Kopf meist mit einem allerdings winzig kleinen grauschwarzen Knöpfchen, aus dem dann der gänzlich farblose glänzende Spieß deutlich sichtbar hervorsticht (Fig. 23). Der Spieß ist wie oben angegeben etwa gerade so lang als das Verbindungsstück.

3. Der Schwanz.

Der Schwanz ist ein fadenförmiges Gebilde, dessen Länge 0,25 bis 0,30 mm, und dessen Breite am vorderen Ende ca $1,2\ \mu$ beträgt. Nach hinten verjüngt sich der Schwanz noch etwas und endigt mit einer ungemein feinen Spitze. Mit Karmin, Fuchsin, Methylviolett und Malachitgrün färbt sich der Schwanzfaden schwach, mit Hämatoxylin und Eosin aber intensiv.

Was am Schwanzfaden am meisten auffällt, ist entschieden die »undulirende Membran«. Es handelt sich hier, wie bei allen urodelen Amphibien nicht um einen »Spiralsaum«, wie ihn z. B. die Vogelspermatozoen besitzen, sondern wie LEYDIG³ zuerst erkannt hat, um eine einseitig der Konvexität des Hauptfadens entlang fest-sitzende, ungemein zarte, glashelle Membran, deren freier Saum zu einem isolirbaren Randfaden verdickt, Wellenform zeigt (Fig. 20 und 24). Mit Boraxkarmin färbt sie sich fast gar nicht, mit Hämatoxylin jedoch ganz gut. An den Wellenbergen ist demnach die

¹ PLATNER, Beitr. zur Kenntnis der Zelle u. ihre Theilungserscheinungen. I—VI. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXIII. — Samenbildung u. Zelltheilung im Hoden der Schmetterlinge. Ebenda.

² l. p. 554 c. p. 258.

³ LEYDIG, Die anuren Batrachier der deutschen Fauna. Bonn 1877.

Membran breit, an den Wellenthälern schmal; die einzelnen Lappen der »Wellenmembran«, wie ich sie kurz nennen will, liegen im Präparat anscheinend unregelmäßig, bald nach der einen, bald nach der anderen Seite umgeklappt (Fig. 20). Immer aber sieht man die Kontouren des Randfadens, wenn der Samenfaden nicht verdreht ist, nur auf einer Fläche des Hauptfadens vorüberziehen, auf der »Oberfläche« oder auf der »Unterfläche« desselben, die Membran ist eben, wie gesagt, nicht spiralig um den Hauptfaden herumgewickelt, sondern einseitig befestigt.

Die Wellenfigur ist übrigens keine Sinuskurve, sondern die Wellen sind unregelmäßig gekrümmt, oft fast eckig geknickt, zeigen sekundäre Einsenkungen etc. und sind überdies ungleich groß.

Die Wellenmembran erstreckt sich nach vorn nur bis zum Verbindungsstück (Fig. 20, 24, 22), dieses selbst bleibt vollkommen frei davon; auch nach hinten reicht sie nicht bis zum äußersten Schwanzende, sondern hört etwa 0,020—0,042 mm vor demselben auf (Fig. 20). Vorn entspringt der Randfaden aus der Mantelschicht des Schwanzanfangs dicht hinter dem hinteren Ende des Verbindungsstückes (Fig. 22); hinten schließt sich das Ende der Wellenmembran dem Endfaden des Spermatozoon an (Fig. 20 und 24). Die interessanten Beobachtungen von BALLOWITZ über die fibrilläre Struktur des Randfadens kann ich in vollem Umfang bestätigen: Auch ich finde sehr häufig den Randfaden von der Membran abgelöst und streckenweise in meist zwei gleich dicke, oft aber auch in eine ganze Anzahl feiner Fibrillen aufgefaset. In einem Punkte aber muss ich BALLOWITZ widersprechen; er sagt: »Diese subtile Beobachtung kann nur gemacht werden, wenn die oben angegebenen Bedingungen (Fäulnismaceration im Vas deferens, Ausspülen mit NaCl-Lösung etc.) genau erfüllt sind. Auch darf die Maceration nicht zu weit vorgeschritten sein, in vier bis sechs Tagen pflegt der fibrilläre Zerfall des Randfadens einzutreten. Natürlich gelingt nicht eine jede Maceration, man muss stets mehrere Thiere macerieren lassen. In derartigen Präparaten habe ich den fibrillären Zerfall des Randfadens sehr oft auf das deutlichste gesehen und auch demonstrieren können etc.« Wie bereits angeführt, konnte ich, im Gegensatz zu diesen Angaben von BALLOWITZ, den Fibrillenzerfall ganz ohne Weiteres zeigen an Zupfpräparaten von Axolotlspermätophoren. Dieser Umstand spricht aber gerade sehr zu Gunsten der BALLOWITZschen Ansicht, dass jener Zerfall nicht ein müßiges, zufällig auftretendes Kunstprodukt ist, sondern vielmehr auf eine funktionell bedeutungsvolle Struktureigenthümlichkeit

hinweist. Somit bildet mein scheinbarer Widerspruch gegen BALLOWITZ eine entschiedene Bestätigung seiner eigenen Anschauung.

Der eigentliche Schwanzfaden zeigt auf unseren Präparaten einen sehr einfachen Bau: er besteht aus einem Achsenfaden und einer Mantelschicht; eine Andeutung von Querstreifen, wie sie BALLOWITZ bei Anwendung der Fäulnismaceration sah, ist an meinen Präparaten nicht nachzuweisen. Der Achsenfaden schwillt vorn zu einem kleinen Knöpfchen an (Fig. 22), das mit dem Achsenstäbchen des Verbindungsstückes verkittet scheint. Mir macht es nicht den Eindruck, als ob der Achsenfaden des Schwanzes sich in das Verbindungsstück hinein fortsetzte, und das »Endknöpfchen« gewissermaßen nur kragenförmig den Achsenfaden am Übergang in das Verbindungsstück umgebe (wie in Fig. 69 von BALLOWITZ), sondern ich sehe eine deutliche Trennung zwischen dem Endknöpfchen des Schwanzachsenfadens und dem Achsenstäbchen des Verbindungsstückes (Fig. 22). Nach hinten verjüngt sich die Geißel, wie bemerkt, noch etwas und am hintersten Ende kann man Mantel und Achsengebilde kaum mehr unterscheiden.

Das Endstück bedarf noch einer besonderen Beschreibung (Fig. 20 und 24). Was den Bau dieses Geißelendes betrifft, so weichen meine Beobachtungen nur in Wenigem von dem, was BALLOWITZ gesehen, ab. Gegenüber der Anheftung der Wellenmembran finde ich beim Axolotl eine sich nur sehr blass färbende Membran, die BALLOWITZ für eine Steuervorrichtung hält und daher »Steuersaum« oder »Kielsaum« nennt. Dieser Steuersaum, der auch einer »Rückenflosse« vergleichbar ist, hat eine Länge von 0,04—0,05 mm, beginnt vorn ganz schmal (Fig. 24) und erhebt sich erst ganz allmählich zu einer Breite von 0,5—0,6 μ , die er ungefähr in der Mitte seines ganzen Verlaufes erreicht: diese Breite behält er dann bis kurz vor dem hinteren Ende bei, denn dies verläuft sich nicht so allmählich wie das vordere Ende, sondern der Kielsaum hört hinten ganz plötzlich, steil abgestutzt auf, und zwar ein klein wenig vor der Stelle, wo der Randfaden an den Hauptfaden herantritt (Fig. 20 u. 24). Die Differenz ist auch in meinen Präparaten sehr klein, aber doch etwas größer als in der Fig. 64 von BALLOWITZ. Während nun BALLOWITZ den Endfaden von hier an wesentlich als Fortsetzung des Randfadens zeichnet, sehe ich bei meinen Hämatoxylinpräparaten das Verhältnis umgekehrt: der Endfaden scheint da im Wesentlichen als die Fortsetzung des Hauptfadens, der Randfaden hingegen tritt als unwesentliches Accedens zur Mantelschicht des Endfadens, so weit man noch von einer solchen reden kann, hinzu. Von dieser Stelle aus misst das Geißelende ca. 12—20 μ . Die aller-

letzte Strecke (1,5—2,4 μ) wird aber eingenommen von einem ganz ungefärbten Fädchen (Fig. 20 u. 24), das häufig umgebogen erscheint, eine Thatsache, die für die BALLOWITZ'sche Auffassung spricht, der dies eigentliche »Endstück« als hüllenloses Ende des Achsenfadens betrachtet. Einen »Nebenfaden« fand auch ich bei den Axolotlspermatozoën nicht.

Außer diesen Eigenthümlichkeiten der freien Samenfäden des Axolotls habe ich noch zu erwähnen, dass ich einzelne Exemplare von »Zwillingspermatozoën« antraf, d. h. zwei Spermatozoën, die innig an einander angeschmiegt, parallel neben einander lagen, und an den Verbindungsstücken von einem protoplasmatischen Klümpchen gemeinsam eingehüllt waren. Auch fand ich im Ei einmal ein Spermatozoon, das anscheinend zwei Schwänze hatte, was DOYÈRE schon 1840 beobachtete, später GREEFF¹ bei den Artiscoiden, BÜTSCHLI² und LA VALETTE³ bei Chrysomeliden und Letzterer dann auch bei der Kröte gefunden haben.

Die Abscheidung des Samens beim Axolotl ist bereits von verschiedenen Autoren, so von DUMÉRIL⁴ schon 1867, von MALBRANC⁵, STIEDA⁶, GASCO⁷ und ZELLER⁸ beschrieben. Sie erfolgt nicht unmittelbar in die weibliche Kloake, sondern eingebettet in einen Gallertklumpen, den Spermatophor, auf den Boden des Gefäßes, in dem die Thiere gehalten werden. Die Spermatophoren des Axolotls sind sehr zierliche Bildungen; sie sind etwa einem umgekehrten Blumenstrauß mit reich gefalteter Manschette zu vergleichen; an dem Stielende, das also nach oben gekehrt ist, sieht man ein horizontal liegendes weißes Stiftchen, dessen eines Ende hakenförmig umgebogen ist. Die Gallertmasse quillt im Wasser nach der Ablage noch etwas auf und besteht aus vielfach durchflochtenen Fäden, die Mucinreaktion liefern.

Das Samenstiftchen besteht, wie schon MALBRANC gegenüber DUMÉRIL mit Recht hervorgehoben hat, nicht ausschließlich aus Samenfäden, sondern man findet darin auch protoplasmatische Massen als Ausfüllungs- und Einbettungsmittel und vereinzelte stark färbbare Kerne und Leukocyten ähnliche Gebilde.

¹ GREEFF, Archiv f. mikr. Anat. II. p. 102. 1866.

² BÜTSCHLI, Diese Zeitschr. Bd. XXI. 1874.

³ v. LA VALETTE St. GEORGE, Archiv f. mikr. Anat. Bd. X u. XII.

⁴ DUMÉRIL, l. p. 554 c. p. 328. ⁵ MALBRANC, l. p. 554 c. p. 137.

⁶ STIEDA, l. p. 532 c. p. 42 f.

⁷ GASCO, Les amours des Axolotls. Zool. Anz. 1884.

⁸ ZELLER, Über die Befruchtung der Urodelen. Diese Zeitschr. Bd. XLIX. 1890. p. 597 und ZELLER, Berichtigung, betr. die Samenaufnahme der weiblichen Tritonen. l. c. p. 744.

III. Die Befruchtung des Eies.

1. Der äußere Vorgang bei der Vermischung der Geschlechtsprodukte.

Über die Absetzung der Samenkegel und das Benehmen der Axolotl bei der Befruchtung haben erst die Untersuchungen von GASCO und von ZELLER¹ Klarheit gebracht. SPALLANZANI² glaubte, da er bei Wassersalamandern deren innere Befruchtung ohne Begattung mit Sicherheit nachgewiesen hatte, der männliche Same mische sich mit dem Wasser und gelange so in die Kloake des Weibchens; diese Ansicht wurde später auch von RUSCONI³ vertreten, doch nahm dieser neben der inneren Befruchtung auch noch eine äußere an. Trotz der Beobachtungen dieser beiden Autoren kehrte v. SIEBOLD⁴ wieder zur alten Ansicht zurück, dass auch bei den Urodelen doch eine echte Begattung erfolgen müsse, durch die der Same in die von ihm entdeckten Samentaschen des Weibchens gelange. Erst Gasco wies im Jahre 1884 mit aller Bestimmtheit nach, dass beim Triton alpestris und beim Axolotl der vom Männchen ins Wasser abgesetzte Same nachträglich vom Weibchen in aktiver Weise in seine Kloake aufgenommen wird. ZELLER konnte diese Thatsache bestätigen, nur weicht er in der Beschreibung des Vorganges in so fern ab, als er nicht glaubt, dass die Weibchen mit ihren Pfoten den Samen in ihre Kloake schaffen.

Nach ZELLER, und so weit ich den Vorgang verfolgen konnte, stimmen meine Beobachtungen mit denen ZELLER's überein, spielt sich die Befruchtung kurz so ab: Beim Eintritt der Brunst wird der sonst so ungemüht träge Axolotl aufgereggt, das Männchen mehr als das Weibchen; und zwar finde ich als allererstes Zeichen eine Art »Nervosität«: die Thiere erschrecken leicht und schnellen zuerst bei geringen Erschütterungen des Bassins etc., später auch ohne äußere Veranlassung, pfeilgeschwind im Bassin umher; das Männchen nähert sich dann auffällig dem Weibchen, es kriecht unter oder über ihm her, es berührt häufig das Weibchen, gewissermaßen streichelnd, während sich das letztere sehr ruhig verhält; nur wenn das Männchen in seinem Liebeswerben erlahmt, habe ich, ähnlich wie es ZELLER bei den Tritonen beobachtet hat, bemerkt, dass das Weibchen aus seiner scheinbaren Passivität erwacht

¹ ZELLER, l. c.

² SPALLANZANI, Expériences pour servir à l'histoire de la générat. des animaux et des plantes Genève 1785. p. 53 ff., 97, 144 ff.

³ RUSCONI, Amoures des Salamandres aquat. Mailand 1824. p. 34 und Histoire natur. de développem. et métamorphose de la Salamandre terrestr. Oeuvre posthum. inédit publié par Dr. J. MORGANGI. Pavia 1854.

⁴ v. SIEBOLD, Über das Receptaculum seminis der weiblichen Urodelen. Diese Zeitschr. Bd. IX. 1858. p. 463 ff.

und nun seinerseits durch allerlei Annäherung und Berührung etc. das Männchen zu erneuten Werbungen anfeuert. Nach diesem oft Stunden, ja Tage lang dauerndem Vorspiel setzt das Männchen mehrere Spermatothoren hinter einander auf den Boden ab, und dabei folgt ihm das Weibchen von hinten; langsam über die hinter einander aufgepflanzten Samenkegel hinweg schreitend drückt es einen Theil der Samenstiftchen durch eigenthümlich wiegende Bewegungen in die geöffnete Kloaken-spalte hinein, wo sie an den beim Axolotl über die Oberfläche hervorragenden Röhrchen des Receptaculum, wie ZELLER meint, festkleben. Auch die Beobachtung ZELLER's, dass mehr Samenkegel abgesetzt werden, als zur Befruchtung verwandt werden, kann ich bestätigen.

Nach ein bis zwei Tagen beginnt dann das Eierlegen, was ein paar Tage lang fort dauern kann. Die Eier werden mit Vorliebe an die Pflanzen oder an die Wände des Bassins angeklebt, fast immer fallen aber auch einige auf den Boden.

Die Befruchtung der Eier findet demnach bei dem Durchgang derselben durch die weibliche Kloake statt, indem sie dort mit dem in den Receptaculis aufgespeicherten Samen in Berührung kommen; übrigens bleiben, wie ich gleich hier bemerken will, immer eine große Anzahl von Eiern beim Axolotl unbefruchtet.

2. Die Penetration des Samenfadens ins Ei (Fig. 25—28 incl.).

Bald nachdem KÖLLIKER (vgl. p. 553) die Ansicht ausgesprochen hatte, dass die Samenfäden die alleinigen Träger der väterlichen Erbmasse bei der Befruchtung seien, nicht die Samenflüssigkeit, erfolgte im Jahre 1843 die berühmte Entdeckung BARRY's¹ von dem Eindringen der Samenfäden in das Ei. Die zuerst angezweifelte Beobachtung wurde dann in rascher Folge von verschiedenen Autoren bestätigt von MEISSNER², BISCHOFF³ und NEWPORT⁴ und später von AUG. MÜLLER⁵, HENSEN⁶, CALBERLA⁷, KUPFFER und BENECKE⁸, FOL⁹, O. HERTWIG¹⁰, VAN BENEDEN¹¹ u. A.

¹ BARRY, *Philosoph. Transact. der Royal Society* 1843. p. 33.

² MEISSNER, *Zeitschr. für rat. Medicin. N. F. IV.* 1853. p. 404 und diese Zeitschrift. Bd. VI. 1855. p. 246. ³ BISCHOFF, *Bestätigung etc.* Gießen 1854.

⁴ NEWPORT, *Philosoph. Transact. Royal Society* 1854. No. 144. p. 229.

⁵ AUG. MÜLLER, *Beobachtungen über die Befruchtungserscheinungen im Ei der Neunaugen.* Festschrift. Königsberg 1864.

⁶ HENSEN, *Zeitschr. für Anat. und Entw.* I. 1876. p. 221.

⁷ CALBERLA, *Diese Zeitschr.* Bd. XXX. 1877.

⁸ KUPFFER u. BENECKE, *Der Vorgang der Befruchtung am Ei der Neunaugen.* Festschr. Königsberg 1878. ⁹ FOL, *Recherches sur la fécondat.* Genf 1879.

¹⁰ O. HERTWIG, *Morphol. Jahrb.* I., III. u. IV. *Beitr. zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung u. Theilung des thier. Eies.* 1877.

¹¹ VAN BENEDEN, *La maturation de l'oeuf, la fécondation et les premières phases*

Durch alle diese Autoren wurde festgestellt, dass bei der Befruchtung sicher ein oder mehrere Spermatozoën in das Ei eindringen, und zwar nicht nur in die Dotterhaut, sondern durch dieselbe hindurch in den Eikörper selbst; hier aber entzogen sie sich dann freilich der weiteren Beobachtung, wenigstens konnte bislang bei keinem Ei einer höheren Thierklasse das Schicksal des Spermatozoon und seiner einzelnen Theile verfolgt werden. So sagt HENSEN¹: »Es ist jedenfalls sicher, dass Niemand das Samenkörperchen nach dem Eindringen klar hat verfolgen können, es entzieht sich in der Dottermasse dem Blick.«

Ja man ist noch nicht einmal über die Frage einig, ob der ganze Samenfadens eindringt, oder ob der Schwanz draußen bleibt. Über das Schicksal der einzelnen Theile vollends sind nur Vermuthungen laut geworden; so gab SELENKA² vor Jahren an, aus dem Mittelstück des Samenfadens werde ein Kern, die übrigen Theile lösten sich auf. VAN BENEDEN protestirte gegen die direkte Verwandlung des Samenfadens in den Spermakern, O. HERTWIG dagegen vertheidigte dieselbe. Wir werden sehen, dass auch hier unser werthvoller mexikanischer Gast, der Axolotl, mit seinen großen Elementartheilen als Lückenbüßer eintreten kann, wengleich auch bei ihm natürlich die Verfolgung der Samenfäden im Ei eine sehr schwierige Aufgabe bleibt. Die an sich geringe Wahrscheinlichkeit, dass man einmal ein längeres Samenfadensstück in einen Schnitt bekommt, kann nur durch Verarbeitung einer sehr großen Zahl von Eiern erhöht werden. Immerhin wird es auch bei sehr reichlichem Material sehr viel häufiger sein, dass wir auf einem Schnitt nur ein ganz kleines Stück eines Samenfadens finden, namentlich auch desshalb, weil sich die Spermatozoën selbstverständlich nie nur in einer Ebene bewegen.

Nachdem die Samenfäden durch die Gallerthüllen eingedrungen sind, finden sie, wie oben angedeutet, das Ei noch von einer dicken und einer dünnen Membran umgeben und außerdem meist noch von einer größeren oder kleineren Perivitellinkappe an der schwarzen oder an der weißen Seite überzogen vor. Das Ei hat die erste Richtungstheilung vollständig vollzogen und sich für die zweite vorbereitet, wir finden die zweite Richtungsspindel eben beim Übergang der Schleifen vom Äquator zu den Polen hin, also im Übergang des Äquatorialplattenstadiums zum Diasterstadium.

du développement embryonnaire des mammifères, d'après des recherches faites chez le lapin. Journal de Zoologie. T. V. p. 40. 1876.

¹ HENSEN, Die Zeugung. Handbuch der Physiol., herausgeg. von L. HERMANN. 1884. p. 127.

² SELENKA, Zool. Studien. I. Leipzig 1878 und Beob. über die Befruchtung u. Theilung des Eies bei Toxopneustes. Vorläuf. Mittheilung. Erlangen 1877.

Eine Mikropyle existirt nicht, weder in der inneren, noch in der äußeren Dotterhaut. Die Dotterhäute erscheinen rings herum vollkommen homogen und gleich stark. Überhaupt mehren sich ja in der Litteratur immer mehr die Angaben über das Fehlen der Mikropyle im Thierreich.

Es durchbohren oder durchstechen nun ein oder mehrere Samenfäden mit ihrem harten Spieß die zwei Dotterhäute an ganz beliebiger Stelle, meist aber allerdings am schwarzen Feld.

Die Durchbohrung geschieht nicht immer in ganz senkrechter (Fig. 25 u. 26), sondern manchmal sogar in sehr schräger Richtung. Das Einbohren scheint manchmal in gerader Linie (Fig. 25 u. 26), meist jedoch in korkzieherartigen ziemlich engen Windungen zu erfolgen, wie aus Fig. 27 zu ersehen ist; man hat daher wohl anzunehmen, dass die Geradstreckung der Samenfäden (Fig. 25 u. 26) erst beim Absterben eintrat.

Sofort erfolgt offenbar eine Trennung der Dotterhaut von der eigentlichen Eihaut und ein Erguss von Eiplasma zwischen die beiden hinein (Fig. 25—28). Dies Eiplasma sieht ganz eben so aus wie das oft im Eierstock bereits ausgeschiedene Perivitellin, bei unserer Behandlung fast farblos und macht einen schaumigen Eindruck. Diese Eiplasmaschicht hat eine Dicke von ca. 33 μ .

Unter der eigentlichen Eihaut bildet sich an der Eintrittsstelle des Samenfadens eine trichterförmige Einsenkung der oberflächlichen eventuell stark pigmentirten Dotterschicht, die mit Eiplasma gefüllt ist (Fig. 26—28). Die Dimensionen dieses Trichters sind verschieden groß; seine Länge beträgt etwa 15—30 μ , seine Basis etwa 30—60 μ im Durchmesser. Dieses Eiplasma ist im Gegensatz zu der Perivitellinkappe zwischen den zwei Dotterhäuten ziemlich intensiv gefärbt, namentlich in der äußeren Schicht, und ist in dieser regelmäßig deutlich gestreift, der innere Theil des konischen Plasmatrofens ist oft ganz hell und nicht so kompakt als der äußere. Die Streifung bin ich geneigt für eine Gerinnungserscheinung zu halten.

Dass wirklich der »plasmatische Empfängniskegel« wie wir die Ausfüllung des Penetrationstrichters nennen können, unter der eigentlichen Eimembran gelegen ist, darf ich mit Sicherheit behaupten, da sehr häufig an den Rändern des Empfängnis- oder Penetrationstrichters die Eimembran, wo sie vom Dotter abgehoben ist, eine Falte, eine Knickung zeigt (Fig. 26 und 27), die man nicht gut etwa als fester geronnene Grenzschicht ansehen kann. Namentlich wäre es aber unverständlich, warum sich die beiden Flüssigkeiten, die der Perivitellinkappe und die des Empfängniskegels nicht vermischt haben

sollten, wenn keine Membran zwischen ihnen läge, denn, dass es sich um physikalisch so differente, nicht mischbare Substanzen, wie etwa Öl und Wasser handeln könnte, ist doch wohl auszuschließen.

Einen Plasmaustritt, »Etraovat« nach Roux benannt, in die Risse und Spalten des Dotters an der Penetrationsstelle eines »pathologisch polyspermen« Eies hat auch BORN¹ gesehen.

Dieser mit Flüssigkeit erfüllte Empfängnistrichter ist offenbar die eigentliche Ursache der von VAN BAMBEKE² bereits vor über 20 Jahren beschriebenen »Dotterlöcher«, wenigstens passt nur auf sie dieser Name. VAN BAMBEKE hat allerdings unter dem Namen auch andere Bildungen, die weiter unten (p. 569 ff.) zu beschreibenden Pigmentstraßen mit begriffen. Dass unser »Empfängniskegel« in irgend einer Analogie steht zu dem Empfängnishügel KUPFFER's, wage ich nicht bestimmt zu behaupten (cf. p. 604).

Die Samenfäden im Stadium des Eindringens finde ich vorzugsweise auf der weißen Hälfte des Eies; ob diese Thatsache eine reine Zufälligkeit ist oder ob vielleicht das Eindringen auf der weißen Seite später erfolgt, oder etwa wegen der größeren Dotterelemente länger dauert, vermag ich nicht anzugeben.

3. Verhalten des Samenfadens im Ei (Fig. 25—33).

Beim Eintritt in das Empfängnisplasma quillt der Samenfaden mehr oder weniger plötzlich auf, wie es Fig. 26—28 zeigen.

Von da ab ist der Spermafaden erheblich schwerer in den Dotter hinein zu verfolgen.

Von der Wellenmembran ist auch auf der früheren Strecke nichts zu bemerken, nur einmal glaubte ich eine Andeutung davon zu sehen (Fig. 25). Dass nichts von ihr zu sehen ist, kann nicht wunderbar erscheinen, da wir sahen (p. 560), dass sich auch beim isolirten Samenfaden die Wellenmembran mit Boraxkarmin fast gar nicht färbt und durch salzsauren Alkohol bei richtiger Einwirkung natürlich vollständig entfärbt wird. Mit Hämatoxylin jedoch würde sich dieselbe gewiss nachweisen lassen, denn es ist selbstverständlich nicht zu bezweifeln, dass die spiralige Vorwärtsbewegung des Samenfadens in den Dotter hinein durch die Undulation der Wellenmembran bewirkt wird. Ich will nicht versäumen, dies besonders hervorzuheben, da z. B. CALBERLA³ angegeben hat, dass der Samenfaden beim Neunauge nur passiv durch einen Eiplasmafaden in das Innere des Eies hineinge-

¹ BORN, Biologische Untersuchungen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXVII.

² VAN BAMBEKE, Sur les trous vitellins. Bull. de l'Acad. Roy. de Belg. Brüssel 1870.

³ CALBERLA, I, p. 565 c.

zogen werde. Auch KULTSCHITZKY¹ nimmt (bei *Ascaris marginata*) an, dass bei der Verlagerung des Spermatozoons das Eiprotoplasma eine größere Rolle spiele als die Eigenbewegungen der Samenzelle; BRAUER² gar verlegt (bei *Branchipus*) die »befruchtende Kraft«, die die Spermatozoen in das Ei treibt, in den Uterus, da den Spermatozoen, die bei *Branchipus* kleine Zellen darstellen, jede Eigenbewegung fehle, eine Angabe, die mir allerdings a priori sehr unwahrscheinlich erscheint.

Bei dem Eindringen des Samenfadens in den Dotter wird (auf der schwarzen Eihälfte) von der benachbarten pigmentirten Rindenschicht ein beträchtlicher Trichter nach innen mitgerissen. Durch den so entstehenden Pigmentzapfen wird das Aufsuchen der Samenfäden im Ei wesentlich erleichtert. Im Pigmentzapfen scheint um den Samenfaden herum auch eine Eiprotoplasmaansammlung zu bestehen, gewissermaßen die Fortsetzung des Empfängniskegels. VAN BAMBEKE³ sah schon von den oben erwähnten Dotterlöchern aus namentlich auf Durchschnitten diese Pigmentstraßen ausgehen. Ja vielleicht hat schon REMAK⁴ im Jahre 1854 den Ursprung der Straßen gesehen, als er von »dunkeln Punkten« sprach auf dem braunen Felde beim Laubfrosch. Freilich hat er auch das Richtungsgrübchen für eine analoge Bildung gehalten. REMAK meint sogar, dass schon PRÉVOST und DUMAS⁵ dieselben geseher hätten; VAN BAMBEKE freilich sagt, diese Autoren sprächen nur von der Richtungsstelle.

Übrigens konnte VAN BAMBEKE auch im Jahre 1876 die Löcher und Pigmentstraßen noch nicht mit aller Sicherheit als die Sameneintrittsstellen beweisen; er konnte es nur sehr wahrscheinlich machen, durch verschiedene Gründe, namentlich auch deshalb, weil er sie niemals bei Eiern von isolirten Weibchen fand. Daraus übrigens, dass er sie auch bei solchen Eiern fand, die er aus der weiblichen Kloake extrahirte, schloss er auf die Richtigkeit der Angabe GEGENBAUR'S⁶, dass bei den Urodelen eine wirkliche Begattung stattfände. Wie oben (p. 564) bereits erwähnt, wissen wir jetzt, dass diese Angabe für den Axolotl nicht zutrifft, dass aber trotzdem die Befruchtung in der Kloake stattfindet, übrigens sogar eintreten kann bei monatelang separirten Weibchen in

¹ KULTSCHITZKY, Eireifung und Befruchtungsvorgang bei *Ascaris marginata*. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXII. p. 674.

² BRAUER, l. p. 540 c.

³ VAN BAMBEKE, l. p. 568 c.

⁴ REMAK, Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbelthiere. Berlin 1854. p. 130.

⁵ PRÉVOST u. DUMAS, l. p. 534 c.

⁶ GEGENBAUR, Grundzüge der vergl. Anat. 2. Aufl. Leipzig 1870.

Folge der guten Konservirung der Spermatozoën in den Receptacula seminis des Weibchens.

Die pigmentirten protoplasmaerfüllten Samenstraßen finden sich bei allen pigmentirten Amphibieneiern.

Auch bei den Reptilien scheinen übrigens ähnliche Gruben und Straßen von den eindringenden Spermatozoën hervorgebracht zu werden, nur sind sie nicht pigmentirt. Ich glaube nämlich, dass die »trichterförmigen«, plasmaerfüllten »Dellen« und »Gruben« unter der Dotterhaut und die sich tief in das Ei hineinerstreckenden »Gänge«, die OPPEL¹ beschreibt, mit den Pigmentstraßen der Amphibien in Parallele zu stellen sind, wenn auch freilich OPPEL diese Parallele nicht zieht, ja sogar die Straßen bei den Amphibien gar nicht erwähnt und bei der Blindschleiche sogar an Artefacte durch die Reagentien denkt. Ähnliche Protoplasmastraßen finden sich scheint's auch bei Insekten nach HENKING² und bei Branchipus nach BRAUER³, der aus dem Auftreten derselben auf eine anfängliche raschere Bewegung der Samenzellen durch den Dotter schließen zu dürfen vermeint. Bei den Selachiern hingegen finden sich nach RÜCKERT⁴ nur ganz oberflächliche Gruben.

Weiterhin dringt der Samenfaden, die Dotterkörner bei Seite schiebend, normalerweise meist ganz gerade gegen das Eicentrum vor. Immer wird er dabei von Pigment umhüllt und es drängt sich uns die Frage auf, woher dies Pigment stammt. Die meisten Autoren scheinen zu glauben, dass es ausschließlich der Rindenschicht entstammt, dass die Pigmentstraße gewissermaßen vom Samenfaden eingestülpt sei, dass sie so zu sagen ein in das Eiinnere vorgestülptes Stück pigmentirter Rinde sei.

Daran ist aber wohl aus folgenden Gründen nicht zu denken: es wäre erstens schlechterdings nicht einzusehen, warum das Spermatozoon mit seinem Spieß nicht auch die lockere Pigmentrinde sollte durchbohren können, nachdem es die zwei Gallerthüllen und die zwei Dotterhäute, zum Theil sehr kompakte Membranen, anstandslos durchbohrt hat. Ferner müsste in diesem Fall die Pigmentstraße im Inneren zwei scharfe Grenzlinien, den früheren Oberflächenkontour erkennen lassen und es müsste ferner nachgewiesen werden, dass die Pigmentrinde des Eies verschieblich ist und dass man nach dem Eindringen

¹ OPPEL, Befr. des Reptilieneies. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIX. 4892. p. 213.

² HENKING, Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorg. bei den Insekten. I. Diese Zeitschr. Bd. XLIX.

³ BRAUER, l. p. 540 c. p. 37.

⁴ RÜCKERT, Über physiol. Polyspermie beim meroblastischen Wirbelthierei. Anat. Anz. 4892. p. 322.

des Samenfadens und der Einstülpung des Oberflächenpigmentes hauptsächlich eine Verschiebung der Pigmentrinde seitlich von der Penetrationsstelle beobachten kann. Gegen eine derartige Einstülpung spricht ferner der Umstand, dass die Pigmentstraße auch auf dem Durchschnitt oft viel schwärzer ist als es dem betreffenden Theil des Pigmentfeldes, dem die Einstülpung entstammen müsste, entspricht. Endlich sieht man manchmal den Samenfaden der Pigmentstraße voraneilen (Fig. 27). HERTWIG¹ glaubt die Erklärung unschwer in Folgendem geben zu können, er sagt:

»Die Entstehung der Straße erklärt sich leicht in der Weise, dass von der pigmentirten Rindenschicht ein vom Kern ausgezogener Theil sich abschnürt und mit nach dem Centrum wandert; hierbei lösen sich Pigmentkörnchen von Stelle zu Stelle ab und lassen so noch später die Straße erkennen, auf der die Einwanderung des Spermakerns erfolgte.« In welcher Weise freilich die Abschnürung vor sich gehen soll, giebt HERTWIG nicht an, und auch gegen seine Erklärung scheinen mir die beiden zuletzt angeführten Thatsachen zu sprechen. Welch enormer Pigmentklumpen müsste durch das Spermatozoon oder vielmehr wie HERTWIG und ROUX ausdrücklich annehmen, nicht durch den Samenfaden, sondern durch den Spermakern »ausgezogen und abgeschnürt« sein, dass durch die sich »von Stelle zu Stelle ablösenden Pigmentkörnchen« eine so kompakte Pigmentstraße zu Stande käme!

Ich glaube vielmehr, dass wir bei der Bildung der Pigmentstraße an drei verschiedene Faktoren zu denken haben.

Erstens wird gewiss beim Eindringen des Samenfadens in den Dotter, das offenbar ziemlich rasch erfolgt, eine von der Peripherie ins Innere gehende Strömung auftreten, die gewiss im Stande ist, von der Oberfläche einiges Pigment auch aus der Nachbarschaft der Penetrationsstelle in das Innere zu befördern, »mitzureißen«, wie ich oben p. 569 mich ausdrückte. Dadurch entsteht der Pigmenttrichter und darauf scheinen auch einzelne Bilder in meinen Präparaten zu deuten, bei denen das Pigment an der Empfängnisstelle etwas gelockert erscheint.

Zweitens aber wird man annehmen müssen, dass vom Samenfaden auch eine anziehende Wirkung auf das Pigment ausgeübt wird, wofür sich auch BORN² und ROUX³ ausgesprochen haben. Ersterer glaubt übrigens bei bastardirten polyspermen Eiern gesehen zu haben,

¹ O. HERTWIG, l. p. 565 c.

² BORN, l. p. 568 c.

³ ROUX, Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryos. IV. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXIX. 1887. p. 170.

dass durch die Anziehung des Pigmentes von Seiten der Spermakerne die Umgebung an Pigment verarmte, so dass dadurch »weiße Flecken« in der Nachbarschaft entstanden.

Drittens endlich kann man aber auch wohl die Annahme kaum abweisen, dass durch den Samenfadens auf das Protoplasma ein Reiz zur Pigmentbildung ausgeübt wird, denn die Pigmentstraßen erscheinen thatsächlich manchmal so groß und dicht, dass man sie nicht einfach durch Herbeiströmen aus der Nachbarschaft erklären kann. Namentlich spricht, glaube ich, eine Thatsache sehr dafür, wenn BORN sie auch nicht in der Beziehung verwerthet, der Umstand nämlich, dass BORN bei dem wenig pigmentirten Ei von *Pelobates fuscus* an den Penetrationsstellen doch ganz schwarze Flecke fand, ohne dass er im Umkreis eine besonders helle Zone bemerkte. Ein anderer Umstand spricht freilich scheinbar gegen diese Annahme, die Thatsache, dass bei den am weißen Feld eindringenden Samenfäden sich meist kaum Andeutungen einer Pigmentstraße finden. Ganz fehlen aber die Andeutungen nicht, so beobachtete auch BAMBEKE bereits »Dotterlöcher« im weißen Feld als grauliche Flecken. Die schwächere Pigmentirung der Samenstraßen auf der weißen Hälfte kann dadurch bedingt sein, dass das Eiprotoplasma dort zu der Zeit eben kein oder nur wenig Pigment bildet, denn man wird kaum glauben dürfen, dass die normale Pigmentanhäufung am oberen Feld lediglich eine Folge geringerer specifischer Schwere des Pigmentes ist, da sie sich schon vor der Ablage der Eier ausbildet.

Die Straße ist wie oben bemerkt, meist auf das Centrum des Eies gerichtet. Daher kommt sie bei unserer Schnittmethode, wobei das Ei in lauter tangentialer mit der Eiachse paralleler Scheiben zerlegt wird, immer in mehrere Schnitte zu liegen, außer dann, wenn der Sameneintritt gerade im Äquator stattgefunden hat; dann enthält der größte Schnitt des betreffenden Eies die ganze Straße vom Anfang am Rand bis zum centralen Ende derselben, vorausgesetzt dass der Schnitt ziemlich dick ist.

Abweichungen von der radiären Richtung der Straße scheinen hauptsächlich bei solchen Samenfäden vorzukommen, die dicht bei dem Eikern eingedrungen sind. In solchen Fällen ist die Richtung der Straße meist gegen den Eikern hin abgelenkt.

Die Straße ist nie scharf begrenzt und lässt immer mehr oder weniger deutlich die Windungen des Samenfadens durch stärkere oder schwächere Pigmentanhäufung erkennen. Sie zeigt eine Breite von ca. 33μ ; VAN BAMBEKE, der mit ganz schwachen Vergrößerungen arbeitete, fand sie erheblich schmaler ($8-16 \mu$).

Der Samenfadens ist innerhalb der Pigmentstraße fast

immer nur sehr undeutlich zu erkennen, seine einzelnen Theile kaum zu unterscheiden. Er befindet sich in gequollenem Zustand und macht sich mit dem ihn umgebenden Eiplasma als rothe, opake, mit Pigmentkörnchen fast ganz beklebte Masse bemerkbar.

Nachdem der Samenfaden so eine Strecke weit in mehr oder weniger gerader Richtung ins Innere vorgedrungen ist, biegt er plötzlich meist in rechtem oder gar in spitzem Winkel um (Fig. 29 u. 30), die Pigmentstraße erhält eine scharfe Knickung, ein deutliches Knie (Fig. 31—33).

Diese Umbiegung des Samenfadens geschieht, nachdem er im Durchschnitt (aus einer bedeutenden Anzahl Messungen berechnet) ca. $\frac{1}{4}$ des Eiradius ins Innere zurückgelegt hat, d. h. in einem Abstand von der Eiperipherie = 289μ . VAN BAMBEKE fand die absolute Länge der Straße etwas kürzer, er maß vom Anfang der Straße bis zum Ende, bis zu der »kernartigen Erweiterung mit Strahlenkranz« (d. i. offenbar Spermakern und Attraktionskugel) 264μ , fügt aber hinzu, dass dies etwa $\frac{1}{4}$ des Eiradius entspräche, also ganz mit unserem Befund übereinstimmend. ROUX führt 16 Messungen der Länge des radiären Verlaufes der Pigmentstraße, die er »Penetrationsbahn« nennt, an, die sich meist zwischen 260 und 390μ bewegen, also ziemlich gut auch zu den Verhältnissen beim Axolotl stimmen.

Die Länge des umgebogenen Stückes von der Knickungsstelle aus beträgt aber nur ca. 60 — 100μ , ist also etwas kleiner als die durchschnittliche Länge des ganzen Samenfadenkopfes. Der quere Schenkel der Pigmentstraße ist noch weniger scharf gegen den übrigen Dotter abgegrenzt als der radiäre Theil; man könnte daran denken, dass in diesem Theil die Nachströmung etc. von der Oberfläche her keine Rolle mehr spielt, oder aber, dass sich der Chemismus des Samenfadens dahin ändert, dass er nicht mehr die gleiche ansammelnde Wirkung auf das Pigment ausübt wie vorher. Dass solche plötzliche Änderungen in Gewebstheilen vorkommen, beweist die Untersuchung F. HERMANN'S, der bei der Spermatogenese der Maus beobachtete, dass die Spermatozoenköpfe in einem gewissen Stadium ihr Verhalten gegen Gentianaviolett und Safranin plötzlich umkehren.

In einem folgenden Stadium lockert sich an der Spitze des Stiefels das Pigment bedeutend und es tritt eine sehr merkwürdige Erscheinung ein, der Kopf und die vordersten Schwanztheile kommen außerhalb des Pigmentes in eine Plasmaanhäufung und zwar sehr oft gerade auf die Innenseite des queren Pigmentschenkels, zum Theil (meist nur die Schwanztheile) parallel mit ihm zu liegen (Fig. 35, 37, 39, 40). Wie sind sie aus dem Pigment herausgekommen?

Dass der vordere Theil des Samenfadens sich etwa durch Seitenbewegungen aus dem Pigment herausgewunden habe, ist schon von vorn herein unwahrscheinlich, weil man die Samenfäden sonst sich immer nur vorwärts bewegen sieht; aber auch die Lage von Kopf und Schwanz spricht mit Bestimmtheit dagegen. In der Plasmaanhäufung liegt nämlich stets der Kopf bereits von der »Stiefelspitze« abgewendet, der Schwanz der Spitze noch anhängend. Auch dass etwa das vorhanden gewesene Pigment durch eine nachträgliche Eiplasmaansammlung verdrängt sei, ist nicht anzunehmen, weil nicht einzusehen wäre, warum das Plasma sich nur von der inneren (centralen) Seite her ansammeln und so alles Pigment nur nach außen zum queren Schenkel verdrängen sollte.

Man ist vielmehr wohl berechtigt, sich den Vorgang folgendermaßen zu denken: Der Samenfaden schlüpft, nachdem sich der Kopf zuerst quer gelegt (Umbiegung—querer Schenkel der Pigmentstraße), aus dem Pigmentstiefel heraus und wendet sich dabei noch einmal scharf um, macht diesmal, militärisch ausgedrückt, vollkommen »kurz kehrt«; zugleich tritt eine Ansammlung von Eiplasma um Kopf und Verbindungsstück ein, rascher als das Pigment nachdringen oder ringsum angezogen herbeiströmen oder an der Stelle gebildet werden kann. Beiläufig bemerkt, spricht auch diese Thatsache wieder sehr gegen eine Art Einstülpung des Pigmentes von der Oberfläche her.

Jetzt erfolgt aber noch eine letzte, eine dritte Drehung des Kopfes, er wendet sich nämlich merkwürdigerweise nun auf einmal wieder der Oberfläche des Eies zu. Diese letzte Drehung scheint aber in verschiedenem Abstand von der zweiten zu erfolgen. Im einen Fall folgt sie der zweiten unmittelbar auf dem Fuße, so dass der sich zur Oberfläche wendende Kopf sich noch durch die Spitze des Pigmentstiefels hindurchbohrt, mit dem Schwanz also eine ganz enge Schleife bildet, in anderen Fällen windet sich der Samenfaden nach seiner zweiten Biegung »an der Stiefelspitze« auf der Innenseite des queren Pigmentschenkels an diesem rückwärts bis zur Knickungsstelle und wendet sich dort erst der Peripherie zu; so kann es vorkommen, dass der Kopf gerade wieder im geraden Schenkel der Pigmentstraße angetroffen wird, aber jetzt in umgekehrter Richtung, d. h. mit dem Spieß nach der Peripherie. In wieder anderen Fällen endlich tritt die dritte Drehung erst ein, nachdem der Samenfaden auf dem Rückweg von der Stiefelspitze her schon an der Knickungsstelle der Pigmentstraße (am »Stiefelabsatz«) vorbei gekrochen ist, dann wird der Kopf auf der anderen Seite der Penetrationsbahn wie die »Stiefelspitze« gefunden. In diesem Falle, und das scheint die Regel, hat der Samenfaden eine große Schleife beschrieben,

die Samenfadenbahn bildet eine Art L-förmige Figur, nur dass beide queren Schenkel etwas nach der Oberfläche hin gebogen sind. Fast immer findet nachträglich noch eine mehr oder minder deutliche Ansammlung von Pigment um den Kopf herum statt, so dass in dem zuletzt erwähnten, wohl die Regel bildenden Fall in einem gewissen Stadium die Pigmentstraße, wie das schon VAN BAMBEKE gesehen und abgebildet hat, gabelig getheilt erscheint in einen primären und einen sekundären queren Schenkel. Der Pigmentstiefel erhält einen Sporn (Fig. 31 und 32). Der primäre Schenkel scheint oft bald wieder zu verschwinden; das Pigment rückt dann dem ins Innere strebenden Spermakern nach (Fig. 33).

Diese eigenthümliche Umwendung des Samenfadens ist sehr schwierig festzustellen; die Deutung der Bilder in den Präparaten wird durch sie ungeheuer schwer. Die Bilder der verschiedenen Stadien scheinen sich vollständig zu widersprechen. Erst nachdem ich bei einer sehr großen Zahl von Eiern Schnitt für Schnitt das betreffende Samenfadenstück und seine Umgebung mit dem Zeichenprisma (zum Theil auf durchsichtiges Papier) abgezeichnet hatte, konnte ich die Gestalt und den complicirten Weg des Samenfadens durch Rekonstruktion in seinen Einzelheiten feststellen. Ich versuchte auch die Rekonstruktion durch eine Modifikation des Plattenmodellirverfahrens mittels Glasplatten.

Wenn man in dieser Weise in mehreren Hundert Schnitten die Samenfadenstückchen genau verfolgt und abgezeichnet und dadurch die sonderbaren Drehungen kennen gelernt hat, dann erlangt man allerdings eine ziemliche Sicherheit in der Erkennung der einzelnen Theile des Samenfadens auch in einzelnen Stücken. In der That kann man dann oft auf den ersten Blick ein Stück Kopf an seiner intensiv rothen Färbung oder, wenn es größer ist, an seiner allmählich zugespitzten Gestalt erkennen und von den immer weit blasser, matter gefärbten, opak erscheinenden und dünneren Schwanzstücken unterscheiden.

Ich habe mich sehr bemüht, eine Gesetzmäßigkeit in der Richtung der Pigmentumbiegung, des »Pigmentstiefels«, zu ergründen. Ich habe bei einer großen Zahl von Eiern genaue Notizen über das Verhältnis des Pigmentwinkels zur Lage des Eikernes gemacht, was übrigens auch mit einigen Schwierigkeiten verknüpft ist, da beim Auflegen der Schnittbänder es doch hier und da einmal passirt, dass man die Schnitte nicht alle auf dieselbe Seite oder besser, auf dieselbe Fläche legt. Es genügte daher nicht, etwa nur flüchtig nachzusehen, ob die Pigmentstraße auf die Seite des Eikerns zielt, der ja nicht immer ganz polar liegt, sondern es musste bei den betreffenden Schnitten, die

den Eikern bezw. das Pigmentknie enthielten, immer sorgfältig konstatiert werden, ob sie auf der gleichen oder ungleichen Fläche liegen. Doch die Mühe war vergeblich, es besteht beim Axolotl keine Gesetzmäßigkeit in dem erwähnten Verhältnis, das umgebogene Ende ist ohne Beziehung zum Eikern, bald auf ihn zu, bald von ihm weg gerichtet, also zielt den obigen Angaben entsprechend der Spermakopf umgekehrt bald vom Eikern weg, bald auf ihn zu (vgl. Fig. 34—33, wo der Samenkern immer auf der vom Eikern abgewandten Seite liegt). Hervorzuheben ist dabei noch, dass von einem direkten »Zielen« des Knies auf den Eikern natürlich gar keine Rede sein kann, weil ja der letztere zur Zeit der Knieausbildung noch ganz an der Peripherie liegt.

Bei den Anuren hingegen fand Roux das Pigmentknie seinem Gesetz über die Kopulationsrichtung entsprechend, stets auf den Eikern gerichtet und nennt daher den umgebogenen Theil der Pigmentstraße im Gegensatz zum geraden (zur »Penetrationsbahn«), die »Kopulationsbahn«. Jede Abweichung von diesem auf den Eikern gerichteten Verlauf hält Roux für pathologisch. Doch hat überhaupt die Krümmung der Pigmentstraße beim Frosch den Roux'schen Abbildungen (außer etwa auf Roux's Fig. 6 und 7) zufolge einen wesentlich anderen Charakter als beim Axolotl. Das Knie ist beim Frosch bedeutend sanfter gekrümmt und die Straße reicht viel tiefer ins Eiinnere hinein. Nur ausnahmsweise finde ich auch beim Axolotl kein scharfes Knie, sondern eine sanfte, bogenförmige Krümmung, wie es scheint, nur in Fällen, wo das Eindringen dicht beim Eikern erfolgt.

Was überhaupt diese Drehung des Samenfadens beim Axolotl zu bedeuten hat, scheint mir einstweilen noch vollständig räthselhaft. Da sie mit der Copulationsrichtung beim Axolotl scheinbar nichts zu thun hat, könnte man daran denken, dass der Faden in der betreffenden Schicht durch die Dotterkörnchen, die dort dicker werden, abgelenkt würde, aber die Kaliberzunahme der Dotterkörner ist eine ganz allmähliche, nicht auf eine bestimmte Zone beschränkte und überdies müssten dann die im weißen Feld eindringenden Samenfasern, die sich ja von Anfang an zwischen den großen Dotterkörnern hindurchzubewegen haben, nicht abgelenkt werden, sie müssten geradeaus auf das Eicentrum oder etwa den Eikern zustreben. Das ist aber entschieden nicht der Fall, auch im weißen Theil des Eies sehen wir dieselbe Querdrehung des Samenfadens (Fig. 29 und 30) und nachfolgende Rückwärtswendung des Kopfes eintreten.

Eine andere Erklärung oder vielmehr eine Umschreibung der Thatsache ist die, dass man sagt, die Drehung findet desshalb

statt, weil die von uns im Verbindungsstück vermuthete Attraktionssphäre (vgl. II. Abschnitt) bei dem weiteren Vormarsch ins Innere an die Spitze gesetzt werden, dem Spermakopf vorausgehen soll.

Bemerkenswerth scheint mir der Umstand, dass BÖHM bei der Neunaugenbefruchtung, die sonst, namentlich was die Verhältnisse des Chromatins betrifft, so wesentlich anders verläuft, auch eine vollständige Drehung der Spermatomeritenkette beiläufig erwähnt, die der unsrigen vielleicht analog ist. Auch bei den Reptilien scheint nach OPPEL'S Abbildungen (OPPEL'S Fig. 48) an ähnliche Drehungen gedacht werden zu können (vgl. auch p. 584). Ja auch beim Kohlweißling fand HENKING¹ eine Knickung des Samenfadens, die der unsrigen vollständig entspricht; freilich denkt sich HENKING die Entstehung der Knickung rein passiv durch Zug des »Arrhenoids« entstanden, der Samenfaden sei geknickt wie ein Halm, der von dem Bug eines Kahn's mitgeführt werde.

Wenn diese verschiedenen Beobachtungen sich wirklich entsprechen, dann darf man annehmen, dass die Drehung des Samenfadens einen weitverbreiteten und gewiss nicht bedeutungslosen Vorgang bei der Befruchtung darstellt, der sich vielleicht bei allen den Samenfäden findet, deren Archoplasma im Mittelstück, nicht in der Kopfspitze enthalten ist.

4. Bildung der Attraktionssphäre und des Samenkernes

(Fig. 34—40).

Nach diesen Drehungen, ca. eine Stunde nach der Eiablage (in Wasser von ca. 14° C.), beginnt ein neues Stadium: Aus dem Verbindungsstück entwickelt sich eine schöne Plasmastrahlung, eine Attraktionssphäre und zwar auf folgende Weise: Zuerst wird das Verbindungsstück ganz hell und quillt immer mehr auf (Fig. 34, 35, 36), so dass es etwa olivenähnlich zu nennen ist, ganz ähnlich wie wir es manchmal auch bei den freien Spermatozoen beobachtet haben mit oder ohne Salzsäurezusatz (p. 560). Schon jetzt treten aus dem Verbindungsstück mit Ausnahme der Stelle, wo es am Kopf befestigt ist, glänzende Plasmastrahlen hervor. Das Verbindungsstück scheint sich dann kugelförmig aufzublähen, doch verschwinden bei diesem Vorgang bereits die Kontouren, man sieht nur mehr die nach allen Seiten ausgehenden glänzenden Strahlen, die sich gegen das Centrum so eng zusammendrängen, dass man sie nicht bis zum »virtu-

¹ HENKING, l. p. 570 c. p. 528.

ellen Durchschnittspunkt« verfolgen kann, in der Mitte bleibt eine anscheinend homogene, kompakte Kugel von ca. 3μ Durchmesser. Die Kugel erscheint bei oberflächlicher Einstellung wie mit feinsten Tröpfchen besetzt, man sieht die von dort abgehenden Strahlen in perspektivischer »Verkürzung« (Fig. 36 u. 39). Nach außen können die Strahlen so weit die Plasmaanhäufung reicht, also in einem Umkreis von ca. 50 bis 60μ Durchmesser verfolgt werden; weiterhin werden sie durch die Pigment- und Dotterkörner verdeckt und es lässt sich deshalb nicht feststellen, ob sie sich dort etwa mit Balken des Eiprotoplasmanetzes verbinden oder aber selbständig bleiben. Das Erstere scheint wahrscheinlicher, weil wir sehen, dass sich weit über den Plasmahof hinaus in großem Umkreis die Dotter- und Pigmentkörnchen, den Sphärenradien entsprechend, strahlig anordnen; freilich ist die Strahlung nur sehr zart, nur bei genauerer Betrachtung erkennbar (vgl. Fig. 34—33 und 41, 42). Beiläufig mag erwähnt werden, dass die Strahlen manchmal nicht ganz gerade verlaufen, sondern bogenförmig, als ob sich das Centrum um sich selbst gedreht hätte, die Strahlen aber in der Peripherie befestigt gewesen wären, so dass also eine wirbelähnliche Figur entsteht.

In seltenen Ausnahmefällen beginnt die Ausbildung der Sphäre schon vor der Umbiegung des Samenfadens, dann erscheint die Pigmentstraße gar nicht gebogen.

Trotz eifrigsten Suchens ist es mir nicht gelungen ein eigentliches Centrosoma mit Sicherheit in der Attraktionssphäre nachzuweisen. Musste es schon von vorn herein sehr zweifelhaft erscheinen, da sich ja die Centrosomen mit unserer Methode durchaus nicht auffallend färben, so kommen außerdem bei unserem Objekt noch die Dotter- und Pigmentkörnchen als großes Hindernis für die Auffindung dazwischen. Wenn man ein oder zwei »Körperchen« im Centrum der Strahlensonne findet, wie das manchmal der Fall ist, muss man in erster Linie an zufällig dort gelegene kleinste Pigment- oder Dotterkörnchen denken. Vielleicht wird mit der von uns bei den Samenfäden (p. 557 f.) besprochenen Metallsalz-Hämatoxylinmethode der Nachweis doch noch gelingen.

Überdies ist aber das Auftreten eines Centrosomas auf diesem Stadium gar nicht mit Bestimmtheit zu erwarten, denn auch VAN BENEDEEN und BOVERI fanden bei *Ascaris* zu dieser Zeit noch keines, erst bei der Bildung des ersten Furchungskernes; auch OPPEL fand kein solches bei den Reptilien. BÖHM freilich giebt an, beim *Petromyzon* ein Centrosoma gesehen zu haben, doch ist die Abbildung desselben (BÖHM's Fig. 49 und 24) nicht absolut überzeugend. Er beschreibt es als »ein kleines kugeliges, ungefährt, klares Körperchen, welches einem Polkörper-

chen einer Spindel etwa ähnelt«; über die Herkunft desselben äußert er sich nicht. Ähnliche Angaben macht BRAUER bei Branchipus, indem er sagt: über die Herkunft der Strahlungen und Centrosomen könne er leider nichts Bestimmtes sagen; sie träten erst auf, wenn die Samenzelle bereits eine kleine Strecke weit von der Oberfläche entfernt sei und seien zuerst einfach und auf der Außenseite (also hinter dem Kern, dem Hals der geschwänzten Samenfäden entsprechend, der Verf.) des Kernes gelegen; dann seien sie doppelt auf gegenüberliegenden Seiten des Kernes; bei Pikrinessigsäurepräparaten seien die Centra der Strahlen dunkel, also wohl Centrosomen vorhanden, bei Sublimatpräparaten aber hell. Leider bildet BRAUER kein Pikrinpräparat, und somit kein Centrosom ab. Auch ich finde bei einem Präparat ein derartig helles Centralkörperchen (?) (Fig. 38).

Da übrigens später bei der Furchung auch bei unserer Methode Centrosomen sichtbar werden, so ist anzunehmen, dass in ihnen, falls sie jetzt schon vorhanden, bis zur Furchung doch noch chemische Veränderungen vor sich gehen.

Es entsteht hier die Frage, ob man anzunehmen hat, dass die ganze Strahlensonne in dem vorher schmalen, cylindrischen Verbindungsstück eingekapselt gesteckt hat und wie eine Rakete plötzlich herausgestoßen wird, so sehen in der That die Bilder in den Präparaten oft aus, oder ob sich auch das Eiplasma dabei betheiligt und sich etwa die präformirten Fäden desselben nur jetzt strahlig anordnen? Bei ersterer Annahme müsste man glauben, dass die Substanz des Verbindungsstückes ungeheuer komprimirt, ganz kompakt gewesen sei und sich nun zu einer ganz lockeren Masse entfalte, ähnlich wie ein Wassertropfen plötzlich fein zerstäuben und sich so auf einen weit größeren Raum vertheilen kann.

Die meisten Autoren waren bisher geneigt, dem Dotter eine wesentliche Mitbetheiligung an der Entwicklung der Strahlung und des Spermakernes zuzuschreiben.

So sagt HERTWIG: »Die Radienfigur erklärt sich aus der Anziehung, die der Kern auf das homogene Protoplasma ausübt. Die Dotterplättchen und die Pigmentkörner werden passiv aus der Nachbarschaft des Kernes verdrängt, sie ordnen sich natürlich auch radiär, da sie die Interstitien zwischen den Plasmastrahlen erfüllen.« BORN geht so weit, dass er annimmt, wenn mehrere Spermaköpfe neben einander liegen, reiche der Dotter nicht aus und deshalb trete in diesen Fällen keine Strahlung und Spermakernbildung ein. Auch OPPEL tritt für eine Mitbetheiligung des protoplasmatischen Netzwerkes im Ei bei der Spermastrahlung ein.

Ich hingegen glaube, dass der überwiegende Theil der ganzen

innerhalb des Plasmahofes befindlichen Strahlung dem Verbindungsstück entstammt; dass sich weiter außen allerdings diese Strahlung mit den Protoplasmafäden der Eizelle in Verbindung setzt, die sich ja auch strahlig anordnen. Wo freilich die Grenze zwischen beiden ist, das vermag ich nicht anzugeben. Durch diese Ausstrahlung der Substanz des Verbindungsstückes und wohl auch durch eine Ansammlung plasmatischer Flüssigkeit an dieser Stelle, werden die Dotter- und Pigmentkörner verdrängt, so dass der Plasmahof entsteht. Weiter außen, jenseits des Hofes, ordnen sich dann die Dotter- und Pigmentkörner zwischen und, wie ich im Gegensatz zu HERTWIG annehme, auf den Ei-plasmastrahlen ihnen innig anklebend auch mehr oder weniger radiär an. Dabei möchte ich hervorheben, dass durchaus nicht alle Dotterkörner in radiäre Reihen geordnet sind, so dass man geradezu vielleicht annehmen darf, dass nur längs der Protoplasmastrahlen die Körner sich radiär aufreihen, zwischen denselben aber ungeordnet durch einander liegen (cf. Fig. 41 u. 42).

Offenbar entspricht HENKING's »Arrhenoid« beim Kohlweißling, ja vielleicht auch die dem männlichen Kern bei *Euplotes patella* vorauswandernde Plasmamasse von MAUPAS¹ der aus dem Verbindungsstück sich entwickelnden Sphäre beim Axolotl.

In dem nun folgenden Stadium schnürt sich der Kopf von der Attraktionssphäre ab (Fig. 38 und 39) und es gehen in ihm chemische oder physikalische Veränderungen vor sich, die ihren sichtbaren Ausdruck in einer sehr intensiv rothen Färbung (bei unserer Methode) finden, einem Verschwinden des Glanzes, einem »bröckelig« oder »krümelig« werden und in einer Schrumpfung desselben, was nach den Beobachtungen HENKING's² auch bei *Pieris* der Fall ist. Nun kleben ihm massenhaft Pigmentkörnchen an, während er vorher ganz oder fast ganz frei davon war. Der Spieß scheint sich bei diesen Veränderungen gar nicht zu betheiligen, er ist bei seiner großen Feinheit und Farblosigkeit im Dotter und Pigment natürlich überhaupt kaum zu sehen. Er hat, nachdem er die Dotterhäute durchspießt, durchstoßen hat, offenbar seine Rolle ausgespielt und fällt der Resorption anheim. Der übrige Theil des Kopfes aber gestaltet sich allmählich etwa zwei Stunden nach der Eiablage zu einem rundlichen oder ovalen, zuerst recht kleinen Kern, den wir in Anlehnung an O. HERTWIG »Samenkern« nennen wollen. Er hat ca. 7μ im Durchmesser und das Chromatin scheint in ihm als Kerngerüst ausgebreitet (Fig. 40). Bei den Anuren

¹ MAUPAS, La rajeunissement karyogamique chez les ciliés. Archives de zoologie expériment. LACAZE-DUTHIERS. Sér. II. 1889. No. 4—3.

² HENKING, l. p. 570 c. p. 529 f.

vermuthet Roux einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Entstehung des Pigmentknies und der Vollendung der Samenkern - Ausbildung. Beim Axolotl hingegen sehen wir die Drehung des Spermatozoon, wie bereits bemerkt, sogar noch vor Entwicklung der Sphäre, bedeutend vor dem Beginn der Spermakernbildung erfolgen.

Nach dem im Vorhergehenden Gesagten ist es ganz selbstverständlich, dass der Samenkern, hier wenigstens, nicht, wie das früher oft schematisch abgebildet wurde, das Centrum der Strahlung darstellt; er liegt vielmehr neben dem Strahlencentrum, die Strahlen gehen eben nicht, wie man früher annahm, vom Kopf bezw. vom Spermakern aus, sondern vom Verbindungsstück. Offenbar liegen die Verhältnisse beim Neunauge und bei den Reptilien ganz analog, denn BÖHM und OPPEL bilden auch den Kopf seitlich von der Strahlung liegend ab; freilich ist bei diesen Objekten der Nachweis der verschiedenen Theile des Samenfadens und ihrer Schicksale im Ei noch nicht gelungen. Ich glaube aber, dass dieser Nachweis durch die relativ klaren Verhältnisse beim Axolotl wesentlich erleichtert werden wird, ja ich möchte jetzt schon glauben, dass in dem Verhalten des Axolotlsamenfadens auch der Schlüssel liegt, z. B. zum Verständnis der eigenthümlichen Fig. 48 OPPEL's; ich glaube nämlich, dass es sich dabei um ein Spermatozoon handelt, dessen Kopf sich zur Oberfläche zurückgewendet hat und bei dem der Kopf sich eben zum Spermakern, der Hals oder das Mittelstück aber zur Sphäre entwickelt.

Nachdem wir so das Schicksal des Kopfes und des Verbindungsstückes des Samenfadens, ihre Umbildung zum Spermakern und zur Attraktionssphäre genau verfolgt haben, erübrigt es uns noch, das Schicksal des Schwanzfadens festzustellen. Während viele Autoren das Eindringen des Schwanzfadens ins Ei überhaupt leugneten oder nur theilweise zugaben, bin ich der Ansicht, dass beim Axolotl zweifellos der ganze Schwanzfaden in das Ei gelangt (die Länge der Pigmentstraße bis zur Spitze des primären Querschenkels beträgt schon fast 400μ), ja ich gehe so weit zu behaupten, dass normaliter die Umwandlung des Verbindungsstückes und des Kopfes in Sphäre und Kern erst erfolgt, nachdem der ganze Schwanzfaden im Ei geborgen.

Morphologisch ist aber sein Eindringen vollkommen bedeutungslos, er löst sich von der Sphäre ab (Fig. 37 u. 40) und geht vollständig zu Grunde, fällt, wie der Spieß, der Resorption, der Assimilation durch das Eiprotoplasma anheim.

Die Auflösung des Schwanzes geht in der Weise vor sich, dass er zuerst erblasst und sich vom Verbindungsstück bezw. der Sphäre ablöst, das Anfangsstück wird ganz glänzend, so dass man es nur schwer

von den Sphärenstrahlen unterscheiden kann. Auch von den hinteren Schwanzstücken erhalten sich noch längere Zeit gequollene Reste innerhalb der Pigmentstraße (Fig. 39).

5. Die Wanderung des Samenkernes zur Copulation (Fig. 44—44).

Der kleine Samenkern umgibt sich mit einer Membran und wandert nun in das Eiinnere, jedoch nicht genau auf das Centrum, sondern fast immer mit Ablenkung nach dem Eikern hin. Die Ortsbewegung geschieht offenbar durch eigene amöboide Bewegungen, denn man sieht häufig am Kern pseudopodienartige Fortsätze (Fig. 43 u. 44). Dabei wird von dem Samenkern das ihn umgebende Pigment durch die Strömung mechanisch mitgerissen, doch ist auch hier wohl die Annahme nicht zu umgehen, dass der Kern auf das Pigment seiner jeweiligen Nachbarschaft auch eine Anziehung ausübt oder gar das ihn umgebende Protoplasma zur Pigmentbildung reizt. Das Pigment ist bei dem Kern im Inneren des Eies zwar ziemlich locker, aber genügt doch gerade, einen sehr störenden Einfluss auf die Deutlichkeit der Bilder, auf die Erkennung der feineren Details, auszuüben. Auch das Pigment an der Pigmentstraße erscheint zu dieser Zeit erheblich gelockert und man darf wohl annehmen, dass es eben zum Theil dem Kern ins Innere gefolgt ist. Bei dieser Wanderung wächst der Kern sehr stark (vgl. Fig. 40 und Fig. 44), jedoch bin ich auch hier trotz Ausführung einer großen Zahl von Messungen nicht im Stande ein bestimmtes Gesetz über die Beziehung zwischen der Kerngröße und dem Abstand von der Eioberfläche aufzustellen. Das Verhältnis scheint hier individuell fast noch verschiedener zu sein als beim Eikern. Unter den gleichen Voraussetzungen und Einschränkungen wie dort (p. 552) kann die folgende Tabelle als ungefähre Maßstab dienen für das Wachstum des Samenkernes und seiner Beziehungen zur Entfernung von der Peripherie.

	Kernabstand:	Kerngröße:	
1)	230 μ	48,0 μ^2 ($\rho = 4,0 \mu$)	
2)	237 μ	98,0 μ^2 ($R = 6,6 \mu$; $r = 4,95 \mu$)	
3)	260 μ	204,2 μ^2 ($\rho = 8,25 \mu$)	
4)	290 μ	294,0 μ^2 ($R = 14,35$ $r = 6,60 \mu$)	
5)	360 μ	359,2 μ^2 ($R = 13,2$ $r = 9,07$)	
6)	408 μ	455,4 μ^2 ($R = 13,2$ $r = 11,5$)	
7)	460 μ	554,4 μ^2 ($R = 14,0$ $r = 13,2$)	
8)	473 μ	661,6 μ^2 ($\rho = 14,85$).	

Wir sehen daraus, dass der Radius des Samenkernes wie der des Eikernes um mehr als das Dreifache wächst, der Flächenraum also auch um mehr als das Neunfache und der Kubikinhalte um mehr als das

27fache. In den von uns gewählten Beispielen, die der Mehrzahl der Fälle entsprechen, ist zwar eine fortwährende Größenzunahme zu bemerken, dieselbe erfolgt aber nicht ganz proportional der durchwanderten Wegstrecke und es ist hervorzuheben, das sich bei manchen Eiern im Inneren kleinere Samenkern finden als bei anderen Eiern weiter draußen, und dass der größte von mir überhaupt gemessene Kern (von $664,6 \mu^2$) nur 473μ von der Peripherie entfernt war, also etwa gerade das Doppelte von der Länge der »Penetrationsbahn«, während ein anderer, der fast 700μ tief lag, bedeutend kleiner war. Ob die Kernvergrößerung, wie HERTWIG annimmt, nur auf einer Imbibition mit Kernsaft, auf einem reinen Aufquellen, oder aber auf Wachstum durch Assimilation von Stoffen aus dem Ei beruht, das ist hier selbstverständlich eben so wenig als beim Eikern mit Sicherheit zu entscheiden, doch scheint mir Letzteres wahrscheinlicher.

Die Struktur des Kernes ist an unserem Objekt natürlich nur unvollkommen zu erkennen. Der Kerninhalt ist zuerst dem letzten Aussehen des Samenkopfes entsprechend intensiv roth gefärbt, lässt ein feines chromatisches Netzwerk und eine chromatische Membran erkennen, im weiteren Verlauf der Wanderung aber erhält auch er in unseren Präparaten das Aussehen des Eikernes, wird blasser und feinstkörnig in seinem Inneren. (Nur selten gewinnt der Kern später ein hellbläschenförmiges Aussehen.)

Während der Samenkernwanderung gehen mit der Attraktionsphäre bedeutende Veränderungen vor sich. Dieselbe zieht ihre Strahlen ein, ballt sich zusammen zu einer intensiv rothgefärbten Kugel oder zu einem unregelmäßig gestalteten, abgerundet eckigen Klumpen, ganz ähnlich wie die von BOVERI bei *Ascaris* abgebildeten »Archoplasmaklumpen« (Fig. 43 und 44). Zuerst ist das Archoplasma aber immer noch das Centrum einer mehr oder weniger deutlichen strahligen Anordnung des Eiplasmas und der Dotter- und Pigmentkörnchen rings herum.

Die Attraktionssphäre macht die Wanderung mit und zwar geht sie dem Spermakern dabei voran, wie das FOL¹ auch beim Seeigel beobachtete.

Früher oder später, das ist individuell verschieden, tritt eine Theilung der Sphäre ein, die in der Weise vor sich geht, dass sich der rothe kuglige Körper zu einem hantelförmigen Gebilde auszieht (Fig. 44), der sich dann in zwei Kugeln trennt. Dabei theilt sich

¹ FOL, Recherches sur la fécondat. et le commencement de l'hénogénie chez divers animaux. Mém. de l. Société de phys. et d'hist. nat. de Genève. XXVI. 1879 und Archives physiques et naturelles. Genf 15. Okt. 1883.

die umgebende Strahlung auch, doch ist sie in diesem Stadium meist überhaupt nicht mehr sehr ausgesprochen; je deutlicher die Strahlung um so kleiner die Archoplasmakörper, die manchmal auch stäbchenförmig erscheinen können (Fig. 42); je weniger Strahlen mehr sichtbar sind, um so größer, kugliger die Archoplasmaklumpen (Fig. 41, 43—46). Somit stimmen meine Beobachtungen beim Axolotl überein mit denen von VEJDOWSKÝ¹ bei Rhynchelmis, der auch eine Theilung der Spermosphäre, oder, wie er sie nennt, des »Periplastes« fand, während Eikern und Spermakern noch weit von einander entfernt sind. Den beiden Attraktionsklumpen scheint einstweilen keine bestimmte Stellung zum Samenkern in seitlicher Beziehung zuzukommen; um beide Gebilde, Kern und Archoplasmakörper bildet sich jetzt ein lichter Hof, der von zarten Plasmabälkchen durchzogen ist (Fig. 43 und 44), die mit dem Archoplasmakörper in Verbindung zu stehen scheinen.

6. Beziehungen zwischen Eikern und Samenkernausbildung.

Gleichzeitig mit den eben beschriebenen Vorgängen der Ausbildung und Wanderung des Samenkernes, haben sich die weiter oben besprochenen Vorgänge an dem Kern des Eies, die zweite Richtungs- theilung, die Bildung des »Eikernes« und seine Wanderung abgespielt.

Ob und in weit diese Veränderungen gegenseitig von einander abhängig sind, das ist noch immer in Dunkel gehüllt. BORN² hat das Verdienst, diese Frage zuerst einer experimentellen Prüfung unterworfen zu haben, doch hat er bis jetzt nur makroskopisch verfolgt, ob »unreife Eier« bereits befruchtungsfähig sind oder nicht. BORN's Versuche scheinen die Frage zu bejahen, aber es zeigte sich, dass die unreifen Eier längere Zeit bis zur Furchung brauchen als die reifen. Man ist daher berechtigt anzunehmen, dass in BORN's Versuchen die Eier doch zuerst ihren Reifeprocess vollendet haben, bevor die Befruchtung erfolgte. Um die angeregte Frage allgemein gültig zu beantworten, ist daher eine mikroskopische Untersuchung unerlässlich: es ist genau festzustellen, wie sich das Spermatozoon dem Kern der Eizelle in den verschiedenen Reifestadien gegenüber verhält, ob der Samenfaden überhaupt in das Ei eindringt, bevor das erste Richtungskörperchen ausgestoßen und, falls ein Eindringen stattfindet, ob sich ein Samenkern ausbildet vor den beiden Richtungs- theilungen des Eizellkernes oder ob gar eine Vereinigung des Samenkernes mit dem

¹ l. p. 540 c.

² BORN, Die Reifung des Amphibieneies und die Befruchtung unreifer Eier bei Triton taeniatus. Anat. Anzeiger Nr. 23, 24, 25. 1892.

Kern der Eizelle vor der zweiten oder vor beiden Richtungstheilungen erfolgen kann, wclch Letzteres natürlich höchst unwahrscheinlich ist.

Wenn wirklich solche Differenzen in der Befruchtungszeit gefunden würden, könnte daran gedacht werden, dass dieselben mit der Entstehung des Geschlechts in Zusammenhang stehen, wie das von THURY¹ behauptet ist; er giebt an, dass sich aus den frühzeitig befruchteten Eiern Weibchen, aus den spät befruchteten Männchen entwickeln. Auf diese Verhältnisse wäre also bei einer Untersuchung der Beziehungen zwischen Eireife und Befruchtung auch eventuell Rücksicht zu nehmen. Was nun unsere Beobachtungen beim Axolotl betrifft, so haben wir als Regel gefunden, dass (wie p. 547 bemerkt) niemals das zweite Richtungskörperchen vor der Befruchtung ausgestoßen wird, sondern dass wir am selben Präparat fast stets einerseits die Attraktionssphäre in Ausbildung, und den Spermakopf in Umwendung zur Oberfläche, andererseits die zweite Richtungsspindel in Metakinese und dann im Diasterstadium antrafen; mit der Umwandlung des Samenkopfes in den Samenkern sahen wir dann fast immer die Abschnürung der zweiten Richtungszelle und die Ausbildung des Eikernes Hand in Hand gehen. Aber es verzögert sich hier und da die zweite Richtungstheilung, so dass wir auf der einen Seite bereits den Samenkern zu wandern beginnen sehen, auf der anderen das zweite Richtungskörperchen noch nicht ganz abgeschnürt. Der umgekehrte Fall, Verzögerung der Samenkernbildung gegen die Eikernentwicklung, ist sehr selten, woraus man schließen könnte, dass wohl die Ausbildung des Eikernes von der des Samenkernes abhängig sei, nicht aber die Ausbildung des Samenkernes von der des Eikernes; doch ist die Entscheidung dieser Frage natürlich nur auf dem Wege der von BORN begonnenen Experimente möglich.

Bisher scheinen mir übrigens die Thatsachen entschieden für eine Abhängigkeit der Richtungstheilungen von der Befruchtung und somit für eine Fernwirkung des Spermatozoon zu sprechen. Ich glaube, dass wir nicht umhin können, das Eindringen des Samenfadens mit der Einwirkung eines Fermentes zu vergleichen, und zwar mit der Wirkung der nach A. FICK'S² Anschauung fernwirkenden Gerinnungsfermente. Bei deren Einwirkung braucht, wie A. FICK gezeigt hat, nicht jedes Molekül der betreffenden Flüssigkeit mit dem Ferment selbst in Berührung zu kommen, sondern die Wirkung pflanzt sich bei ihnen »explosionsartig« in der betreffenden Masse

¹ THURY, Über das Gesetz der Erzeugung des Geschlechts. Leipzig 1863.

² A. FICK, Über die Wirkungsart der Gerinnungsfermente. PFLÜGER'S Archiv. Bd. XLV. 1889.

von Molekül zu Molekül fort. So würde es erklärlich, dass unmittelbar nach dem Eindringen des Samenfadens z. B. am weißen Pol, seine Wirkung sich bereits an dem weit entfernten Ort der Richtungsspindel zeigen kann.

7. Die Copulation zwischen Eikern und Samenkern (Fig. 45—47).

Bei der Wanderung der Kerne nach der Eimitte hat natürlich der Eikern stets eine größere Strecke zu wandern, denn der Samenkern hat ja einen Vorsprung von fast 200 μ , da er sich, wie wir sahen, am Ende der Pigmentstraße entwickelt. Man trifft daher meist den Eikern noch ganz nahe an der Peripherie, wenn der Samenkern sich schon tief im Eiinneren befindet (vgl. Fig. 31 u. 32).

Wie oben bereits angedeutet, scheinen sich die beiden Kerne nicht immer gerade in der Mitte zu treffen, sondern etwas excentrisch, namentlich wenn zufällig ein Samenfaden in der Nähe der Richtungsstelle in das Ei eingedrungen ist. Ganz dasselbe hat schon VAN BAMBEKE¹ abgebildet (l. c. Taf. XIV, Fig. 8 und 11), und neuerdings hat es auch BRAUER bei Branchipus gefunden.

Es gelangt dann der Eikern in den Pigmenthof des Samenkernes, und bei unserer Methode gelingt es auf keine Weise, die beiden Kerne durch das Aussehen von einander zu unterscheiden: sie sind beide fast genau gleich groß, gleich gestaltet, gleich stark gefärbt und auch in ihrer Struktur vollkommen identisch, wie das auch bei anderen Thieren der Fall ist (Fig. 45 u. 46).

Nur durch die Lage lässt sich manchmal noch eine sichere Entscheidung treffen, wenn der eine Kern mit Sicherheit auf der Pigmentstraßenseite liegend erkannt werden kann, der andere gegen das Richtungsgrübchen hin gestellt ist.

Die zwei Attraktionssphären liegen bei dieser »Conjugationsstellung« zwischen beiden (Fig. 45). Während mir von jedem der bisherigen Stadien meist zahlreiche, lückenlose Serien zu Gebote stehen, verfüge ich bei den nun folgenden bislang nur über eine kleine Anzahl von Präparaten, doch glaube ich nach den mir vorliegenden sagen zu können, dass die Attraktionssphären der ersten Furchungsspindel beide von der einen des Samenkernes abstammen. Ferner sehe ich bei zwei Präparaten bereits ein Bündel von Spindelfasern von den Sphären ausgesandt (deren Verhältnis zu den beiden Kernen des Pigmentes wegen leider nicht ganz klar gestellt werden kann), während die Kerne in Ruhe nahe bei einander in »Conjugationsstellung« liegen.

¹ VAN BAMBEKE, Nouvelles recherches sur l'Embryologie des Batraciens. Arch. de Biologie. Vol. I. 1880.

Bei einem anderen Präparat (Fig. 46) sind die Attraktionssphären noch kompakte kugelige Gebilde, von denen eine um den einen der beiden Kerne herum zu wandern scheint; die Kerne selbst aber zeigen einen ungemein dichten chromatischen Knäuel, der fast als ein einheitlicher Chromatinklumpen bezeichnet werden muss. Die Kernmembranen sind vom Chromatin weit abgehoben und stark gefaltet.

Eine vollkommene Verschmelzung der beiden Kerne, eine Copulation derselben im eigentlichen Sinne, habe ich nicht gesehen, aber eben so wenig eine getrennte Distraction der männlichen und der weiblichen Chromatinschleifen nach den beiden Polen der ersten Furchungsspindel oder eine Centrenquadrille im Sinne Fol's.

Was die fertige erste Furchungsspindel und die ersten Furchungsstadien betrifft, so kann ich nur die Beobachtungen von BELLONCI¹, KÖLLIKER² und O. SCHULTZE³ bestätigen, die ja auch bereits diese Stadien untersuchten und auch über Spindel und Attraktionssphären daselbst ausführlich berichtet haben. Ich gebe deshalb nur eine Abbildung einer quergetroffenen Äquatorialplatte der ersten Furchungsspindel (Fig. 47): man sieht im Präparat, dass die Anzahl der vollständig isolirten Chromosomen im Ganzen etwa 46 betragen mag; (auf dem in Fig. 47 abgebildeten Schnitt sind natürlich nicht alle Schleifen zu sehen).

In einigen Fällen konnte ich auch konstatiren, dass die erste Furche wirklich durch das Richtungsgrübchen, das noch die erste Richtungszelle enthält, hindurchgeht.

Die erste Furche tritt etwa drei Stunden nach der Eiablage auf.

Wegen der relativ kleinen Anzahl von Furchungsstadien, die meine Präparate enthalten, ist es mir leider nicht möglich, die Angaben Boveri's über die frühe Sonderung der Geschlechts- und Körperzellen beim Axolotl zu verfolgen, deren Bestätigung mir hier allerdings sehr schwer, ja überhaupt nicht gerade wahrscheinlich erscheint.

IV. Die Nebenspermatozoën.

Nachdem ich den normalen Verlauf der Befruchtung geschildert habe, darf ich es nicht unterlassen, besonders darauf aufmerksam zu machen, dass ich beim Axolotl ungeheuer häufig mehr als ein Spermatozoon eindringen sah und zwar bei den verschiedensten Eiablagen verschiedener Weibchen, bei Ablage im Frühjahr, im Sommer

¹ BELLONCI, l. p. 539 c.

² KÖLLIKER, Gewebelehre. 6. Aufl. Bd. I, p. 50—55 u. Würzburger Sitzungsberichte. 1889. Nr. 2.

³ O. SCHULTZE, Sitzungsberichte. 1887. Nr. 1.

und im Herbst; auch versäumte ich es nicht, fast bei jeder Eiablage einige Eier sich weiterentwickeln zu lassen; stets erhielt ich normale Embryonen bezw. kleine Axolotllarven, wenn ich auch freilich nicht beweisen kann, dass diese sicher aus »überfruchteten« Eiern hervorgegangen sind.

Allerdings ist es andererseits auffallend, dass immer auch eine größere oder kleinere Anzahl von Eiern bei der Ablage unbefruchtet bleibt und es gehörte nicht zu den kleinsten Verdrießlichkeiten bei meiner Untersuchung, dass ich gar oft, nachdem ich mit der großen damit verbundenen Mühe Eier enthülst, fixirt, in Serien geschnitten und aufgeklebt hatte, zu meinem großen Ärger sehen musste, dass die Eier nicht befruchtet waren. Ob diese Thatsache dadurch ihre Erklärung findet, dass wir es bei unseren Axolotln nicht mit ganz normalen, sondern mit lauter durch die künstliche Züchtung und das Leben in der Gefangenschaft degenerirten Thieren zu thun haben, oder dadurch, dass eben die Art und Weise der Befruchtung selbst eine unsichere ist, ungünstiger als bei anderen Amphibienarten, lasse ich dahingestellt. Beiläufig will ich erwähnen, dass sich in den nicht befruchteten Eiern bald eine Schrumpfung bemerkbar macht, wenigstens finde ich bei ihnen auffällig oft die äußere Dotterhaut von der Eihaut abgehoben.

Was aber die Polyspermie anlangt, so glaube ich entschieden behaupten zu müssen, dass diese für alle Axolotl, nicht nur für unsere Würzburger Exemplare, charakteristisch und typisch ist, denn auch VAN BAMBEKE fand ja bereits vor über 20 Jahren bei den von ihm untersuchten Axolotleiern Polyspermie. Er fand bis zu zwölf Dotterlöcher in einem Ei. Ja es ist nicht auszuschließen, dass auch REMAK¹ oder gar schon PRÉVOST und DUMAS² polysperme Eier von Amphibien vor sich hatten (vgl. p. 569). An meinen Präparaten finde ich bis zu neun Samenfäden im Ei. Es finden sich übrigens, wie schon mehrfach angedeutet, nicht alle »Dotterlöcher« auf der schwarzen Hälfte, sondern sehr häufig einige auch auf der weißen Seite, was auch schon VAN BAMBEKE in seiner mehrfach citirten Arbeit mit der Lupe beobachtet hat. Beim Frosch hingegen sollen nach ROUX die Samenfäden nur an der schwarzen Hälfte eindringen. Beim Krötenei jedoch, dessen helle Seite allerdings auch ziemlich stark pigmentirt ist, hat BORN auch dort »pathologisch« eingedrungene Spermafäden gefunden.

Die »im Weißen« eingedrungenen Samenfäden können ungeheuer leicht übersehen werden, weil ihre Penetration nur von geringer oder gar keiner Pigmentansammlung begleitet ist; erst bei größerer Übung

¹ REMAK, l. p. 569 c.

² PRÉVOST u. DUMAS, l. p. 534 c.

gelingt es, auch bei flüchtiger Durchsicht der Serien, solche »weiße Spermatozoën« zu erkennen. Sehr häufig entwickeln sich die weißen Eindringlinge nicht weiter, sie quellen im Dotter auf und verschwinden bald wieder. Am leichtesten erkennt man ihre Gegenwart, wenn man auf den Rand des Eies achtet, an der Eiplasmaansammlung, die zwischen die zwei Dotterhäute hinein an der Penetrationsstelle sich bildet (Fig. 25 und 26), doch ist dieser »Empfängniskegel« auch hier nur von vortübergehendem Bestand, wie Fig. 29 zeigt, oft überhaupt sehr klein, und deshalb doch auch leicht zu übersehen. Daher kommt es denn, dass ich, je öfter ich die Serien durchsah, um so mehr »weiße Samenfäden« darin fand und ich glaube, nach diesen Erfahrungen, dass es sehr schwer ist, bei Eiern ohne pigmentirte Samenstraßen oder bei Eiern mit solchen für die weiße Hälfte mit Sicherheit zu sagen, dass nur ein oder gar kein Samenfaden in das Ei eingedrungen ist, wenigstens in den frühen Stadien nach der Befruchtung. Es wäre deshalb nicht unmöglich, dass bei erneuter Untersuchung, wenn auch auf diese Verhältnisse geachtet wird, auch bei solchen Thierspecies Polyspermie gefunden wird, bei denen sie bis jetzt geleugnet wird, zumal sich die Angaben über die »physiologische Polyspermie« immer mehr häufen. Nachdem sie früher schon von KUPFFER bei Batrachiern, Neunaugen und Forellen nachgewiesen wurde, wird sie neuerdings von RÜCKERT¹ für die Selachier, von OPPEL² für die Reptilien, von BLOCHMANN³ und von HENKING⁴ für die Insekten und von TODARO⁵ für *Seps cheloides* angenommen. Was die Zahl der eingedrungenen Spermatozoën bei polyspermen Eiern betrifft, so scheinen von den bisher untersuchten Thieren obenan die Selachier zu stehen. Aber auch die Reptilien übertreffen unsere Axolotl wenigstens noch bei Weitem an Überfruchtung. Nach allen diesen Befunden wird man deshalb jetzt sehr genau in jedem einzelnen Fall prüfen müssen, ob eine Polyspermie, die man findet, nicht eine physiologische ist, und man wird nicht mehr wie ZACHARIAS⁶, der auch bei *Ascaris* bis zu zehn Samenfäden in einem Ei fand, alle solche Eier unbedenklich für pathologisch halten.

¹ RÜCKERT, Über die Befruchtung bei Elasmobranchiern. Verhandl. der anat. Ges. auf dem 5. Kongress. München 1890. p. 253f. u. Anat. Anz. 1892. Nr. 11.

² OPPEL, l. p. 570 c.

³ BLOCHMANN, Über die Richtungskörper der Insekten. Morphol. Jahrb. Bd. XII.

⁴ HENKING, Über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. Diese Zeitschr. Bd. XLIX.

⁵ TODARO, Sulla struttura, la maturazione et la fecondazione dell' ovo della *Seps cheloides*. Nota preliminar. Atti della R. Accadem. dei Lincei 1891.

⁶ ZACHARIAS, Neue Unters. über die Copulation der Geschlechtsprod. etc. bei *Ascaris megaloceph.* Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXX. 1887. p. 143.

Was das weitere Schicksal der »überzähligen Samenfäden« anlangt, so entwickeln sich viele namentlich von den auf der weißen Seite eingedrungenen, wie bereits erwähnt, nicht weiter; sie dringen nur eine kleine Strecke weit in den Dotter ein, dann verschwinden sie, wie auch bereits BÖHM beim Neunauge beobachtet hat. Die anderen überzähligen »weißen Samenfäden« verhalten sich aber genau wie die Mehrzahl der »schwarzen Überzähligen«, d. h. gerade so wie das zur Copulation kommende Spermatozoon, sie biegen auch plötzlich um, lassen auch aus ihrem Verbindungsstück eine Attraktionssphäre und aus ihrem Kopf einen Samenkern hervorgehen. Dabei ist meist die Plasmaansammlung um die »weißen Samenkern« und ihre Sphäre bedeutend größer, wir sehen große dotterleere Löcher oder Höfe entstehen, die nur von einem Plasmanetz durchzogen sind und den Kern mit seiner Sphäre enthalten. Dieselben sind wohl durch Flüssigkeitsansammlung und Dotterverdrängung bedingt, nicht etwa durch Wachstum des Kernes auf Kosten von Dotterelementen. Selbst die Theilung der Sphäre auf der Wanderung nach innen erfolgt bei ihnen ganz normal, ja es scheint in Ausnahmefällen ein »weißer Samenkern« mit dem Eikern in Copulation treten zu können, wenn er auf seiner Wanderung dem Eikern sich mehr genähert hat, als einer der »schwarzen Samenkern«.

Gewöhnlich erscheint aber bei mehrfach befruchteten Eiern einer der »schwarzen Samenfäden« durch seine dem Eikern benachbarte Lage gewissermaßen prädestinirt zu sein für die Copulation, so dass man ihn von vorn herein als den »Hauptsamenfaden«, die übrigen als »Nebensamenfäden« bezeichnen kann. Da die ganze Entwicklung des »Hauptfadens« zum »Hauptsamenkern« und der »Nebenfäden« zu den »Nebensamenkernen« absolut identisch verläuft, so bedarf es keiner besonderen Abbildungen, alle bisher gegebenen Figuren über die Samenkernbildung etc. gelten für beide in ganz gleicher Weise. Nach diesem Befund beim Axolotl, wo man die »Nebensamenkerne« ganz unzweideutig aus »Nebensamenfäden« Schritt für Schritt ableiten kann, wird auch Niemand mehr an der Richtigkeit der Deutungen BORN'S, RÜCKERT'S und OPPEL'S zweifeln können, die ja die Herkunft dieser Kerne aus Samenfäden noch nicht absolut sicher beweisen, aber durch Anführung vieler Gründe schon sehr wahrscheinlich machen konnten.

So viel Samenkern« auch zur Entwicklung kommen mögen, nie habe ich bisher beobachtet, dass mehr als ein Samenkern mit dem Eikern in Copulation trat; es macht den Eindruck, als ob durch die Copulation so zu sagen »die Affinität des Eikerns gesättigt sei« und er

nun keine Anziehungskraft auf andere Samenkern e mehr austübe. Es läge in diesem Verhalten ein Unterschied gegenüber den Eiern mit normalerweise monospermer Befruchtung, wo nach BOVERI bei pathologischer Polyspermie der Eikern mit mehreren Samenkernen kopulirt. Überhaupt möchte ich mich BOVERI's Hypothese¹ anschließen, dass sich vielleicht bei allen großen Eiern die Polyspermie als physiologisch, als normales Verhalten herausstellt, das durch die Zweckmäßigkeit angezchtet ist, da dadurch die Wahrscheinlichkeit, dass sich Ei- und Samenkern in dem großen Ei überhaupt auffinden, wesentlich vergrößert wird.

Das weitere Schicksal der Nebensamenkerne habe ich in meinen Präparaten, die sich nur bis zur Furchung erstrecken, nicht weiter verfolgt. Auch habe ich keine Theilungen der Nebensamenkerne, wie sie BORN, RÜCKERT und OPPEL nachgewiesen haben, in meinen Präparaten gefunden, doch möchte ich darauf aufmerksam machen, dass keineswegs aus dem Umstand, dass auf der weißen Seite des Amphibieneies Samenkern e gefunden werden, auf eine Theilung von Samenkernen und Wanderung derselben geschlossen werden darf, wie es BORN thut, da es ja nun feststeht, dass auch am weißen Feld Samenfäden einwandern und sich ganz normal entwickeln können. Endlich habe ich bis jetzt auch nicht mit Bestimmtheit feststellen können, dass durch die Nebensamenfäden eine partielle Furchung des Eies hervorgerufen werden kann, die man in Analogie der parthenogenetischen eine androgenetische oder spermatogenetische nennen müsste; Andeutungen davon glaube ich allerdings in einzelnen Fällen gesehen zu haben.

V. Weitere Litteraturangaben und Allgemeines.

Es erübrigt uns noch, diejenigen Punkte zu kennzeichnen, in denen unsere Angaben von denen anderer Autoren abweichen, namentlich solche theoretischer Natur, die einer eingehenderen Besprechung bedürfen und die sich nicht ohne Weiteres in den Rahmen der fortlaufenden Darstellung unserer Beobachtungen einfügen ließen.

Was zunächst die Beschaffenheit der Eizelle des Axolotls betrifft, so schließen sich meine Beobachtungen im Großen und Ganzen der Beschreibung O. SCHULTZE's an, namentlich auch, was die Gestalt der Dotterkörner betrifft. In einem wesentlichen Punkt weiche ich jedoch von ihm ab, das ist die Annahme einer zweiten, einer inneren Dotterhaut, die ich, wie p. 532 aus einander gesetzt, sicher beweisen

¹ BOVERI, Artikel Befruchtung im Jahresbericht von MERKEL-BONNET. 4 892.

zu können glaube; auch bezüglich der äußeren Dotterhaut der »Zona pellucida« schließe ich mich im Gegensatz zu O. SCHULTZE der Ansicht VAN BAMBEKE'S und WALDEYER'S an, die diese Haut für ein Produkt des Follikelepithels erklärt haben.

Von dem Pigment des Axolotleies konnte ich, ohne dass ich aus der Litteratur eine Bestätigung des Befundes erbringen kann, nachweisen, dass es in auffallender Weise Eisenreaktionen giebt (p. 534).

Die Angabe R. ALTMANN'S¹, dass die Dotterkörner sich aus kleinsten Körnchen entwickeln, kann ich bestätigen, doch vermag ich mir ohne einschlägige Färbeversuche kein Urtheil zu bilden, in wie weit diese »primitiven Dotterkrümel«, wie man sie nennen könnte, mit den ALTMANN'Schen Granula in anderen Zellen, oder gar mit den Kerngranula in Parallele gestellt zu werden verdienen. Namentlich könnte ich mich nicht entschließen, die Dotterkörner, bezw. die Körnchen aus denen sie entstehen, als kleinste Elementarorganismen anzusehen, mit der Möglichkeit jeder Art von Lebensäußerung, vor Allem der Reizbarkeit und selbständiger Beweglichkeit begabt. Viele Autoren halten die Dotterkörner ja im Gegentheil gerade für vollkommen leblose Gebilde des Thierkörpers, für »Krystalle«.

Bezüglich der Keimbläschenreifung glaube ich mich den Ansichten RÜCKERT'S und BORN'S anschließen zu dürfen, die für eine Kontinuität des Kerngerüstes im Keimbläschen bei seiner Reifung eintreten und sich gegen die Entstehung der Chromosomen aus zerfallenen Nucleolen aussprechen, doch möchte ich betonen, dass auch ich von den Nucleolen glaube, dass sie in einer allerdings noch nicht aufgeklärten Beziehung zu den Veränderungen des Chromatins stehen, da sie bei der Ausbildung der Chromosomen für die erste Spindel vollständig verschwinden (cf. p. 538).

Wir haben auf p. 537 und Fig. 2 gezeigt, dass im Keimbläschen sich auf einem bestimmten Stadium das Chromatin in eigenthümlich gablig getheilten oder mehrfach verschlungenen Figuren findet, die auch RÜCKERT und BORN beobachtet haben. Dass aber diese innige Verklebung bezw. Verschlingung der Chromosomenpaare in diesem und den folgenden von RÜCKERT beobachteten Stadien wirklich als der Weg betrachtet werden darf, um eine »Mischung der Ahnenplasmen« in den längstgetheilten Chromosomen hervorzubringen, dass sie wirklich als eine »Conjugation oder Befruchtung der längstgetheilten Chromosomen« aufgefasst werden darf, erscheint mir nicht besonders

¹ ALTMANN, Die Granulalehre und ihre Kritik. Archiv für Anat. und Physiol. Anat. Abth. 4893. p. 64.

wahrscheinlich. Denn die Längstheilung der Chromosomen haben wir doch wohl mit aller Sicherheit, wie das von Roux zuerst klar ausgesprochen wurde, als das Mittel zu betrachten, eine Theilung in zwei absolut gleiche Hälften zu erzeugen. Eine Verklebung zwischen den zwei ganz identischen Schwesterhälften derselben Schleife hätte also doch wohl keinen rechten Zweck. Es könnte durch die Conjugation niemals eine Kombination neuer Ahnenplasmen erfolgen, sondern höchstens eine quantitativ verschiedene neue, vielleicht eine einfachere Verbindung, indem die eine Schwusterschleife sich einiger Ahnenplasmenschwesterhälften entledigen und dafür andere von der Schwester übernehmen könnte, so dass sie jetzt weniger verschiedene, dafür aber wieder lauter ganze Ahnenplasmen (nicht nur Hälften) besäße; es wäre somit die durch die Längsspaltung mühsam hergestellte Gleichheit der Schwusterschleifen wieder aufgehoben; das wäre doch entschieden ein höchst sonderbarer Vorgang. Anders läge die Sache, wenn die von RÜCKERT, BORN und mir beobachteten verschlungenen Chromosomenpaare nicht zu einander gehörige Schwusterschleifen wären, sondern nachgewiesen würde, dass es sich dabei um eine Conjugation zwischen Abkömmlingen verschiedener Mutterchromosomen handelt; in dem Fall wäre in der That eine zweckmäßige »Amphimixis« möglich.

Dieser Vorgang könnte bei den Selachiern, wie RÜCKERT selbst sagt, nur zwischen den vereinzelt unpaaren Chromosomen dieses Stadiums zu Stande kommen, die Mehrzahl der verschlungenen Paare waren aber sicher vorher nicht solche vereinzelt, unpaare Schleifen.

Ferner könnte der Vorgang noch statthaben in einem späteren von RÜCKERT beschriebenen Stadium, bei der hypothetischen Verklebung von je zwei Schleifenpaaren zu einem Viererbündel.

Kommt übrigens wirklich die Vierergruppe zu Stande durch Aneinanderlagerung von zwei vorher getrennten Schleifenpaaren, dann ist entschieden Einspruch zu erheben gegen die Bezeichnung der Vierergruppe als ein Chromosom: es sind deren zwei und es hat im Kernbläschen der Selachier somit keine Zahlenreduktion stattgefunden, wir haben, wie im Urei, 36 jetzt allerdings zweitheilige und zu je zwei Paaren zusammenliegende Chromosomen. Als je ein Chromosom dürfen wir die Vierergruppe lediglich dann betrachten, wenn sie, was übrigens RÜCKERT nicht mit Sicherheit ausschließen kann, durch nochmalige Längs- oder Quertheilung des einen doppeltheiligen Chromosomes hervorgegangen ist, oder wenn die vier Theile wirklich zu einem für uns untrennbaren Chromatinklumpen verschmelzen. Sowie wir auch noch diesen Begriff von einer »Chromo-

someneinheit« fallen lassen und außerdem noch die Möglichkeit eines Stoffaustausches zwischen den einzelnen Chromosomen desselben Kernes, eine Chromosomen-Amphimixis zugeben, hat die Hypothese von der »Erhaltung der Chromosomenzahl oder gar der Chromosomen-Individuen« (»Erhaltungshypothese«, »Individualitätshypothese«) jede Bedeutung verloren, ist ihr der Boden vollständig entzogen.

Wenn nämlich wirklich bei der Umwandlung des Keimbläschens zur ersten Richtungsspindel aus den 36 eintheiligen Chromosomen zuerst 72 Schleifen werden, die zu 36 Paaren neben einander liegen, und wenn die einzelnen Paarlinge unter sich, oder gar mit anderen (Conjugation der vereinzelt unpaaren Chromosomen) in Stoffaustausch getreten sind, und wenn nun aus den 72 zu 36 Paaren angeordneten Chromosomen durch Verkoppelung von je zwei Paaren zu einer Vierergruppe 48 viertheilige Chromosomen werden, die wieder unter einander Stoffaustausch haben, dann wüsste ich wahrhaftig nicht, was sich von den 36 Keimbläschenchromosomen noch »Individuelles« erhalten haben sollte!

Eine ganz andere Auffassung wäre folgende: Die von uns übereinstimmend beobachteten Bilder der innigen Verklebung und Verschlingung zweier Chromatinschleifen vor der Auflösung des Keimbläschens wären nicht zu betrachten als unvollständige Trennung je eines ursprünglichen Keimbläschenchromosomes, sondern als unvollständige Vereinigung von zwei verschiedenen solchen zu einem neuen Chromosomenindividuum; hier träte dann nicht nur eine vorübergehende Conjugation, sondern eine wahre Amphimixis, eine volle Verschmelzung ein, falls in einem weiteren Stadium die begonnene Vereinigung beider Paarlinge komplet würde, falls sie zu einer Einheit verschmolzen; damit wäre eine wahre Zahlenreduktion der Chromosomen, nach der so eifrig gefahndet wird, eingetreten. So unwahrscheinlich mir auch diese Hypothese an sich ist, so möchte ich sie doch nicht gerade allein schon durch RÜCKERT's Zahlenangaben für widerlegt halten, da die Zählungen, wie RÜCKERT selbst angiebt und ich aus eigener Erfahrung weiß, bei unseren Objekten sehr schwer und unzuverlässig sind, ja auch KATSCHENKO¹ beim selben Objekt ganz andere Zahlen als RÜCKERT angiebt. Weiterhin könnten dann die neuen Chromosomen durch doppelte Längstheilung viertheilig werden, wie z. B. bei Branchipus; in diesem Fall enthielte jede Vierergruppe die Ahnenplasmen von zwei ursprünglichen Keimbläschenchromosomen, die sich aber bei der Verschlingung schließlich vorübergehend in ein einziges Chromosom verwandelt hatten.

¹ KATSCHENKO, Über den Reifungsprocess des Selachiereies. Diese Zeitschr. Bd. L. 1890.

Träte aber bei der mehrfach erwähnten Verklebung und Verschlingung zweier verschiedener Keimbläschenchromosomen keine vollkommene Verschmelzung der fremden Paarlinge im letzt ausgeführten Sinne ein und erfolgte in einem nächsten Stadium auch Vierergruppenbildung, so würde jede Vierergruppe aus vier ursprünglich fremden Chromosomen bestehen, wenn die Gruppe durch Zusammenlagerung von je zwei Paaren erfolgte, oder aber nur zwei verschiedenen, wenn die Vierergruppe durch Spaltung jedes der (im vorigen Stadium) verschlungenen Paare entstände. In beiden Fällen und auch in dem von RÜCKERT wirklich angenommenen Fall, wo zwar die verschlungenen Paare, der Mehrzahl nach wenigstens, aus Schwesterchromosomen bestehen, die Vierergruppen aber, nicht durch Spaltung, sondern durch Zusammenlagerung zweier Paare entstehen, in allen diesen Fällen würden bei den zwei Richtungstheilungen unter Umständen wirklich ganze Chromosomenindividuen für das Ei verloren gehen, wie bei der CARNOY'schen Auffassung, denn der Eikern erhält ja von jeder Vierergruppe nur ein einziges $\frac{1}{4}$ (wenn nämlich innerhalb der Vierergruppe doch keine Vermischung der vier Chromosomen einträte; vgl. auch p. 598 ff.). Um diese Fragen endlich sicher zu entscheiden, bedarf es aber entschieden noch genauerer, wirklich ganz einwandfreier Zählungen, die allerdings an Wirbelthiereiern wohl nur sehr schwer auszuführen sind.

Bezüglich des Emporrückens des Keimbläschens an die Oberfläche ist noch zu erwähnen, dass RÜCKERT¹ im Gegensatz zu KATSCHENKO bei den Selachiern keine Wanderung des Keimbläschens aus dem Centrum nach oben annimmt, sondern sagt, bei den Selachiern liege das Keimbläschen von Anfang an excentrisch, meist um weniger als sein eigener Durchmesser von der Eioberfläche entfernt. Der Anschein einer Wanderung sei zum Theil vielleicht einfach durch das Wachsthum des Keimbläschens bedingt. Beim Axolotl scheinen die Dinge aber wesentlich anders zu liegen (und auch beim Frosch). Hier rückt das Centrum des Keimbläschens, und das ist ja natürlich das allein Maßgebende, wenn von der Randausdehnung des Keimbläschens bei seinem Wachsthum abstrahirt werden soll, im Verlaufe der Reifung, entschieden peripheriewärts, wie das von HERTWIG u. A. bei anderen Eiern festgestellt ist; z. B. neuerdings erst von BORN bei Tritonen und Anuren. Sehr groß kann allerdings der Weg der Wanderung überhaupt nicht sein, weil das Keimbläschen auch bei nur geringer Wanderung seiner Größe wegen bald am Eirand anstößt.

¹ l. p. 537 c. p. 442.

Durch welche Kräfte diese Wanderung hervorgerufen wird, das ist noch eine offene Frage. HERTWIG nimmt an, durch Kontraktionen des Dotters; ich muss sagen, dass mir diese Hypothese nicht sehr wahrscheinlich dünkt, denn so lange das Keimbläschen noch eine centrale Lage einnimmt, würde es ja durch eintretende Dotterkontraktionen erst recht im Centrum festgehalten; nur durch eine complicirt vertheilte, hauptsächlich einseitige Kontraktion könnte die beobachtete Wanderung bewirkt werden, und eine solche erscheint mir eben unwahrscheinlich. Eher möchte ich glauben, dass durch die Veränderungen, die im Keimbläschen vor sich gehen, z. B. die Ausstoßung des Kernsaftes, die ganze im Ei gebildete Vacuole, die ganze »Keimblase« nach oben steigt und das eigentliche »Keimbläschen« mitnimmt, oder, wenn man von der Vacuolenbildung, weil sie von Manchen für ein Kunstprodukt gehalten wird, absieht, könnte man sehr wohl an aktive amöboide Bewegungen des Kernes nach oben denken, da manche Autoren in der That die Vorsprünge des Keimbläschen für Pseudopodien erklärt haben.

Das Verschwinden des Keimbläschen findet beim Axolotl vor dem Austritt in die Bauchhöhle statt; nach KUPFFER und BENECKE¹ verliert das Eidechsen-Ei auch sein Keimbläschen vor dem Eintritt in den Eileiter.

Die folgenden Stadien der Eireifung, die Richtungstheilungen, wurden bei den Amphibien zuerst von O. SCHULTZE gefunden und eingehend beschrieben. Es fehlten nur wenige Phasen, die ich nun ergänzen kann: der chromatische Keimbläschenrest an der Oberfläche vor Ausbildung der ersten Richtungsspindel, die Abschnürung des ersten Richtungskörperchens, das weitere Schicksal des ersten Richtungskörpers, Fehlen eines Ruhestadiums zwischen den beiden Richtungstheilungen, die Zellplattenbildung bei der zweiten Richtungstheilung, das Diasterstadium derselben, die Phase der Abschnürung des zweiten Richtungskörpers und seine Beschaffenheit gegenüber der des ersten.

Eine auffällige Erscheinung bei den Richtungstheilungen ist die Spindeldrehung. Über deren Ursache sind, so viel ich sehe, bisher nur von zwei Autoren Deutungen versucht. Die erste giebt O. SCHULTZE: Er sagt, dem HERTWIG'schen Gesetz der Kernstreckung zufolge muss die Richtungsspindel in dem am schwarzen Pol in einem niedrigen Kugelsegment angehäuften Bildungsdotter sich tangential stellen, in dieser Stellung vermag sie aber nicht die Zelltheilung (Richtungstheilung) durchzuführen, deshalb dreht sie sich zum wirklichen Vollzug der

¹ KUPFFER U. BENECKE, Die ersten Entwicklungsvorgänge am Ei der Reptilien. Königsberg 1877.

Theilung radiär. Von dieser Erklärung scheint mir namentlich der erste Satz nicht überzeugend, denn wenn das Ei wirklich, wie SCHULTZE sagt, »in gewissem Sinne telolecithal geworden« ist, müsste auch die erste Furchungsspindel am schwarzen Pol stehen und nicht im oder nahe dem Centrum des Eies. Ferner glaube ich nicht, dass die Spindel sich nicht auch in tangentialer Stellung sollte theilen können, denn ich habe in der That bei einem Präparat wenigstens das Diasterstadium in vollständig tangentialer Stellung, bei vielen Präparaten aber in sehr schiefer Stellung auftreten sehen. Bei einem solchen tangentialen Diaster braucht der eine Tochterstern nur noch ein klein wenig höher zu rücken, dann baucht er die Zellhaut des Eies vor und die Abschnürung kann beginnen. Für möglich hielte ich den Vorgang in dieser Weise entschieden, wenn gleich auch mir für die Abschnürung des Richtungskörperchens die radiäre Stellung der Spindel die zweckmäßigere Stellung zu sein scheint. Dass sich die zweite Richtungsspindel dann doch wieder in tangentialer Stellung entwickelt, scheint mir ein Anklang an das HERTWIG'sche Gesetz zu sein, wonach zwei auf einander folgende Theilungen immer in zwei senkrecht auf einander stehenden Ebenen erfolgen; die Radiärdrehung der Spindel zur Ausstoßung der Richtungskörper wäre aber durch Anpassung in Folge der größeren Zweckmäßigkeit entstanden zu denken.

Eine andere Erklärung giebt BRAUER. Er meint, die Drehung sei vielleicht dadurch bedingt, dass sich die Eier beim Durchtritt von der Tube in den Uterus förmlich durchzwängen müssten, und dass es dafür zweckmäßiger sei, wenn sie tangential lägen. Dagegen muss vor Allem eingewendet werden, dass nicht einzusehen ist, warum die tangentiale Lage zweckmäßiger sein soll, als die radiäre, namentlich da BRAUER nicht einmal angeben kann, in welcher Richtung die Eier gequetscht werden; nach meiner Erfahrung beim Axolotl kommen, sei es normalerweise, sei es durch zu enge Lagerung der Eier im Ovar oder beim Durchtritt durch den Genitaltractus, gar nicht selten längliche, »seitlich komprimirte« Eier zur Beobachtung. Bei diesen befindet sich meist die Mitte des schwarzen Poles an der einen Spitze des länglichen Eies; bei einem solchen Ei würde, glaube ich, gerade umgekehrt die Spindel ungestörter geblieben sein bei radialer als bei tangentialer Lage. Doch wird die BRAUER'sche Erklärung einfach durch die Thatsachen widerlegt, dass erstens bei den Amphibien keine derartige enge Stelle im Genitaltractus vorkommt und zweitens sich die erste Spindeldrehung meist schon in der Bauchhöhle vollzieht, vor der Einwanderung in die Tube.

Nächst der Spindeldrehung ist gewiss die auffallendste Erscheinung

bei den Richtungstheilungen das Fehlen der Centrosomen und Polstrahlung. Ob sie wirklich vollkommen fehlen oder nur rudimentär sind und bei unseren Methoden deshalb nicht sichtbar, ist nicht zu entscheiden. BORN scheint eine kugelige Plasmaansammlung an den Polen für ein Äquivalent zu halten. BRAUER¹ freilich nimmt bei den Richtungstheilungen das Vorhandensein von Centrosomen, auch ohne dass er sie gesehen hat, »da der gleichmäßige Zug der Spindelfasern bei der Trennung der Tochterplatten sonst nicht erklärbar wäre«, für bestimmt an. Die negative Beobachtung habe wohl ihren Grund in »ungenügender Konservirung«. Eine Polstrahlung hingegen nimmt er nicht an. Ich muss sagen, dass mich diese Annahme sehr überrascht hat, denn ohne Polstrahlung oder ein Äquivalent derselben, sehe ich keine Bedeutung der Centrosomen für den Theilungsmechanismus. Denn nach der durch BOVERI ausgebildeten Theorie des Kerntheilungsmechanismus sind es ja keineswegs die Centrosomen, die die Spindelfasern mit den Chromatinschleifen nach den Polen ziehen, sondern die Spindelfasern selbst durch ihre Kontraktion; bei dieser Kontraktion würden sie aber nur die Centrosomen einander nähern, gegen die Äquatorialplatte hin ziehen können, nicht aber diese trennen können, wenn nicht eben die Centrosomen durch die Polstrahlung fixirt würden. Centrosomen ohne Polstrahlung oder Äquivalent anzunehmen, scheint mir daher nach den bisher geltenden Anschauungen in der Kerntheilungsmechanik zwecklos zu sein.

Wie ich bei den Richtungstheilungen p. 542 u. 550 näher ausgeführt habe, glaube ich, dass man eben hier eine Modifikation des VAN BENEDEN-BOVERI'schen Theilungsmechanismus annehmen muss. Ich kann mir nach meinen Präparaten den Vorgang bei der Theilung nur so erklären, dass die Spindelfasern der peripheren Spindelhälfte sich direkt an der Zellhaut des Eies befestigen, die der centralen Hälfte aber sich mit dem Plasmagerüst des Eizellkörpers in Verbindung setzen. Und auch mit diesen Annahmen scheint mir der Mechanismus Angesichts der zweiten Richtungsdiaster, bei denen sich die Spindelfasern gar nicht zu kontrahiren scheinen, keineswegs ganz aufgeklärt (cf. p. 548).

Am meisten Berücksichtigung hat in neuerer Zeit entschieden das Verhalten des Chromatins bei den Richtungstheilungen gefunden. Zwei Meinungen sind es im Wesentlichen, die sich gegenüberstehen. Die Einen, VAN BENEDEN, HERTWIG und WEISMANN nehmen an, dass bei den Richtungstheilungen das eigentlich Charakteristische eine Reduktion der Chromosomenzahl sei, dass sie also nur eine Pseudo-

¹ BRAUER, l. p. 540 c. p. 33.

karyokinese darstellten. Die Anderen, BOVERI an der Spitze, sagen, dass dabei keine Reduktion der Chromosomenzahl, sondern nur eine Reduktion der Chromatinmasse eintrete, weil zwischen je zwei Theilungen der Kern kein Ruhestadium zur Ergänzung des an eine Tochterzelle abgegebenen Chromatins durchmacht.

Ich finde, dass man, auch wenn man sich BOVERI's Annahme anschließt, eigentlich doch berechtigt ist eine Äquations- und Reduktionstheilung im Sinne der alten Auffassung O. HERTWIG's und der neuen Bezeichnung WEISMANN's zu unterscheiden; denn bei der gewöhnlichen Zelltheilung bekommt jeder Tochterkern so viel Chromatin als der Mutterkern selbst anfänglich, bevor er sich zur Theilung anschickte, hatte; bei der Spermatogenese und den Richtungstheilungen kommen aber Kerntheilungen vor, bei denen wegen des Wegfalls der Ruhepause die vier Enkelkerne sich in die Chromatinmasse des großmütterlichen Kernes theilen müssen. Es liegen hier daher entschieden zwei ganz verschiedene Theilungsmodi vor, die sehr wohl verschiedene Namen verdienen. Ich sehe übrigens überhaupt gar keinen Grund ein, warum es nöthig sein sollte, dass die Geschlechtskerne gegenüber den Körperzellkernen auch noch eine Zahlenreduktion ihrer Chromatinschleifen erleiden sollten, da sie an Masse durch das Ausfallen der Ruhepause ja bereits auf $\frac{1}{4}$ des gewöhnlichen Quantums herabgesetzt sind. So würde der erste Furchungskern also, falls Eikern und Samenkern auf der Wanderung ihren Chromatingehalt nicht noch vermehren (das wird, so viel ich sehe, in keiner der Hypothesen berücksichtigt), doch nur die Hälfte der Chromatinmasse eines gewöhnlichen Körperzellkernes besitzen und es könnte die Verdoppelung der Chromosomenzahl sehr einfach durch Verschmelzung der (Viertel-)Schleifen der beiden Geschlechtskerne verhindert werden. Aus dem Grunde also: »damit keine Überladung der ersten Furchungszelle mit Chromatin stattfinde«, ist nicht noch eine Zahlenreduktion nöthig, dazu genügt schon die Massenreduktion bei den zwei ohne Rast auf einander folgenden Theilungen der Spermatozyten und Ovocyten erster und zweiter Ordnung, ja diese Reduktion schießt, wie gesagt, über das Ziel hinaus, sie viertelt die Chromatinmasse der künftigen Geschlechtskerne statt sie zu halbiren.

Ob übrigens BOVERI berechtigt ist, zu sagen, dass eine Reduktionstheilung im Sinne (VAN BENEDEN's und) CARNOY's¹ bei den Richtungstheilungen wirklich nicht vorkommt, dass in der That immer nur durch Längstheilung entstandene Schleifenschwestern nach den

¹ CARNOY, La vesicule germinative et les globules polaires de l'Ascaris meg. La Cellule. I. f. 4. 1886.

verschiedenen Polen aus einander weichen, nie ganze Schleifen, ganze individuelle Chromosomen, das scheint doch noch Zweifeln begegnen zu müssen. So giebt RÜCKERT¹, wie wir p. 593 ff. sahen, an, dass sich bei den Selachiern vor der ersten Richtungstheilung Vierergruppen bilden durch Aneinanderlagerung zweier Chromosomenpaare, nicht durch Spaltung eines Schwesterschleifenpaares in eine Enkelschleifen-Vierergruppe. Wenn von dieser Vierergruppe, ohne dass vorher eine Verschmelzung stattfand, bei der ersten Richtungstheilung das eine Paar in die erste Richtungszelle, das zweite in die zweite Richtungsspindel überginge, so ist das ganz derselbe Vorgang wie ihn VAN BENEDEN und CARNOY bei *Ascaris* beschrieben haben und ihn auch HERTWIG annimmt. Es genügt also keineswegs zu einer Bestätigung der BOVERI'schen Hypothese nachzuweisen, dass die vier sich auf den Eikern und »die drei Richtungszellen« vertheilenden Chromatinschleifen Abkömmlinge einer Vierergruppe der ersten Richtungsspindel, des Kernes der Großmutterzelle oder des Ovocyten erster Ordnung sind, sondern es müsste auch in jedem Falle der Nachweis erbracht werden, dass die Vierergruppe nicht durch Aneinanderlagerung verschiedener Chromosomenindividuen oder Theilen von solchen entstanden sind, vielmehr durch die Zusammengruppirung von vier Theilen, die durch zweimalige Längstheilung eines Großmutterchromosomes hervorgegangen sind, etwa so, wie das BRAUER² bei *Branchipus* beschreibt.

Wie bereits mehrfach erwähnt, ließ sich beim Axolotl über die absolute Zahl der Chromosomen nur eine ungefähre Vorstellung gewinnen. Es scheinen in den Richtungsfiguren deren acht zu sein. Doch geht aus den Präparaten mit Sicherheit so viel hervor, dass in den von uns untersuchten Stadien des Keimbläschens die Zahl eine größere, wohl mindestens die doppelte ist, als die in der ersten Richtungsfigur, sowie dass die zweite Richtungsspindel anscheinend die gleiche Schleifenzahl aufweist, als die erste, nur sind die Chromosomenindividuen kleiner, schlanker von Gestalt.

Ob auch beim Axolotl in der ersten Richtungsspindel bereits die Schleifen doppelt gespalten sind, für die nachfolgende zweite Richtungstheilung, oder ob auch in der zweiten Richtungsfigur eine Längsspaltung eintritt, vermag ich nicht mit voller Bestimmtheit anzugeben, doch scheinen mir meine Präparate eher für die letztere Annahme zu sprechen.

Ferner ist auch beim Axolotl die Spaltung der Schleifen mit

¹ RÜCKERT, l. p. 537 c. *Anat. Anz.* 1892. p. 142 u. 141.

² BRAUER, l. p. 540 c. p. 45.

BOVERI¹ als eine Lebensäußerung dieser selbst, nicht als Wirkung der Spindelkontraktion aufzufassen.

Endlich konnte ich mit Sicherheit nachweisen, dass die Richtungs-
theilungen vollständig typische Zelltheilungen sind, bei denen
nur die eine Zelle auffallend klein ist, aber alle charakteristischen
Merkmale der Eizelle an sich trägt, Chromatin, Protoplasma, Dotter,
Pigment und eine Zellmembran besitzt, wodurch die BÜTSCHLI-
BOVERI'sche Hypothese eine vollständige Bestätigung
erfährt.

Bezüglich der Struktur der Samenfäden schließe ich mich im
Wesentlichen den Beobachtungen und Deutungen von BALLOWITZ an,
namentlich auch was den fälschlich sogenannten »Spiralsaum« be-
trifft. Ich glaube auch beim Axolotl sicher beweisen zu können, dass
die »Wellenmembran« nicht spiralg um den Faden herumläuft,
sondern einseitig an ihm befestigt ist.

In neuester Zeit ist ein lebhafter Streit entstanden unter Denen,
die sich mit der Spermatogenese beschäftigen haben über die Frage, ob
und wo im Samenfaden eine Attraktionssphäre mit Centrosoma zu
suchen sei. Die Einen, namentlich PLATNER und BENDA glauben, im
vordersten Kopfende, die Anderen, vor Allem F. HERMANN, nahmen es
im Halsstück, zwischen Kopf und Schwanz an. Ich glaube für den Axo-
lotl, schon durch die isolirte Metallsalz-Hämatoxylinfärbung den Sitz
des Archoplasmas im Verbindungsstück sehr wahrscheinlich
gemacht, durch die Vorgänge im befruchteten Ei aber direkt bewiesen
zu haben. Möglicherweise ist übrigens der Sitz des Archoplasmas und
des Centrosomas bei den verschiedenen Thierklassen wirklich ein ver-
schiedener.

Die Frage nach einer Mikropyle im Amphibienei ist für den
Axolotl wenigstens in verneinendem Sinn zu beantworten.

Ein Empfängnishtügel, wie er von KUPFFER zuerst bei der
Forelle beschrieben, existirt beim Axolotl nicht, aber (vgl. p. 568) die
Vermuthung ist nicht von der Hand zu weisen, dass der Empfängniskegel
des Axolotls damit identisch ist und auch zum Theil dem »Polplasma«
BÖHM's bei der Neunaugenbefruchtung verglichen werden kann. Denn es
wäre doch vielleicht nicht ganz unmöglich, dass sich der »Empfängnis-
htügel« und das »Polplasma« KUPFFER's und BÖHM's zum Theil wenigstens
auch erst beim Eindringen des Samenfadens bilden, was wahrschein-
lich bei diesen Thieren sehr schwer festzustellen ist. Der Eintritt
und der erste Weg der Samenfäden im Ei war beim Axolotl ohne

¹ BOVERI, Zellstudien. II. p. 413.

Weiteres zu beobachten; der weitere Weg des Samenfadens aber, seine complicirten Drehungen und Wendungen, konnte nur mit großer Schwierigkeit durch Kombinationszeichnungen aufgeklärt werden. Es ist zu erwarten, dass bei anderen Eiern Ähnliches gefunden wird.

Bei den Axolotleiern wird die Pigmentstraße nicht wie O. HERTWIG, ROUX u. A. für die Anuren annehmen, von dem wandernden Spermakern, sondern noch durch den fast unveränderten Samenfaden erzeugt. Es hat sich herausgestellt, dass die Richtung der Biegung in der Pigmentstraße beim Axolotl keineswegs direkt als die Copulationsrichtung angesehen werden kann und dass die Bestätigung des betreffenden Roux'schen Gesetzes hier auf Schwierigkeiten stößt, die sich jedoch vielleicht durch eine Specialuntersuchung auch noch beseitigen lassen werden.

Entgegen früheren, in allgemeiner Weise ausgesprochenen Behauptungen dringt beim Siredon auch der Schwanz vollständig in das Ei ein.

Der Kopf entwickelt sich nicht, wie die Autoren früher meist angaben, an der Peripherie, sondern tief im Inneren des Eies zum Samenkern, das Verbindungsstück zur Attraktionssphäre des Samenkernes, der Schwanz aber geht morphologisch zu Grunde.

Auch beim Axolotl zeigte sich eine ziemlich bestimmte Correlation zwischen Eireife und Samenkernbildung, so zwar, dass der Ei- und Samenkern sich etwa zu gleicher Zeit entwickeln, wie es VAN BENEDEN für *Ascaris* angiebt, doch scheint der Samenkern in seiner Entwicklung voraneilen zu können, wie das BOVERI und CARNOY bei *Ascaris* gesehen haben, im Gegensatz zu den Beobachtungen der Brüder HERTWIG¹ bei *Strongylocentrotus lividus*. Bei der Wanderung des Ei- und Samenkernes wurde ein bedeutendes Wachstum konstatiert; der Kerninhalt wächst um ca. das 27fache. Die beiden Kerne wandern unter amöboiden Bewegungen auf einander zu. Es muss daher eine Fernwirkung, die wohl chemischer Natur ist, angenommen werden; man darf sich dabei wohl erinnern an die Versuche PFEFFER's² über die Anziehungskraft, die durch die Äpfelsäure auf gewisse Pflanzensporen ausgeübt wird. Ich glaube, dass der ganze Vorgang keineswegs anders, als es von PFEFFER geschehen, zu deuten ist, denn wenn HERTWIG³ sagt, es widerspreche dem die Thatsache, dass von ver-

¹ O. u. R. HERTWIG, Über den Befruchtungs- und Theilungsvorgang des thierischen Eies unter dem Einfluss äußerer Agentien. Jena 1887. p. 80.

² PFEFFER, Über chemotaktische Bewegung von Bakterien, Flagellaten, Volvocineen. Unters. aus dem bot. Inst. Tübingen. Bd. II. 1886.

³ HERTWIG, Die Zelle und die Gewebe. 1892. p. 244.

schiedenen Farnarchegonien Äpfelsäure ausgeschieden werde und trotzdem immer nur die Samenfäden derselben Art von den betreffenden Archegonien angezogen würden, so halte ich das durchaus nicht für einen Widerspruch. Man kann sich sehr wohl denken, dass zwischen den von den verschiedenen Archegonien abgesonderten chemischen Substanzen doch noch sehr feine Unterschiede bestehen, die sich bei den geringen Quantitäten, die zur Untersuchung gelangen, überhaupt gar nicht chemisch nachweisen lassen; es könnten z. B. sehr wohl verschiedene Äpfelsäuren von der gleichen empirischen Formel $C_4H_6O_5$ aber von differenter stereo-isomerer Konstitution von den verschiedenen Archegonien abgeschieden werden und man hätte weiterhin nur anzunehmen, dass die Samenfäden einer Farnart nicht von jeder beliebigen, sondern nur der betreffenden stereoisomeren Äpfelsäure angezogen würden. Namentlich möchte ich es für sehr gewagt halten, etwa mit NÄGELI¹ an elektrische Wirkungen zu denken; dafür fehlt doch jeder, auch der geringste Anhaltspunkt.

In Übereinstimmung mit den Angaben BOVERI'S und VAN BENEDEN'S bei *Ascaris* finden sich auch beim Axolotl weder bei den Richtungsspindeln, noch beim Eikern Attraktionssphären. Wenn sich späterhin mit anderen Hilfsmitteln doch noch eine oder mehrere solche auch beim Eikern finden sollten, so bleibt es immerhin höchst auffallend, dass bei unserer Methode die Sphäre des Samenkernes so schön und auffällig in Erscheinung tritt und beim Eikern nicht; es ließe sich das, meiner Meinung nach, nur erklären, wenn beide Sphären chemisch verschieden wären, es würden sich dann wohl auch andere verschiedene Farbenreaktionen an ihnen zeigen lassen. Trotzdem kann ich mich aber nicht ganz der BOVERI'schen Hypothese anschließen, der »das ganze Befruchtungsproblem« in die Frage zusammenfasst, »welches sind die Bedingungen der Kern- und Zelltheilung, was fehlt hiervon dem Ei, was dem Spermatozoon« und meint, die Attraktionssphäre der Eizelle sei gewissermaßen atrophisch geworden, degenerirt, und um sich aufs Neue theilen zu können, bedürfe die Eizelle daher eine neue Sphäre, einen neuen Theilungsapparat und dieser werde dem Ei, das sei durch seine Untersuchungen wahrscheinlich gemacht, wohl durch das Spermatozoon zugeführt. Obgleich dieser letzte Theil von BOVERI'S Hypothese durch den Befund beim Axolotl direkt zur Gewissheit erhoben wird, erscheint mir die ganze Auffassung noch unsicher, wegen der ersten Annahme. Denn man kann sich doch kaum eine zierlichere, glattere, sicherere Kerntheilung denken, als sie in den Richtungsfiguren erfolgt. Ja die

¹ NÄGELI, *Mechan. physiolog. Theorie der Abstammungslehre.* 4884.

Richtungstheilungen ohne Sphären und Centrosomen scheinen mir geradezu einen Zweifel zu provociren an der ganzen Anschauung von der Kerntheilungsmechanik, wie sie sich namentlich durch BOVERI'S Untersuchungen allgemein eingebürgert hat. Ob die auf p. 542, 549 u. 598 versuchte Modifikation in der Auffassung über den scheinbaren Widerspruch hinweghelfen kann, bleibt abzuwarten.

Eines freilich lässt sich einwenden, dass nämlich das Ei ohne den regulären Theilungsapparat zwar noch eine typische Kern- nicht aber eine Zelltheilung vollbringen könne, denn bei den beiden Richtungs- theilungen sei die eine Zelle jedes Mal nur ein »Zellkrüppel«. Diese Thatsache ist zwar nicht zu leugnen, ob aber an dem ungleichen Theilungsergebnisse wirklich der Sphärenmangel Schuld ist, das ist eine andere Frage.

Die Angabe BOVERI'S¹, »dass es einerseits als gewiss gelten könne, dass die archoplasmatische Substanz des befruchteten Eies, wenigstens zum weitaus größten Theil, der Eizelle entstammt, während andererseits mit großer Wahrscheinlichkeit behauptet werden dürfe, dass das Centrosoma vom Spermatozoon geliefert wird«, muss für den Axolotl dahin modificirt werden, dass beides (Archoplasma und Centrosoma) vom Samenfaden dem Ei zugeführt werden und zwar durch das Verbindungsstück desselben.

Von einer »Centrenquadrille« im Sinne FOL'S habe ich beim Axolotl nichts sehen können, doch muss ich noch einmal betonen, dass ich leider von den Stadien der Copulation bisher nur wenig Eier sammeln konnte.

Was den Streit zwischen der »Verschmelzungstheorie« O. HERTWIG'S und der »nuclearen Ersatztheorie« VAN BENEDEN'S betrifft, so schließe ich mich ganz der Meinung STRASBURGER'S und HERTWIG'S an, dass man trotz der Befunde bei *Ascaris* und anderen Eiern doch be- rechtigt ist, von einer »Verschmelzung der beiden Vorkerne« zu sprechen, wenn sie auch nicht im Ruhestadium, sondern erst im Schleifenstadium erfolgt, denn die Chromatinschleifen des Eikerns und Samenkerns treten doch faktisch zu einer Kernfigur, zur ersten Furchungsspindel zusammen und diese theilt sich in zwei, nicht aber in vier Tochterkerne, wie es sein müsste, wenn es sich auch nach der Vereinigung noch um zwei getrennte, nicht verschmolzene Kerne handelte. Überdies nennt ja VAN BENEDEN den Ei- und Samenkern nur »Halbkern«, den ersten Furchungskern aber einen Vollkern, also muss auch er offenbar eine Vereinigung der beiden Halbkerne annehmen.

¹ Zellstudien. II. p. 167.

Außerdem ist nun von BOVERI¹ mehrfach bei *Ascaris meg.*, bei *Phyllirhoë bucephalum*, bei *Cionia intestinalis* und *Echinus microtuberculatus* der Nachweis erbracht, dass bei Eiern vom selben Mutterthier beide Fälle vorkommen, Verschmelzung der »Vorkerne« im Ruhestadium und getrennte Distraktion der männlichen und weiblichen Chromatinschleifen, dass es sich also offenbar um gänzlich bedeutungslose, vielleicht rein zufällige Variationen des Befruchtungsvorganges handelt, je nachdem die beiden Geschlechtskerne früher oder später auf einander treffen; doch scheint die Verschmelzung der Ruhekerne immerhin das seltenere Vorkommen zu sein, da sich die Befunde von der Bildung der ersten Furchungsspindel ohne vorherige Verschmelzung doch immer noch mehren und sich bereits, wie auch BOVERI hervorhebt, über alle Hauptthierreihen ausgebreitet haben. Sie ist nachgewiesen bei den Würmern (Nematoden, *Sagitta*, *Nephelis*), bei Mollusken (*Limax*, *Helix*, *Arion*, *Pterotrachea*, *Carinaria*, *Phyllirhoë*, *Tiedemannia*, *Cymbulia*), bei Coelenteraten (*Mitrocoma*), Echinodermen (*Echinus microtuberculatus*), Tunicaten (*Cionia intestinalis*), Arthropoden (*Cetochilus*, *Branchipus Grubii*²) und auch sogar bei einem Wirbelthier (*Ctenolabrus*). Im Pflanzenreich hingegen scheint sich nach STRASBURGER³ die Verschmelzung der Vorkerne ausschließlich schon im Ruhestadium zu vollziehen.

In der Frage nach der Bedeutung der Richtungstheilungen und des Befruchtungsvorganges scheinen sich die Autoren jetzt nicht mehr so schroff gegenüberzustehen als früher; namentlich ist man wohl ziemlich allgemein von der »Unisexualität« der beiden Geschlechtskerne zurückgekommen und in der Richtungstheilungsfrage hat entschieden die BÜTSCHLI-BOVERI'sche Ansicht, wonach die Richtungstheilungen phylogenetisch reducirte weitere Eizelltheilungen darstellen, die meiste Zustimmung gefunden. Die Befunde beim Axolotl bilden, wie mehrfach erwähnt, eine vollständige Bestätigung zu dieser Annahme. BOVERI geht so weit, die Richtungstheilungen für vollkommen zwecklos zu halten und ihr Fortbestehen trotz der Zwecklosigkeit für einen Beweis der »organischen Trägheit« zu halten. Ich möchte glauben, dass diese sich mit solcher Zähigkeit weiter erhaltenden Theilungen doch irgend einem physiologischen uns noch unbekanntem Zwecke dienen. Über diesen Zweck sind die verschiedensten Hypothesen auf-

¹ BOVERI, Zellstudien. II., III.

² Wie VAN BENEDEN, so bildet übrigens auch BRAUER in Fig. 83 u. 86 doch eine Verschmelzung der beiden Kernhöhlen ab.

³ STRASBURGER, Kern- und Zelltheilung im Pflanzenreich, nebst einem Anhang über Befruchtung. Fischer 1888.

gestellt, v. KÖLLIKER¹ und v. IHERING² sehen den Zweck in einer Herabdrückung des Eikernes auf das Kaliber des Spermakernes; diese Deutung hat viel Einleuchtendes, zumal wir aus unseren Präparaten gesehen haben, dass der eben gebildete Eikern (durch den Vollzug der Richtungstheilungen) in der That etwa gerade so groß geworden ist als der eben gebildete Samenkern. Aber dasselbe Resultat ließe sich doch wohl auf weniger complicirte Art erreichen, z. B. dadurch, dass sich der Eikern direkt nach seiner Bildung aus dem Keimbläschen nicht mehr weiter verkleinerte, und dass nur der Samenkern bei der Wanderung noch wüchse. HERTWIG hält die Chromatinreduktion für den eigentlichen Zweck der Richtungstheilungen; in der That wird bei ihnen im Wesentlichen nur das Chromatin, nicht die Protoplasmamasse des Eies reducirt: »denn die Protoplasmamasse der Großmuttereizelle oder des Oocyten erster Ordnung soll ja« nach BOVERI »eben möglichst vollständig in der einen von den vier Descendentenzellen aufgespeichert werden«.

Doch scheint es mir, ganz abgesehen von BOVERI's Funden an den im Ascarisei zurückgebliebenen Richtungskörpern, überhaupt gewagt, bei dem Vorgang einer wahren Zelltheilung daran zu denken, dass dieser nur dazu dienen solle, eine Substanz aus dem Zelleib zu eliminiren, einen Auswurfstoff zu beseitigen; ich meine, dazu sei keine Zellproduktion nöthig, der überflüssige Zelltheil könnte viel einfacher durch Atrophie und schließliche Resorption oder Verbrennung beseitigt werden. Höchstens könnte man den mächtigen Strom der Leucocyten damit vergleichen, aber auch da sind wir ja durchaus nicht mit Sicherheit berechtigt, anzunehmen, dass es sich nur um Auswurfzellen handelt, die keinen physiologischen Zweck erfüllen.

Vielleicht kommt die mehrfach modificirte »WEISMANN'sche Theorie« einer wirklichen Lösung des Räthsels etwas näher. In allen Ausführungen derselben scheint mir übrigens die fundamentale Eigenschaft des lebenden Protoplasmas, Stoffe der Umgebung sich selbst zu assimiliren, zu wenig berücksichtigt zu sein. Es ist gewiss nicht im Sinne WEISMANN's gelegen, sondern ein Missverständnis, aber ein leicht verzeihliches, da ich wenigstens nirgends davor gewarnt finde, dass man nämlich annimmt, in jeder Geschlechtszelle seien von dem individuellen Plasma eines entfernten Ahnen noch wirkliche Theilchen vorhanden trotz der sich auf Billionen belaufenden Spermatozoen- und Eiproduktion in

¹ v. KÖLLIKER, Die Bedeutung der Zellkerne für die Vorgänge der Vererbung. Diese Zeitschr. Bd. XLII.

² v. IHERING, Befruchtung und Furchung des thierischen Eies. Vortr. f. Thierärzte von PFLUG. Serie I. Heft 4. 1878.

der langen Zeit¹. Man hat doch vielmehr offenbar anzunehmen, dass eine Zelle, die in ihrem Leibe etwas Plasma ererbt hat, das einer Kombination der Ahnenplasmen *a* und *b* entspricht, im Stande ist, aus den ihr zugeführten Nährmaterialien Protoplasma von der Kombination (*a b*) zu bilden, dass mit anderen Worten eine Zelle eines jetzt lebenden Menschen unter Umständen fähig ist, eine Protoplasmaart zu bilden bezw. zu vermehren, in der Eigenschaften enthalten sind, die sie ererbt hat von Ahnen, die vor Tausenden von Jahren gelebt haben, ohne dass individuelle Moleküle von jenen Ahnen in ihrem Leibe enthalten zu sein brauchen.

Endlich können unsere Präparate auch in der alten Streitfrage, ob die Kernsubstanz allein der Träger der Vererbung sei oder ob auch protoplasmatische Theile durch die Samenfäden auf das Ei mit übertragen werden, zur Entscheidung beitragen. Jetzt neigen sich fast alle Autoren der ersten, später allerdings von ihm selbst verlassenen Ansicht KÖLLIKER'S² zu, wonach der Samenfaden nicht einem umgewandelten Kern, sondern einer ganzen Zelle gleichzusetzen sei. Die meisten Autoren nahmen dabei allerdings an, dass für die Befruchtung doch lediglich die Kernsubstanz in Betracht komme; unsere Präparate hingegen zeigen unzweideutig, dass die Kernsubstanz des Samenfadens nicht allein als die männliche Vererbungssubstanz angesehen werden kann, denn es theiligt sich ja bei der Befruchtung sichtlich auch die Attraktionssphäre oder das Archoplasma des Samenfadens, dessen Abstammung aus dem Kern zwar neuerdings von O. HERTWIG angenommen, aber doch noch nicht über allen Zweifel erhoben ist. Aber wenn auch die Sphäre in letzter Instanz ein Kernabkömmling wäre, muss der Schwanz doch sicher als extranucleär entstanden betrachtet werden. Da wir diesen aber auch in den Zellenleib der Eizelle mit eindringen sehen, so ist nicht mit aller Sicherheit eine Mitwirkung von seiner Seite bei der Befruchtung auszuschließen; denn wenn er auch morphologisch keine Bedeutung bei der Befruchtung zu haben scheint, da er sich im Eikörper völlig auflöst, könnte ihm »physiologisch« oder besser, »chemisch« doch eine Wirkung dabei zu-

¹ Beiläufig will ich bemerken, dass WEISMANN (Über die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung, Jena 1887, p. 34) in der Berechnung der Iden-(Ahnenplasmen-)Zahl in der *n*-ten Generation ein Irrthum untergelaufen ist, indem die Idenanzahl darin nicht n^2 sondern natürlich 2^n betrage.

² KÖLLIKER, Beitr. zur Kenntnis der Geschlechtsverhältnisse und der Samenflüssigkeit wirbelloser Thiere. Doktor-Dissert. Berlin 1844.

kommen; durch seine Beimischung könnte möglicherweise, ähnlich wie durch ein Ferment, eine wichtige chemische Veränderung des Eiplasmas erfolgen, die auch zur Vererbung in Beziehung stehen könnte. Ob diese Annahme wahrscheinlich ist oder nicht, lässt sich kaum sagen, jedenfalls lässt sich die Unwichtigkeit des Schwanzes für die Befruchtung einstweilen nicht beweisen. Für die Entscheidung dieser Fragen müsste erst der Chemismus des Protoplasmas und der Nucleine, dieser complicirtesten aller Eiweißkörper, ganz ergründet sein, eine Aufgabe, die wohl noch lange ihrer Lösung harren dürfte.

Wenn sich aber auch nicht beweisen lässt, dass dem Protoplasma des Samenfadens wirklich keine wesentliche Bedeutung bei der Vererbung zukommt, so werden doch alle Autoren lieber das Chromatin für das Substrat der Vererbung halten, weil wir eben dessen wunderbares Verhalten, dessen Veränderungen bei der Befruchtung, mit unseren Augen unmittelbar sehen und uns also eher etwas Bestimmtes dabei denken können, als bei den vielleicht eben so wichtigen, aber für uns unsichtbaren rein chemischen, nicht morphologischen Veränderungen des Protoplasmas. Deshalb hat wohl auch die »WEISMANN'sche Vererbungstheorie«, so viel ihre Details auch von den verschiedensten Autoren bekämpft und zum Theil widerlegt sind, im Großen und Ganzen doch bei Allen unausrottbare Wurzeln geschlagen, deshalb ist die Grundanschauung WEISMANN's, in den Chromatinschleifen die von den Ahnen ererbten Protoplasmaeigenschaften, die Ahnenplasmen verkörpert zu sehen, doch wohl Allen, auch Denen, die vorher noch nicht ähnliche Anschauungen in sich trugen, in »Fleisch und Blut übergegangen«. Auch die WEISMANN'sche Lehre von der Bedeutung der Amphimixis als dem eigentlichen Zweck der Befruchtung gewinnt fortwährend noch an Anhängern.

Nach allen bisher bekannten Thatsachen könnte man vielleicht den Zweck der Befruchtung, den Zweck der Vereinigung des Chromatins zweier Zellen von zwei verschiedenen Individuen kurz so ausdrücken: Es findet durch diesen Vorgang eine Summirung von den in zwei verschiedenen Ahnenreihen herangezüchteten Protoplasmaarten statt, welche neue Kombination von ererbten Fähigkeiten eventuell im Stande sein wird, das betreffende neue Individuum und weiterhin die betreffende Rasse im Kampf ums Dasein wesentlich zu fördern und die hinwiederum einen Ausgangspunkt darstellt für weitere, neue Variationen.

VI. Zusammenfassung der Resultate.

1. Das Ei und seine Reifung.

Die Eier sind sehr verschieden groß. p. 534.

Der »helle Richtungsfleck« ist nicht identisch mit dem »Richtungsgrübchen« (Fovea germinativa), letztere ist eine sekundär durch das erste Richtungskörperchen gedrückte Grube in der Eioberfläche. p. 534 u. 544.

Das Ei besitzt zwei Dotterhäute, die äußere dicke stammt vom Follikelepithel, die innere, zarte ist die Zellmembran des Eies. p. 532.

Das Pigment giebt Eisenreaktionen. p. 533 f.

Die Dotterkörner sind kugelige Gebilde, keine Plättchen. p. 534.

Die Höhle um das Keimbläschen herum scheint kein Kunstprodukt zu sein. p. 535 f.

In dem noch wenig excentrischen Keimbläschen sind zopfartig verflochtene und gabelig getheilte Chromosomen in großer Zahl. p. 537 (592 f.).

Bei der Ausbildung der Chromosomen für die erste Richtungsspindel verschwinden die Nucleolen. p. 538.

Bei der Eireifung wandert das Keimbläschen an die Eioberfläche. p. 538.

Die erste Richtungsfigur besitzt ungefähr acht Chromosomen. p. 540.

Die erste Spindel scheint aus Keimbläschenresten hervorzugehen, ist nicht tonnenförmig, sondern spitzpolig, lässt keine Polstrahlen und kein Centrosoma erkennen. p. 540.

Die erste Spindel steht zuerst tangential, dann radial. p. 544 (596 f.).

Die Spindelfasern befestigen sich bei der radial stehenden Spindel einerseits an der Eizellmembran, andererseits am Plasmanetzwerk der Eizelle. p. 542.

Die Ausstoßung des ersten Richtungskörpers erfolgt auf dem Weg des Eies vom Ovar zur Tube oder in den obersten Abschnitten der letzteren. p. 544.

Die beiden Richtungstheilungen sind wahre Zelltheilungen. p. 543 u. 549.

Die beiden Richtungszellen liegen zwischen Dotterhaut und Eizellmembran. p. 543 u. 550.

Die erste Richtungszelle theilt sich in seltenen Fällen nochmals. p. 545.

Die beiden Richtungszellen gehen durch Pigmentatrophie zu Grunde. p. 544.

Die zweite Richtungsspindel geht ohne Ruhestadium aus den Resten der ersten hervor, ist bedeutend kleiner als die erste, lässt auch weder Polstrahlung noch Centrosoma erkennen. p. 545 f.

Auch die zweite Richtungsspindel steht zuerst tangential, nachher radial. p. 545, 547 (596 f.).

Bei der zweiten Richtungstheilung zeigen sich Andeutungen einer Zellplattenbildung. p. 548.

Die Ausstoßung der zweiten Richtungszelle erfolgt immer erst nach der Befruchtung, sonst überhaupt nicht. p. 547.

Die zweite Richtungszelle ist bedeutend kleiner als die erste. p. 550.

Der Eikern, der weder Sphäre noch Centrosoma besitzt, wächst bei seiner Wanderung sehr bedeutend (ca. um das 27fache). p. 552.

2. Das Spermatozoon.

Die Samenfäden bestehen aus Kopf, Verbindungsstück und Schwanz. p. 554.

Der Kopf lässt einen RERZIUS'schen Spieß, ein besonderes Vorderstück und einen Achsenfaden erkennen. p. 554 f.

Das Verbindungsstück ist in den Kopf eingefalzt, besteht auch aus einem Achsenfaden und einem Mantel. p. 556.

Lediglich das Verbindungsstück färbt sich bei Metallsalzhämatoxylinfärbung tiefschwarz blau. p. 558.

Der Schwanz hat auch einen Achsenfaden und Mantel sowie eine Wellenmembran und ein besonders gestaltetes Endstück. p. 560 ff.

Die Wellenmembran ist nur einseitig, nicht spiralig am Schwanzfaden befestigt. p. 560.

3. Die Befruchtung des Eies.

Beim Axolotl erfolgt keine Begattung. p. 564.

Die Eier werden beim Durchtritt durch die weibliche Kloake durch den in den Samentaschen aufgespeicherten Samen befruchtet. p. 565.

Eine Mikropyle besteht nicht. p. 567.

Die Samenfäden dringen an beliebigen Stellen, auch auf der weißen Seite des Eies ein. p. 567, 588 ff.

An der Eintrittsstelle bildet sich sofort eine trichter- bzw. kegelförmige Eiplasmaansammlung (»Empfängniskegel«). p. 567.

Auf der schwarzen Hälfte des Eies wird der Weg des Samenfadens durch eine Pigmentstraße bezeichnet; diese kann nicht lediglich dem Oberflächenpigment entstammen. p. 570.

Es dringt der ganze Samenfaden ins Ei ein. p. 584.

Wenn der Samenfaden etwa $\frac{1}{4}$ des Eiradius ins Eiinnere vorge-
drungen ist, biegt er plötzlich um, die Pigmentstraße erhält ein Knie.
p. 573 f.

Der Kopf des Samenfadens wendet sich später ganz rückwärts der
Eioberfläche zu, so dass das Verbindungsstück nach innen vom Kopf zu
liegen kommt. p. 574.

Aus dem Verbindungsstück entwickelt sich eine Attraktionssphäre;
etwa 1^h nach der Eiablage. p. 577.

Aus dem Kopf bildet sich der Samenkern; etwa 2^h nach der Eiab-
lage. p. 580.

Der Schwanz verschwindet gänzlich. p. 581.

Die Richtung des Pigmentknies scheint zur Lage des Eikernes in
keiner gesetzmäßigen Beziehung zu stehen. p. 575.

Auch der Samenkern wandert unter amöboiden Bewegungen und
wächst dabei eben so stark wie der Eikern. p. 582.

Die Attraktionssphäre des Samenkernes theilt sich lange vor der
Copulation. p. 583.

Eikern und Samenkern sind noch im Ruhestadium, auch wenn sie
schon ganz dicht bei einander liegen. p. 586.

Eine »Centrenquadrille« ist beim Axolotl nicht zu finden. p. 587.

Die erste Furche zeigt sich etwa 3^h nach der Eiablage. p. 587.

4. Die Nebenspermatozoën.

Beim Axolotl besteht physiologische Polyspermie. Die
Nebenspermatozoën verhalten sich genau wie das Hauptspermatozoon,
nur copuliren sie nicht mit dem Eikern. p. 587 ff.

Würzburg, im März 1893.

Litteratur über den Axolotl.

1867. A. DUMÉRII, Metamorphose des Batraciens urodèles à branchies externes du
Mexique, dits Axolotls, observées à la ménagerie des Reptiles du Musée
d'histoire naturelles. Annal. des scienc. nat. Vol. VII.
1870. VAN BAMBEKE, Sur les trous vitellins, que présentent les oeufs fécondées des
Amphibiens. Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique.
1872. MALBRANC, Über das Sperma vom Siredon. Würzburger Verhandlungen. N. F.
Bd. III.
1872. JOLY, Étud. sur les métamorphos. des Axolotls du Mexique, développement
et rotation de leur embryon dans l'oeuf. Rev. des scienc. nat. publ. sous
la direct. de MM. DUBREUIL et E. HAECKEL. T. I. No. 4.

1873. H. GERVAIS, Hybridation des Axolotls par les Tritons. Journal de Zoologie. T. II. p. 245.
1874. ROBIN, Observation sur la fécondation des Urodèles. Journ. de l'Anat. et de la Physiol.
1875. STIEDA, Zur Naturgeschichte des mexikanischen Kiemenmolches. Sitzungsber. der Dorpater Naturforsch. Ges. Vortrag in der 84. Sitzung. 20. III. 1875.
1878. MARIE V. CHAUVIN, Über die Verwandlung des mexikanischen Axolotls in Amblystoma. Diese Zeitschr. Bd. XLVII.
1884. GASCO, Les amours des Axolotls. Zool. Anz. 1884.
1884. BELLONCI, Int. alla cariocinesi nel segmentazione dell' ovo di Axolotl. Nota R. Accad. dei Lincei. — BELLONCI, Int. alla formazione della linea primitiva e del solco primit. nella gastrula dell' Axolotl. Not. prevent. R. Istitut. Lombardo nell' adunanza del 17. V. 1883.
1884. SHUFELDT, Axolotl transformat. Science Vol. VI.
1887. O. SCHULTZE, Über die Eireifung und Befruchtung des Amphibieneies. 4. Abhandlung. Diese Zeitschr. Bd. XLV.
1889. O. SCHULTZE, Würzburger Sitzungsber. Nr. 1.
1889. A. v. KÖLLIKER, Gewebelehre. 6. Aufl. p. 50—55 u. Würzburger Sitzungsber. Nr. 2.
1890. BALLOWITZ, Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Archiv f. mikr. Anat. Bd. XXXVI.
1890. ZELLER, Über die Befruchtung der Urodelen. Diese Zeitschr. Bd. XLIX und Berichtigung betr. die Samenaufnahme der weibl. Tritonen. l. c. p. 741.
1892. R. FICK, Über die Befruchtung des Axolotleies. Vorl. Mittheilung. Anat. Anz. Nr. 25, 26. 1892.

Sehr ausführliche Verzeichnisse der Litteratur über die Befruchtung finden sich bei WALDEYER, Karyokinese und ihre Beziehung zu dem Befruchtungsvorgang, Mikr. Arch. Bd. XXXII, 1888 und in BOVERI's Referat über die Befruchtung im MERKEL-BONNET'schen Jahresbericht 1892, sowie HERTWIG, Die Zelle und die Gewebe. Jena 1892.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XXVII—XXX.

Die wichtigen Kontouren in den Abbildungen sind alle mit dem Zeichenprisma nach der Natur gezeichnet. Es wurden mit Ausnahme der Spermatozoenabbildungen immer dieselben Vergrößerungen angewendet. Für schwache Vergrößerung LEITZ Syst. 3, Oc. I, für starke: LEITZ Ölimmers. $\frac{1}{12}$, Oc. I.

Fig. 1. Das Axolotlei mit wenig excentrischem Keimbläschen. *D*, Dotterhaut in Entstehung mit Follikelepithel; *P*, Perivitellin; *H*, Höhle um das Keimbläschen herum; *M*, Keimbläschenmembran; *N*, Nucleolen.

Fig. 2. Stück des Keimbläschens bei starker Vergrößerung. *M*, Membran des Keimbläschens; *NS*, »Nucleolenschatten«; *Chr*, Chromatinschleifen; *z*, zopfförmig verflochtene Chromosomen.

Fig. 3. Ei mit an die Oberfläche gerücktem Keimbläschen. Bezeichnungen wie in Fig. 1.

Fig. 4. Entstehung der ersten Richtungsspindel. An der Oberfläche die Kerne des Follikelepithels (dunkel) und des Ovarialepithels (blass), sowie die Dotterhaut in Bildung.

Fig. 5 = Fig. 34 O. SCHULTZE's. Erste Richtungsspindel tangential.

Fig. 6. Erste Richtungsspindel in schräger Stellung.

Fig. 7. Erste Richtungsspindel fast radiär, Befestigung des äußeren Poles an der Eizellmembran.

Fig. 8. Die erste Richtungsspindel drängt die Eioberfläche etwas vor, die Abschnürung der ersten Richtungszelle beginnt.

Fig. 9. Weiteres Stadium der Abschnürung der ersten Richtungszelle.

Fig. 10. Erste Richtungszelle im Richtungsgrübchen zwischen den beiden Dotterhäuten.

Fig. 11. Nochmals getheilte erste Richtungszelle.

Fig. 12. Zweite Richtungsspindel fast tangential, an den Seiten eingedrückt.

Fig. 13. Zweiter Richtungsdiaster. Genau radiär, genau unter der Richtungsgrube mit dem ersten Richtungskörperchen. Eizellmembran zwischen beiden verdickt, gequollen. Am Äquator eine »verspätete« Schleife.

Fig. 14. Schräger Richtungsdiaster mit Andeutung einer pigmentirten Zellplatte.

Fig. 15. Zweite Richtungsspindel im gleichen Stadium wie die erste in Fig. 8.

Fig. 16. Abschnürung der zweiten Richtungszelle. Eikern schon die Wanderung eben beginnend.

Fig. 17a. Erste Richtungszelle in flacher Delle; das Pigment durch den Luftzutritt abgeblasst (cf. p. 533). Fig. 17b. Zweite Richtungszelle in Abschnürung.

Fig. 18. Links die kleine zweite Richtungszelle, rechts die große erste im Richtungsgrübchen gelegen.

Fig. 19. Eikern auf Wanderung (die Richtungszellen mit dem Prisma auf den gleichen Schnitt projicirt).

Fig. 20. Spermatozoon bei LEITZ, Ölimmersion $\frac{1}{12}$, Oc. III. Tubus kurz.

Fig. 24. Spermatozoon, Kopf, Verbindungsstück und Schwanzanfang mit Hämatoxylin gefärbt. LEITZ Obj. 7, Oc. III.

Fig. 22. Hinteres Kopfende — Schwanzanfang. LEITZ Ölimmers. $\frac{1}{12}$, Oc. III. Tubus lang.

Fig. 23. Ganzer Samenfadens. Verbindungsstück schwarz gefärbt durch Kupfervitriol-Hämatoxylin. LEITZ Obj. 7, Oc. III.

Fig. 24. Schwanzende (Hämatoxylinpräparat). LEITZ Ölimmers. $\frac{1}{12}$, Oc. III. Tubus lang.

Fig. 25. Samenfadens auf der weißen Hälfte in das Ei eindringend. Dotterhaut abgehoben, Perivitellinerguss zwischen den zwei Häuten, Eiplasmaerguss unter der Eizellmembran.

Fig. 26. Kombinationsbild aus zwei Schnitten; Aufquellung des Samenfadens beim Eintritt in den »Empfängnistrichter«.

Fig. 27. Schwanz beim Eindringen korkzieherartig gewunden. Im Dotter Querschnitt des Kopfes.

Fig. 28. Bildung der Pigmentstraße beim Eindringen (Kombination aus drei Schnitten).

Fig. 29. Umbiegung eines auf der weißen Hälfte eingedrungenen Samenfadens, an dem Kopf und Verbindungsstück zu unterscheiden ist; der Empfängniskegel und der Perivitellinerguss fast ganz verschwunden.

Fig. 30. Dasselbe auf der schwarzen Eihälfte.

Fig. 31. Pigmentstraße mit primärem und sekundärem Knie. Eikern in Bildung.

Fig. 32. Pigmentstraße mit primärem und sekundärem Knie. Eikern eben die Wanderung beginnend. Das Strahlencentrum bereits geteilt (= zwei Centrosomen). *Sp*, Samenkern; *Ek*, Eikern.

Fig. 33. Eben so. Eikern tief im Inneren.

Fig. 34. Attraktionssphäre auf der weißen Hälfte in Bildung zwischen Kopf und Schwanz. Die punktierte Linie entspricht der Verlaufsrichtung der Eioberfläche.

Fig. 35. Dasselbe auf der schwarzen Eihälfte. Die Umkehr des Kopfes zur Eioberfläche hin zu konstatiren.

Fig. 36. Eben so. Auf dem gequollenen Verbindungsstück auch die zur Ebene der Abbildung senkrecht verlaufenden Strahlen in perspektivischer Verkürzung als Pünktchen zu erkennen.

Fig. 37. Kontouren des Verbindungsstückes ganz verschwunden, Schwanz abgelöst; Pigmentstraße nach rechts, Samenkopf nach links gewendet.

Fig. 38. Kopf spitz ausgezogen, in Ablösung von der Sphäre; in dieser ein weißes Pünktchen (Centrosoma?), Kopf bröckelig.

Fig. 39. Kopf in Abschnürung von der Sphäre; vom Pigmentknie ab der Eioberfläche zugewendet. In der Pigmentstraße ein gequollener Schwanzrest. Kopf bröckelig.

Fig. 40. Samenkern eben gebildet; Schwanz auch noch zu sehen. Situation zum Pigmentknie; dieses zielt nach links, der Samenkern nach rechts und zur Oberfläche hin.

Fig. 41. Sphäre in Theilung, Hantelform.

Fig. 42. Sphären geteilt, fast stäbchenförmig; Spermakern gewachsen von der primären Pigmentstraße ziemlich entfernt.

Fig. 43. Samenkern mit großem, noch ungetheilten Archoplasmaklumpen.

Fig. 44. Samenkern mit einem kleinen (Tochter-)Archoplasmaklumpen.

Fig. 45. Samenkern und Eikern in Conjugationsstellung, zwischen beiden die zwei Archoplasmakugeln.

Fig. 46. Eikern und Samenkern neben einander. Kernmembran stark gefältelt. Die Chromosomen zu einem dichten Knäuel (Klumpen) kontrahirt, so dass die (blassen) Archoplasmakugeln größer als die Chromatinklumpen. Beim oberen Kern liegt das Archoplasma hinter dem Chromatin, beim unteren Kern vor demselben.

Fig. 47. Erste Furchungsspindel, Äquatorialplatte in Polansicht.

Fig. 1.

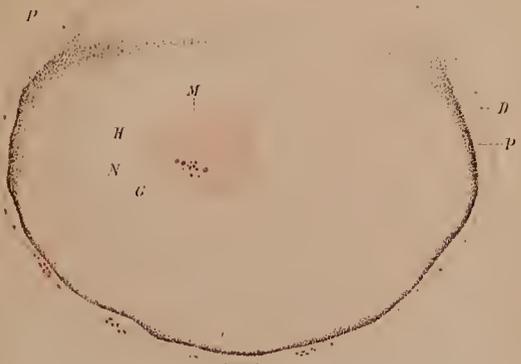


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 6.

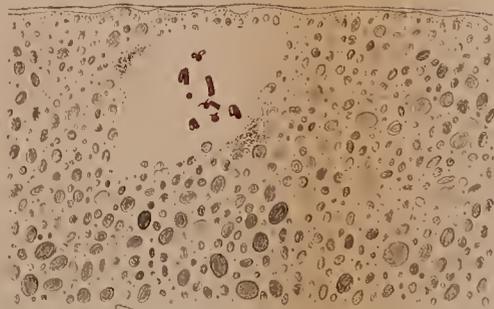


Fig. 5.



Fig. 7.



Fig. 8.



Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 12.



Fig. 13.



Fig. 14.

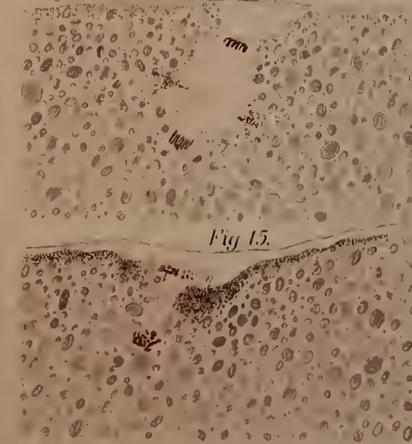


Fig. 11.



Fig. 15.



Fig. 16.

Fig. 27.

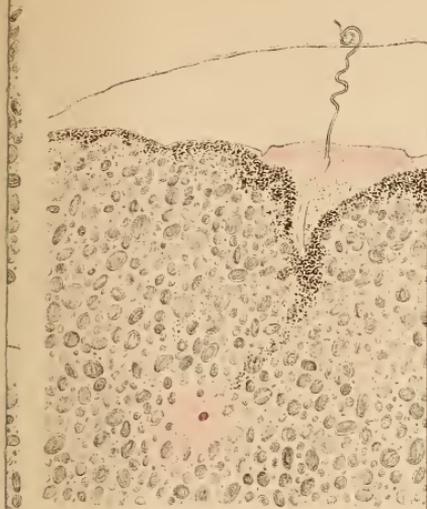
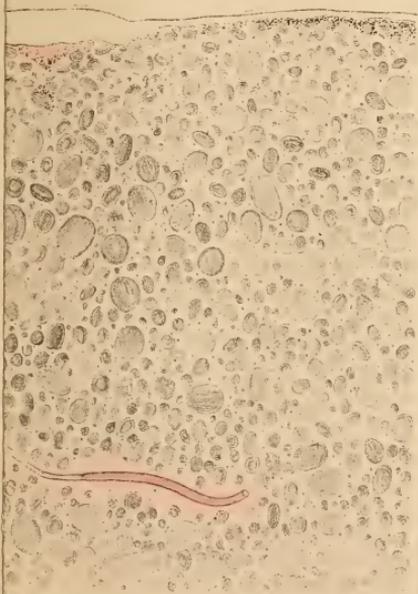
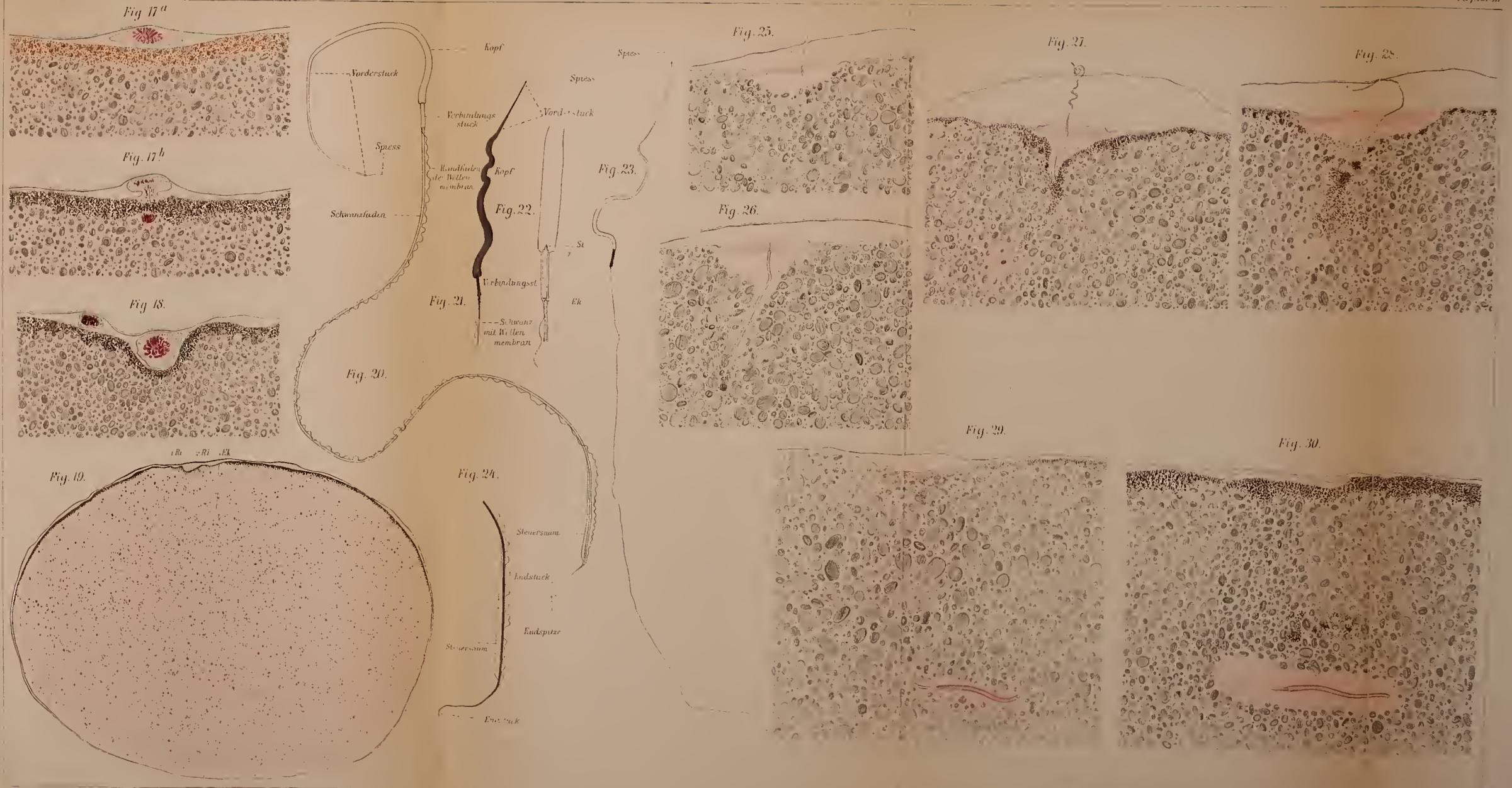


Fig. 29.





Ek

Spu Ctr.

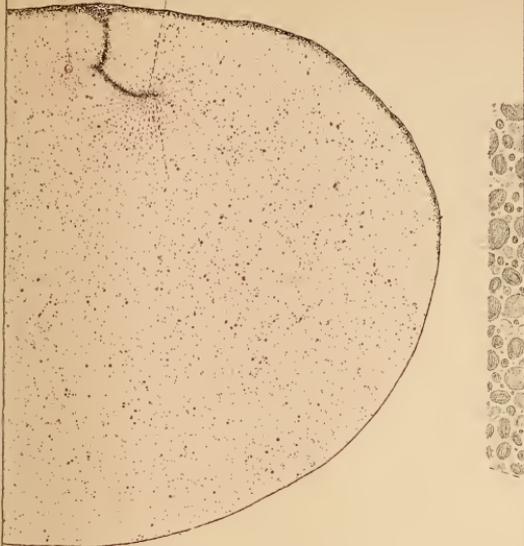


Fig. 39.

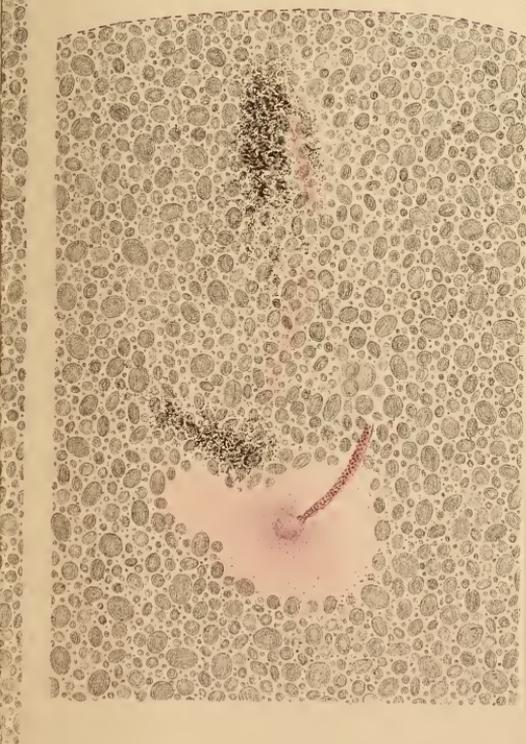


Fig. 31.

Ek u. 2. Ri Sp u. Cr

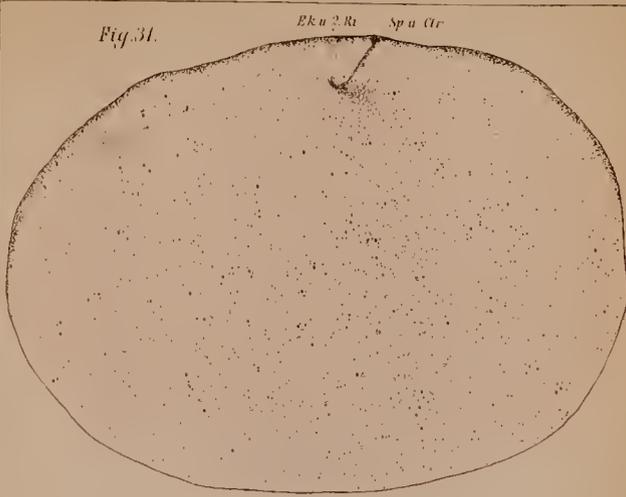


Fig. 32.

2 Cr u. Sp Ek

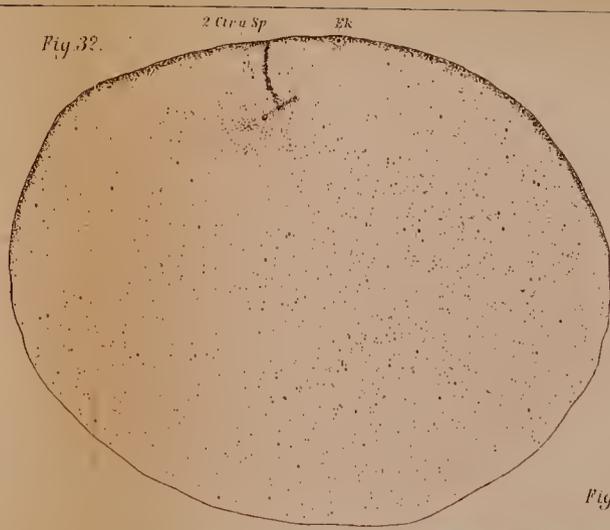


Fig. 33.

Ek Sp u. Cr

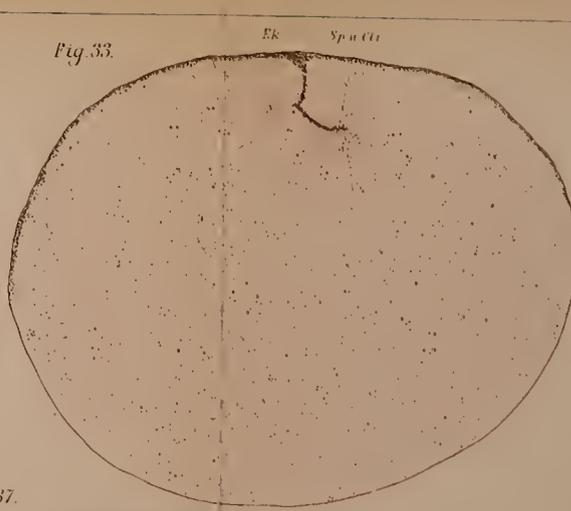


Fig. 34.



Fig. 37.



Fig. 36.



Fig. 39.

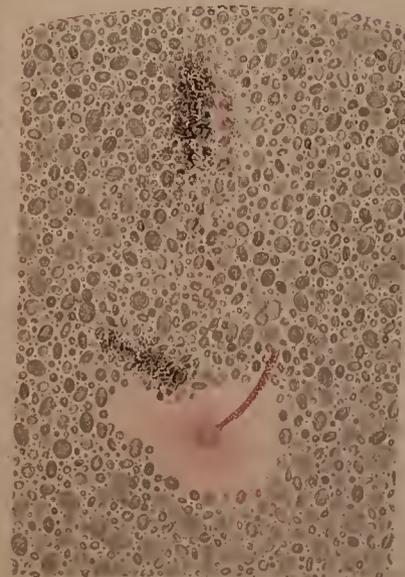


Fig. 35.

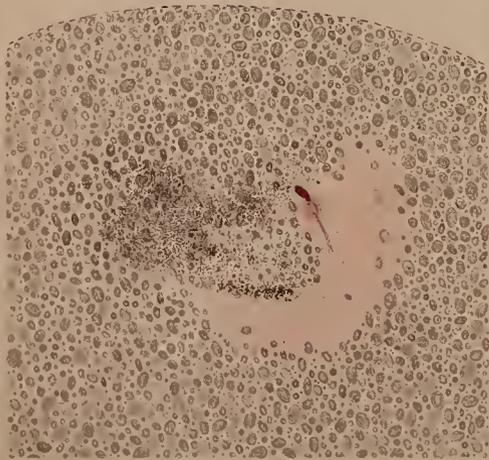


Fig. 38.

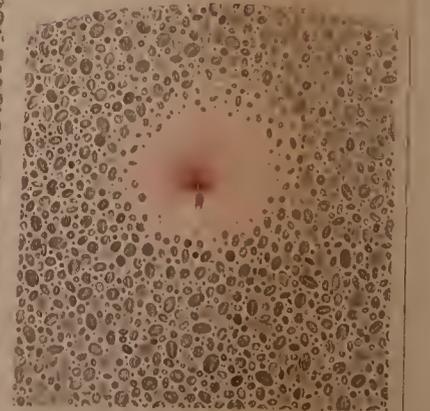


Fig. 42.

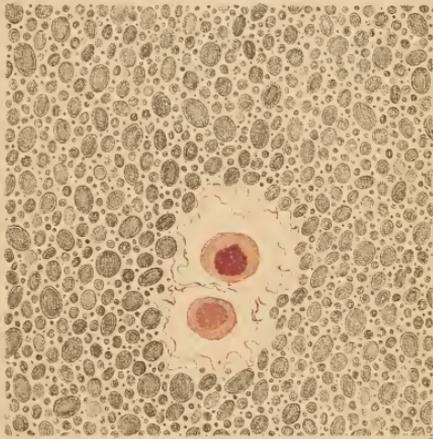
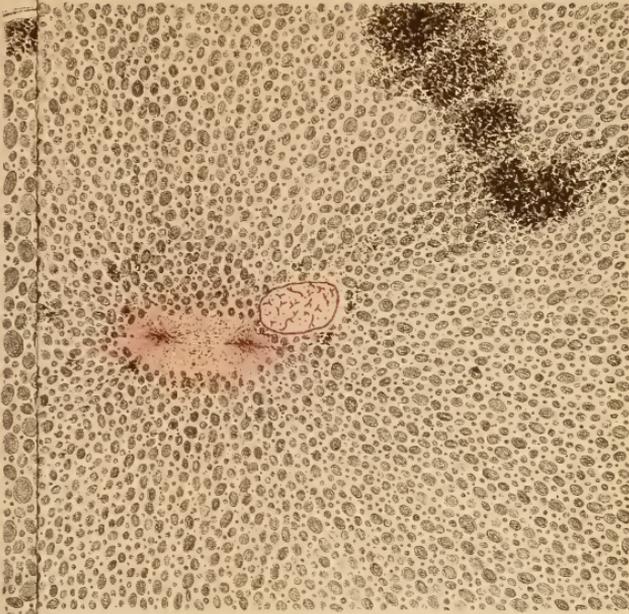


Fig. 47.

Fig. 46.



Fig. 40.

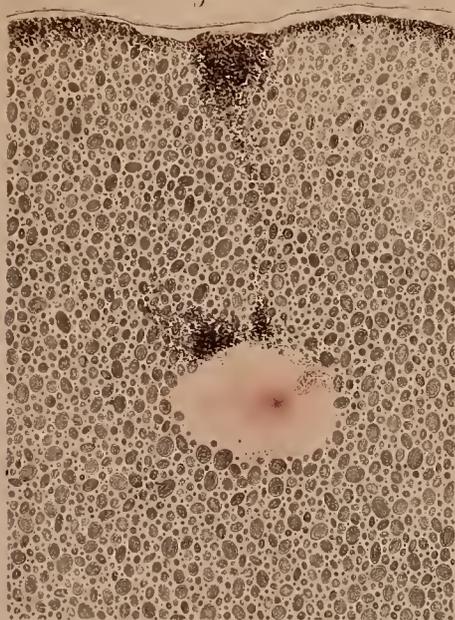


Fig. 41.

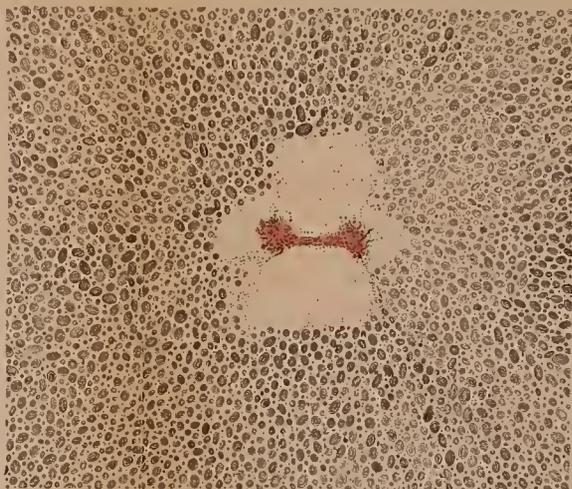


Fig. 42.



Fig. 44.

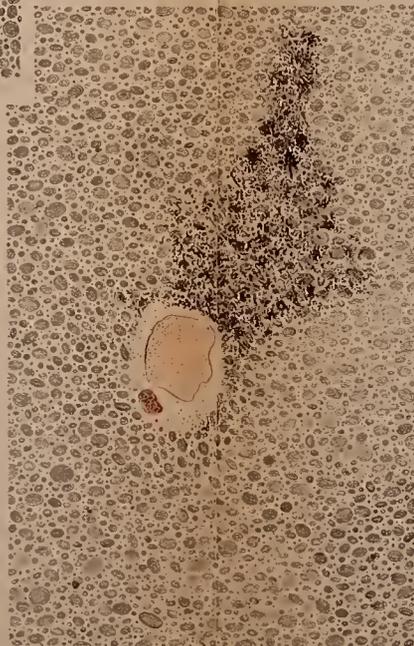


Fig. 43.

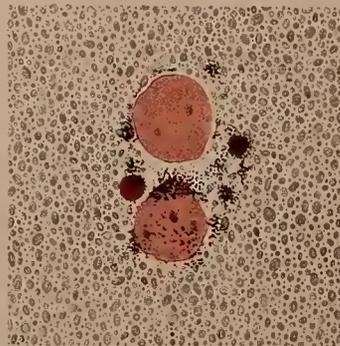


Fig. 45.

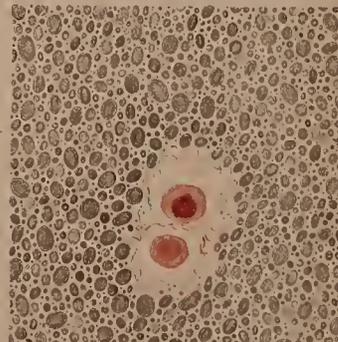


Fig. 47.

Fig. 46.

