

1088

P. 67

Zotik. Ekologij  
Biblioteka

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE.  
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

---

N° 8.

Octobre

1905.

**Sommaire:** 46. M. M. SIEDLECKI. Sur le rôle du karyosome.

47. M. TAD. GARBOWSKI. Sur le développement des larves des oursins sans entoderme.

48. M. TAD. GARBOWSKI. Sur la polarité de l'oeuf des oursins.

49. M. LAD. MICHALSKI. Sur l'action des certains alcaloïdes sur les blattes.

50. M. M. RACIBORSKI. Propriétés oxydantes et réductrices de la cellule vivante. II partie. Sur l'oxydase extracellulaire.

51. M. M. RACIBORSKI. Propriétés oxydantes et réductrices de la cellule vivante. III partie. Sur la réaction iodée de l'*Aspergillus niger*.

52. M. A. BECK. Phénomènes électriques dans l'écorce cérébrale après son extirpation partielle. Contribution à la localisation de la sensibilité à la douleur.

---

Séance du lundi 9 Octobre 1905.

PRÉSIDENCE DE M. N. CYBULSKI.

46. M. M. SIEDLECKI m. c. **O znaczeniu Karyosomu. (Über die Bedeutung des Karyosoms).** (Sur le rôle du karyosome). Mémoire présenté à la séance du 6. Décembre 1904.

(Planche XVI.)

In den Kernen sehr vieler, insbesondere zu den *Rhizopoden* und *Sporozoen* gehörender *Protozoen*, sieht man außer dem Chromatingerüst, noch große, gewöhnlich kugelige oder ovale Körper, welche sich mit basischen oder auch mit sauren Farbstoffen sehr deutlich färben und zuweilen eine recht sonderbare Struktur aufweisen. Da sich diese Körper anders färben und oft ganz verschieden als die Nukleolen höherer Tiere aussehen, werden sie mit dem indifferenten Namen „Karyosom“ bezeichnet. Diese Benennung wurde von Wilson<sup>1)</sup> eingeführt und sollte nach ihm eine größere Chromatinanhäufung im Kerngerüste bezeichnen. Nach Wilson und Labbé<sup>2)</sup> haben wir auch diese Benennung ange-

<sup>1)</sup> Wilson E. B. *The Cell in development and inheritance* New York, The Macmilan Comp. 1900.

<sup>2)</sup> Labbé A. *Recherches zoologiques cytologiques et biologiques sur les Coccidies.* Arch. de Zool. exp. [3] V. 1892.

nommen und bedienten uns ihrer stets in unseren Arbeiten<sup>1)</sup>, die über verschiedene Arten der zu den Sporozoen gehörenden Tiere handelten. Heute hat sich der Name fast allgemein eingebürgert, nur wenige Autoren (Rhumbler<sup>2)</sup>, bedienen sich anderer Benennungen (Binnenkörper).

Trotzdem das Karyosom ein sehr leicht wahrzunehmender Kerntheil ist, ist doch seine Bedeutung nur ungenügend erklärt. Viele Autoren konnten zwar sein Entstehen und Wachsen, oder seine Ausscheidung und seinen Zerfall sehen, doch sind es hauptsächlich unzusammenhängende vereinzelte Beobachtungen, die höchstens zu Vermutungen über seine Rolle in der Zelle führen könnten.

Die Ursache dieser Lücke in den bisherigen Forschungen wäre zum größten Teile darin zu suchen, daß man die Veränderungen am Karyosom nur äußerst selten gleichzeitig und gleichmäßig mit gut sichtbaren Veränderungen, welche einer leicht festzustellenden Funktion entsprechen würden, im ganzen Körper des Tieres beobachten konnte.

Während der Untersuchungen des Zeugungskreises von *Caryotropha mesnili* Sied., deren Entwicklungsgeschichte ich vorher in einer vorläufigen Mitteilung mitgeteilt habe<sup>3)</sup>, bemerkte ich in seinem Karyosom sehr deutliche Veränderungen, die gleichzeitig und gleichmäßig mit dem Wachstum dieses Tieres vor sich gehen, und unstreitig im Zusammenhang mit diesen Erscheinungen stehen. In der vorliegenden Arbeit will ich mich mit diesen Veränderungen und einigen daraus zu ziehenden Schlüssen beschäftigen.

Als Untersuchungsmaterial diente das parasitisch in den Spermatozyten von *Polymnia nebulosa* lebende Coccidium. Ich untersuchte es sowohl in frischem Zustande, als auch auf Präparaten, die entweder *in toto* fixiert und gefärbt, oder nach Paraffineinbettung in Serienschnitte zerlegt waren. Zur Fixierung der untersuchten

<sup>1)</sup> Siedlecki M. I. Étude cytologique et cycle évolutif de la Coccidie de la Seiche. Ann. Inst. Past. Paris 1898. — II. Étude cytologique et cycle evol. de l'Adelele ovata. Ibidem 1899. — O rozrodzie płciowym Gregaryny Monocystis ascidia. Rozpr. Wydz. mat.-przyr. Akad. Umiej. Kraków 1899.

<sup>2)</sup> Rhumbler. Über Entstehung und Bedeutung der in den Kernen vieler Protozoen vorkommenden Binnenkörper. Zeitschr. für wiss. Zool. T. LVI.

<sup>3)</sup> Siedlecki. Cycle évolutif de la Caryotropha mesnili. Bull. de l'Ac. des Sc. Cracovie. 1902.

Tiere bediente ich mich gewöhnlich einer konzentrierten Sublimatlösung mit Zusatz von 0.25% Essigsäure, oder der Flemming'schen Flüssigkeit. Die Präparate färbte ich meistens mittelst Hämalaun (nach Mayer), wonach sie mit einer Mischung von Eosin und Orange G. nachgefärbt wurden; außerdem benützte ich verschiedene Arten Hämatoxylin, Eisen-Hämatoxylin nach Heidenhain, Karmin und Safranin.

### Über das Wachstum der *Caryotropha mesnili*.

In der vorläufigen Mitteilung über *Caryotropha* haben wir bereits den ganzen Entwicklungskreis dieses Coccidiums geschildert. Wie schon dort gesagt wurde, entwickelt es sich aus Sporozoiten, die in die Spermatocten des Wirtstieres eindringen. Innerhalb des Spermatocten, welcher sogleich einer bedeutenden Hypertrophie unterliegt, erreicht der Parasit eine bedeutende Größe und teilt sich nachher in mehrere Teile, von denen ein jeder in eine Anzahl von Merozoiten zerfällt. Von der Zelle, in der sich die Merozoiten entwickelt haben, befreit, dringen sie in neue noch unversehrte Spermatocten und erreichen, da sie sehr schnell wachsen, bald wieder eine ansehnliche Größe; sie können den Ursprung einer neuen Generation der Merozoiten bilden. Diese ungeschlechtliche Fortpflanzung oder *Schizogonie* kann sich mehrmals wiederholen, jedoch nach einigen, auf ungeschlechtlichem Wege erzeugten Generationen werden die jungen, in die Wirtszellen eindringenden Merozoiten zur weiteren Teilung unfähig und wachsen zu Gebilden heran, die nun die Rolle der Geschlechtszellen spielen. Einige von den Merozoiten sammeln in ihrem Plasma Vorräte an, wachsen zu ansehnlichen Dimensionen an und werden zu weiblichen Individuen, zu *Makrogameten*; andere erreichen auch eine ansehnliche Größe und zerfallen im Innern der Wirtszelle in einige Teile, von denen ein jeder den Anfang einer Menge kleiner mit Geißeln versehener Zellen gibt; die letzten bilden nun die männlichen Geschlechtszellen die *Mikrogameten*. Durch Vereinigung des Mikrogameten mit dem Makrogameten entsteht die befruchtete Zelle, die s. g. *Oocyste*, die sich mit einer dicken Membran umgibt. Innerhalb der Membran zerfällt der Körper der Oocyste in mehrere Sporocysten, und in jeder derselben entstehen je 12 Sporozoiten. Jetzt kann sich der ganze Entwicklungszyklus wiederholen.

Aus dieser kurzen Zusammenfassung der Entwicklungsgeschichte von *Caryotropha mesnili* sehen wir, daß dieses Coccidium während seines Lebens sich dreimal in der Phase regen Wachstums befindet und zwar zum ersten Male, wenn der Sporozoit zur Mutterzelle der Merozoiten heranwächst, dann wie der Merozoit an Umfang gewinnt um sich nachher auf ungeschlechtlichem Wege zu vermehren und schließlich wenn die Merozoiten vor der Entwicklung der Makro- und Mikrogameten wachsen. Das zur ungeschlechtlichen Vermehrung führende Wachstum der Sporozoiten und der Merozoiten so wie auch dasjenige der Merozoiten zur Zeit, wo sich die Mikrogameten bilden sollen, verläuft auf eine sehr ähnliche Weise; während der Umwandlung der Merozoiten in Makrogameten ist das Wachstum viel langsamer als in den beiden obenerwähnten Phasen, dabei aber sammelt das Coccidium Reservestoffe in seinem Innern an. Am raschesten wächst *Caryotropha* zu der Zeit, wo sie sich aus dem Sporozoiten zur reifen, undifferenzierten Zelle entwickelt<sup>1)</sup>. In dieser Phase sehen wir sowohl in seinem Kerne als auch im Protoplasma sehr charakteristische Veränderungen, welche auf die Bedeutung des Karyosoms Licht werfen können. Wir wollen in der weiteren Beschreibung vornehmlich nur die eben erwähnte Phase des schnellsten Wachstums der *Caryotropha* berücksichtigen.

Der Sporozoit der *Caryotropha mesnili* stellt, nachdem er die Sporocyste verlassen hat, eine ovale, längliche (10  $\mu$  lange, 4  $\mu$  breite), aus einem dicken und zähen Protoplasma bestehende Zelle dar. Sein ovaler in der Mitte des Körpers liegender Kern, hat ein deutliches Chromatingerüst aus dünnen, an der Oberfläche des Kernes dicht geflochtenen und gegen die Mitte etwas lockerer angeordneten Fäden. In der Mitte des Kernes befindet sich ein kleines, rundes und intensiv färbbares Karyosom. Sobald sich ein freier, beweglicher Sporozoit in der Leibeshöhle der *Polymnia* findet, hat er Gelegenheit in Spermatocyte des Wirtstieres einzudringen; in die Zelle des Wirtes gelangt, wird er kurz und dick und beginnt

<sup>1)</sup> Keif aber undifferenziert (adulte, indifférencié) nannten wir in unseren früheren Arbeiten ein solches Individuum, welches sich aus einem Sporozoiten entwickelt und schon den Höhepunkt seines Wachstums erreicht hat, in dem aber die Vermehrungsvorgänge noch nicht begonnen haben.

sofort zu wachsen. Anfänglich beruht sein Wachstum nur darauf, daß sein Körper, wahrscheinlich infolge einer bedeutenden Aufnahme von Flüssigkeit, lockerer und dabei auch größer wird. Das vorher sehr dichte Plasma, läßt jetzt sehr leicht eine Schaumstruktur erkennen. Sein Kern rundet sich ab, wird viel größer, und die Fäden seines Gerüstes liegen weniger dicht nebeneinander als vorher. Auch das Karyosom wird größer, bleibt aber ebenso dicht und homogen wie vorher. Der Spermatoeyt, in welchem sich der junge Parasit entwickelt, wird vom ersten Augenblick seines Eindringens an gereizt und beginnt übermäßig zu wachsen. Sein Kern wird sehr groß, sein Plasma dünnflüssig und hell. Er wird durch den wachsenden Parasiten auseinander getrieben und wird schon nach kurzer Zeit mehrmals größer als die benachbarten, unversehrten Spermatoeyten. Diese Erscheinungen der Hypertrophie sind nicht ohne Bedeutung auch für den Parasiten, denn infolge der hypertrophisch erhöhten Tätigkeit der Wirtszelle findet er größere Mengen Nahrungsstoffe zu seiner Verfügung und kann daher sehr schnell wachsen. Schon nach kurzer Zeit wird das Coccidium zur länglichen Zelle mit stumpf abgerundeten Enden; sein großer ovaler Kern nimmt nun eine Querlage in der Mitte des Körpers ein.

Die Entwicklung eines in eine Wirtszelle eingedrungenen Merozoiten verläuft auf ähnliche Weise. Der reife Merozoit ist eine längliche, halbmondförmig gekrümmte Zelle, 10—12  $\mu$  lang, etwa 3  $\mu$  breit, an einem Ende zugespitzt; sein Plasma ist ziemlich dick, doch kann man darin eine sehr feine, aber dennoch deutliche Schaumstruktur erkennen. Der Kern ist länglich, nimmt die Mitte des Merozoiten ein und sein Chromatingerüst ist so dicht, daß man darin nur schwer einzelne Fäden unterscheiden kann; das Karyosom ist nicht wahrzunehmen.

Sobald ein beweglicher Merozoit in eine Wirtszelle eindringt, verliert er sofort sein Bewegungsvermögen, wird kurz und rundlich, während in seinem Körper sich ähnliche Vorgänge abspielen, wie sie in einem Sporozoiten in ähnlichen Stadien vorkommen. Das Plasma wird heller, seine Struktur viel deutlicher. In dem abgerundeten Kerne wird das dichte Chromatingerüst lockerer. Ziemlich dicke, an der Oberfläche dicht verflochtene, gegen die Kernmitte weniger dicht angeordnete Chromatinfäden sind deutlich zu sehen. Schon in dem Stadium, in welchem sich das junge Coccidium nur noch sehr wenig vom Merozoit unterscheidet, ist immer

ein deutliches Karyosom inmitten seines Kernes wahrnehmbar und zwar als ein rundliches, ziemlich großes und dichtes Körperchen. Die Zelle, in die ein Merozoit eingedrungen ist, erfährt ganz ähnliche Umwandlungen wie eine vom Sporozoiten infizierte. Die Hypertrophie ihres Kernes und ihres Protoplasmas, wie auch ihre überaus erhöhte Tätigkeit sichern dem wachsenden Merozoiten ein reichliches Nahrungsmaterial. Es wächst der Merozoit in kurzer Zeit stark, wird dick und seine Enden runden sich stumpf ab; der Kern nimmt ebenfalls an Größe zu, wird länglich und liegt quer in der Mitte der Zelle.

Von diesem Stadium an verläuft die weitere Entwicklung der Sporozoiten und der Merozoiten auf eine so ähnliche Weise, daß es oft schwer ist, beide Tiere voneinander zu unterscheiden. Wir wollen deshalb in der ferneren Beschreibung das Wachstum des Coccidiums schildern, ohne zu berücksichtigen, aus welcher Art von Keimen es sich entwickelt hat.

In den frühen Entwicklungsstadien wächst das Coccidium gleichmäßig nach allen Richtungen; es wird ziemlich dick und lang, so daß es eine Länge von  $60 \mu$  und eine Breite von etwa  $25 \mu$  erreicht. Auf den hypertrophischen Kern der Wirtszelle (die sich zu dieser Zeit ungemein vergrößert und mit den Nachbarzellen vereinigt) übt das Coccidium einen solchen Druck aus, daß sich dieser verschiebt und unmittelbar die längliche Körperseite des Parasiten berührt. Es bildet sich auf diese Weise eine kleine Delle auf der Oberfläche des Parasiten in die der hypertrophierte Kern der Wirtszelle zu liegen kommt. Jetzt beginnt die Phase des schnellsten Wachstums des Parasiten, das aber nicht nach allen Richtungen seines Körpers gleichmäßig verläuft. Am schnellsten wachsen die beiden nach der Innenseite der oberflächlichen Delle gerichteten Enden; sie verlängern sich, werden sehr dick und wachsen so gegeneinander, daß sie den Kern der hypertrophierten Zelle zu umfassen beginnen (Fig. 2. und 3 b). Der zentrale Teil des Coccidiums, in welchem sein Kern liegt, wächst viel langsamer; deswegen werden beide schneller wachsende Enden so stark gegeneinander gebogen, daß zwischen ihnen nur ein schmaler Spalt übrigbleibt, über welchem der zurückgedrängte hypertrophierte Kern der Wirtszelle liegt (Fig. 4 a und 4 b). Im Längsschnitt gesehen, gleicht der Spalt einem schmalen Kanal, der den hypertrophischen Kern mit dem Innern des bohnenförmigen Coccidiums verbindet.

Indessen finden im Protoplasma des Tieres verschiedene Veränderungen statt. Derjenige Teil, der den Kern der infizierten Zelle berührt, wird dichter als der übrige Körper und färbt sich intensiv mit basischen Farbstoffen. Von der Stelle bis zu dem Kerne des Parasiten entsteht ein Streifen körnig aussehenden Protoplasmas, in dem man die Schaumstruktur nicht leicht wahrnehmen kann (Fig. 2 a und 3 a). Hand in Hand mit dem Wachstum des Coccidiums wird auch der Streifen deutlicher und man kann darin längliche Körnchen und Wabenreihen, wie etwa Spuren von Diffusionsströmungen erkennen. In der Richtung gegen diesen Streifen dehnt sich der Kern des Coccidiums in die Länge, schickt gegen denselben einen Ausläufer aus und rückt näher gegen die Körperoberfläche, (Fig. 3 a). Sobald die rasch wachsenden Enden des Coccidiums gegeneinander einbiegen und zwischen einander nur eine schmale Lücke lassen, nähert sich der Coccidiumkern so der Körperoberfläche, daß er mit einem seiner Ausläufer den Boden der entstandenen Spalte berührt (Fig. 4 a).

In frischem Zustande betrachtet, sind diese Stadien ungemein charakteristisch. In dem durchsichtigen, leicht gelblich gefärbten Coccidiumkörper erkennt man einen hellen, stark lichtbrechenden Streifen, welcher die gebogene Körperoberfläche des Coccidiums mit seinem Kerne verbindet. Die Kernumrisse sind jedoch undeutlich; öfters wird es sogar unmöglich, sie vom Plasma zu unterscheiden. Das gewöhnlich stark lichtbrechende Karyosom wird zu dieser Zeit blaß und nur als eine körnige nicht scharf konturierte Masse sichtbar. Über der gebogenen Stelle des Coccidiums sieht man deutlich einen großen, hellen, aufgeblähten und an Flüssigkeit reichen Kern der hypertrophierten Zelle, von welchem aus oft ein Ausläufer in den Spalt zwischen den gekrümmten Enden des Coccidiumkörpers eindringt. In dem Stadium kann man einen direkten Zusammenhang zwischen dem Kern des Parasiten und dem Kern der Wirtszelle beobachten; die Bedeutung dieses Befundes werden wir in einer anderen Arbeit ausführlicher besprechen.

Die Veränderungen im Zelleibe des Coccidiums gehen noch weiter vor sich. Die Vakuolen im Protoplasma ordnen sich zuerst radiär um den Kern, dann verlängern sie sich ein wenig, und während des raschen Wachstums der Körperenden entstehen aus ihnen gebogene Reihen, die vom Kern ausgehen und fast zur Ober-

fläche der wachsenden Enden reichen. Diese Wabenreihen bezeichnen die Richtung des schnellsten Wachstums und verdanken ihre Entstehung wahrscheinlich Diffusionsströmungen, welche vom Kern ausgehen.

Infolge des raschen Wachstums vergrößern sich die Dimensionen der Coccidien sehr beträchtlich; die Länge ihres Körpers beträgt 80—90  $\mu$ , die größte Breite der verdickten Enden 54—58  $\mu$ ; die Vertiefung in der Mitte des Körpers reicht bis fast zu  $\frac{2}{3}$  seiner Breite. Mit diesen Dimensionen ist aber die Grenze des Wachstums erreicht, wahrscheinlich deswegen, weil in dieser Zeit, wo das Coccidium so groß geworden ist, die Nährzelle zu degenerieren beginnt. Ihr Protoplasma wird dermaßen vom Parasiten verbraucht, daß es nur als dünne Schicht seinen Körper umgibt; auch ihr Kern unterliegt langsam einer Degeneration. Die Vorräte also, die das Coccidium von außen aufnahm, erschöpfen sich, und dieser Umstand wirkt hemmend auf sein Wachstum.

Mit dem Aufhören des Wachstum beginnt der Parasit sich langsam abzurunden. Die gebogene Stelle seines Körpers gleicht sich nach und nach wieder aus; es verwischt sich die nierenförmige Gestalt seines Körpers, der jetzt die Gestalt eines unregelmäßigen Ellipsoids annimmt (Fig. 5 *a, b*), die Alveolen verteilen sich gleichmäßig im Protoplasma und werden zugleich kleiner, als sie vorher waren (Fig. 6, 7.). Der Kern, der die Oberfläche berührte, entfernt sich jetzt von derselben infolge ihrer Auswölbung und nimmt die Mitte des Körpers ein.

In der bisherigen Beschreibung haben wir nur die Veränderungen in der Gestalt und im Protoplasma des Coccidiums berücksichtigt; die interessantesten Veränderungen finden jedoch im Kern und im Karyosom statt.

Der Kern eines sehr jungen Coccidiums (Fig. 1 *a*) besteht aus dicken Chromatinfäden, die mit ihren breiteren Enden an der Kernoberfläche haften, mit den dünneren gegen seine Mitte ragen und manchmal das Karyosom berühren. Die Fäden sind ziemlich dick, untereinander durch Querausläufer verbunden; zwischen ihnen findet man eine durchsichtige Flüssigkeit. In diesem Stadium ist das Karyosom groß, kugelig, färbt sich intensiv mit basischen Farbstoffen und scheint oft ganz homogen zu sein. Man kann jedoch im Karyosom bei entsprechender Beleuchtung und Abblendung zwei Teile



unterscheiden, nämlich: die sehr dichte und dunkle Rindensubstanz und die weniger intensiv aber auch stark gefärbte Marksubstanz, die in der ersten eingeschlossen ist; zwischen beiden befindet sich eine sehr dünne Schichte hellerer, weniger dichter Substanz. An einer Stelle ragt ein kleiner, knospenartiger Ausläufer aus dem Karyosom hervor, der sich unmittelbar mit den Fäden des Chromatingerüstes verbindet. Eine solche Kernstruktur ist nur bei denjenigen Exemplaren zu finden, bei denen die Phase des schnellsten Wachstums noch nicht begonnen hat. Sobald dies aber geschieht, verliert der Kern seine regelmäßige Gestalt; er wird größer und sendet zugleich kurze, stumpfe Ausläufer zwischen die Alveolen des Protoplasmas aus. Er rückt derjenigen Stelle der Oberfläche des Coccidiums näher, bei der der hypertrophische Kern der Wirtszelle liegt (Fig. 2 a). Die Kernmembran wird so dünn, daß man sie stellenweise gar nicht mehr nachweisen kann. Die Bälkchen des Chromatingerüstes zerfallen in radiär geordnete Körnerreihen und dünne Fäden; das Chromatingerüst bildet im Ganzen nun ein dichtes, mit der Kernmembran verbundenes Flechtwerk, aus dem nur wenige Fäden zum Karyosom verlaufen, und sich mit der Seitenknospe des letzteren verbinden. Das Karyosom selbst wird jetzt locker (Fig. 2 a), nimmt viel helle Flüssigkeit auf, und seine beiden Schichten werden durch eine Reihe großer, länglicher Vakuolen voneinander getrennt. Die Verbindung zwischen beiden Schichten besteht in der Form dünner Streifen fort und nur an jener Stelle, wo die kleine Knospe hervorragt, kommen die beiden Schichten unmittelbar miteinander in Berührung. Beide Schichten werden ebenfalls locker; sie zerfallen in kleine Körnchen und Stäbchen, zwischen denen winzig kleine Vakuolen zum Vorschein kommen.

In dem folgenden Stadium (Fig. 3 a) zerfällt das ganze Chromatin des ursprünglichen Kerngerüstes in dünne Fäserchen oder auch in kleine Körner und bildet an der Kernoberfläche eine schmale, aber dichte filzartige Schicht. Der ganze Kern nimmt immer an Länge zu, und rückt (wie schon oben erwähnt wurde) gegen die dichtere Plasmaanhäufung, die sich an der gekrümmten Stelle des Coccidiums bildet. Das Karyosom wird jetzt übermäßig groß; es nimmt fast den ganzen Kern ein, mit Ausnahme der dünnen äußeren, aus Chromatinfilz bestehenden Schichte. Die zwischen seinen beiden Schichten befindlichen Vakuolen werden ebenfalls immer

größer. In seiner Rindensubstanz beginnen dickere Fäden aufzutreten, welche den Chromatinfäden in dem jetzt veränderten Kerngerüst sehr ähnlich sind. Die Marksubstanz wird lockerer und spongiös; es entsteht darin eine Menge von Vakuolen, die mit einer zähen Flüssigkeit gefüllt zu sein scheinen; zwischen denselben befindet sich auch eine körnig aussehende Substanz, die sich nach der Art des Chromatins färbt. Der Zusammenhang zwischen den beiden Schichten besteht durch dünne Streifen fort.

Der ganze Kern besteht also in diesem Stadium aus drei Teilen: 1) aus Chromatinfäden, die eine mit der Kernmembran verbundene filzartige Schichte bilden, 2) aus der Rindensubstanz des Karyosoms, in welcher eine faserige Struktur zu entstehen beginnt, 3) aus der schwammartigen Marksubstanz.

Die ersten zwei Schichten scheinen vollkommen voneinander getrennt zu sein.

Die bis nun beschriebenen Veränderungen verlaufen sehr schnell; manchmal sieht man sie schon bei sehr jungen Coccidien und zwar am häufigsten dann, wenn die jungen Parasiten in einer großen, stark hypertrophierten Zelle liegen. Wahrscheinlich hängt die Schnelligkeit dieser Veränderungen von der Intensität der Ernährung des Coccidium ab.

Bei der weiteren Entwicklung treten wesentliche Veränderungen in der Lage und im Bau des Kernes ein. Die Kernmembran ist nicht mehr scharf zu unterscheiden (Fig. 4 a); sie erscheint an manchen Stellen als eine dichte Chromatinfaserschicht (Fig. 4. bei \*). Diese Schichte wird aber an vielen Stellen ganz locker und da schwindet auch die Grenze zwischen dem Kern und dem Protoplasma des Coccidium (Fig. 4 a bei ←). Ein vom Kern gebildeter Fortsatz reicht jetzt bis an die Oberfläche des Coccidiumkörpers und berührt den Boden jener Spalte, über welcher der hypertrophische Kern der infizierten Zelle sich befindet. Der Coccidiumkern steht jetzt in unmittelbarer Berührung mit der Umgebung, in welchem sich der Parasit befindet.

Die äußere, aus zusammengeflochtenen Chromatinfäden bestehende Kernschichte wird breiter als in den früheren Stadien, (Fig. 4 a) ihre Fäden werden aber bedeutend dünner; deswegen wird auch das Chromatinpilzwerk merklich lockerer. Die Fäden dieses locker gewordenen Chromatingeflechtes verbinden sich jetzt

unmittelbar mit dem in der Rindensubstanz des Karyosoms befindlichem Chromatin (Fig. 4 a).

Zu dieser Zeit zerfällt die Rindenschicht des Karyosoms in zahlreiche Chromatinfäden, die ganz ähnlich aussehen, wie die in dem Kerngerüste befindlichen. Der äußere Umriß des Karyosoms verwischt sich und seine Fäden verbinden sich (wie oben gesagt wurde) mit dem Kerngerüste. Die dunklere Färbung der vom Karyosom stammenden Chromatinfäden läßt noch die Grenzen dieses Körpers erkennen, doch verwischen sie sich immer mehr.

Während dieser Veränderungen finden geradezu entgegengesetzte Prozesse in der Markschiicht des Karyosoms statt. Dieser Teil wird dicht; anfangs unregelmäßig gestaltet, beginnt er sich nachher abzurunden, an seiner Oberfläche entsteht eine dichte und stark sich färbende Hülle; Vakuolen sind jetzt nur in seinem Zentrum sichtbar (Fig. 4 a).

Mit diesem Stadium hört die Wachstumsperiode des Tieres auf; die Veränderungen im Kern gehen aber noch weiter vor sich und führen zu einer vollständigen Umgestaltung dieses Organes. Während sich die Krümmung des Coccidiumkörpers auszugleichen beginnt, verbleibt der Kern in der Mitte der Zelle und folgt ihrer sich auswölbenden Oberfläche nicht nach. Der gegen die Oberfläche gerichtete Fortsatz wird dünner und zieht sich langsam zurück (Fig. 5 a); ähnlich verhalten sich auch die amöboiden, gegen das Plasma gerichteten Kernausläufer. Die Rindenschicht des Karyosoms verbindet sich immer inniger mit dem ursprünglichen Chromatingerüste; seine Markschiichte wird dichter und rundet sich ab. In ihrem Innern, um die Vakuolen herum, sammelt sich eine stark lichtbrechende Substanz an (Fig. 5 b). Die Färbung mit der Ehrlich-Biondi'schen Mischung oder mit Hämatein und Eosin mit Orange G., gibt in diesen Stadien ungemein charakteristische Bilder. Am dunkelsten färbt sich in Färbstoffen, die das Chromatin wahrnehmen lassen, die dichteste Partie der Marksubstanz und derjenige Teil des neu entstehenden Kerngerüstes, welcher aus der Rindensubstanz des Karyosoms herrührt; das primitive Chromatingerüst hingegen färbt sich sowohl mittelst der protoplasmatischen als auch mittelst der Chromatinfarbstoffe ziemlich gleich intensiv und an jenen Stellen, wo seine Umrisse nicht recht deutlich zu sehen sind, hat es gleiche Färbung wie das Protoplasma. Das Coccidiumprotoplasma färbt sich zwar intensiv mittels saurer Farbstoffe, es nimmt

aber auch die basischen, obschon in geringerer Menge an, als wenn darin schon ein Teil des Chromatins in gelöstem oder zerkleinertem Zustande vorhanden wäre.

Die färberischen Reaktionen, wie auch die Strukturbilder der in diesen Stadien sich befindenden Coccidien beweisen, daß zur Zeit des schnellsten Wachstums ein Teil des Chromatins aus dem Kern in das Protoplasma übergeht, und daß das Chromatin des Karyosoms den Verlust des Chromatins aus dem Kerngerüst ersetzt. Im Karyosom ist also ein Chromatinvorrat angehäuft, der während der rege verlaufenden vegetativen Vorgänge zur Wirkung gelangt.

Sobald das Coccidium nach beendigten Wachstumsvorgängen ovoid wird, nimmt der Kern dessen Mitte ein. Die früher vom Kern in das Protoplasma ausgehenden Fortsätze werden vollständig eingezogen; seine Oberfläche wird glatt und mit einer deutlichen, aus dichtem Chromatingeflecht bestehenden Membran umgeben. Die Fäden des früheren Kerngerüsts sind in diesem Stadium schon ganz eng mit den aus der Rindenschicht des Karyosoms stammenden verbunden. Sie bilden zusammen eine einheitliche Schichte mit radiär geordneten Fädchen. Die ehemalige Abgrenzung beider Teile ist nur an einem sich intensiver färbenden Steifen erkennbar (Fig. 6 a). Die Fäden dieses neuen Gerüsts werden immer deutlicher, die ganze Schichte wird immer dicker und nimmt allmählich den ganzen Kern ein. Die helle Flüssigkeit, welche früher die Markschiicht des Karyosoms umgab, dringt jetzt zwischen die Fäden des neuen Kerngerüsts; diese werden dadurch sehr deutlich sichtbar. Die Marksubstanz des früheren Karyosoms wird jetzt zu einem vollständigen neuen Karyosom (Fig. 6 a). Sie wird immer dichter und nimmt eine kugelförmige Gestalt an. Ihr äußerer Teil färbt sich intensiv und gleichmäßig, weil die chromatische Substanz, die sich früher in ihrem Inneren angesammelt hat (Fig. 5 a), jetzt die Oberfläche des neuen Karyosoms bedeckt. Die zahlreichen kleinen im Innern des Karyosoms befindlichen Vakuolen vereinigen sich zu wenigen größeren, oder sogar zu einer einzigen größeren mit Flüssigkeit erfüllten Blase; sie enthalten eine in lebenden Exemplaren ziemlich stark lichtbrechende, auf Präparaten dicht und feinkörnig erscheinende und sich schwach mit basischen Farbstoffen tingierende Substanz.

Das in der Form eines feinen, netzartigen, mit kleinen Körn-

chen besetzten Gerüstes sichtbare Chromatin des rekonstruierten Kernes nimmt allmählich den ganzen Kern ein und reicht jetzt unmittelbar bis zu dem neuen Karyosom (Fig. 7); der ganze Kern wird rund und ist von einer ganz deutlich wahrnehmbaren Membran eingeschlossen. Das neuentstandene Karyosom hat, wie aus der Fig. 7. zu sehen ist, eine dichte chromatische, oft ungleichmäßig dicke Hülle und eine innere körnige Substanz, in der oft kleine chromatische Körnchen zu sehen sind. Auf diesem Stadium erreicht das Coccidium seine vollständige Reife, und zugleich die Grenze seines Wachstumsvermögens; es kann nun in eine neue Lebensphase, die der Vermehrung eintreten.

Alle Veränderungen, die im Kern der *Caryotropha* während ihres Wachstum vor sich gehen, können in folgende Punkte zusammengefaßt werden:

1. Das junge Coccidium besitzt ein deutliches Chromatingerüst und ein einheitliches Karyosom.

2. Mit fortschreitendem Wachstum wird das Kerngerüst locker und ein Teil seines Chromatins geht in das Protoplasma über. Zugleich entstehen im Karyosom zwei Schichten: die Rindenschichte und die Markschichte.

3. Die Rindenschichte des Karyosoms zerfällt in Fäden, welche sich mit dem Chromatingerüste des Kernes verbinden und es ergänzen. Aus der Markschichte entsteht das neue Karyosom.

4. Diese Veränderungen verlaufen gleichzeitig und gleichmäßig mit dem Wachstum des Coccidiums.

## II. Über die Schicksale des Karyosoms während der späteren Lebensphasen der *Caryotropha mesnili*.

Wir wollen hier keine ausführliche Beschreibung der Veränderungen angeben, welche das Coccidium und alle Teile seines Körpers während seines ganzen Zeugungskreises durchmachen müssen; wir wollen nur in wenigen Worten auf das Verhalten seines Karyosoms in den wichtigsten Lebensphasen hinweisen, da wir daraus einige wichtige Folgerungen ziehen können, welche auf die Rolle des Karyosoms ein helleres Licht werfen.

1. Während der zur ungeschlechtlichen Vermehrung führenden Kernteilung des Coccidiums geht das Karyosom durch Teilung

aus dem Mutterkern in die Tochterkerne über, und zwar so, daß ein jeder der neu entstandenen Kerne eine ungefähr gleiche Masse der aus dem Karyosom stammenden Substanz erhält. So lange die Struktur der sich neu bildenden Kerne so durchsichtig ist, daß man die Vorgänge im Inneren verfolgen kann, läßt sich auch in denselben immer ein Karyosom nachweisen. Erst in den Merozoiten, deren Kern, wie wir schon bemerkt haben, sehr dicht ist, wird das Karyosom unsichtbar. Es wird entweder vom dichten Chromatingerüst verhüllt, oder es kann sich sogar mit dem Gerüst der Merozoiten vereinigen; wir wollen aber nicht entscheiden welche von den beiden Möglichkeiten hier zutreffend ist.

2. Ungemein charakteristisch sind die Schicksale des Karyosoms während der Entwicklung und der Reifung der geschlechtlich differenzierten Individuen:

In wachsenden Makrogameten ist das Karyosom sehr deutlich; es erscheint bis zu den Reifungsstadien als ein großer, intensiv gefärbter Körper. Die Reifung besteht aber darin, daß das Karyosom aus dem Kern in das Protoplasma ausgestoßen wird und hier degeneriert. Deswegen finden wir im reifen Makrogameten der *Caryotropha* kein Karyosom.

Analoge Erscheinungen sehen wir bei der Entstehung männlicher Zellen oder Mikrogameten. Während das *Coccidium* wächst und die Mutterzellen der Mikrogameten sich bilden, sieht man in den Kernen dieser Gebilde ganz deutliche Karyosomen. Sobald aber auf den Mutterzellen die Mikrogameten sich zu formen beginnen, wobei ihre Kerne dichter werden und zugleich eine kappenförmige Gestalt annehmen, wird aus einem jeden derartig umgestalteten Kerne ein kleines Karyosom in den zur Bildung der Mikrogameten nicht verbrauchten Restkörper ausgestoßen.

Wie wir also sehen, ist die Reifung sowohl weiblicher, wie auch männlicher Fortpflanzungszellen bei *Caryotropha* mit der Ausscheidung des Karyosoms verbunden.

---

Angesichts dessen, daß die wichtigsten Veränderungen im Karyosom gleichmäßig mit den Erscheinungen des schnellsten Wachstums vor sich gehen, daß ferner das Karyosom während der ungeschlechtlichen Fortpflanzung in die neu entstehenden Zellen über-

geht und daß schließlich während des Entstehens geschlechtlich differenzierter Individuen ihr Karyosom verschwindet, sind wir zu dem Schlusse berechtigt, daß das Karyosom der *Caryotropha mesnili* als ein vegetativer Kernteil zu betrachten ist.

### III. Bedeutung des Karyosoms bei anderen Coccidien.

Schon eine oberflächliche Betrachtung der Veränderungen des Karyosoms bei einigen Arten der Coccidien während ihrer Entwicklung zeigt, daß dieses Gebilde in denselben Lebensperioden bei verschiedenen Gattungen ganz verschieden aussehen kann. Die Beobachtung berechtigt uns also zu der Vermutung, daß auch die Bedeutung dieses Gebildes bei jeder Art eine andere sein könnte. Wir wollen nun aus einer kurzen Übersicht der wichtigsten Angaben der Coccidien-Literatur einige Schlüsse zu ziehen versuchen, welche die Bedeutung des Karyosoms vielleicht aufzuklären imstande wären <sup>1)</sup>.

In den Kernen der Sporozoiten der Coccidien finden wir nur ausnahmsweise ein Karyosom; es ist, außer *Caryotropha* z. B. auch in den Sporozoiten der unter dem Namen *Barrouxia* von Schneider <sup>2)</sup> beschriebenen, *Eimeria* zu sehen.

Bei anderen Coccidien ist der Sporozoitenkern kompakt, hat ein deutliches Chromatingerüst, aber kein Karyosom. In einem solchen Kerne aber ist das Material zur Bildung eines Karyosoms immer vorhanden, und in der Tat bald nach dem Eindringen eines Sporozoiten in eine Wirtszelle wird ein neues Karyosom gebildet. Dies geschieht eben in der Zeit, wo der Sporozoit nach dem Verlassen

<sup>1)</sup> In den Literaturangaben haben wir besonders diejenigen Arbeiten berücksichtigt, in denen sich eine Beschreibung der Schicksale des Karyosoms während des ganzen Lebens eines Coccidiums findet; es sind vor Allem: 1) Schaudinn's monographische Bearbeitungen von *Coccidium schubergii* und *Cyclospora caryolytica* (Zool. Jahrb. 1900 und Arb. a. d. kais. Ges. Amte 1902); 2) unsere Mitteilungen über *Adelea ovata* (Ann. Inst. Past. 1899) und *Eucoccidium eberthi* (ibidem 1898) sowie auch unsere und Simon's Mitteilungen über *Eimeria tritonis* (Simond, Ann. Inst. Past. 1897, Siedlecki C. R. Soc. biol. 1899). Wir ließen natürlich auch unsere und Schaudinn's Arbeiten über *Eimeria lacazei*, sowie auch Arbeiten von Lavéran et Mesnil, Mesnil, Léger, Perez, u. s. w. und die ausgezeichneten Zusammenstellungen der Literatur von Lühe nicht unberücksichtigt.

<sup>2)</sup> A. Schneider Tablettes zoologiques I. Bd.

der Sporocyste von dem infiziertem Organismus seine Nahrung zu beziehen und dieselbe selbständig zu verarbeiten beginnt; gleichzeitig mit dem Anfang der vegetativen Vorgänge entsteht also auch das Karyosom in den jüngsten Exemplaren der Coccidien. Seine Entstehung und sein Wachstum vollzieht sich immer auf Kosten des Chromatins aus dem Kerngerüste; so z. B. bei *Eimeria Schubergerii* oder *Cyclospora caryolytica* entsteht es durch Zusammenschmelzung einiger Chromatinbrocken mittelst einer achromatischen Substanz (Plastin?); bei *Eucoccidium* ist es während des Wachstums innig mit dem Kerngerüste verbunden und aus dieser Quelle stammt wahrscheinlich seine chromatische Rindenschichte, die sich sehr deutlich von der achromatischen Marksubstanz abhebt.

Jedes neuenstandene Karyosom besteht immer aus zweierlei Substanzen, nämlich aus einer stark färbaren, dem Chromatin (Basichromatin), und einer der achromatischen Kernsubstanz sehr ähnlich erscheinenden (Linin, oder vielleicht Plastin), es hat also dieselben Hauptbestandteile, die in jedem normalen Zellkerne zu finden sind; dieselben sind aber zu einem sehr kompakten Körper, von geringem Umfang zusammengeballt. Es ist wohl möglich, daß eben deswegen ein Karyosom ohne seine Struktur zu verändern, nur äußerst selten eine aktive Rolle während der vegetativen und auch der generativen Vorgänge bei den Coccidien spielt. Seine Bedeutung beginnt erst dann, wenn sich entweder seine Struktur auflockert, oder es selbst durch Teilung zerfällt, wobei oft seine Bestandteile sich mit dem Kerngerüste vereinigen. Es sind also im Karyosom Kernbestandteile vorhanden, die schon geformt, aber noch nicht in Betrieb gesetzt worden sind.

Es sei nebenbei bemerkt, daß nicht bei allen Coccidien die chromatische und die achromatische Substanz im Karyosom als morphologisch gänzlich getrennte Bestandteile zu sehen sind; aufgrund der färberischen Reaktionen kann man aber vermuten, daß beiderlei Substanzen in jedem Karyosom vorhanden sind, jedoch sehr innig verbunden oder vermischt sein können.

In reifen Merozoiten verschiedener Coccidien kann ein Karyosom entweder sehr deutlich sein, oder aber gänzlich fehlen. Oft (wie bei *Adelea*, *Eimeria lacazei*, *Caryotropha*) ist es während der Bildung der Merozoiten fast bis zu den letzten Stadien sichtbar, ist aber trotzdem in reifen Sichelkeimen dieser Art nicht nach-



weisbar; wahrscheinlich kann es ebenso leicht mit dem Kerngerüste verschmelzen, wie auch aus demselben in jungen Coccidien entstehen.

Obwohl während der Bildung der Mikrogameten das Karyosom fast bis zu den letzten Stadien sichtbar ist, bleibt es nur ausnahmsweise (*Eim. lacazei*) in reifen männlichen Zellen; gewöhnlich verschmilzt es mit den Gerüste des Mikrogametenkernes (*Eim. schubergii* und vielleicht auch *Adelea*); oder aber wird es in den Restkörper ausgestoßen (*Cyclospora*, *Caryotropha*). Bei dem letztgenannten Tiere ist die Ausstoßung des Karyosoms dadurch erklärbar, daß dieser Kernteil hier eine rein vegetative Rolle spielt; man könnte vermuten, daß also in den Mikrogameten nur die generativen Teile bleiben. Ähnlich verlaufende Prozesse haben wir schon bei anderen Coccidien beobachtet und denselben den Namen Kernreinigung (*Épuration nucléaire*), im Gegensatz zu der echten Kernreduktion gegeben; auf grund der bei der *Caryotropha* gefundenen Tatsachen halten wir im Gegensatz zu Schaudinn die Einteilung der Kernverminderungsvorgänge in obengenannte zwei Kategorien für völlig berechtigt. Bei der Kernreinigung der *Caryotropha* wird ein Kernteil ausgestoßen, dessen Veränderungen sicher mit vegetativen Vorgängen eng verknüpft sind; der Kern dieses Tieres wird also von vegetativen Teilen befreit und gereinigt; von einer Reduktion kann hier schwerlich die Rede sein, weil keine Verminderung der Zahl der Chromosomen zu sehen ist.

Im Gegensatz zu allen anderen Coccidien bleibt bei *Eimeria lacazei* das Karyosom in reifen Mikrogameten und, wie es an den schönen Zeichnungen von Schaudinn zu sehen ist, bildet es einen großen Teil seiner Masse. Das Verbleiben des Karyosoms in den Mikrogameten widerspricht dem rein generativem Charakter dieser Zellen nicht; im Gegenteil es erscheint uns möglich, daß sogar ein Teil der generativen Kernsubstanz in demselben enthalten sein könne.

Die letzte Vermutung wird wahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß während der Reifung der weiblichen Geschlechtszellen immer ein Teil der chromatischen Substanz vom Karyosom an das Kerngerüst abgegeben wird. Bei *Eucoccidium eberthi*, *Eimeria lacazei*, *E. tritonis* und *Caryotropha* (wahrscheinlich auch bei *Eim. schubergii*) wird das Karyosom während der Reifung des Makrogameten

sehr blaß infolge der Abgabe eines Teiles seines Chromatins an das Kerngerüst. Bei *Adelea* verschmilzt der nicht ausgeschiedene Karyosomrest mit dem Kerngerüste unmittelbar vor der Befruchtung. Bei der *Cyclospora caryolytica* verschmilzt das Chromatin mit dem Karyosom und erst dann finden Kernverminderungsvorgänge statt.

In allen obenangeführten Fällen, besonders aber in den beiden letzteren, ist die Vermutung berechtigt, daß im Karyosom ein Teil des mit den generativen Vorgängen verbundenen Chromatins enthalten sein kann.

Nur bei *Eimeria schubergii*, und bei *Caryotropha* ist die Ausstoßung des Karyosoms unmittelbar vor der Befruchtung deutlich sichtbar; bei einigen anderen Arten bleibt er im Kern der weiblichen Zelle (*Eucoccidium*, *Eim lacaz.* und *tritonis*); er bleibt jedoch während der Befruchtungsvorgänge auf der Seite und sein Körper verschmilzt erst dann mit dem übrigen Kerngerüste, nachdem das männliche und das weibliche Chromatin schon längst verbunden sind. Dies geschieht zur Zeit der Bildung der dicken Oocystenhülle und der Teilung in Sporocysten, kurz während der ersten vegetativen Vorgänge (Wachstum, Exkretion) in der jungen befruchteten Zelle.

Ebenso wie bei den Mikrogameten, halten wir auch bei den Makrogameten die Ausstoßung des Karyosoms für eine Art von Reinigung des Kernes und zwar aus gleichen Gründen, die bei der ersten Gelegenheit erörtert wurden.

---

Aus der obigen kurzen Übersicht der Veränderungen im Karyosom verschiedener Coccidienarten ersehen wir, daß dieses Gebilde bei allen Gattungen aus zweierlei Substanzen, aus Chromatin und aus einer achromatischen (plastinartigen?) Substanz gebildet ist. Die beiden Substanzen sind entweder vollständig vermengt oder morphologisch voneinander getrennt. In manchen Entwicklungsstadien kann entweder das ganze Karyosom oder nur eine von den beiden Substanzen (Chromatin) mit dem Kerngerüste verschmelzen und mit demselben zusammen in Tätigkeit treten. Im Karyosom der Coccidien finden wir also einen Vorrat an Substanzen angehäuft, die im Kerne eine aktive Rolle spielen. Der Vorrat kann während der vege-

tativen, manchmal aber auch während der generativen Vorgänge benutzt werden, und die Art seiner Benützung ist eine spezifische Eigenschaft der betreffenden Tierart.

#### IV. Bedeutung der karyosomähnlichen Gebilde der anderen Protozoen.

Eine noch auffallendere Verschiedenheit im Verhalten der als Karyosome bezeichneten Gebilde sehen wir bei den Gregarinen. Es ist nicht unsere Absicht, hier auf die Einzelheiten jeder Gattung näher einzugehen, um es zu beweisen, da es bereits Lühe<sup>1)</sup> in seinem ausgezeichneten Referate dargetan hat. Wir wollen nur eines hervorheben: während das Karyosom einiger Gattungen (z. B. *Lankasteria ascidiae*) vor der geschlechtlichen Fortpflanzung ausgeschieden wird, spielt es bei anderen (z. B. *Stylorhynchus*) bei diesem Vorgang eine nicht unbedeutende Rolle; auch bei der ungeschlechtlichen Fortpflanzung ist dies manchmal deutlich zu sehen (z. B. *Selenidium*). Es scheint also, daß bei den Gregarinen das Karyosom, ähnlich wie bei den Coccidien einen Vorrat an Kernsubstanz darstellt, der entweder während der vegetativen, oder auch während der generativen Vorgänge benutzt werden kann.

Die Angaben über Karyosome anderer Protozoen sind recht unzureichend, um daraus sichere Schlüsse über ihre Bedeutung ziehen zu können. Mit Recht wird deshalb von vielen Seiten vor jeder diesbezüglichen Homologisierung gewarnt.

Unter den *Sarkodinen* finden wir zwei Arten, in denen ähnliche Gebilde zu sehen sind wie bei den Coccidien; es sind: *Calcituba polymorpha*<sup>2)</sup> und *Trichosphaerium Sieboldi*<sup>3)</sup>. Bei dem erstgenannten Tiere sind die Kerne als sehr dichte, einförmige Körnchen zu sehen; sie teilen sich auf multiple Weise und ähneln während einiger Teilungsstadien so sehr den Karyosomen der Coccidien, daß *Calkins* (*The Protozoa* 1901) die Entwicklungsgeschichte der Kerne der *Calcituba* und die der Karyosome als „*strikingly similiar*“ bezeichnet. Der ganze Kern der *Calcituba* scheint auf ein Karyosom

<sup>1)</sup> Lühe. Arch. für Protistenkunde 1904.

<sup>2)</sup> Schaudinn. Zeitschr. f. wiss. Zool. 59.

<sup>3)</sup> Derselbe. Arb. der kais. Akad. d. wiss. Berlin 1899.

reduziert zu sein; sowohl die vegetativen als auch die generativen Teile müssen in demselben enthalten sein.

Bei *Trichosphaerium Sieboldi* sehen wir im Kerne einen Körper, der in verschiedenen Stadien entweder in der Form eines Karyosoms, oder mit dem Kerngerüst verschmolzen auftretend kann. Schaudinn (l. c.) stellt eine Reihe von „vegetativen“ Veränderungen in dem Körper zusammen, die sehr an einige in den Karyosomen auftretenden Gebilde erinnern.

Die bei den *Mastigophoren* beschriebenen, karyosomähnlichen Kerneinschlüsse zeichnen sich durch eine so große Mannigfaltigkeit der Form und der Funktionen aus, daß es fast unmöglich ist, zwischen denselben und den echten Coccidienkaryosomen einen Vergleich zu ziehen. Sowohl bei den beinahe einheitlichen Nukleolocentrosomen wie auch bei allen übrigen Gebilden bis zu den hochkomplizierten, die neuerdings bei *Trypanosoma noctunae*<sup>1)</sup> beschrieben worden sind, sehen wir bei den Mastigophoren recht verschiedene Formen, die sogar miteinander schwer zu vergleichen sind. Es finden sich aber eben bei der kompliziertesten Form einige Einzelheiten die an die Rolle des Karyosoms bei Coccidien und speziell bei *Caryotropha* erinnern. So bei der Bildung des Bewegungsapparates der *Trypanosoma noctunae* wird ein Teil des im sog. „Karyosom“ enthaltenen Chromatins abgegeben, wodurch das Kerngerüst verstärkt wird. Das Wachstum ist hier mit dem Verbräuche der im Karyosom angehäuften Stoffe verbunden, was doch eine gewisse Analogie mit dem Verhalten der Kernteile bei *Caryotropha* zeigt. Dasselbe Karyosom der *Trypanosoma noctunae* soll aber auch eine bedeutende Rolle während der partenogenetischen oder auch der geschlechtlichen Fortpflanzung spielen; es ist also sowohl als ein mit vegetativen wie auch mit generativen Kernstoffen versehener Körper aufzufassen.

Wenn wir nach Analogien zwischen den verschiedenen oben-erwähnten Kerneinschlüssen suchen, sehen wir, daß in jedem Falle das karyosomähnliche Gebilde einen Vorrat oder eine Ergänzung des ganzen Kernapparates darstellt. Der Vorrat wird gewöhnlich bei den vegetativen Vorgängen verbraucht, kann jedoch auch für die generativen von Wichtigkeit werden. Die Art und Weise des Verbrauches der Karyosome ist als eine Arteigenschaft zu betrachten.

<sup>1)</sup> Schaudinn. Arbeiten aus dem kais. Ges. Amté. 1904.

Wenn wir also das Karyosom der Protozoen als eine Ergänzung des gesamten Kernapparates auffassen, das je nach der Tierart zu vegetativen oder generativen Vorgängen verbraucht werden kann, so finden wir zwischen demselben und den als *Chromidien* bezeichneten Gebilden eine gewisse Ähnlichkeit. Wie bekannt, stellen die *Chromidien* eine körnige chromatische Substanz dar, die aus dem Kerne in das Protoplasma ausgewandert ist und dort entweder in der Form von feinen Netzen oder als eine dichtere Masse besteht. Bei einigen *Rhizopoden* wie z. B. *Actinosphaerium*<sup>1)</sup> und *Pelomyxa*<sup>2)</sup> ist die Entstehung der *Chromidien* unstreitig mit den vegetativen Lebensvorgängen verbunden. Bei den *Thalomophoren* aber stellen die *Chromidien* ein Material dar, aus dem die Kerne der geschlechtlich differenzierten Generation ihren Ursprung nehmen. Es wurde sogar von *Schaudinn*<sup>3)</sup> direkt hervorgehoben, daß die *Chromidien* den generativen Kernteil repräsentieren und mit den Mikronukleolen der *Infusorien* direkt vergleichbar wären.

Offenbar haben die *Chromidien* bei verschiedenen Tiergruppen verschiedene Bedeutung; sie sind einmal zu vegetativen Kernteilen (*echte Chromidien* — Goldschmidt) oder aber zu den generativen (*Sporetien* — Goldschmidt) entwickelt. Wie die Karyosome, sind die *Chromidien* auch Anhäufungen von Chromatin, die aber nicht im Kern, sondern im Protoplasma gebildet werden. Trotz vieler Verschiedenheiten, auf die wir hier nicht näher eingehen wollen, besteht doch eine deutliche Ähnlichkeit zwischen der Bedeutung der *Chromidien* und der der Karyosome.

Wir haben schon früher betont, daß bei *Caryotropha mesnili* das Karyosom ein vegetativer Kernteil ist; dabei ist es ein ständiges Zellorgan und besteht aus denselben Substanzen, aus denen auch der Kern aufgebaut ist. Ein Vergleich zwischen dem Karyosom und dem Makronucleus der *Infusorien* liegt also sehr nahe. Beide sind bei den vegetativen Lebensvorgängen tätig; der Makronucleus verschwindet während der Konjugation und wird aus einem Teil des Micronucleus gebildet; das Karyosom, das vor den Be-

<sup>1)</sup> R. Hertwig. a) Arch. f. Protistkunde 1. b) Festschrift f. E. Haeckel.

<sup>2)</sup> Goldschmidt. Arch. f. Protistkunde 1905.

<sup>3)</sup> Schaudinn. Arb. aus dem kais. Ges. Amte 1903.

fruchtungsvorgängen ausgeschieden wird, erscheint doch in den Nachkommen der befruchteten Zelle; die Analogie zwischen beiden Gebilden ist also recht auffallend.

Eine Differenzierung des vegetativen Kernteiles zu einem ständigen Zellorgane, wie sie bei *Caryotropa* vorliegt, verwischt die scharfe Grenze zwischen den Infusorien und anderen Protozoengruppen.

Obwohl bei *Caryotropa* der Kern in zwei Teile differenziert erscheint, behält er dennoch den Charakter eines einzigen und einheitlichen Kernes; von einer Doppelkernigkeit kann hier nicht die Rede sein. Wir glauben übrigens, daß bei den Protozoen die Zweikernigkeit nicht als ein für diese Gruppe charakteristisches Merkmal aufzustellen wäre. Im Gegenteil, nach unserer Meinung haben wir in einer Protozoenzelle, gleichwohl, ob sich ein Hauptkern und eine Chromidialmasse, oder ein vegetatives Karyosom im Kerne, oder sogar ein getrennter vegetativer und generativer Kern in ihrem Innern befindet, immer nur einen einzigen und einheitlichen Kernapparat vor uns. So wie nicht alle Lebensäußerungen zugleich vor sich gehen, so entwickelt sich auch nicht in allen Teilen des Kernapparates zugleich eine rege Tätigkeit; aber wie alle Lebensvorgänge zusammen das Leben bilden, so stellen auch alle Teile des Kernapparates eine in sich geschlossene Einheit dar.

Aus dem vergl. Anatom. Institute der Jagell. Universit. zu Krakau.

### Tafelerklärung.

Auf allen größeren Figuren ist nur derjenige Teil des Coccidiums abgebildet, in dem sich der Zellkern befindet; die Gesamtgestalt des Tieres ist aus den kleinen, schematischen Umrissen (Fig. 1 b — 6 b) ersichtlich. Oberhalb der größeren Figuren (auf der Fig. 1 a auch unterhalb) sind die Umriss der Kerne der infizierten Zellen gezeichnet.

Alle Figuren wurden mittelst des Zeichenapparates nach Abbé entworfen bei Benützung einer apochromatischen homogenen Immersion (Zeiss, 1.30 Appert. und 2.00 Brennweite) und des Kompensationsokulares Nr. 12. Die Präparate wurden mittelst konzentrierter Sublimatlösung mit Zusatz von 1% Essigsäure fixiert, und mittels Hämalau und Eosin — Orange gefärbt.

Fig. 1. Der Kern eines jungen Coccidiums mit einem fast homogenem Karyosom und einem dickfädigem Gerüste.

Fig. 2 u. 3. Zerfall des Karyosoms und des Kerngerüstes.

Fig. 4. Zusammenschmelzung des Kerngerüstes mit der Rindenschicht des



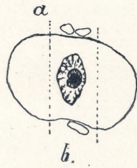
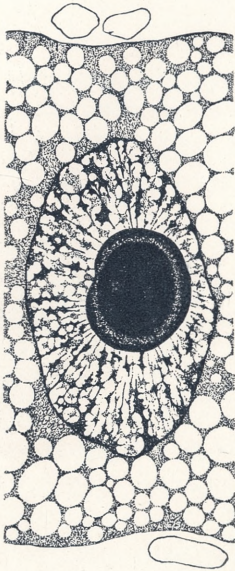


Fig. 1.

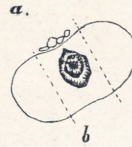
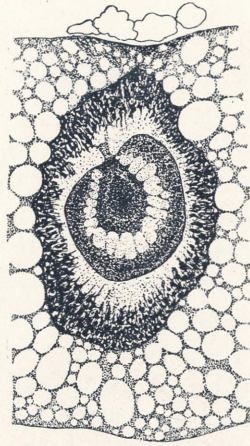


Fig. 2.

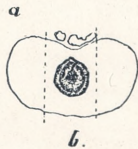
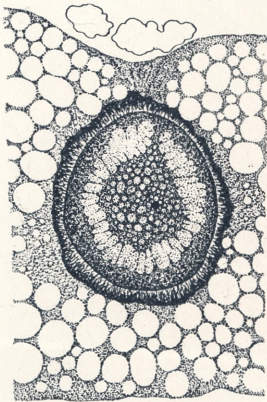
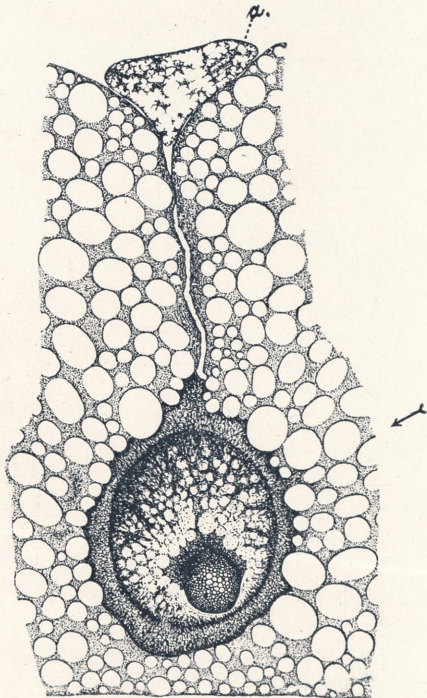
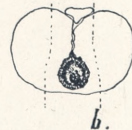


Fig. 3.

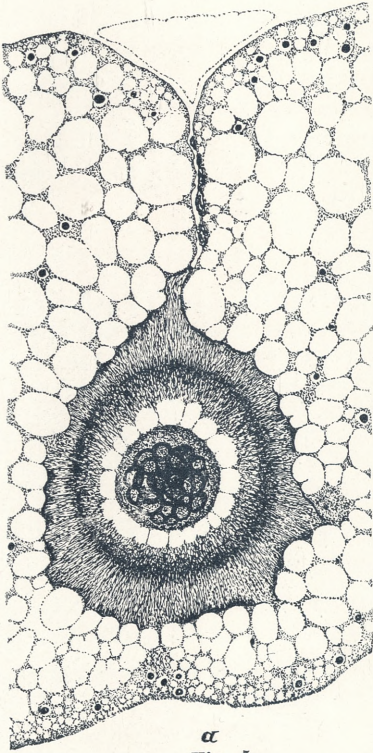


\*

Fig. 4.







$\alpha$   
Fig. 5.

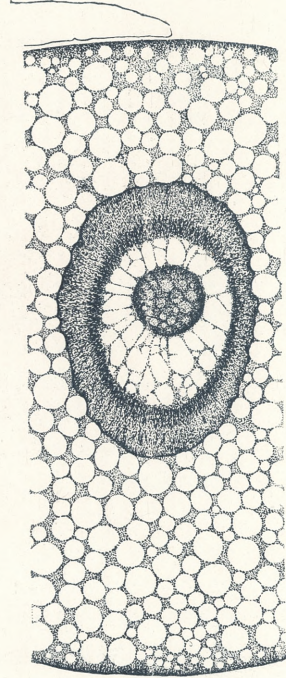
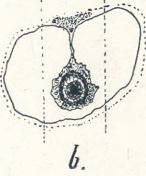


Fig. 6.

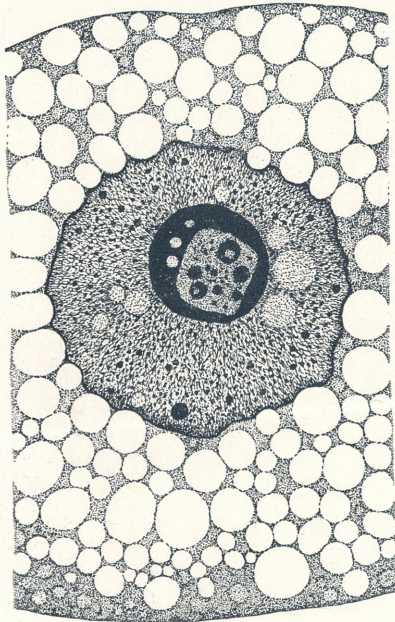
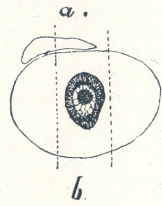


Fig. 7.



Karyosoms; bei ← ist die Kernmembran verschwunden, bei \* ist sie noch intakt geblieben.

Fig. 5 u. 6. Rekonstruktion des Karyosoms und des Kerngerüstes.

Fig. 7. Der Kern eines reifen Coccidiums mit neugebildetem Kerngerüste und einem neuen Karyosom.

47. M. THAD. GARBOWSKI. **O rozwoju larw jeżowców bez entodermy.** (*Über die Entwicklung von Seeigellarven ohne Entoderm*). (*Sur le développement des larves des oursins sans entoderme*). Mémoire présenté par M. K. Kostanecki. m. t. à la séance du 10. Juillet 1905.

Vorliegende Mitteilung ist ein kurzer, vorläufiger Bericht über eine außerordentlich interessante Larvenzucht aus hybridem Material, welches mir ein günstiger Zufall anlässlich meiner Kreuzungsversuche mit Seeigeln in die Hand gespielt hat. Obwohl es nicht möglich war, die Ursachen zu ermitteln, auf welche die von den betreffenden Seeigellarven eingeschlagene Entwicklungsrichtung zurückzuführen wäre, so sind doch die beobachteten Tatsachen von großer, allgemeiner Bedeutung und lassen sich bei der Analyse normaler Entwicklungsvorgänge vielfach verwerten.

Am 7. Juli v. J. erhielt ich in Roscoff unter Asteriden, mit denen ich gerade Versuche anstellte, ein vereinzelt Männchen von *Echinus esculentus* L. Da ich seit längerem hybrides Larvenmaterial sammelte und auch dieses Tier verwenden wollte, habe ich am nächsten Tage in Ermangelung anderer frischer Seeigel mit seinem Sperma, welches von guter Beschaffenheit war, die Eier eines im Aquarium lebenden *Paracentrotus lividus* (Lmk) ♀ mit prall gefüllten Gonaden befruchtet.

Die Befruchtung wurde nach 8 Uhr früh vorgenommen; der Tag war sehr warm. Nur ein geringer Teil von Eiern wurde befruchtet; um so besser gelang die wirklich eingetretene Befruchtung. Die Dottermembran wurde weit abgehoben, die Furchung verlief rasch und nahezu ausnahmsweise völlig normal, wie ich es selbst bei gewöhnlicher Befruchtung nur selten gesehen. Um 6 Uhr abends, also nach ungefähr 10 Stunden waren schon sämtliche Blastulae ausgeschlüpft und wurden in einen anderen geräumigen Glasbehälter abgegossen.

Von anderen Untersuchungen vollauf in Anspruch genommen, sah ich erst am 9. Juli um 3<sup>b</sup> nachmittags nach und fand zu meiner großen Überraschung außer gewöhnlichen Gastrulastadien, welche bereits die Akronverdickung nach vorne verschoben hatten und zur tetraëdrischen Gestalt hinneigten, zahlreiche Larven, etwa ein Drittel der Gesamtmenge, deren Darmanlage nach außen umgestülpt war und ihnen ein scolexartiges Aussehen verlieh.

Die Exogastrulation ging nicht überall in der gleichen Weise vor sich und war auch nicht überall gleichmäßig vorgeschritten.

Manche Larven waren länglich gestreckt, merklich größer als normale Gastrulae und besaßen am vegetativen Pol als Darmanlage einen kurzen, dickwandigen, rundlichen Höcker, der einfach aus der vorgestülpten Platte der Enchymblasten entstanden war. Bei anderen befand sich an der abgeflachten Urmundwand eine breite, stumpfe, aber an der Basis scharf abgehobene Darmausstülpung mit dickerer Wandung. Mitunter waren diese Ausstülpungen bereits im Schwinden begriffen, indem an ihrer flachen oder sanft gewölbten Abschlußwand der eigentliche Gastrulationsprozeß eingeleitet wurde, welcher nach einiger Zeit zur Rückeinstülpung der ganzen Anlage führen mußte. Am zahlreichsten waren aber Larven, wo sich an der Ausstülpung der ganze untere Teil des Körpers beteiligte (Fig. 1 a). Während sich sonst bei embolischer Gastrulation die Körperwand unterhalb des Enchymkranzes, beziehungsweise der Skelettanlagen, abflacht und eine ringförmige Bodenfläche bildet, die sich an der Umbiegungsstelle des seitlichen Körpermantels zu immer schärferem Rande abkantet, war hier die Larve bei sonst normaler, sphärischer Gestalt stark gestreckt, das Blastoderm war merklich dünner geworden und der Körper lief unter allmählicher Verjüngung konisch in einen rüsselförmigen Darmfortsatz aus. Der gestreckte oder ausgestülpte Larventeil konnte so lang sein wie die Hauptachse eines normalen Gastrulastadiums.

Die Exogastrulae dieses Typus waren es, deren Entwicklung auf die hier näher zu beschreibende Weise bis zum Pluteusstadium vollkommen regelmäßig sich vollzog.

Bei den jüngsten der beobachteten Stadien ging das Körperepithel ohne jede schärfere Abgrenzung in das Darmepithel über und nur in dem leicht aufgetriebenen Endstücke war das letztere bedeutend verdickt. Bald verdickten sich jedoch die Wände des ganzen Darmabschnittes, so daß sie 3—4 mal dicker werden konnten

als das Körperepithel, wodurch sich auch der Unterschied zwischen Körper und Außendarm immer deutlicher ausprägte und die Stelle des sonstigen Urmundrandes sichtbar wurde. Durchschnittlich waren derartig gestaltete Larven etwas größer als normale Darmlarven (vgl. Fig. 1 *a* und *b*).

Ein besonderes Interesse boten natürlich die Verhältnisse des blastularen Enchyms. Bei allgemeiner Betrachtung und Vergleichung

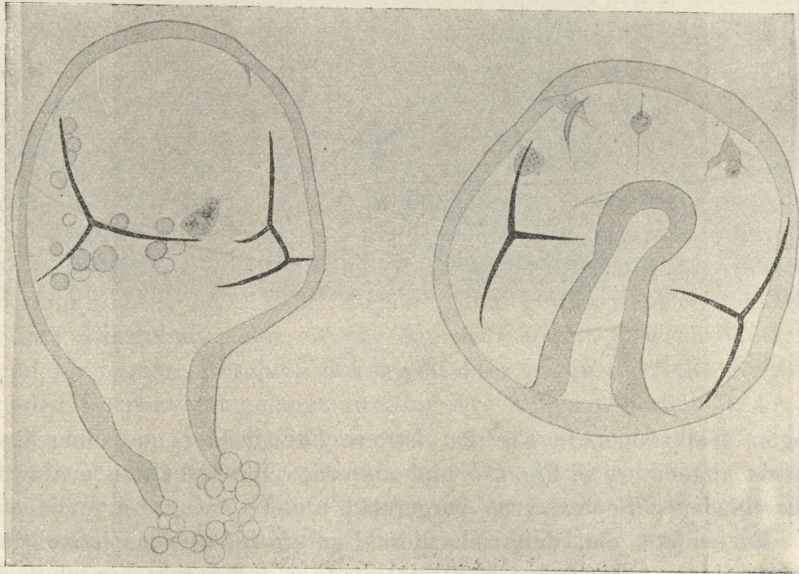
*a*

Fig. 1.

*b*

erschien das Bild der geweblichen Elemente im Gallertkern durchaus normal. Wie ich mich an zahlreichen Skizzen, die ich im Laufe von etwa 4 Stunden sowohl nach lebenden, durch Deckglasdruck festgehaltenen Larven als nach einigem durch Formolzusatz abgetöteten Material entworfen habe, überzeugen konnte, stimmte die Enchymbildung in den Scolexlarven mit den gewöhnlichen bis auf die Zellenzahl überein. Auch waren die Enchymzellen zumeist zu dem typischen, bilateral-symmetrischen Ring geordnet. Wo dies aber nicht der Fall war, blieb eine unregelmäßige Verlagerung der Zellen augenscheinlich ohne jeden Einfluß auf den weiteren Verlauf der Entwicklung.

In Betreff der Skelettanlage waren in sämtlichen Scolexlarven

ohne eine einzige Ausnahme die Kalkbildner beiderseits zu symmetrischen Gruppen zusammengetreten. Zur Zeit, wo die Beobachtung anfang, war die Entwicklung der Drei- und Vierstrahler bereits weit fortgeschritten. Am Ausbau einer jeden Skelettgruppe beteiligten sich 18 bis 19, wenigstens aber 16—17 Skleroblasten, und zwar oft beiderseits in nahezu identischer Verteilung an den ange-

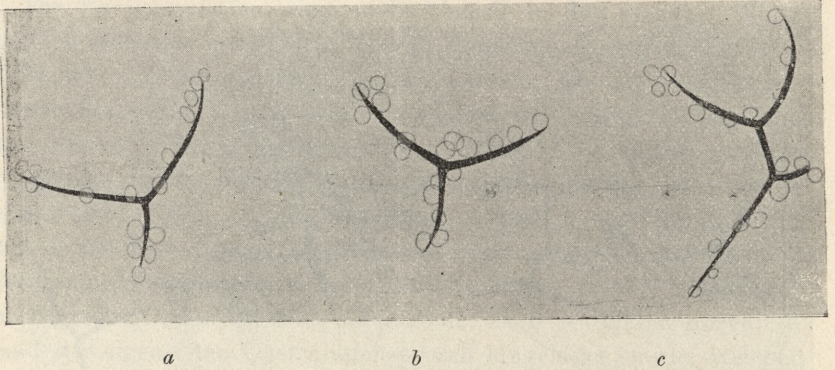


Fig. 2.

legten Kalkstäben. In Fig. 2 *a* ist ein Dreistraehler aus einer Gastrula abgebildet, in Fig. 2 *b* und *c* werden Skeletthälften aus zwei verschiedenen Scolexlarven vorgeführt.

Es leuchtet ein, daß sich diese Larven bis in das letzte der Darmbildung vorausgehende Blastulastadium weder tektologisch noch physiologisch von den normalen unterschieden haben konnten. Da es andererseits keinem Zweifel unterliegen kann, daß die unbekannt Ursachen, welche die Richtungsänderung der Darmanlage veranlaßt haben, zu jener Zeit, sei es äußerlich in der Beschaffenheit des Wassers, sei es innerlich in der Beschaffenheit der Furchungszellen selbst bereits existiert haben mußten, so sind wir zu der Folgerung berechtigt, daß die morphogenetischen Vorgänge der Enchymbildung und der Darmbildung voneinander in mehrfacher Hinsicht unabhängig sind, wenn die Faktoren, welche die Zellgenerationen der Enteroblasten affizieren, auf die derselben Körpergegend angehörenden Enchymoblasten keinerlei Wirkung auszuüben vermögen.

Durch diese Tatsache wird uns ferner die Vermutung nahegelegt, daß es überhaupt minimaler Anstöße und Zustands-

änderungen bedarf, um eine fundamentale Divergenz des Entwicklungsganges anzubahnen; umsomehr als die Exogastrulation nur in einem Teile der Larven aufgetreten war, während die anderen die angestammte Entwicklungsrichtung beibehalten und sich bis in späteste, unter gewöhnlichen Umständen erreichbare Stadien normal entwickeln konnten.

Bezüglich des blastulären Enchyms sei noch bemerkt, daß die Zellenzahl in gewissen pathologischen Exemplaren sehr wesentlich vermehrt war und daß sich selbst in den jüngsten Scolexlarven unter gewöhnlichen, größtenteils runden Enchymzellen einzelne große, verästelte und farbstoffreiche Chromatophoren befanden.

Inzwischen ging die Entwicklung weiter vor sich und betraf, wie bei der normalen Gastrulation, zunächst die weitere Differenzierung des Darmes und die Bildung des gastral Enchyms.

Wie wir es in einer anderen Arbeit<sup>1)</sup> dargelegt haben, erfolgt bei *Paracentrotus* die Embolie auf diese Weise, daß die vegetative verdickte Zellrosette, nach Abgabe einer gewissen Enchymmenge durch Einstülpung des anstoßenden Körperepithels gehoben wird und als innerer Abschluß des Darmrohres bis in die Nähe der animalen Körperwand gelangt, worauf ihre Zellen neuerlich in Form von oblongen spindelförmigen oder verästelten Amöbocyten in das Blastocoel auszuwandern beginnen. Der Urdarm selbst erleidet nachher verschiedene Umbildungen, indem er sich infolge ungleichmäßigen Wachstums ausbiegt und sein blindes Ende dem inzwischen nach vorne verschobenen Akron zukehrt, worauf die Abschnürung des Enterohydrocoels sowie die Abgliederung des Vorderdarmes stattfindet.

31 Stunden nach der Befruchtung waren unter den Scolexlarven noch einige Exemplare zu finden, die etwa 25-stündigen normalen Stadien entsprachen und sich zur Abgabe des gastral Mesenchyms gerade anschickten. Bei der Mehrzahl war dieser Prozeß in vollem Gange, so daß man das Ganze mit Leichtigkeit überblicken konnte.

Der Urdarm verhält sich hierbei im allgemeinen so, als ob er sich im Gallert des Blastocoels befände. Seine Außenseite ist wie das übrige Körperepithel bewimpert, genau so wie bei invaginiertem Darm, wo sie natürlich dem Lumen zugekehrt sein würde. An dem

<sup>1)</sup> Tad. Garbowski, Über die Polarität des Seeigeleies. Bull. Cl. math.-nat. Acad. Sc. Cracovie, Juillet 1905.

leicht aufgetriebenen Endstücke machen sich Zellverschiebungen bemerkbar, die Darmwand wird dort unregelmäßig mehrschichtig, einzelne Zellen werden aus dem epithelialen Verbande herausgedrängt; inwiefern sie sich dabei aktiv oder passiv verhalten, läßt sich durch direkte Beobachtung schwer ermitteln. Allenfalls würde man erwarten, daß die Enchymzellen in das Innere des Außen Darmes hineinwandern werden, weil die Innenfläche der Darmausstülpung die Außenfläche einer inversen Anlage abgeben müßte. Nichtsdestoweniger wird, wie Fig. 1 a lehrt, der gewöhnliche Abschnürungsmodus beibehalten und der Endknopf des Darmrüssels bedeckt sich maulbeerenartig mit runden, austretenden Zellen. Die Zellen sind glashell und von normaler Größe. Wie sonst in der Leibeshöhle werden auch hier manche von ihnen birnenförmig. Der Verband mit dem Endknopfe wird immer lockerer, nur dünne Plasmabrücken stellen den Zusammenhang, her, bis auch diese einreißen und die Zellen frei abfallen. Ihr weiteres Verhalten konnte ich unter Vergrößerungssystemen wie Zeiss D oder Leitz 7, mit welchen ich arbeitete, nicht mit voller Sicherheit verfolgen. Einige schienen mir eine gewisse Beweglichkeit zu zeigen und zwar nicht amoeboid, sondern zitterig, als ob sie mit Wimpern bekleidet wären. Als ich die einzelnen Objektträger der Reihe nach durchmusterte, waren sie zumeist nach kurzer Zeit an der ursprünglichen Stelle auch bei festgeklemmten Larven nicht mehr zu finden.

Der ganze Vorgang ist äußerst beachtenswert. Es zeigt sich, daß beim Auswandern der Enchymzellen die architektonischen Verhältnisse für die Richtung den Ausschlag geben. Die konvexe Seite des Darmrohres ist es, wo die geweblichen Elemente auseinandertreten. Man könnte hier an die Einwirkung einer durch den Prolaps veranlaßten Umkehrung der inneren Polarität in den Zellen denken. Dieser Annahme widerspricht indessen das Verhalten von anderen Enchymoblasten, welche umgekehrt in das Darmlumen gelangen und bald darauf das Endbläschen einen dichten Knäuel bildend erfüllen. Dies würde eher für das Walten der ursprünglichen „Polarität“ sprechen, sofern man die Erscheinung nicht mit anderen Auslösungsmomenten, wie mit chemotropischer Einwirkung der gallerterfüllten Leibeshöhle u. dgl. in Beziehung bringen wollte. Die Ungleichmäßigkeit im Auswandern der Zellen spricht jedenfalls dafür, daß bei abnormer



Darmanlage verschiedene morphogenetische Momente, die sonst zu gleicher Zeit eingreifen, in Widerstreit geraten und daß je nach der Lage der Zellen bald dieser, bald jener Faktor überwiegt.

Nicht minder lehrreich ist das Schicksal der in das Darminnere abgeschnürten Zellen.

Diese Zellen werden amöboid und trachten alsbald in die Körperblase selbst einzudringen. Da zu jener Zeit die Darmdifferenzierung bereits weiter fortgeschritten ist, die Darmwände stark verdickt und durch zunehmende Einschnürung der Darmbasis sich scharf von dem angrenzenden Körperepithel abheben, wird hierdurch das Darmlumen bedeutend eingeengt und kann nur zwei bis drei Zellen auf einmal durchgleiten lassen. Infolgedessen verlängern sich die einwandernden Enchymzellen zu schmalen, spindelförmigen Elementen, die sich zu Bündeln von fast faserigem Aussehen zusammenschließen und die enge Stelle passieren. Ähnliche Bilder sind übrigens aus Versuchen mit Lithiumkulturen bekannt geworden.

Kaum in die Körperhöhle gelangt, verwandeln sich die Zellen in reich verästelte und oft auffallend große Amöbocyten und zerstreuen sich nach allen Richtungen, wobei sie teilweise mittelst dünner Fortsätze mit einander in Verbindung verbleiben oder auch sich zu 2 oder 3 mit ihren ganzen Flächen aneinanderlegen und durch lange Plasmafäden an der Körperwand inserieren. Alle diese Vorgänge sollen in der detaillierten Publikation eingehend geschildert werden.

Zur Zeit der gastraln Mesenchymbildung macht sich an der Darmausstülpung noch eine andere, überaus charakteristische Differenzierung bemerkbar. Unter normalen Verhältnissen erfolgt eine Wendung des Darmrohres nach der zukünftigen Oralmulde des Pluteus, dem gegenwärtigen abschüssigen Vorderteile der sich prismatisch abkantenden Gastrula, herüber. Ein ganz ähnlicher Prozeß findet an dem Außendarme statt. An den meisten Exemplaren machte sich zwischen der 30—33 Stunde eine ausgesprochene Krümmung bemerkbar und zwar genau oder meistens genau in normaler Richtung. Wie dies Fig. 1 a veranschaulicht, wo die Vorderseite des Larvenkörpers zu drei Vierteln nach oben gekehrt ist, würde sich der charakteristisch gebogene Darm, wenn er im Sinne typischer Gastralentwicklung umgestülpt werden würde, mit seiner Endkuppe gegen die Oralwand überbiegen.

Auch diese Erscheinung ist von hohem analytischen Werte. Sie

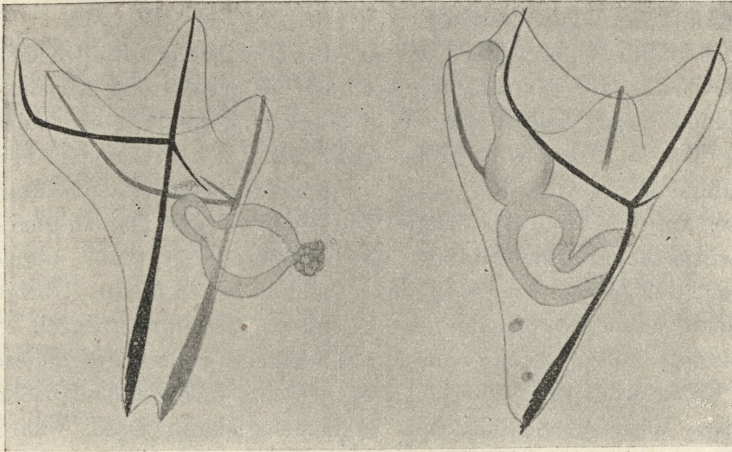
liefert uns einen direkten Beweis dafür, daß sich die Darmanlage gleichmäßig verhält, mag Einstülpung oder Ausstülpung eingetreten sein; mit anderen Worten, daß die tropischen Wachstumspotenzen der Darmzellen von ihrer Umgebung, ob Leibeshöhle, ob Außenwelt, nicht direkt abhängen. Besonderes Interesse gewinnt diese Tatsache angesichts der Annahmen der Reizphysiologie. Wir sehen also daß die Überbiegung und überhaupt das Hineinwachsen des Darmrohres gegen die animale Körperwand nicht durch etwaige chemotropische Einwirkung des gegenüberliegenden Epithels herbeigeführt wird, sondern daß der Darm selbst die Bedingungen für seine fortschreitende Differenzierung besitzt.

Am nächsten Morgen, d. 10. gegen 5<sup>h</sup>, als die Larven ein Alter von 44–45 Stunden erreicht hatten, war bereits die Ausgestaltung der Pluteusform in vollem Gange begriffen. Normale und exogastrale Larven waren ihrer Grundform nach noch immer ausgesprochen prismatisch, zumal die verdickten Körperstäbe oder Scheitelstäbe der Skeletanlage in auffallend weitem Abstände die Scheitelleiste berühren, und besaßen auch durchschnittlich die nämliche Größe. Rings um die Oralmulde war jedoch das Epithel bereits zu einer breiten, wenn auch noch nicht vollständig scharf abgegrenzten Vibrisse (Wimperschnur) verdichtet und in 4 Armfortsätze ausgezogen (vgl. Fig. 3 a, b). Wie es nicht anders zu erwarten war, zeigte sich in der Skelettentwicklung sowie in der Ausbildung der Arme absolute Regelmäßigkeit; unter den Scolexlarven, welche überhaupt dieses Stadium bereits erreichen konnten, war in dieser Hinsicht keine einzige Ausnahme zu finden.

Daraus ergibt sich nun, daß nicht nur die Anlage und die erste Gruppierung des Enchymmaterials, sondern auch die weitere Ausbildung seiner Derivate, namentlich was die Wachstumsverhältnisse anbelangt, in gar keiner Beziehung zur Ausgestaltung der Darmanlage stehen.

Dazu kommt der wichtige Umstand, daß die Pigmentierung ebenfalls sowohl in normalen Larven als in solchen mit Außendarm die gleiche geworden war. In beiderlei Typen waren die Chromatophoren verhältnismäßig sehr zahlreich und sehr umfangreich, zum größten Teil stark verästelt und lebhaft fuchsrot. Die für spätere Plutei so charakteristische Anhäufung der Pigmentzellen am Scheitel und am Ende der Armfortsätze war noch wenig ausgeprägt.

Der Außendarm hat inzwischen ziemlich weitgehende Veränderungen erfahren. Er schien vor allem kürzer und gedrungener geworden zu sein. Die Zellen des Darmepithels standen recht dicht nebeneinander, so daß die Oberfläche des Darmes leicht runzelig



a

Fig. 3.

b

erschien. Auch die Bewimperung war — offensichtlich infolge dieser Verdichtung — weit leichter zu sehen als am Vortage. Im Inneren konnte ich keine Wimpern nachweisen. Hingegen war das Lumen bei vielen Exemplaren von zahlreichen, kleinen Zellen eingenommen, die zu größeren Knäueln geballt waren und durch faserige Plasmaprüden miteinander in Verbindung standen. Entweder war es pathologisch überschüssiges Enchymmaterial, welches von der terminalen Darmkappe herkam, oder aber könnte es sich auch um einzelne Darmzellen handeln, die bei erfolgter Zusammenziehung der Gastralausstülpung aus dem Epithelialverbande gegen das Lumen herausgedrängt worden waren. Zuweilen drangen Gruppen derartiger Zellen in die Leibeshöhle selbst hinein, wo sie in Gestalt von gedrungenen oder spindelförmig auseinandergezogenen Nestern zu sehen waren, scheinbar ohne anderweitige Verbindungen mit den benachbarten Gewebelementen. Wie ich mich durch direkte Beobachtung in Zwischenräumen von etwa 30 Minuten an einigen Larven überzeugen konnte, waren diese Zellen in weiterer, allmählicher Umbildung begriffen; so zerfiel nach etwa 3 Stunden

eine spindelförmige Gruppe in zwei Nester, die nachher immer undurchsichtiger wurden und wahrscheinlich unter Resorption seitens der angrenzenden Teile nach und nach degenerierten. Auch einzelne kleine, kugelige Chromatophoren waren unter diesen Zellen zu bemerken. Alles dies geschah in der Zeit von der 46. bis zur 52. Stunde der Entwicklung.

Bedeutende Unterschiede zeigte die Gliederung des Darmfortsatzes in die der Normalentwicklung entsprechenden Abschnitte. Die einen waren in der Mitte bloß leicht eingeschnürt, die anderen teilten sich in 2 ungleich große Abschnitte, von denen der distale bedeutend kleiner als der etwas aufgeblähte proximale auszufallen pflegte. Mitunter war der distale Teil noch vor der fast zu gleicher Zeit einsetzenden Rückbildung von vornherein so klein angelegt worden, daß er kein freies Lumen enthalten haben dürfte. Übrigens war das Lumen des proximalen Abschnittes fast immer durch fortschreitende Einschnürung von dem Endstücke vollständig abgesondert. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß der Endabschnitt mit dem Vasoperitonealbläschen zu homologisieren wäre, während das Hauptstück dem Vordarme + Magendarm entsprechen würde. Eine Differenzierung in einen Hauptdarm und Vordarm konnte ich an keiner Larve bemerken. Hingegen war in den Mittagsstunden desselben Tages an einigen Darmfortsätzen eine scharf einschneidende Gliederung zu sehen; das kurze Basalstück war wohl infolge der Einschnürung fast kugelig aufgebläht und wäre zweifelsohne als Enddarm zu deuten.

Sämtliche Darmfortsätze, bei denen sich keine Anzeichen einer versuchten Rückeinstülpung einstellten, waren auch an der Basis von der Analwand der Larve immer stärker abgeschnürt, so daß im Laufe des Tages jede Verbindung zwischen der Darmhöhle und der Leibeshöhle aufgehoben wurde. Mit jeder Stunde traten auch die Rückbildungserscheinungen am Endknopfe deutlicher zutage. Dieses ganze Stück wurde trübe, undurchsichtig, die einzelnen Zellen begannen zu zerbröckeln, so daß das Plasma in Form von detritusartigen Körnchen abgestoßen und durch die Strömungen während des Umherschwimmens der Larven abgestreift wurde.

Bei vielen Larven hat sich im Umkreise des Darmansatzes eine ziemlich tiefe, grubchenförmige Einsenkung ausgebildet, die sich besonders an optischen Querschnitten deutlich beobachten ließ und auch an Fig. 3 a zu sehen ist.

Etwa ein Drittel exogastraler Larven hat indessen an demselben Tage, wie bereits erwähnt wurde, einen anderen Entwicklungsweg eingeschlagen. Der Organismus hat offenbar den Versuch getan, die Ausstülpung rückgängig zu machen und das Darmrohr nachträglich einzustülpen. Hier war der Ansatz des Darmes stark erweitert und das proximale Stück tatsächlich zum großen Teil eingestülpt. Diese Erscheinung konnte sowohl an noch ungegliederten Darmanhängen, als an bereits zwei bis dreiteiligen Außendärmen wahrgenommen werden. Im ersteren Fall ging der Prozeß augenscheinlich ohne erhebliche Schwierigkeiten vor sich. In dem anderen gelang es der Larve niemals — es möge hier diese unerlaubt bildliche Ausdrucksweise nachgesehen werden — das Darmrohr vollständig umzuwenden; stets blieb das mutmaßliche Enterohydrocoelstück, wohl infolge seiner Gedrungenheit, außerhalb der Körperwand stecken und bildete gewissermaßen einen pfropfartigen Verschluß der Einstülpungsöffnung. Alle Einzelheiten dieser interessanten Vorgänge müssen der ausführlichen Publikation vorbehalten bleiben.

Am 11. Juli, dem vierten Entwicklungstage, waren die bereits 75-stündigen Plutei in bezug auf die spezifischen Charaktere der Körperproportionen und des Skelletts völlig entwickelt und neuerlich stark gewachsen. Die darmlosen hielten gleichen Schritt mit den Darmtieren (vgl. Fig. 4 *a* und *b*). Dort, wo der Darm ausgestülpt blieb und sich an der Basis stark eingeschnürt hat, war er zu einem unscheinbaren und undurchsichtigen Anhang zusammengeschrumpft; die tagsvorher entstandene Einsenkung um die Ansatzstelle des Darmes herum war wieder meistens vollständig ausgeglichen. Wo sich der bereits früher zusammengezogene Darmanhang sekundär einzustülpen vermochte, war er ebenfalls etwa um die Hälfte kürzer geworden (Fig. 4 *a*); die innere Wimperbekleidung hat hingegen zugenommen und der aus der Einstülpungsöffnung herauswehende Schopf langer Wimperhaare war ohne Schwierigkeit in situ nachzuweisen. Das Darmepithel zeigte sonst auch hier deutliche Spuren von Rückbildung. Nach Zusatz von Neutralrot wurde es sehr bald tief dunkelrot.

Behufs weiterer Aufzucht wurden die schönsten und interessantesten Exemplare mit je einem Darmpluteus als Zeugen in gesonderten Behältern von ungefähr 150 ccm aufbewahrt. Das Wasser wurde zunächst zweimal, sodann einmal täglich gewechselt und die

Plutei bei mittlerer Vergrößerung untersucht. Die Behälter wurden wo möglich in großen Küvetten mit fließendem Wasser gehalten.

Das neu aufgetretene Organ, dessen Ausbildung in hohem Grade überraschen mußte, war die Mundanlage. Bei

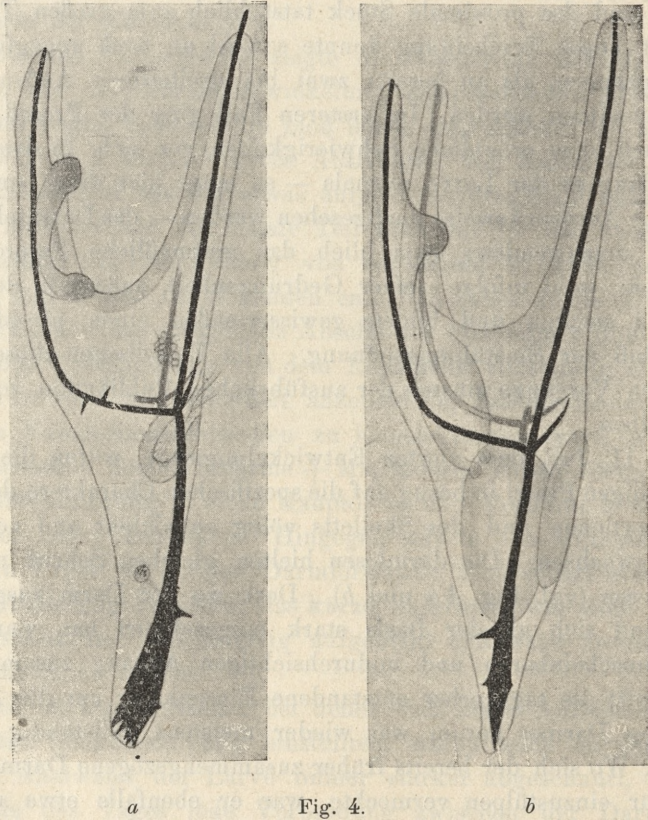


Fig. 4.

sämtlichen Larven, mochte der Darmansatz vollständig heraushängen bleiben oder sich nachträglich eingestülpt haben, entstand genau zu derselben Zeit, wie bei normalen Tieren, in der normalen Gegend des Mundfeldes eine ektodermale Stomodaealeinsenkung, deren oberer und unterer Rand als charakteristische Lippen aufgeworfen und der Boden dem hintergebogenen Ende des Vorderdarmes entgegengestreckt wurde und mit ihm verwuchs, worauf die Oesophagealöffnung zum Durchbruch gelangte.

Wie man nun aus der beiliegenden Fig. 4 ersehen kann, ent-

wickelt sich die Mundeinstülpung bei Abwesenheit des Entoderm-schlauches bis ins einzelne normal; nicht nur die Gestalt und Größe, sondern auch die histologischen Elemente zeigen keine Abweichungen. Die Bewegungen und rhythmischen Kontraktionen des Organes bleiben ebenfalls unverändert. Der typische, reiche Wimperbesatz strudelt unablässig Wasser herbei und kleine Körper, Infusorien, Detrituskörnchen, sowie einzellige Algen, deren ich mich oft, dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Hérouard, zur Fütterung der Larven bediente, wurden wie von den Darmlarven aufgefangen.

Die merkwürdige Tatsache der Mundbildung bei Abwesenheit des Darmes ist selbstverständlich von großer Tragweite und wohl noch wichtiger als die erwiesene Unabhängigkeit des Enchymgewebes samt Derivaten von der Gastrulation. Denn dort handelt es sich um Gewebekomplexe und Gebilde, für deren Funktionen keine unmittelbaren Berührungspunkte aufzufinden sind. Hier aber sehen wir vor uns ein Organ, welches sich lediglich als Vervollständigung eines anderen, bereits vorgebildeten aus benachbartem Epithelmateriale herausdifferenziert. Derartige morphogenetischen Vorgänge, die auf Anlage von Ausführungsgängen durch Hauteinstülpung beruhen, sind in der Embryonalentwicklung der Tiere allgemein verbreitet. Man pflegt sie denn auch im allgemeinen durch Reize zu erklären, welche von den genäherten Flächen des herangerückten Organes ausgehen und Wachstumserscheinungen in dem betroffenen Epithel auslösen. Indessen erweist es sich hier, daß selbst Differenzierungen dieser Art aus dem betreffenden Zellmaterial selbst heraus zustande kommen können, und daß dadurch den auf morphogenetische Reizphysiologie gestützten Hypothesen auf einmal der Boden entzogen wird.

Von nun an ging die endgiltige Rückbildung des Darmansatzes rasch vor sich. Am fünften Tage war das Darmrohr bis auf eine dunkle Zellenrosette verschwunden. Auch wenn der Darm nach außen heraushing, pflegte dieser Gewebsrest in das Innere der Larve einzusinken, wo er früher oder später vollständig aufgebraucht wurde, so daß nur noch eine geringfügige Narbe die Stelle der Darmbasis markierte.

Die völlig „entodermlosen“ Plutei entwickelten sich unbehindert weiter. Sie wuchsen in demselben Maße wie normale Tiere, welche Nahrung zu sich nehmen konnten und auch

wirklich aufnehmen, wie die oft vorgenommene Durchmusterung des Mageninhaltes zeigte. Wir können also schließen, daß die Größenzunahme in jenen Stadien lediglich auf Wasseraufnahme zurückzuführen ist. Je größer ein darmloser Pluteus wird, umso

befremdender wirkt der Anblick seines, vom Skelettgerüste und etlichen Bindegewebszellen abgesehen, völlig leeren Körpers, da natürlicherweise außer dem Ernährungssystem auch die Coelomanlage und das Hydrocoel fehlen. Umso mehr fällt andererseits die zwecklose Mundbildung auf.

Nach 8 Tagen begannen sich die ersten Anzeichen der Degeneration einzustellen. Die Plutei waren zwar durchschnittlich ebenso groß wie die normalen, sie wurden jedoch merklich magerer, die Körperwand fing an einzufallen, die Skelettstäbe ragten eckig hervor und an einzelnen Armspitzen war allmählich Involution nachzuweisen.

Das letzte Entwicklungsstadium, welches erreicht werden konnte, ist in Fig. 5 vorgeführt. Nach dem 20. Juli waren die letzten Stücke abgestorben. Es gingen freilich auch von den Zeugen viele

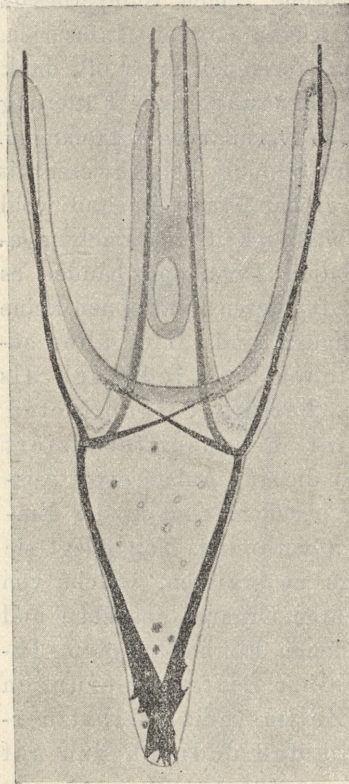


Fig. 5.

Exemplare zugrunde. Es mag nicht unerwähnt bleiben, daß der Tod der Plutei wenigstens zum Teil durch die häufigen Insulte beschleunigt wurde, denen die Objekte bei Herausnahme behufs mikroskopischer Untersuchung ausgesetzt waren, nicht zuletzt aber durch den Versuch, die Tiere mit Karminkörnchen und mit Neutralrot zu füttern.

Um Vergleichsmaterial zu gewinnen, habe ich es nicht unterlassen, Versuche mit künstlicher Exogastrulation anzustellen. Als



Versuchsobjekte dienten normal befruchtete Eier von *Par. lividus* und *Echinus esculentus*, sowie folgende Kombinationen:

$$\frac{Echinus\ esculentus\ \text{♂}}{Paracentrotus\ lividus\ \text{♀}},$$

$$\frac{Echinus\ esculentus\ \text{♂}}{Parechinus\ miliaris\ \text{♀}} \quad \text{und}$$

$$\frac{Paracentrotus\ lividus\ \text{♂}}{Echinus\ esculentus\ \text{♀}}.$$

Als Reizmittel stand mir Lithiumbromid zur Verfügung, von dem ich nach Herbst's Angaben eine 3.7% Lösung bereitete und 3 ccm auf 97 ccm Seewasser hinzusetzte. Dies geschah entweder unmittelbar nach der Befruchtung <sup>1)</sup> oder erst am 2—8 zelligen Furchungsstadium. Die Larven wurden entweder ständig in der Li Br-Lösung belassen oder nach erfolgter Exogastrulation in reines Wasser übertragen.

Die Versuche ergaben wohl sämtliche teratologische Larvenformen, die von Herbst in mehreren Publikationen eingehend beschrieben und abgebildet wurden. Oft entstand am Ende der ausgestülpten Darmblase eine nachträgliche Darmeinstülpung, die bis in den eigentlichen Larvenkörper hineinragen konnte, doch niemals schlugen die durchaus pathologischen Larven die normale Entwicklungsbahn ein. Der große Unterschied zwischen dieser künstlichen und jener natürlichen Exogastrulation zeigte sich deutlich bereits bei der Enchymbildung, die bei Lithiumeinwirkung fast immer stark hypertrophisch ausfällt. Es mögen hier noch zwei Plutealformen von *Ech. esculentus* aus Lithium vorgeführt werden (Fig. 6 a, b), um zu zeigen, wie tief und durchgreifend das Lithiumsalz auf die Gewebe der Larven einwirkt. In beiden Exemplaren, die

<sup>1)</sup> Bei dieser Gelegenheit will ich eine Erfahrung nicht unerwähnt lassen, die ich mit der Einwirkung von Li Br auf den Verlauf des Befruchtungsprozesses gemacht habe. Die eigentliche Zeit für die Fortpflanzung war bei *Ech. esculentus* schon längst vorüber und die in den Eierstöcken noch vorhandenen Eier wollten sich nicht recht befruchten lassen. Auch dann, wenn es gelang — z. B. am 12. Juli — etwa 98% zu befruchten, ging die Furchung unregelmäßig vor sich, und die meisten Keime starben im Stadium einer Sterroblastula in den Eihüllen ab. Bei Zusatz von Li Br gelang nun die Befruchtung in den meisten Fällen; die Eier wurden sofort sorgfältig ausgewaschen und entwickelten sich zu normalen Plutei.

nach 60 Stunden gezeichnet wurden, macht sich namentlich in der annähernd symmetrischen Ausbildung des Skeletts der Körperbau eines Pluteus erkennbar, doch sind auch hier die Unregelmäßigkeiten und Funktionsstörungen in den Geweben so groß, daß auch

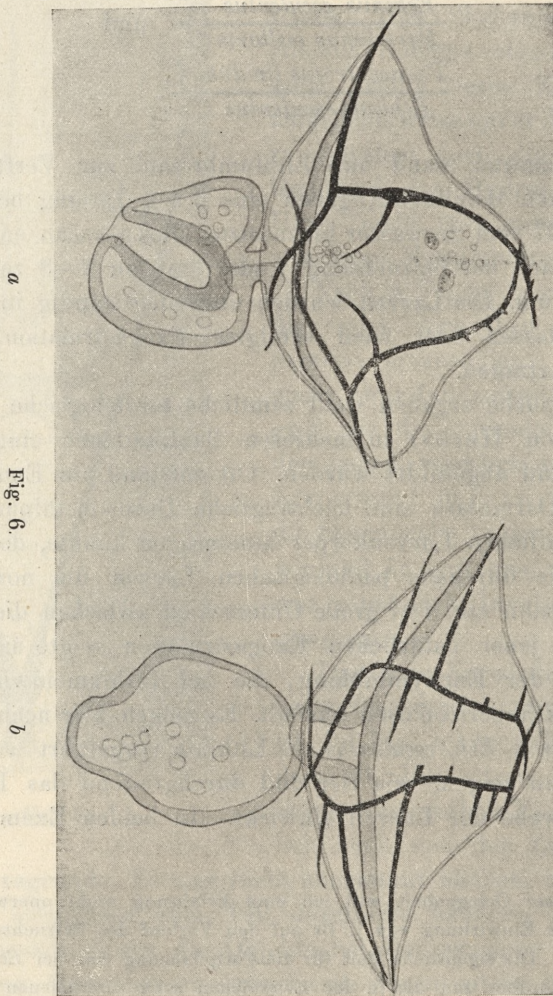


Fig. 6.

diese Stücke als durchaus pathologische Organisationen mit den beschriebenen darmlosen Hybriden gar nicht verglichen werden können.

Auch andere Stoffe und Faktoren, welche die Exogastrulation

künstlich auszulösen vermögen, ergeben keine besseren Resultate, so z. B. Natrium butyricum<sup>1)</sup>, welches eine Darmausstülpung auch dann veranlaßt, wenn die Objekte noch vor der Gastrulation in gewöhnliches Seewasser zurückversetzt werden, oder die Entfernung von Magnesium<sup>2)</sup>, die nachträglich eine Ausstülpung des bereits embolisch angelegten Darmes herbeiführen kann. Der letztere Prozeß wird indessen von Herbst (l. c. p. 465) unrichtig der sonstigen Exogastrulation gleichgestellt, da es sich hier eben um sekundäres Schicksal einer Organanlage handelt, die in normaler Richtung zustande gekommen ist. Da auch Temperaturerhöhung und andere experimentelle Eingriffe von ähnlichen Folgeerscheinungen begleitet werden können, so müssen wir zu der Überzeugung kommen, daß in keinem einzigen Falle der Einfluß der herbeigeführten Veränderung des Mediums spezifisch auf die Beschaffenheit der Darmzellen eingeschränkt bleiben kann. Es werden allgemeine Störungen in der Physiologie des Furchungsmateriales hervorgerufen, deren Begleiterscheinungen sich auch auf den Darm erstrecken, wobei nicht nur die Richtung des Darmrohres verändert wird, sondern auch die Beschaffenheit der Enteroblasten selbst: ist ja bei künstlichen Exogastrulae auch der histologische Charakter des Darmepithels völlig verändert. Es leuchtet folglich ein, daß die Ergebnisse derartiger Versuche keinen analytischen Erklärungswert für normale Zusammenhänge der Keimteile besitzen können, wie wir ihn ohne den bei natürlicher Exogastrulation an gesunden Keimen festgestellten Verhältnissen zugestehen mußten. So ist durchaus willkürlich und unanalytisch der Schluß Herbst's — um nur ein Beispiel anzuführen — daß die Exogastrulation deshalb erfolge, weil durch die Lithiumsalze die richtenden Kräfte, welche bei Einstülpung der durch animales Körperepithel „angelockten“ Darmanlage in Wirksamkeit treten, verlagert werden.

Merkwürdigerweise habe ich um dieselbe Zeit in Roscoff einen anderen Fall natürlicher Exogastrulation studieren können und zwar an künstlich parthenogenetischen, durch Einwirkung von CO<sub>2</sub>

<sup>1)</sup> Curt Herbst, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. III—VI. Teil. Archiv f. Entw.-Mech. Bd. II, 1896.

<sup>2)</sup> C. Herbst, Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. III. Teil. Archiv f. Entw. Mech. Bd. XVII, 1904.

entwickelten Larven von *Asterias glacialis*. Die künstliche Entwicklung wurde am 12. Juli durch den Laboranten für Herrn Prof. Delage eingeleitet. Als ich um Besichtigung des jungen Zuchtmaterials ersucht wurde, fand ich abermals fast die Hälfte der Larven im Scolexstadium. Die Weiterzucht hat jedoch entweder pathologische Organismen ergeben oder aber es entstand, wie bei vielen Lithiumlarven, am Ende der Vorstülpung eine nachträgliche Einsenkung des Endknopfes und der nach und nach invaginierte Darm konnte schließlich eine ganz normale Gestalt und Ausdehnung gewinnen.

Indem wir bezüglich der allgemeinen Schlußfolgerungen über die sogen. Selbstdifferenzierung und abhängige Differenzierung auf die ausführliche Arbeit verweisen, möchten wir noch bemerken, daß die Entstehung ganz „normaler“ Plutei ohne Entoderm, wie sie hier beschrieben wurde, nicht zu selten unter natürlichen oder experimentell veränderten Bedingungen vorkommen dürfte. So habe ich jüngst in einer pharmakologischen Abhandlung<sup>1)</sup> die Notiz gefunden, daß bei Experimenten mit *Par. lividus* in Villefranche-sur-mer unter Einwirkung „von Harnstofflösungen von stärkerer Konzentration des öfteren Exogastrulae“ entwickelt wurden; „Exoplutei nur äußert selten“.

Auf meine briefliche Anfrage hatte der Verfasser die Freundlichkeit, mir näheres mitzuteilen und Skizzen von Exogastrulae zu senden. Es waren 1% Harnstofflösungen. Die Larven zeigten eine fast kugelige Gestalt, mit regelmäßig gestellten Dreistrahlern und einigen Pigmentzellen unter dem Epithel; die Darmausstülpung war lang, regelmäßig und in der Mitte leicht eingeschnürt. Exoplutei hat Herr Fühner „nur in sehr vereinzelt Exemplaren beobachtet“. So viel er sich zu erinnern weiß, war ihre „äußere Form völlig normal bis auf den Prolaps des Darmes“.

Aus dem Laboratoire Lacaze-Duthiers in Roscoff, Bretagnel.

<sup>1)</sup> Hermann Fühner, Pharmakologische Studien an Seeigeleiern. Der Wirkungsgrad der Alkohole. Archiv für exper. Pathologie und Pharmakologie. Bd 52, 1904.

48. M. TAD. GARBOWSKI. *O biegunowości jaja jeżowców. (Über die Polarität des Seeigeleies). (Sur la polarité de l'oeuf des oursins)*. Mémoire présenté par M. K. Kostanecki m. t. à la séance du 10. Juillet 1905. (Planche XVII.)

Selenka, der die Entwicklung des *Paracentrotus lividus* (Lmk)<sup>1)</sup> und *Parechinus microtuberculatus* (Blv.) bereits 1881 nach Skizzen von Hatschek in Triest und nachher in Villefranche-sur-mer bei Nice studiert hatte, hat als erster den Versuch gemacht, die Richtungsachsen der Larve auf früheste Furchungsstadien und auf die Eiachse zurückzuführen. Er konnte sich überzeugen, daß die Längsachse der Gastrula mit der Eiachse meistens zusammenfällt und daß die polare Differenzierung der Furchung von dem Ausstoßungsorte der Polocyten (Richtungskörperchen) abhängig ist (20, p. 41). Er hat auch die für *Parac. lividus* charakteristische ringförmige Pigmentierung beobachtet, die schon am ungefurchten Ei als äquatorialer Gürtel auftritt und sich während der Furchung erhält, wobei sie nicht genau im Äquator des Eies liegt, sondern gegen den Pol mit der Mikromerenrosette verschoben erscheint. Irrtümlicherweise hielt er diesen Pol für den animalen. Da der Pigmentring nur an Eiern der südfranzösischen *Paracentrotus*-rasse auftritt und die zahlreichen entwickelungsmechanischen Experimente mit Seeigeleiern zumeist in anderen Gegenden ausgeführt wurden, so gerieten seine Angaben über die Pigmentierung in Vergessenheit, und in Ermangelung eines anderen sicheren Merkmales konnte man die falsche Orientierung der Furchungspole bis in die letzten Jahre nicht richtigstellen.

Erst 1901 hat Boveri in Villefranche den Pigmentring wiedergefunden und mit Hilfe dieses Anhaltspunktes die Mikromerengruppe als vegetative Anlage des blastulären Mesenchyms erkannt. Es hat sich gezeigt, daß die Mikromeren an dem den Richtungskörperchen entgegengesetzten Eipole abgeschnürt werden, während die für den Anneliden- und Molluskenkeim so charakteristische Kreuzfigur der Mikromeren der ektodermalen, animalen Hälfte angehört.

Die diesbezüglichen Publikationen Boveri's (1, 2) sind in der

<sup>1)</sup> Trotz den grundlegenden systematischen Arbeiten Th: Mortensen's wird von den Autoren die Art *lividus* Lmk. stets als *Strongylocentrotus* angeführt. Tatsächlich aber ist die Brandt'sche Gattung *Strongylocentrotus* in der europäischen Fauna gar nicht vertreten. Für den generisch verschiedenen *lividus* hat Mortensen die Gattung *Paracentrotus* aufgestellt.

embryologischen Literatur rasch und allgemein bekannt geworden. Die Zusammensetzung des *Lividuseies* aus pigmentierten und farblosen Schichten, die sich noch am Blastulastadium nachweisen lassen, bot einen greifbaren Beweis für die Polarität des Seeigeleies welches man namentlich auf Grund von experimentellen Untersuchungen über die Furchung von Fragmenten (Driesch), für eine anaxone, isotrope Zelle zu halten pflegte. Man hat denn auch die am *Lividusei* beobachteten Verhältnisse bald verallgemeinert und auf sämtliche Tiereier bezogen. Nach Boveri (1. p. 150) ist der Verlauf der Furchung durch die senkrecht zur Eiachse geschichteten Zonen des Ooplasmas bedingt, die den larvalen „Primitivorganen“ entsprechen; die vegetative farblose Kappe liefere das primäre Enchym (samt Skleroblasten), die pigmentierte Zone bilde den Darm und seine Derivate, die obere, unpigmentierte Eihälfte liefere den Ektoblast oder die Larvenhaut. In allgemeiner Fassung würde der Satz dahin lauten, daß jedes Primitivorgan der Larve einer besonderen Eischichte entspricht, daß also die Furchung als Mosaikarbeit im alten Sinne dieses Begriffes aufzufassen ist.

Indessen haben meine Furchungsstudien an künstlich parthenogenetischen Asterideneiern (11, 13) zu Ergebnissen geführt, welche im Gegensatze zu den Schlußfolgerungen Boveri's eher die früheren Ansichten Driesch's über den Bau des Seeigeleies bestätigen würden. Die Oocyte von *Asterias* verhält sich wie eine anaxone Zelle und die Polkörperchen etablieren keine Polarität der Oocyte (13, p. 830, Punkt C und D). Nachdem mir meine Untersuchungen über die Entwicklung von diffus gefärbten *Paracentrotuseiern* in Neapel, Sizilien und in der Bretagne diesbezüglich keine Aufklärung geben konnten, ging ich selbst im Frühjahr 1904 nach Villefranche <sup>s/m</sup>, um die polare Eischichtung zu sehen und die in der Furchung von Seeigeln und Asteriden zutagetretenden Gegensätze verstehen zu lernen.

Das reichhaltige Entwicklungsmaterial, welches ich der großen Liebenswürdigkeit des Herrn Michael v. Dawidoff zu verdanken habe, hat es mir ermöglicht, diese Aufgabe von grundlegender Bedeutung in mancher Hinsicht zu lösen. Indem ich die exakten Angaben Boveri's über die Lage des Pigmentringes bestätigen kann, habe ich auf Grund neuer und auf spätere Larvenstadien erweiterter Beobachtungen die Schlußfolgerungen des genannten Forschers teils zu

vervollständigen, teils abzuändern. In weiterer Folge müssen auch die Anschauungen über die Polarität des Metazooneies im allgemeinen mehrfache und prinzipielle Modifikationen erleiden.

### I. Über des Verhältnis des Pigmentringes zu der Eiachse und seine Bedeutung.

Bis auf ein ganz ungefärbtes Stück, besaßen sämtliche von Boveri in Villefranche untersuchten Eier (von etwa 50 ♀♀) einen Pigmentring. Auch ich konnte ihn in den meisten Fällen nachweisen, doch sah ich unter Eiern von ein und demselben ♀ auch solche ohne Ring. Der Ring selbst tritt oft sehr undeutlich hervor; mitunter ist er nur bei stark verdunkeltem Sehfeld und bei schiefer Beleuchtung zu erkennen, besonders in späteren Furchungsstadien. Überhaupt bekam ich niemals eine so intensive Pigmentierung zu sehen wie auf den Figuren Boveri's; der rostrote Ton dürfte bei der lithographischen Reproduktion stark übertrieben worden sein.

Allenfalls muß man den Pigmentring als ein gewichtiges, entwicklungsgeschichtliches Merkmal betrachten. Es empfiehlt sich daher in dieser Beziehung, zwei Rassen von *Par. lividus* zu unterscheiden und zwar die allgemein verbreitete var. *diffusa* und die lokale var. *rufocincta*, ähnlich wie man in bezug auf die Fragmentierung des Chromatins bei *Ascaris* eine var. *univalens* und var. *bivalens* unterscheidet. Unter den Eiern der Rasse *rufocincta* tritt var. *diffusa* in einzelnen Stücken mit gleichmäßig über des ganze Ei verteilten Pigmentkörnchen als Aberration vor. Dem gegenüber habe ich unter Tausenden von *Diffusa*-eiern, die ich bei morphogenetischen Untersuchungen nach und nach durchgemustert habe, kein einziges Exemplar der *rufocincta* gefunden, obschon Eier mit aberranter Lokalisation des Farbstoffes ziemlich häufig sind.

Wie ich aus eingehenden Furchungsprotokollen aus Roscoff, Neapel und Villefranche ersehe, stimmt die Embryonalentwicklung beider Rassen im Rhythmus und Tempo genau überein. Offenbar ist hierbei auch der Einfluß der Salinität des Wassers, die in der Bretagne merklich verschieden ist als im Mittelmeere, von untergeordneter Bedeutung.

Um den Reifungspol des Eies festzustellen, habe ich mich, nach der bequemen Methode Boveri's, einer Tuschelösung bedient, die den Polocytenkanal in der Gallerthülle sofort kenntlich macht. Nun

konnte ich mich überzeugen, daß die erste Furchungsebene in der Regel den animalen Eipol durchschneidet, wenn auch nicht immer, wie dies übrigens schon Selenka (19) für *Psammechinus*<sup>1)</sup> *variegatus* (Agass.) angegeben hat. Die Eiachse mit dem Abschnürungsorte der Polocyten fällt entweder in die Teilungsebene oder bildet mit ihr einen scharfen Winkel, wie dies für *Amphioxus* und viele Gasteropoden bekannt ist.

In allen beobachteten Fällen enthielt die erste Furchungsebene die Polarachse des Keimes. Die absolute Polarität des werdenden Organismus ist demnach von Anfang an von der Richtung der Reifungsteilungen abhängig. Die Verhältnisse liegen also anders als bei den Asteriden. Die bekannt gewordenen Ausnahmefälle, wo sich das Ei zuerst in eine animale und in eine vegetative Zelle aufteilte, sind als eine durch starke Pressung der Eizelle verursachte Anomalie aufzufassen, welche sekundäre Regulationsprozesse erforderlich macht.

Das meiste Interesse bot für mich naturgemäß das Verhalten des Pigmentringes und seine Beziehung zu der Furchung.

Sofern er in der Regel senkrecht zu der Eiachse verläuft, diese aber mit der Hauptachse des Keimes zusammenfällt, sieht man sich zu dem Schlusse gedrängt, daß der Pigmentring eine polare Schichtung des Eiinhaltes unmittelbar (wenn nicht kausal) zum Ausdruck bringt und inäquale Furchung, namentlich die Mikromerenbildung am vegetativen Pol veranlaßt. In diesem Sinne wurden tatsächlich die Befunde Boveri's verallgemeinert.

Seit Selenka (20) wissen wir, daß sich sämtliche Quadranten des 4-zelligen Stadiums gleichmäßig furchen und daß sich das 16-zellige Stadium aus einem 8-zelligen oberen, einem 4-zelligen unteren Blastomerenkranze und aus einer vegetativen 4-zelligen Mikromerenrosette zusammensetzt<sup>2)</sup>. Da der Pigmentring in den

1) *Toxopneustes variegatus* auctorum.

2) Für einen beliebigen Quadranten N läßt sich nach der Wilson-Conklin'schen Zellennomenklatur, die ich auch für Echinodermen in Anwendung gebracht habe (12), die Zusammensetzung des Keimes durch folgende Formeln ausdrücken:

für das 16-zellige Stadium (4 Zellen im Quadrant): 
$$\frac{N^{1.1} - N^{1.2}}{\frac{N^{2.1}}{n^{2.2}}};$$



unteren Kranz zu liegen kommt und bloß sein oberster Saum in die Zellen des animalen Kranzes gelangt, so würden schon an so frühen Furchungsstadien die pigmentierte und die unpigmentierten Zonen des Ooplasmas den drei „Primitivorganen“ der Larve, Darm Haut und Enchym mehr oder weniger genau entsprechen.

Es kommen indessen unter derart typischen Exemplaren vereinzelte aber durchaus nicht pathologische Eier vor, wo sich die Beziehungen der Furchungstektonik zu der Lage des Pigmentringes ganz anders gestalten. Besonders auffallende Abnormitäten wurden isoliert, und in 150 cc-hältigen Gläschen gezüchtet, und die Aufzucht völlig normaler und normal gefärbter Larven aus Keimen mit durchaus abweichender Pigmentierung hat den ebenso unerwarteten wie sicheren Beweis erbracht, daß der Pigmentring unmöglich eine polare Differenzierung des Ooplasmas ausdrücken könne, von welcher die Abschnürung verschieden gearteter Zellkränze abhängen würde; die betreffende Übereinstimmung sei vielmehr rein sekundärer Natur; ähnlich wie die Bilateralität des Keines von der Lage des Pigmentringes gar nicht abhängt, obwohl ihn die erste Furchungsebene in der Regel halbiert.

Von den erwähnten Fällen mögen hier nur drei besonders instructive angeführt werden. Sie waren übrigens gar nicht zahlreich. Ihre Zahl ist jedoch belanglos. Weit häufiger begegnet man Eiern mit kleineren Abweichungen in der Bildung des Pigmentringes. Entweder sind seine Grenzen ganz verschwommen, oder er profiliert sich an einer oder an beiden Seiten unregelmäßig, oder endlich ist der Farbstoff in dem Ringe unregelmäßig verteilt und in einzelne Herde verdichtet.

Den in Fig. 1 vorgeführten Keim habe ich in der Phase der Mikromerenabschnürung aufgefunden und isoliert. Die Figur zeigt

$$\text{für das 32-zellige Stadium: } \frac{\frac{N^{1 \cdot 1 \cdot 1} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 1}}{N^{1 \cdot 1 \cdot 2} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 2}}}{\frac{N^{2 \cdot 1 \cdot 1} \quad N^{2 \cdot 1 \cdot 2}}{n^{2 \cdot 2 \cdot 1}}}$$

$$\frac{N^{1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1} \quad N^{1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2}}{N^{1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1} \quad N^{1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 1} \quad N^{1 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2}} \text{ u. s. f.}$$

$$\frac{N^{2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1} \quad N^{2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2} \quad N^{2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1} \quad N^{2 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 2}}{n^{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 1} \quad n^{2 \cdot 2 \cdot 1 \cdot 2}} \text{ u. s. f.}$$

$$\frac{n^{2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2}}{n^{2 \cdot 2 \cdot 2}}$$

den vegetativen Pol etwas seitwärts verschoben. Es ließ sich nicht mehr entscheiden, welche von den beiden vertikalen Furchungsebenen dieses 8-zelligen Stadiums die erste gewesen. Daß es die äquatoriale gewesen sein könnte, halte ich angesichts der regelmäßig erfolgten Mikromerenbildung für ausgeschlossen. Was hier unsere Aufmerksamkeit in Anspruch nimmt, ist der Umstand, daß die Rosette der Enchymoblasten zum Teil aus pigmentierten, zum Teil aus farblosem Plasma gebildet wird. Der weitere Furchungsverlauf war normal und in sämtlichen Quadranten gleichmäßig. Der Pigmentring umgürtete hier das Ei fast senkrecht, anstatt äquatorial.

In einem zweiten Keim, der in Fig. 3 auf 14-zelligem Stadium dargestellt ist, war der äquatorial orientierte Ring auf die animale Hemisphäre verschoben. Obwohl nun infolgedessen die oberen Blastomeren weit mehr Farbstoff erhalten haben als die unteren, nahm die Furchung dennoch ihren typischen Verlauf. Es ist vor allem zu beachten, daß die Mikromeren nicht größer ausgefallen sind als sonst. Dies beweist, daß die ungleiche Teilung des unteren Quartettes in große Enteroblasten und kleine Enchymoblasten gar nicht durch das quantitative Verhältnis der gefärbten und farblosen Zone in dem Zellplasma verursacht wird. Die nächste Teilung des animalen Kranzes hat ebenfalls keine Störung erlitten; die oberste Zellreihe ( $N^{1-1-1}$  und  $N^{1-2-1}$ ) entspricht in der Größe der unteren ( $N^{1-1-2}$  —  $N^{1-2-2}$ ) und enthält noch etwas Pigment.

Im dritten Falle wurde die Eizelle bereits vor der Furchung beobachtet. Das Pigment färbte die ganze untere Partie des Eies und der regelmäßige Rand der Pigmentcalotte war so deutlich wie bei einem scharf gezeichneten Ringe. Die erste Furche durchzog den gefärbten Pol und enthielt wahrscheinlich die Eiachse. Trotzdem nun die Mikromeren lediglich aus der ungefärbten Zone entstehen sollten, wurden sie auch hier, ungeachtet der starken Pigmentierung, in typischer Weise mit einiger Tendenz zu dextroter Spiralfurchung abgeschnürt (Fig. 5). Auf dem 60-zelligen Stadium (Fig. 6) war bereits eine 12-zellige Platte von Enchymoblasten ausgebildet. Die Konturen des Embryos waren anfänglich etwas unregelmäßig, die Larve hingegen völlig normal.

Mit diesen Befunden stimmen meine früheren Angaben (11) aus Neapel über Eier der var. *diffusa* mit nesterweise geballtem Pigment gut überein. Der Farbstoff blieb nämlich auch in späteren

Entwicklungsstadien auf jene Blastomeren beschränkt, die aus dem Quadranten mit dem Pigmentherde hervorgingen, und die Furchung verlief normal.

Ebenso wie mit der Polarität verhält sich die Sache mit der Bilateralität. Bilateralsymmetrie ist schon in den frühesten Stadien nachzuweisen. Vom 8-zelligen Stadium angefangen behält die Furchung nicht genau den radialen Typus. Die Mikromeren sind oft spiral verschoben, wobei 2 von ihnen inniger zusammenstoßen und eine kleine diagonale Polarfurche erzeugen (zwischen  $a^{2-2}$  und  $c^{2-2}$  auf Fig. 5), während die 2 anderen weiter auseinanderrücken (b und d). Die Folge davon ist, daß die Mikromerenrosette länglich wird, einen kleineren und einen größeren Durchmesser bekommt, was auch auf die Gestalt des angrenzenden Mikromerenkranzes nicht ohne Einfluß bleibt. Die animale Zellplatte wird noch deutlicher in die Länge gezogen und liefert mitunter ein Bild stark ausgeprägter Bilateralsymmetrie (vgl. 12, Fig. 4 a). Furchungsstadien mit gleichen Querachsen sind fast seltener. Ähnliches findet man auch bei anderen Tieren, z. B. bei der Furchung von *Amphioxus*. Bei Schnecken entwickelt sich Bilateralität stets aus spiraler Furchung. Es leuchtet ein, daß bei Tieren wie *Amphioxus*, deren Furchungsbilder in dieser Beziehung recht variabel sind, die Bilateralsymmetrie, ob mehr, ob weniger sichtbar, dem Keime stets im gleichen Maße zukommt. Stets wird schon mit dem 2-zelligen Stadium die Aufteilung des Ooplasmas in die rechte und linke Keimeshälfte durchgeführt. Diese Symmetrie hat aber mit der Lokalisation des Pigments nichts gemeinsam. Namentlich an Exemplaren der var. *diffusa*, an denen Unregelmäßigkeiten in der Pigmentverteilung zu bemerken waren, konnte ich niemals einen Zusammenhang derselben mit der ersten Furchungsebene feststellen.

Die erste Teilungsebene, und mit ihr die Symmetrieebene, scheint nach Beobachtungen, die sich hauptsächlich auf var. *diffusa* beziehen, nicht ausschließlich von der Penetrationsstelle des Samenkörperchens abzuhängen, wie dies aus den Befunden Wilson's und Mathew's (21) an amerikanischen Seeigeln und denen Roux's und Brachet's am Froschei zu schließen wäre. Roux hat kürzlich im Sinne seines „Selbstordnungsprinzips“ die Behauptung aufgestellt, daß in sämtlichen Tiereiern das Selbstordnungsvermögen

den vegetativen Pol etwas seitwärts verschoben. Es ließ sich nicht mehr entscheiden, welche von den beiden vertikalen Furchungsebenen dieses 8-zelligen Stadiums die erste gewesen. Daß es die äquatoriale gewesen sein könnte, halte ich angesichts der regelmäßig erfolgten Mikromerenbildung für ausgeschlossen. Was hier unsere Aufmerksamkeit in Anspruch nimmt, ist der Umstand, daß die Rosette der Enchymoblasten zum Teil aus pigmentierten, zum Teil aus farblosem Plasma gebildet wird. Der weitere Furchungsverlauf war normal und in sämtlichen Quadranten gleichmäßig. Der Pigmentring umgürtete hier das Ei fast senkrecht, anstatt äquatorial.

In einem zweiten Keim, der in Fig. 3 auf 14-zelligem Stadium dargestellt ist, war der äquatorial orientierte Ring auf die animale Hemisphäre verschoben. Obwohl nun infolgedessen die oberen Blastomeren weit mehr Farbstoff erhalten haben als die unteren, nahm die Furchung dennoch ihren typischen Verlauf. Es ist vor allem zu beachten, daß die Mikromeren nicht größer ausgefallen sind als sonst. Dies beweist, daß die ungleiche Teilung des unteren Quartettes in große Enteroblasten und kleine Enchymoblasten gar nicht durch das quantitative Verhältnis der gefärbten und farblosen Zone in dem Zellplasma verursacht wird. Die nächste Teilung des animalen Kranzes hat ebenfalls keine Störung erlitten; die oberste Zellreihe ( $N^{1.1.1}$  und  $N^{1.2.1}$ ) entspricht in der Größe der unteren ( $N^{1.1.2}$  —  $N^{1.2.2}$ ) und enthält noch etwas Pigment.

Im dritten Falle wurde die Eizelle bereits vor der Furchung beobachtet. Das Pigment färbte die ganze untere Partie des Eies und der regelmäßige Rand der Pigmentcalotte war so deutlich wie bei einem scharf gezeichneten Ringe. Die erste Furche durchzog den gefärbten Pol und enthielt wahrscheinlich die Eiachse. Trotzdem nun die Mikromeren lediglich aus der ungefärbten Zone entstehen sollten, wurden sie auch hier, ungeachtet der starken Pigmentierung, in typischer Weise mit einiger Tendenz zu dextroter Spiralfurchung abgeschnürt (Fig. 5). Auf dem 60-zelligen Stadium (Fig. 6) war bereits eine 12-zellige Platte von Enchymoblasten ausgebildet. Die Konturen des Embryos waren anfänglich etwas unregelmäßig, die Larve hingegen völlig normal.

Mit diesen Befunden stimmen meine früheren Angaben (11) aus Neapel über Eier der var. *diffusa* mit nesterweise geballtem Pigment gut überein. Der Farbstoff blieb nämlich auch in späteren

Entwicklungsstadien auf jene Blastomeren beschränkt, die aus dem Quadranten mit dem Pigmentherde hervorgingen, und die Furchung verlief normal.

Ebenso wie mit der Polarität verhält sich die Sache mit der Bilateralität. Bilateralsymmetrie ist schon in den frühesten Stadien nachzuweisen. Vom 8-zelligen Stadium angefangen behält die Furchung nicht genau den radialen Typus. Die Mikromeren sind oft spiral verschoben, wobei 2 von ihnen inniger zusammenstoßen und eine kleine diagonale Polarfurche erzeugen (zwischen  $a^{2-2}$  und  $c^{2-2}$  auf Fig. 5), während die 2 anderen weiter auseinanderrücken (b und d). Die Folge davon ist, daß die Mikromerenrosette länglich wird, einen kleineren und einen größeren Durchmesser bekommt, was auch auf die Gestalt des angrenzenden Mikromerenkranzes nicht ohne Einfluß bleibt. Die animale Zellplatte wird noch deutlicher in die Länge gezogen und liefert mitunter ein Bild stark ausgeprägter Bilateralsymmetrie (vgl. 12, Fig. 4 a). Furchungsstadien mit gleichen Querachsen sind fast seltener. Ähnliches findet man auch bei anderen Tieren, z. B. bei der Furchung von *Amphioxus*. Bei Schnecken entwickelt sich Bilateralität stets aus spiraler Furchung. Es leuchtet ein, daß bei Tieren wie *Amphioxus*, deren Furchungsbilder in dieser Beziehung recht variabel sind, die Bilateralsymmetrie, ob mehr, ob weniger sichtbar, dem Keime stets im gleichen Maße zukommt. Stets wird schon mit dem 2-zelligen Stadium die Aufteilung des Ooplasmas in die rechte und linke Keimeshälfte durchgeführt. Diese Symmetrie hat aber mit der Lokalisation des Pigments nichts gemeinsam. Namentlich an Exemplaren der var. *diffusa*, an denen Unregelmäßigkeiten in der Pigmentverteilung zu bemerken waren, konnte ich niemals einen Zusammenhang derselben mit der ersten Furchungsebene feststellen.

Die erste Teilungsebene, und mit ihr die Symmetrieebene, scheint nach Beobachtungen, die sich hauptsächlich auf var. *diffusa* beziehen, nicht ausschließlich von der Penetrationsstelle des Samenkörperchens abzuhängen, wie dies aus den Befunden Wilson's und Mathew's (21) an amerikanischen Seeigeln und denen Roux's und Brachet's am Froschei zu schließen wäre. Roux hat kürzlich im Sinne seines „Selbstordnungsprinzips“ die Behauptung aufgestellt, daß in sämtlichen Tiereiern das Selbstordnungsvermögen

des Ooplasmas am Spermapfad aktiviert wird (17, p. 174). Dieses „Gesetz“ mag im allgemeinen seine Geltung haben. Wir glauben nämlich, daß das Zusammenfallen der Teilungsebene mit dem Meridiane der Penetration einfach als eine notwendige Folge der Teilungsmechanik aufzufassen ist. Die Centrosomen können sich nur in der Berührungsebene der Vorkerne, nicht aber etwa an den abgekehrten Seiten der Vorkerne aufstellen, zumal es sich hier um Derivate des Spermiozentrums handelt. In weiterer Folge steht die erste Teilungsspindel senkrecht zu der Penetrationsebene und entscheidet über die Teilungsrichtung des zur Hemitomie prädisponierten Ooplasmas.

Deshalb ist es auch unrichtig oder mindestens überflüssig, die Fixierung der ersten Teilungsebene in die Kategorie der „epigenetic phenomena“ zu stellen, als im Vergleiche zu der Polarität des Keimes für sekundär zu halten. Das als mechanische Notwendigkeit stabilisierte Verhältnis der Symmetrieebene zu der Penetrations- und Kopulationsebene kann nur in solchen Fällen nicht eingehalten werden, wo ihm die Qualität des Ooplasmas, Lokalisation gewisser apoplasmatischer Substanzen, auch individuelle, physiologische Zustände des Eies hindernd entgegenwirken. So werden uns z. B. jene Fälle, wo die erste Teilung das Ei in zwei ungleich große Zellen zerlegt, ohne weiteres verständlich.

Auch bei der Entwicklung des *Paracentrotuseies* gibt es Faktoren, welche die Norm des ursprünglichen Mechanismus verändern. Ich habe ziemlich viele Eier gesehen, deren Teilung unabhängig von dem Befruchtungsmeridian erfolgte. In Eiern, die nicht kugelförmig sind, findet man oft die Spindel im Sinne der Hertwigschen Regel in den breitesten Querdurchmesser eingestellt. Bei der Einstellung derselben dürften verschiedene Einflüsse sekundärer, variabler Verhältnisse mitwirken. Jedenfalls müssen wir die vom Spermapfad abweichende Teilungsrichtung als sekundär betrachten, weil sich die Spindelachse des Befruchtungskernes erst umdrehen muß, damit eine derartige Teilung zustande kommen könnte. Bei *P. lividus* reicht offenbar selbst ein geringer Überschuß eines Nebenfaktors aus, um die primäre Teilungsmechanik abzuändern. Auch von den Froscheiern wissen wir, daß z. B. bei Zwangslage ein anderer Faktor als die Schwerkraft, überhandnehmen und über die Richtung der ersten Teilungsebene entscheiden kann. Beim Froschei sind indes die Verhältnisse insofern kom-

pliziert, als dann die mit der Symmetrieebene des Ooplasmas zusammenfallende definitive Symmetrie des Keimes, der ersten Furchungsebene nicht mehr entspricht. Auch der durch das eindringende Spermium auf das Ooplasma ausgeübte Reiz sollte stets mitberücksichtigt werden. Am Ort des Reizes wird das Ooplasma zur Durchschnürung prädisponiert, wie etwa eine Kugel sich in der Richtung des eingetriebenen Keiles spalten würde.

Angesichts der besprochenen Verhältnisse dürfen wir nun, auch ohne über direkte Beweise zu verfügen, behaupten, daß ähnlich wie bei der Festsetzung definitiver Polarität und Bilateralsymmetrie, auch bei der Fixierung des Vorne und des Hinten des Keimes, die Verteilung des Pigments ohne Einfluß bleibt.<sup>1)</sup>

Aus all dem erhellt aber, daß die Bedeutung, die man dem Farbstoffgürtel bei *var. rufocincta* zuzuschreiben pflegt, in Wirklichkeit nicht bestehen kann. Der Pigmentgürtel ist nicht der Ausdruck besonderer morphogenetischer Schichten, welche den Verlauf der Furchung und die larvale Organbildung bedingen und leiten würden.

Es drängt sich nun die Frage auf, welche Rolle das Pigment in Furchungsprozessen und bei der Larvenentwicklung spielt.

In erster Linie müssen wir entscheiden, ob nicht das Pigment selbst zu jenen apoplasmatischen Stoffen gehört, deren Anwesenheit das Schicksal der von ihnen eingenommenen Blastomeren beeinflusst.

Eine solche Vermutung wäre gerechtfertigt, wenn der Farbstoff in einer organogenetisch abgrenzbaren Zone der Blastula konstant auftreten würde, namentlich in Enteroblasten. Die in den Fig. 1, 3 und 5 dargestellten Fälle belehrten uns, daß es nicht der Fall ist. Boveri selbst konnte sich davon ebenfalls überzeugen. Unter Tausenden von Eiern mit Ring hat er, wie bereits erwähnt wurde, ein völlig pigmentloses Exemplar angetroffen; und dieses ungefärbte Ei hat sich genau so wie meine aberranten Stücke normal abgefurcht. Außerdem hat Boveri die Entwicklung von Eifragmenten studiert und wahrscheinlich aus einem animalen Frag-

<sup>1)</sup> Nach Roux entscheidet beim Froschei ein geringer Überschuß des einen oder des anderen Faktors darüber, wo der vordere und wo der hintere Körperteil des Keimes angelegt werden soll.

ment mit schief angeschnittenem Pigmentringe eine normal gebildete Gastrula erhalten, bei welcher nur eine Seite des Darmes und ein Teil des anstoßenden Hautepithels pigmentiert waren (1, p. 159. § 10). Die Anwesenheit oder der Mangel des Pigmentes ist also für die Entstehung der „Primärorgane“ aus den Blastulazellen ohne Belang. Bei der einfachen von Boveri angewendeten Methode war es ihm nicht möglich zu entscheiden, aus was für Bruchstücken und mit welcher Pigmentierung sich die Teillarven entwickelten. In Ermangelung positiver Gegenbeweise war er daher bemüht, von seinen Voraussetzungen wenigstens die eine aufrechtzuerhalten, daß die Enchymblastenplatte lediglich aus dem pigmentlosen Bereiche ihren Ursprung nehmen kann; es kämen unter abgefurchten Fragmenten Stücke vor, die keine Mikromeren besitzen, und zwar deshalb nicht, weil sie den dazu nötigen Bereich nicht enthielten. Nun habe ich selbst bei *Paracentrotus* kein einziges mikromerenloses Furchungsbild gesehen, wie solche bei *Asterias* so häufig zu finden sind; doch kann ich auf zwei Tatsachen hinweisen, die die Ansicht Boveri's widerlegen. Erstens ist es der Fall auf Fig. 5 und 6, wo das Mikromerenplasma reichlich pigmentiert war. Zweitens, habe ich direkt unter dem Mikroskope einige Eier und einige vorblastuläre Keime äquatorial durchgeschnitten und feststellen können, daß sich die animalen Fragmente, die noch Partien des Pigmentgürtels enthielten, zu regelmäßigen Blastulae entwickelt haben, und daß die Enchymbildung normal vor sich gegangen ist, obgleich der Boden des Keimes nach Schluß der Wundränder Pigment mitführen mußte. Es wollte mir nicht glücken, die Eier so zu durchschneiden, daß in die animale Hälfte mit Sicherheit kein Pigment übergegangen wäre. Driesch gibt nun an, derartige Fragmente aber keine Gastrulae aus denselben erhalten zu haben. Trotzdem glaube ich nicht, daß dieses negative Ergebnis meine Folgerungen entkräften könnte. Der Grund lag wahrscheinlich in einer pathologischen Störung des Plasmazustandes oder eines der Faktoren, welche die Invagination bedingen.

Nachdem die Anwesenheit oder der Mangel von Pigment für die prospektive Bedeutung der Blastomeren ohne Belang ist, kann das Pigment selbst keinen morphogenetischen Stoff darstellen, von welchem nach Fischel die Dynamik der Furchung abhängen würde. Anhangsweise sei bemerkt, daß bei Vitalfärbung mit Neu-



tralrot der Pigmentring die Farbe nicht intensiver aufnimmt als die sonstigen Teile des Eies.

Meine Beobachtungen haben mich überzeugt, daß der Farbstoff zu Produkten gewisser physiologischer Prozesse in den Zellen gehört, daß er gebildet und verbraucht, beziehungsweise ausgeschieden wird, und daß ihn gewisse Zellen im Laufe der Entwicklung von neuem entstehen lassen, ähnlich wie er in den farblosen oder nur schwach gefärbten Ovocyten von neuem entsteht.

Zu diesem Zwecke habe ich die weitere Entwicklung der Keime und Larven genau verfolgt.<sup>1)</sup> Das Furchungstempo gesunder Eier bleibt das gleiche, mögen die Eier aus blassen oder dunkel korallenroten Gonaden herkommen, mag der Pigmentring deutlich und normal, oder verwaschen und verschwommen sein. Meistens verließen die Larven nach 12 Stunden die Eihülle; nach weiteren 12 Stunden zeigten sich die ersten Kalkablagerungen als kleinste Dreistrahler, die bereits nach 30 Minuten ihre Größe mehr als verdoppelten.

Boveri's Angaben über die Darmbildung sind schon von anderer Seite berichtigt worden. Die Einstülpung erstreckt sich bei weitem nicht auf die ganze Pigmentzone bis zum oberen Rande des Ringes. Sonst müßte sich ja die größere Hälfte der Blastula einstülpen, die animale Kappe müßte sich durch Zellvermehrung ungemein erweitern und die Gastrula müßte somit bedeutend größer werden als die Blastula. In Wirklichkeit ist das Umgekehrte der Fall. Die größere obere Zone des Ringes liegt nicht im Entoderm, sondern im ektodermalen Bereiche der Blastula.

Ein anderer theoretisch wichtiger Irrtum betrifft die Entwicklung des Enchyms. Nach Boveri wird der Zellverband der Enchymplatte gelockert und sämtliche Zellen derselben wandern in das Blastocoel als Enchym ein. Infolgedessen würde nachher der vegetative Pol von zusammengedrängten Zellen des unteren Pigmentgür-

<sup>1)</sup> Nicht immer wollte mir in Villefranche  $\frac{1}{m}$  die Weiterzucht gelingen. Namentlich mit der Zunahme der Wärme haben sich die Verhältnisse verschlimmert. Beispielsweise in der Zucht vom 7. Mai furchten sich etwa 60% Eier unregelmäßig und starben ab. Am 9. Mai früh gelang die Befruchtung anscheinend vorzüglich (100%); die Furchung nahm jedoch sehr bald einen abnormen Verlauf und bis Abend war das ganze Material abgestorben.

telrandes; eingenommen werden. Dem ist nicht so. In der Mikromerenplatte fehlt es nicht an Mitosen. Ihre stark vermehrten Zellen drücken sich und verdrängen gegenseitig aus dem epithelialen Verbände, so daß eine gewisse Zahl davon, welche für eine jede Seeigelart annähernd normiert ist, in den Gallertkern als „primäres Mesenchym“ gelangt. Das blastuläre Enchym erschöpft die Zellenzahl der Mikromerenplatte keineswegs. Die vegetative, verdickte und zusammengedrückte Platte besteht weiter und wird von den embolierenden Epithelien gehoben, beziehungsweise sinkt sie ein, nunmehr als Abschlußplatte des Darmrohres. Nachdem sich der Darm hinlänglich ausgebildet und der gegenüberliegenden Ektodermwand genähert hat, geht das Auswandern der Enchymzellen aufs neue vor sich. Da es nun schwer ist, in der den Darm abschließenden traubenartigen Zellgruppe Mitosen zu finden, glaube ich, daß der Rest der ursprünglichen Enchymplatte als gastrales Enchym wirklich restlos auswandert. Daraus folgt, daß zwischen dem blastulären und dem gastralen Enchym tatsächlich kein genetischer Unterschied besteht: sie gehören nicht zwei verschiedenen „Keimblättern“, das erstere dem Ektoderm, das zweite dem Entoderm an, sondern sie nehmen aus einer einheitlichen Blastomeregruppe ihren Ursprung. Gleichzeitig lernen wir den Unterschied in der Enchymzellenzahl bei einzelnen Seeigelarten verstehen. Er hängt davon ab, wie viele Zellen vor der Invagination und wie viele nach der Darmbildung in den Leibesraum auswandern. Die Zellenzahl des blastulären Enchyms hängt von dem Zeitpunkte ab, zu welchem die Gastrulation stattfindet. Der Gastrulationsvorgang verursacht aus Gründen, die sich nicht näher bestimmen lassen, einen Stillstand in der weiteren Bildung amöboider Zellen. Wir vermuten erstens, daß die Enchymblastenzahl bei den meisten Seeigelarten die nämliche sein dürfte, zweitens, daß bei den meisten die Gastrulation erst dann einzusetzen pflegt, wenn der größere Teil der Zellen bereits ausgewandert ist; bei den meisten Arten dürfte das blastuläre Enchym etwas reichlicher als das gastrale angelegt werden. Da die Umstände, die die Gastrulation auslösen, individuellen Schwankungen unterworfen sein müssen, so müssen auch in der Zahl des primären Enchyms bei Larven von denselben Eltern geringe Differenzen

tatsächlich bestehen und nicht lediglich auf Ungenauigkeiten im Zählen zurückzuführen sein <sup>1)</sup>.

Des weiteren müssen wir gegen die unserer Meinung nach unbegründete Auffassung des Enchymmaterials als eines Elementarorgans mit fest normiertem Entwicklungstermin Stellung nehmen (Driesch, 5). Es widerspricht einer derartigen Auffassung die Mannigfaltigkeit der physiologischen und organogenetischen Funktionen der Enchymzellen. Es handelt sich hier nicht, wie bei dem Darne, um Schaffung eines individualisierten Organs, sondern um Einführung in das Blastocoel von Zellmaterialien, die zur Anlage des Skeletts, des Konnektivgewebes, der Muskeln, der Exkretionsorgane u. s. w. nötig sind.

Die Zahl der blastulären Enchymzellen hat Boveri durchschnittlich mit 56 angegeben; wir können diese Durchschnittszahl gelten lassen. Das gastrale Enchym schätzt Schmidt (18) auf 32. Bei der Zählung ist es oft nicht leicht zu entscheiden, ob eine Wanderzelle der ersten oder der zweiten Partie des Enchyms angehört. Aus unmittelbarer Zählung bei jüngeren Stadien, sowie mittelbar aus der definitiven Pigmentierung der Plutei ergibt sich für gastrales Enchym die Zahl 45—50. Der Hauptunterschied zwischen dem „primären“ und dem „sekundären“ Enchym besteht nach Boveri darin, daß das erstere farblos ist, das zweite pigmentiert. Sowohl bei var. *ruffocincta* als bei var. *diffusa* ist aber dieses Merkmal weder konstant noch absolut. Mehrmals, besonders in Roscoff, sah ich be-

<sup>1)</sup> Diese, wie wir zeigten, so einfachen und durchsichtigen Verhältnisse der Enchymblasten und Enteroblasten bei Seeigeln bieten uns nützliche Anhaltspunkte zur phylogenetischen Beurteilung betreffender Anlagen bei der Mosaikfurchung der Anneliden- und Molluskeneier, wo die Deszendenten der Urmesodermzellen der Hauptsache nach das Enchym und seine Derivate zu liefern haben, zum Teil aber sich am Ausbau der Darmwände beteiligen. Die auffälligen Unterschiede in der Zahl der letzteren, „entomesodermalen“ Elemente bei verschiedenen Formen haben einzelne Forscher zur Aufstellung einer phylogenetischen Entwicklungsreihe veranlaßt, von Polycladen bis zu Mollusken (Wilson). Nun dürften hier unabhängig von phylogenetischen Zusammenhängen höchst wahrscheinlich epigenetische Momente in Betracht kommen. Geringe (physiologische) Unterschiede im Verlaufe morphogenetischer Prozesse müssen, wie bei den Seeigeln, so auch hier zu quantitativen Unterschieden in der Verteilung des Furchungsmaterials führen. Auf diese Weise können unterschiedliche Entwicklungsnormen entstehen, die miteinander in der Wirklichkeit in vielerlei Richtung verkettet sind, während sie bei Bevorzugung eines einzigen Standpunktes leicht zu Trugschlüssen über einheitliche historische Verkettung Anlaß geben können.

reits in der Blastula schöne Chromatophoren. Andererseits sind die aus dem Darne auswandernden Amöbocyten oft sehr undeutlich oder gar nicht gefärbt (vgl. Boveri 2, Fig. 39 und 40). Dasselbe gilt von Neapler Larven. Die im Enchym auftretende Pigmentierung entspricht nämlich nicht der Furchung des korrespondierenden Bereiches des Ooplasmas.

Im Laufe der Entwicklung verändert sich die Färbung quantitativ und qualitativ. Erstens ist der frisch entstandene Darm zart gefärbt, stets zarter als der Pigmentring des Eies, obschon man erwarten würde, daß seine Färbung infolge der Einstülpung der Gürtelzone in Form eines engen Rohres intensiver sein wird. Zweitens ist der den Urmund umgebende Ektodermteil, wie es auch aus den Figuren Boveri's zu ersehen ist, farblos, obgleich er aus der oberen Gürtelzone hervorgeht. Drittens, beim Vergleich der stark rötlichen Prismalarven mit noch nicht ausgeschlüpften, blassen Blastulastadien, springt uns schon bei Lupenbesichtigung ein so großer Unterschied in die Augen, daß vom unmittelbaren Übergehen der Pigmentkörnchen aus dem Ei in die Larvenstadien keine Rede sein kann. Es gibt ferner unter den prismatischen Larven weitgehende Unterschiede in der Intensität der Färbung. Bei *diffusa*-Larven entsteht das Pigment mitunter recht spät und die Mehrzahl der Stücke verbleibt lange Zeit fast farblos. Endlich sind die ausgebildeten Plutei abermals viel intensiver gefärbt als die Prismalarven. Zahlreiche verästelte Amöbocyten füllen sich mit stark fuchsrotem Pigment, so daß die Plutei bei schwacher Vergrößerung orangerot erscheinen, trotzdem sie viel größer sind als die prismatischen Stadien<sup>1)</sup>. Aber auch die im Laufe der Entwicklung auftretende, vorübergehende Trübung der Enchymplatte stimmt mit dem Verhalten der Pigmentierung gut überein.

Ausgebildete Chromatophoren sind nicht gleichmäßig gefärbt. Die einen enthalten nur wenige Pigmentkörperchen, die anderen sind mit denselben bis zur Undurchsichtigkeit beladen (Fig. 9, 10).

<sup>1)</sup> Nach Abschluß der vorliegenden Abhandlung finde ich in Driesch's „Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese“ (Arch. für Entw.-Mech., Bd. IV, 1896) auf S. 103 folgende Bemerkung über die Seeigellarven: „Sehr oft entstehen gerade stark gefärbte Larven aus ungefärbten Eiern und glashelle aus undurchsichtigen“. Diese Beobachtung, die anlässlich ganz andere Ziele verfolgender Untersuchungen gemacht wurde, bestätigt in vollem Umfange die unsrigen.

Die Quantität und Qualität der Pigmentgranula steht in keiner Beziehung zur Größe der Chromatophoren.

Die Chromatophoren der Seeigellarven haben bis jetzt, der Zahl, der Größe und der Verteilung nach, nur wenig Beachtung gefunden. So weiß Mørtensen (16), nach Quellenangaben, über die Färbung der *Paracentrotus*-Larve nichts weiter zu sagen, als daß sie zerstreute, rote Pigmentflecke besitzt. Die farbige Abbildung bei Fischel (8) ist schematisch und unverwendbar. Zwei junge Plutei aus Triest bei Herbst (14, Fig. 3, 4) besitzen beide merkwürdigerweise je 15 Chromatophoren und dürften ebenfalls schematisiert sein, da man sonst kaum annehmen kann, daß die Triester Plutei dreimal weniger Pigment führen sollten, als es sonst der Fall ist. Boveri (3) war einer der ersten, die ihre Aufmerksamkeit auf die Chromatophoren, deren Intensität und den Farbenton gelenkt haben; er fand, daß Plutei, die von demselben ♀ abstammen, ungefähr die gleiche Chromatophorenzahl besitzen.

Die Pigmentierung jener Plutei, die sich aus Eiern mit abnormer Lokalisation des Pigmentes entwickelt haben, war naturgemäß von entscheidender Bedeutung. Behufs genauer Untersuchung wurden die betreffenden Exemplare am fünften Tage nach der Befruchtung durch Formolzusatz abgetötet und mit gleichalterigen Stücken normaler Abstammung verglichen. Ein Blick auf die beigegebenen Skizzen (Fig. 2, 4 und 7) lehrt, daß die Pigmentierung der Larve die Färbungsabnormitäten des Eies und Keimes gar nicht erkennen läßt. Die Zahl der Pigmentzellen betrug 47, 46 und 51, gegen 49 bei dem zufällig zur Abbildung gewählten Pluteus aus normalem Ringei (Fig. 8). Die Zahlunterschiede sind demnach gering, vielleicht zum Teil durch die häufige Unmöglichkeit verschuldet, die verästelten Chromatophoren von einander gehörig zu sondern, zumal gegen die Spitze der Armfortsätze. Überall finden wir die Chromatophoren am Ende der Arme und am Körperscheitel verdichtet. Eine Anzahl befindet sich an den Wänden des Darmes.

Auf Grund genauer Vergleichung gewann ich die Überzeugung, daß bei sämtlichen normal entwickelten Larven die Zahl der pigmentabscheidenden Enchymzellen, trotz allen individuellen Schwankungen im Gesamteffekte sowie den Einzelheiten der Färbung, spezifisch normiert ist. Auch die Verteilung der Chromatophoren ist spezifisch normiert. Es sprechen dafür auch die bekannten Experimente Driesch's mit Verlagerung

von Enchymzellen durch Schütteln, wobei es sich zeigte, daß die derangierten Zellen nachträglich ihre ontogenetische Normalstellung gewinnen, so daß z. B. die Skelettbildung durch die vorübergehende Verlagerung keine Störung erleidet (4, p. 372). Driesch erklärt das Phänomen durch Chemotaxis. Unsere weiter folgenden Betrachtungen machen wohl die Einführung der Taxis als erklärenden Hilfsbegriffes überflüssig.

Ein Teil vornehmlich gastraler Enchymzellen scheidet — als Produkt des Stoffumsatzes — Pigmentgranula ab. Es ist eine Eigenheit ihrer Physiologie. Teilweise ist es das frühere, aufgelöste Pigment, teilweise ein neu gebildetes. Der verschiedene Habitus der Färbung der einzelnen Exemplare kommt auf dreierlei Weise zustande. Erstens produzieren nicht immer alle diesbezüglichen Zellen, den Farbstoff, auch wenn sie in Normalzahl vorhanden sind, zweitens, nicht alle Zellen produzieren ihn mit der gleichen Energie; oft sind nur einige wenige Körnchen in einem großen Chromatophor zu finden. Drittens wechselt die Intensität und die Nüance der Farbe selbst. Es wird von den inneren physiologischen Verhältnissen im Keime und in der Larve abhängen, wie sich der Gesamteffekt der Pigmentierung gestaltet. Genetisch ist hierzu das Enchym stets gleichmäßig disponiert.

Demgemäß ist auch das Verhalten des Enchyms Vitalfarbstoffen gegenüber recht verschieden. Das aufgenommene Neutralrot erscheint nach einiger Zeit in Gestalt von dunkel purpurroten Körnern in gewissen Enchymzellen. Sowohl die Zahl der betreffenden Zellen als die Körnchenmenge in den einzelnen Zellen ist aber recht weiten Schwankungen unterworfen.

Noch andere Erscheinungen sprechen für die Richtigkeit unserer Behauptung von der Neubildung des Pigmentes: der Einfluß des Spermiums auf die Färbung der Larve. Ein solcher Einfluß wäre unmöglich, wäre das Larvenpigment mit dem Eipigment identisch. Larven von *Paralividus* ♀ × *Spatangus purpureus* Müll. ♂ in Villefranche waren, dem tief blutroten Pigment der *Spatangus*gonaden entsprechend, weit intensiver gefärbt als normale. Bei Larven von *P. lividus* ♀ × *Sphaerechinus granularis* (Lmk.) ♂ war der Farbstoff englischrot mit Beimischung von gebranntem Karmin und in vielen Exemplaren recht schwach entwickelt. Bei *P. lividus* ♀ × *Parechinus microtuberculatus* (Blainv.) ♂ entsprach die Farbe einem Gemische von En-

glischrot und Venetianischrot<sup>1)</sup>. Hiermit harmonieren die Ergebnisse Boveri's (3, p. 349), welcher bei Kreuzung von Seeigelarten ebenfalls den Einfluß des ♂ auf die Farbstoffmenge und den Farbenton konstatieren konnte; das ♂ soll außerdem die Verteilung des Chromatophoren beeinflussen, was wir uns durch geringe Änderungen in der physiologischen Veranlagung des Enchyms erklären. Von 2 *Lividus*larven (von einem ♀ und zwei verschiedenen ♂), die Boveri abbildet, besaß die eine 25, die andere 34 Chromatophoren. Alle diese Tatsachen sind um so wichtiger, als sie zu gleicher Zeit auch die Übertragbarkeit von sogen. plasmatischen Charakteren des ♂ beweisen.

Ziehen wir außer diesen Momenten noch den Umstand in Betracht, daß in Massenkulturen von Fragmenten farblose Larven fehlen, so gewinnen wir den Eindruck, daß der so auffallende Unterschied in der Färbung von Eiern der Var. *diffusa* und *rufocincta* durch eine minimale Abweichung in der Physiologie des Ooplasmas veranlaßt sein muß. Daraus folgt, daß auch die Fälle ganz abnormer Pigmentlokalisation im Ei auf ganz minimale Auslösungsursachen zurückzuführen sind, nicht aber als Folge abnormer morphogenetischen Eischichtung, als Ausdruck eines prinzipiellen Fehlers der Eistruktur, der eine Art Morphallaxis, Umlagerung und Umdifferenzierung des Furchungsmaterials nötig machen würde, aufgefaßt werden dürfen. Die Regelmäßigkeit der Furchung schließt die Annahme einer Kompensation von Störungen normalen Zustandes aus. Hier ist der Ort, an die Eigentümlichkeit des Eipigmentes zu erinnern, sich in konzentriertem Seewasser nesterweise zusammenzuballen. Die Annahme nämlich, daß die zunehmende Salinität des Wassers die polaren Schichten der Eizellen übereinander werfe, wäre geradezu absurd.

So haben wir denn in dem Pigment eine Funktion physiologischer Zustände der Eizelle erkannt. Seine Verteilung muß im Einzelnen zweifellos einen Zusammenhang mit den Lebensinteressen der Art haben, wie all die übrigen äußeren Artmerkmale. In Ermangelung näherer Anhaltspunkte möchte ich in dieser Beziehung auf die Rolle hinweisen, die von Entwicklungstheorien der allgemeinen Färbung und den Chromatophoren bei kleinen pelagischen Organismen zugeschrieben wird, bei denen einzelne Organe — wie

<sup>1)</sup> Nach der technischen Farbenskala.

bei Copepoden, Mollusken, Medusen — oft sehr intensiv gefärbt sind. Die Unterschiede in der Färbung von Eiern, Keimen und Larven bei Seeigelarten können wir als Anpassungserscheinungen auffassen. Kleine Unterschiede in der Körpergröße, in der Proportion der Körperteile, der Bewegung u. dgl. werden auch Unterschiede in der Färbung nötig machen. Bezüglich der Färbung stimmen die Plutei mit vielen pelagischen Organismen, wie Cladoceren, Hyperiidern etc. unter anderem darin überein, daß sich auch bei ihnen ein Teil der Chromatophoren am Darmkanal befindet. Es leuchtet nun ein, daß z. B. auch der Pigmentgürtel am *Rufocinctaei* eine biologische Bedeutung haben muß, wie jene Pigmentflecke auf dem Darmrohre. Wie aber jene Chromatophoren, die dem Darne anliegen, mit der Verdauung und mit der Assimilation sicher nichts zu tun haben, ebenso sicher hat auch die Lokalisation des Eipigments keinen Einfluß auf den Verlauf der Furchung und der Entwicklung.

## II. Über den Richtungsbau des Seeigeleies und die Eipolarität im Allgemeinen.

Untersuchen wir nunmehr, was wir angesichts der behandelten Tatsachen über das Problem der Eistruktur im Allgemeinen und über den Zusammenhang der Richtungsachsen des Keimes mit der Polarität der Eizelle, über die plasmatische Differenzierung des Eies im besonderen zu folgern haben.

Boveri hat trotz der gewonnenen Überzeugung, die normale Pigmentierung sei zum typischen Furchungsverlaufe und ungestörter Entwicklung unerlässlich, mit der ihn auszeichnenden Umsicht eines scharfen Denkers seine Ergebnisse dahin formuliert, daß nicht etwa der Pigmentring der umgürteten Eizone besondere Eigenschaften verleiht, sondern daß er gewissermaßen nur ein Symptom und eine Folge einer das Ei durchsetzenden animal-vegetativen Schichtung ist. Aber auch der so eingeschränkten Fassung widersprechen die geschilderten Fälle normaler Furchung ohne Übereinstimmung mit dem hypothetischen, durch Pigmentierung angedeuteten Schichtenbau der Eizelle. Die Fälle normaler Entwicklung abnorm gefärbter Eier sind zwar sehr vereinzelt, doch dürfte ein einziger konkreter Fall — nach Boveri's eigenem Raisonement — Hunderten von Normalfällen die Wagschale halten.



Führen nun aber jene Fälle, die an demselben Orte, demselben Material und zu derselben Jahreszeit wie die Untersuchungen Boveri's beobachtet wurden, wirklich zu dem Schlusse, daß der Eizelle jedwede Polarität abgehe? Nur scheinbar. Sie tragen jedenfalls viel zu einer tieferen Einsicht in das Wesen der Polaritätshypothese bei und haben uns gewisse Ideen nahegelegt, die an den postulierten Richtungsbau des Seeigeleies anknüpfen, sich aber auf das Metazoenie überhaupt beziehen und Verallgemeinerungen zulassen, welche allerdings von den früher giltigen abweichen. Man möge sie als ein neues Kapitel „Morphogenetischer Studien“ betrachten, in welchem einige wesentliche Momente der Eientwicklung vielleicht sicherer gefaßt und analysiert werden, als dies uns bisher (10, 11), namentlich unter dem frischen Eindruck Boveri'scher *Paracentrotus*-schriften möglich gewesen.

Bereits früher haben uns theoretische Analysen zur Aufstellung des kurz gefaßten Satzes geführt, ein jedes Ei besitze eine polare Struktur (10, XII. Kapitel, p. 146). Gegenwärtig können wir genauer sagen, daß eine jede Propagationszelle, schon vor der Befruchtung und selbst vor der Reifung eine spezifische, allgemeine, dreidimensionale Polarität besitzt. Isotrope Eier — z. B. im Sinne Roux's — gibt es ebenso wenig wie monaxone oder Rotations-Eier. Auch gibt es unter gerunden, homolecithalen Eiern keine axial nichtdifferenzierten, d. i. polyaxonen Zellen. Die spezifische, dreidimensionale Veranlagung bildet zugleich das wesentliche Unterscheidungskriterium für die Eier verschiedener Tierarten. Für die Individualentwicklung ist sie das Ursprüngliche, „Apriorische“, was die absolute, definitive Polarität des Keimes ermöglicht und herbeiführt, oft unter Einfluß sekundärer, epigenetischer Faktoren. Sie charakterisiert und bestimmt den spezifischen Typus des Keimes, ähnlich wie bei den Monocyten, bei Sporozoen, gewisse spezifische Zellencharaktere über die Art der Vermehrung, über die Zahl der Deszendenten, in welche sie sich z. B. durch Konitomie zu teilen haben, entscheiden, obschon diese Charaktere keineswegs auf einer Prädisposition gewisser vorausbestimmten Stellen des Cytoplasmas als Teilungsebenen der Konitomie beruhen können. Wir stellen nur die fundamentale Tatsache fest, daß sich bei den lebenden Organismen historische Charaktere entwickeln, die ein Gesamtergebnis der Vergangenheit bilden und die Zukunft derselben morphologisch und physiologisch bestimmen.

Besagte allgemeine Polarität charakterisiert die Oocyte oder das Reifei nicht als Ganzes, sondern erhält sich in jedem selbständig entwicklungsfähigen Teil der Eizelle. Sie ermöglicht den beschädigten Zellen sogen. primäre Regulationen im Sinne von Driesch, die zu mehr oder minder typischen Resultaten der Entwicklung hinführen, sowie die Vertretbarkeit der Teile des sich abfurchenden Eies im Rahmen seiner historisch ausgebildeten Struktur; durch sie wird auch die bereits fixierte, absolute oder definitive, durch experimentellen Eingriff zerstörte Polarität wieder hergestellt. Bei künstlich hervorgerufener starker Asymmetrie des Froscheies wird nur durch diese allgemeine Beschaffenheit ein Einfluß der dem Gleichgewichtspunkte zustrebenden Dottersubstanzen auf die Morphogenie, insbesondere auf die Fixierung der Medianebene des Keimes ermöglicht.

Die allgemeine Polarität reguliert die irgendwie veränderte Intimstruktur des Eies und Keimes zu typischem Ganzen, sofern die Verteilung der Baumaterialien es erlaubt. Darauf beruht die Erscheinung der sogenannten Labilität plasmatischer Elemente, die nach Fischel (9) für gewisse Ontogenesen charakteristisch ist; bei Entwicklung von Bruchstücken zum Ganzen kann es sich demnach nicht um Regeneration fehlender Teile handeln, wie es von Roux behauptet wurde. Unvollständige Organismen und Halbbildungen entstehen nur dann, wenn die Lokalisation der Bestandteile des Ooplasmas einen Regulationsprozeß unmittelbar ausschließt.

Die allgemeine Polarität bewirkt, daß sich gewisse Eier und frühe Entwicklungsstadien — wie bei den Seeigeln — als äquipotenzielle Systeme mit gemischten Potenzen verhalten. Die allgemeine Polarität macht uns mit einem Worte den harmonischen Zusammenschluß der Blastomeren als Aktionszentren erklärlich, einen Verband, der imstande ist, auf atypischem Wege substanziell und ontogenetisch normale Entwicklungsergebnisse zu erreichen.

Was die realen Beweise für die Existenz einer solchen allgemeinen Veranlagung der Eizellen anbelangt, so ist in erster Linie die Frage zu beantworten, wie sie sich äußert, ob sie sichtbar ist oder überhaupt sichtbar sein kann. In der Literatur sind diesbezügliche Erwägungen, wie sie sich uns aus der Entwickelungs-

geschichte des *Paracentrotus* ergaben, nicht zu finden. Auch in der wichtigen, zusammenfassenden Schrift Roux's (17) sind die uns hier interessierenden Gedanken nicht enthalten, vielleicht aber nur deshalb nicht, weil sie die einfachsten, ja selbstverständlichen Momenteder Entwicklung betreffen.

Bei Erörterung des Richtungsbaues der Eizelle gliedert sich die Aufgabe nach den Dimensionen, von denen die eigentliche (axiale) Polarität und die Bilateralität die wichtigsten sind.

Die Wiederauffindung des Pigmentringes wurde als ein wichtiger und entscheidender Fortschritt vornehmlich deshalb so warm begrüßt, weil sie die polare Beschaffenheit solcher Eier und Keime zu beweisen schien, die auf experimentellem Wege als isotrop und äquipotenziell erkannt worden waren. Nachdem wir nun gesehen haben, daß es nur ein scheinbarer Beweis gewesen, fragen wir uns, ob ein derartiger Beweis überhaupt notwendig ist? Für bessere, deutlichere und sicherste Beweise halte ich die frühesten Furchungsstadien. Das Seeigelei furcht sich inäqual, heteropolar; am unteren Pol werden Mikromeren abgeschnürt. Diese Tatsache muß mit heteropolarer Natur der Eizelle zusammenfallen. Angesichts dessen ist alles andere, insbesondere das Schicksal der Mikromeren nebensächlich. Das Ooplasma ist nicht gleichmäßig geartet, wenn die Viertelzellen äquatorial in prospektiv ungleiche Tochterzellen geteilt werden. Dies geschieht aber unwandelbar, mag eine Pigmentzone existieren oder nicht. Selbstredend ist der Ausdruck, den die Polarität in der ungleichen Blastomerengröße findet, nur zufällig und als Beweisgrund überflüssig, indem sich die Polarität eher oder später in dem verschiedenen Verhalten der Zellengenerationen bekunden muß. Es kommen auch wirklich Fälle vor, wo die Furchung selbst ohne Mikromerenbildung zu gutem Ende führt.

Wie die Polarität, so muß auch die weit später sich ausprägende Bilateralität auch ohne sichtbare Zeichen von Anfang an existieren. Roux, der sie zum Gegenstand grundlegender Studien gemacht hat, konnte die Abhängigkeit der definitiven Symmetrieebene vom Befruchtungsmeridian als Regel feststellen. Somit wäre die Bilateralsymmetrie scheinbar epigenetisch, sekundär, durch das Spermium etabliert sein, im Gegensatze zu der primären, präformierten Polarität. Wir besitzen indessen einen elementaren, bis jetzt merkwürdigerweise nicht beachteten Beweis, daß es nicht der Fall

ist. Es liefert ihm die parthenogenetische Entwicklung. Das Seesternei teilt sich nach der  $\text{CO}_2$ -Narkose und zwar, sofern sich keine lokalen Störungen des Ooplasmas einstellen, äqual in der Symmetrieebene, wie sich dies unter anderem aus der bilateral symmetrischen Gruppierung der animalen Blastomerenplatte entnehmen läßt. Von einer lokalen, symmetrische Teilung epigenetisch auslösenden Plasmaerregung ist hier keine Rede. So muß also auch die Bilateralsymmetrie, als ein Hauptmerkmal späterer Stadien, zu den ursprünglichen Eigenschaften der Eizelle gehören, wie die Polarität. Und wie wir oben die Polarität selbst bei äqualer Furchung ohne Mikromeren annehmen mußten, so müssen wir auch die bilaterale Symmetrie von Anfang an selbst dann annehmen, wenn die erste Teilung durch sekundäre Einflüsse inäqual gemacht wird und wenn die erste Teilungsebene der Symmetrieebene nicht entspricht. Es sei an dieser Stelle auch an die alte Angabe Selenka's erinnert, daß sich die in der Penetrationsebene durchgeführte erste Teilung zuweilen verwischt und eine abermalige Teilung nachfolgt, welche erst die Symmetrieebene etabliert; das Seeigeelei verhält sich also genau so wie das künstlich parthenogenetische *Asteriasei* (11).

Es braucht nicht besonders auseinandergesetzt zu werden, daß bei der Fixierung des Vorn und des Hinten des werdenden Organismus die Verhältnisse genau so liegen müssen wie bei der Polarität und der Bilateralsymmetrie.

Der allgemeine, dreidimensionale Richtungsbaue bildet die ursprünglichste Bedingung der Entwicklung; ohne ihn könnte sich aus den Eideszendenden keine Organisation herausdifferenzieren. Ein isotropes, homolecithales<sup>1)</sup> Ei würde höchstens homodynamische und homoenergetische Zellketten oder Zellkugeln ohne axiale Differenzierung ergeben. Axialdifferenzierung des Eikörpers ist also ein Postulat, welches keiner Beweise aus substanzieller Schichtung und Pigmentierung bedarf.

Sie ist stets dreidimensional. Bei idealer Radialität eines *Protohydra*-ähnlichen Metazoons wären neben der Polarität beliebig viele Symmetrieebenen anzunehmen; in Wirklichkeit lassen sich aber bei

<sup>1)</sup> Darunter werden hier nicht nur die Elemente des Nährdotters, sondern sämtliche (apoplasmatische) Differenzierungen des Cytoplasmas verstanden.

allen Radiaten am Schlundrohre, an der Mundöffnung etc. Merkmale finden, die von der Radialität zur Bilateralität hinüberführen.

In der Folge müssen wir uns der gleich wichtigen und weit schwierigeren Frage zuwenden: worauf jener Richtungsbau eigentlich beruht und wodurch er sich bei Eiern von verschiedener Beschaffenheit und mit verschiedenem Furchungstypus unterscheidet. Es ist eine der meist erörterten Fragen.

Bei Behandlung dieses Problems wollen wir einen ungewohnten Weg einschlagen, indem wir von der Tatsache der Einzelligkeit des Eistadiums ausgehen. Zugleich verweisen wir auf unsere früheren Ausführungen (10) über das Verhältnis der Gewebstiere zu Unicellulaten. Selbst der unkritischste Gegner der Deszendenzlehre wird uns zugeben, daß das einzellige Entwicklungsstadium dem phyletischen Stadium einzelliger Aszendenten entspricht. Wir haben den Metazoenorganismus als einen Zusammenschluß von Monocyten aufgefaßt und die Lebensaktion einzelner Gewebszellen mit der Aktion vergesellschafteter Tierindividuen, z. B. der Bienen, verglichen. Diesen Betrachtungsmodus werden wohl die meisten Embryologen billigen, Boveri selbst hat sich in ähnlichem Sinne ausgesprochen<sup>1)</sup>, doch hat niemand die Konsequenzen verfolgt, zu denen der historische Standpunkt in der Entwicklungsfrage notwendig führt und niemand hat ihn behufs Erklärung des Furchungsverlaufes ausgenützt.

Als ein einzelliges Lebewesen teilt sich das Ei und bringt stets zahlreichere Zellgenerationen hervor, die sich von den Generationen selbständiger Monocyten nur relativ durch ihren mehr oder weniger fest gefügten Verband unterscheiden. Unter den Zellindividuen dieser Generationen bleiben die einen, die Propagationszellen, der Mutterzelle ähnlich, die anderen, die somatischen Zellen, differenzieren sich auf vielfache Weise und gehen nach einer spezifisch begrenzten Reihe von Generationen als Körper des Tierindividuums, zugrunde. Das wesentlichste Merkmal des Entwicklungszyklus eines Metazoons besteht also in der die meisten Individuen der Zellgenerationen betreffenden: Heterogonie. Die Heterogonie der Zellen kann dreierlei Gründe haben.

<sup>1)</sup> Vgl. 1, p. 171 u. a.

Erstens geraten die im Ei befindlichen und oft direkt sichtbaren apoplasmatischen Elemente infolge ihrer physisch-chemischen Beschaffenheit, wenn man so sagen darf, in Kollision mit dem Mechanismus (und Chemismus) der Zellteilung, so daß sie in die Deszendenten nicht gleichmäßig übergeführt werden, woraus weitere Unterschiede erwachsen. Zweitens werden in den Zellen späterer Generationen apoplasmatische Stoffe produziert, die im Ei nicht vorhanden waren. Drittens beeinflussen sich gegenseitig die Zellen im körperlichen Verbands, wobei der Grad und die Art der Beeinflussung von ihrer Größe, Lage, von der Art ihrer tektonischen Verbindung u. dgl. abhängt. Die Differenzierung und damit die durchgehende oder teilweise Heterogonie der Zellgeneration wird also durch das quantitativ und qualitativ verschiedene Verhältnis auto- und apoplastischer, übernommener und neugebildeter Materialien in den Zellindividuen bedingt.

Man hat sich gewöhnt anzunehmen, daß sich diese Substanzen miteinander in „Schichten“ kombinieren, die zu der Hauptachse womöglich senkrecht orientiert werden. Steht nun, fragen wir uns, eine derartige Auffassung im Einklang mit unseren Prämissen und mit unseren heutigen Kenntnissen der Monocytenentwicklung? Ist es erlaubt anzunehmen, die Organisation eines Protozoons beruhe auf polar differenzierten Schichten?! Können wir annehmen, ein Protozoon besitze deshalb seine spezifische Gestalt, mit spezifisch entwickelten und verteilten Organellen, weil es aus mannigfaltigen Schichten aufgebaut ist, deren jede verschiedene äußere und innere Charaktere hervorruft? Sicherlich wäre eine solche Annahme naiv und unerlaubt. Das Autoplasma bringt, als Begleiterscheinung seiner Lebensprozesse, apoplastische Stoffe hervor und sein Verhältnis zu denselben gestaltet sich in sehr verschiedener Weise, in deren Einzelheiten die heutige Zellphysiologie noch keine Einsicht hat. Größere Beispiele bietet uns jedenfalls die Verteilung des sogen. Deutoplasmas. Die Nährdotterkörnchen sind oft sehr deutlich und richten sich in ihrer Verteilung offensichtlich nach der Mikrostruktur des Ooplasmas; mit den Bewegungen des letzteren verändern auch sie ihre Lage. Es läßt sich das an Körnchen, die einen „vitalen“ Farbstoff, wie das Neutralrot, binden, direkt demonstrieren. Fischel hat uns zuerst auf Körnchenverschiebungen während mitotischer Zellteilung aufmerksam gemacht. Wenn der Nährdotter infolge seiner Schwere nach unten

sinkt, so wird hierdurch sicherlich auch die Teilung und mit ihr die Heterogonie beeinflußt; doch ist dieser Einfluß rein sekundärer Natur. Der große Einfluß der Schwerkraft auf die Entwicklung des Frosch- und Amnioteneies ist allgemein bekannt. Studien über den Einfluß des Dotters auf die Ontogenese bilden ein umfangreiches Kapitel der Entwicklungslehre. Der Dotter kann sogar den Furchungsmodus völlig verändern, wie dies Tiergruppen beweisen, wo Eier ganz nahe verwandter Arten totale, superfizielle oder discoidale Furchung besitzen. Die Furchungsbilder, die Keimesgestalt, die Organanlage, sind dann prinzipiell verschieden, die Nacheinanderfolge heterogoner Blastomeren generationen gestaltet sich bei jeder Eiart durchaus abweichend, und doch haben wir direkte Beweise dafür, daß in den so verschiedenen Entwicklungszyklen, die Zellen, als Nachkommen einer gemeinsamen Mutterzelle, sich trotz aller äußeren Unterschiede ihrem Wesen nach fast gar nicht verändern. So verläuft die Entwicklung von Peripatiden total anders, je nachdem das Ei mit reichlicher oder spärlicher Dottergift abgelegt wird oder, ganz dotterarm geworden, von den Uteruswänden seine Nahrung bezieht; das Endresultat aber ist stets das nämliche. Die Unterschiede in der Beschaffenheit der Zellgenerationen sind also rein sekundär und verschwinden spurlos, sobald ihre Ursachen aufgehoben sind; die angestammten Charaktere des Autoplasmas haben darunter nicht zu leiden. Ein überaus instruktives Beispiel bieten ferner die Eier von Vertebraten, die im Laufe phylogenetischer Entwicklung mehrmals ihren Dottergehalt gewechselt haben sollen.

Obwohl sich also ein gegebenes Ei inäqual abfurcht, obwohl sich mitunter — wie am vegetativen Pol bei Seeigeln oder an der animalen Kreuzfigur der Würmer und Mollusken — ein kompliziertes Mosaik verschieden großer und verschieden beschaffener Blastomeren ausbildet, bleibt die ursprüngliche Qualität der Zellen unverändert; bedingt ist sie durch ihren einheitlichen Ursprung. Andererseits könnte es Faktoren und Bestandteile geben, die bei ursprünglich recht verschieden veranlagtem Blastomerenmaterial ähnliche Furchungsstadien hervorrufen würden; sobald sie erschöpft und beseitigt wären, würde auch die Ähnlichkeit verschwinden und diametral verschiedene Organismen resultieren.

Nur in Ausnahmefällen dürfte ein einziger Faktor, z. B. das

spezifische Gewicht, für die Lokalisation apoplasmatischer Elemente entscheidend sein. Da es sich bei den letzteren um Lebensprodukte handelt, so muß bei ihrer Lokalisation ein ganzes Mosaik variabler Faktoren des Zellenlebens in Betracht kommen (Stoffwechsel, Wachstum, Vermehrung). Eine eingehende Analyse würde vor allem eine genaue Kenntnis elementarer Lebensvorgänge und ihrer Genese erforderlich machen. Daher läßt sich auch die Bedeutung des Apoplasmas, inwieweit dasselbe die Ernährung und die Gestaltung beeinflusst, nicht genauer angeben. Ohne Zweifel haben wir das Recht zu vermuten, daß die Anwesenheit jener Lebensprodukte an der geweblichen Differenzierung beteiligt ist, welche gewöhnlich mit Einbuße des Vollvermögens weiterer Vermehrung bis zu vollständigem Verluste ursprünglicher Potenzen verbunden ist, so daß die betreffende Zelle selbst nach Beseitigung der schädigenden Einflüsse, die verloren gegangenen Eigenschaften nicht wiedergewinnen würde. Dies ist um so mehr wahrscheinlich, als der Kern, als ein für viele physiologische Vorgänge leitendes Organ, auf keinen Fall für einen unaffizierbaren, gewissermaßen außerhalb der Lebenssphäre stehenden Behälter von Vererbungssubstanzen gehalten werden darf, zu dem er namentlich durch die Roux-Weismann'sche Mosaiktheorie gestempelt wurde. Der in die wichtigsten Zellfunktionen eingeschaltete Kern muß im Gegenteil allen Einflüssen und Veränderungen unterworfen sein, wie die Zelle selbst. Was sich nun auf Grund dieser Erkenntnis sagen läßt, ist dieses, daß sich im Keime einzelne Blastomeren oder Zellgruppen bilden müssen, deren Kerne von dem des Eies potenziell abweichen. Selbstverständlich hat die sekundäre Erscheinung des auf diese Weise entstehenden „Mosaiks“ der Kernqualitäten nichts gemeinsames mit der Mosaiktheorie der Autoren, welche auf die phylogenetisch unzulässige Hypothese ungleicher Teilung der Vererbungsstoffe bei der Mitose gestützt wurde. Wir denken hier vielmehr an Veränderungen des zentralen Teilungsapparates, wie sie z. B. bei gewissen Wimperepithelien vorkommen dürften, in welchen die Teilungsfähigkeit der Zellen, vielleicht infolge der Verwendung des mitotischen Apparates zur Wimperbewegung, erschöpft erscheint. In derartigen Fällen wäre der Einfluß des Apoplasmas tatsächlich organogenetisch. Da wir anderseits ultimäre Gewebe und Epithelien kennen, deren Zellen sich bei Knospungs- und Regenerationsprozessen als totipotent erweisen, so



ist daraus zu schließen, daß die Rolle apoplasmatischer Elemente sehr mannigfaltig sein kann und von vielerlei Umständen abhängt, so daß ihr Wesen durch Kategorien wie Nährdotter, darmbildende, oder ktenogene Substanz (bei Rippenquallen) u. s. w. nicht erfaßt werden kann. Deswegen ist auch die vielverbreitete Meinung, die idioplastische Mosaiktheorie könne und solle durch den Begriff eines Mosaiks morphogenetischer Stoffe ersetzt werden, unhaltbar. Nun aber gehört die Annahme bipolar geschichteter Eizonen mit verschiedenen Entwicklungspotenzen ganz in den Rahmen cytoplasmatischer Mosaiktheorie.

Anstatt starrer Einteilung in Zonen besitzt vielmehr das Ei samt seinen Deszendenten die Fähigkeit wiederholter Verlagerung des Apoplasmas, je nach den Entwicklungsphasen und den inneren Zuständen. Viele Momente in der Entwicklung des *Paracentrotus*, wie die Unterschiede in der Durchsichtigkeit der Enchymblastenplatte oder die Pigmentbildung in Enchymzellen, ferner die Bildung, Verlagerung und Diffusion gewisser tinktoriell darstellbarer Substanzen in Keimen mancher Gasteropoden (*Physa*), die auffallenden Einschlüsse des *Myzostomaeies* u. s. w. dafürsprechen, daß bei der Bildung von Blastomeren und Geweben vielfache Verschiebungen von Materialien notwendig werden. Im Gegenteil, besäße das Ei eine unverrückbare Polarstruktur im Sinne einer starren Tektonik apoplasmatischer Elemente, wie sie der Hypothese substanzieller Eipolarität zugrunde liegt, dann wäre jede weitere Entwicklung und Organdifferenzierung kaum möglich. Es darf dabei nicht vergessen werden, daß wir uns hier nur mit einer Kategorie von Differenzierungsursachen beschäftigen und daß, wie oben gesagt wurde (vgl. p. 00), noch zwei andere Kategorien in Betracht kommen, so daß sich der Verlauf der Ontogenese als ein Sammelergbnis mannigfaltigster, sich gegenseitig in komplizierter Weise beeinflussender Momente darstellt.

Unseren Gedankengang können wir noch in einer anderen Form ausdrücken. Wenn im Laufe der Entwicklung verschiedenartige, z. B. verschieden gefärbte Stoffe verschiedene Lagen einnehmen, je nachdem, wohin sie von Strömungen bei Zellteilungsprozessen etc. verschoben werden, wenn ferner ungeachtet aller Unterschiede in ihrer Lokalisation der Verlauf der Heterogonie, d. i. das allgemeine

Bild des Furchungsmosaiks unverändert bleibt, so geschieht dies nicht deshalb, weil sich die betreffenden „morphogenetischen Substanzen“ so und nicht anders verteilen, sondern deswegen, weil die Lebens- und Vermehrungsprozesse der Eideszenten jene Stoffe sowie manche andere, den weiteren Verlauf beeinflussenden Momente so und nicht anders lokalisieren. Das aber ist ein prinzipieller Unterschied.

Würden wir den Gedanken fortspinnen, dann müßten wir zu der Überzeugung kommen, daß in den Fällen, wo das irgendwie (z. B. durch experimentellen Eingriff) affizierte Ei nicht imstande ist, das Furchungsbild bis zur Norm zu regulieren, jenes Vermögen ihm nicht deshalb abgeht, weil unumgängliche „morphogenetische“ Stoffe an betreffenden Orten fehlen, sondern vielleicht deshalb, weil durch diese Stoffe gewisse Zellen an normal heterogenetischer Propagation behindert werden.

Ich habe mich bemüht nachzuweisen, daß der Begriff einer substanziellen, organogenetischen Eipolarität oberflächlich, nicht exakt und falsch ist, und daß er selbst bei dem heutigen Stande unserer Einsicht in die Entwicklungsphysiologie nicht mehr genügt. In weiterer Folge will ich eine Reihe von Tatsachen in Erinnerung bringen, die auf die wichtige und leitende Rolle des eigentlichen Ooplasmas im Gegensatze zum Apoplasma hinweisen, und durch Abhängigkeit von einer einfachen Zonenschichtung nicht erklärt werden können.

Es gehört hierher erstens die ziemlich häufige ungleichmäßige Tingierbarkeit des Eeihaltes durch das Neutralrot. Dieser Farbstoff wird, wie gesagt, *intra vitam* durch gewisse Körnchen gebunden, welche entweder Stoffwechselprodukte darstellen oder von Anfang an in gewisser Anzahl in der Eizelle vorhanden sind. Während die Tinktion in der Regel ganz gleichmäßig ausfällt, habe ich bei *Paracentrotus*, *Parechinus* und *Asterias* außer Eiern mit intensiven lokalen Farbstoffnestern, auch solche gesehen, wo das Plasma nur an einem Pole den Farbstoff, und zwar sehr reichlich aufgenommen hat, während der Rest des Eikörpers farblos oder nahezu farblos geblieben war. Solche Eier furchten sich normal und unabhängig von der Farbansammlung. Da die ungleichmäßige Vitaltinktion nur durch eine ungewöhnliche Lokalisation der Bestandteile des Eiplasmas verursacht werden konnte, so ist daraus zu folgern, daß durch diese ungewöhnliche Lokalisation der Entwicklungs-

gang durchaus nicht gestört wird und daß geringfügige Änderungen der inneren Zustände, vielleicht in bezug auf den Teilungsmechanismus oder auf die Spannungen im Plasma genügen, um die stoffliche Normalstruktur abzuändern und sichtbare Bestandteile zu verlagern.

Zweitens habe ich schon in einer Arbeit über künstlich parthenogenetische Seesternentwicklung mitgeteilt, daß dort die Furchung höchst unregelmäßig und mannigfaltig vor sich zu gehen pflegt, obwohl die angebliche Schichten-Architektur durch das Kohlenoxyd — ähnlich wie durch das konzentrierte Seewasser — unmöglich umgebaut oder vernichtet werden kann. Es folgt daraus, daß die beobachteten Abweichungen durch gewisse lokale Störungen des aktiven Ooplasmas veranlaßt werden, wie lokale Beeinträchtigung der Teilungsmechanik u. dgl.

Drittens haben uns die Experimente gezeigt, daß bei künstlicher Parthenogenese die künftige Bilateralsymmetrie vor der definitiven Einstellung mehrfach schwanken kann, was ausgeschlossen wäre, würde sie von einer passiven und starren Materialientektonik abhängen.

Diese und ähnliche Erscheinungen verweisen uns stets an die primäre Veranlagung oder Beschaffenheit des Eicytoplasmas, an die sogen. allgemeine Polarität, welche den Eiern und ihren Deszendenten zukommt und nur sekundär, durch gewisse Faktoren, darunter auch durch physikalisch bedingte Verteilung des Apoplasmas Einschränkungen erfährt oder selbst unüberwindlichen Hindernissen begegnet. Demgemäß pflegen gewisse Eier, mit bedeutender Regulationsfähigkeit als äquipotenzielle Systeme, andere als sogen. Mosaik Eier charakterisiert zu werden.

Wir gelangen schließlich zu der Einsicht, daß in bezug auf die innere Beschaffenheit der Eizellen keine Stufenordnung durchgeführt werden kann. Wir haben keinen Grund, einfach gebaute „Regulationseier“ von kompliziert struierten „Mosaik Eiern“ zu unterscheiden, wie dies von Fischel (9) und einigen anderen Autoren versucht wurde. Es gibt keine einfachen und komplizierten Eier. Die Eistruktur kann überhaupt nicht verwickelter sein als der Bau eines fortpflanzungsfähigen einzelnen Organismus. Ich möchte diese Schlußfolgerung nachdrücklich betonen, obwohl ich sie in nuce bereits früher mitgeteilt habe (10, p. 146), weil unter Anderen Driesch, welcher einst den

Eibau als einfach erklärte und gegen die abweichenden Ansichten Weismann's und Roux's polemisierte, neulich mit großer Entschiedenheit versichert, daß die Eistruktur doch eher recht kompliziert sein dürfte. Es wird um einen Gegenstand gestritten, welcher ein Scheinproblem ist und als ein solches überhaupt jede Diskussion überflüssig erscheinen läßt.

Eine andere Behauptung, die wir aufstellen können, besagt, daß ähnlich wie der Richtungsbau des Eies, auch dessen Vermehrung d. i. der Furchungsprozeß seinem Wesen nach prinzipiell bei allen Tieren gleich ist. Es gibt keine eindeutig determinierte und weniger determinierte Furchung (wie die Kategorien von Conklin formuliert wurden), weil es keine anaxonen, isotropen Eizellen gibt im Gegensatze zu polar determinierten. Die nützlichen Kategorien Conklin's beziehen sich auf sekundäre Momente, nämlich auf die stärker oder schwächer ausgeprägte Fähigkeit der Entdifferenzierung und Umdifferenzierung von Zellen und Geweben (Morphallaxis im Sinne Morgan's).

Würde es sich darum handeln, unsere Anschauungen mit den existierenden Theorien zu vergleichen, so könnte hinzugefügt werden, daß sie sich sowohl in den Voraussetzungen als in den Endergebnissen mit der sogen. Homogeneitätslehre in manchen Punkten berühren.

Am a. O. (11) haben wir angesichts der Unterschiede im Furchungsgange bei *Asterias* und *Paracentrotus* 4 Kategorien von Eizellen aufgestellt, je nachdem die künftige axiale Polarität des Keimes durch die Abschnürungsstelle der Polocyten lokalisiert (etabliert) wird oder nicht, und haben *Asterias* und *Paracentrotus* zwei total verschiedenen Kategorien zugeteilt. Jene Einteilung halten wir auch jetzt nach eigenen Erfahrungen an *Paracentrotus* für nötig und zutreffend, obwohl bereits Selenka auch hier ein spontanes Abweichen der Polarachse von der Reifungsachse bemerkt hat. Dabei sehen wir ein, daß auch die Kategorie mit *Asterias* die Existenz eines ursprünglichen Richtungsbaues der betreffenden Eier keineswegs ausschließt. So haben wir denn auch nicht behauptet, das Seesternei sei achsenlos, sondern, daß es sich wie eine anaxone Zelle verhält. Es ist uns klar, daß in sämtlichen vier Kategorien die Eistruktur gleichmäßig einfach, beziehungsweise gleichmäßig kompliziert ist, und die Spontaneität in der Fixierung der definitiven Polarachse bei *Asterias* beweist nur, daß sie dort, vermutlich infolge von zufälligen

durch das Experiment herbeigeführten Veränderungen, von lokalen Zuständen des Ooplasmas abhängt, die wir nicht näher zu bestimmen vermögen, ähnlich wie wir die für die Fixierung der Bilateral-symmetrie maßgebenden Momente nicht kennen.

Das absolute Verhältnis aller Strukturrichtungen zueinander, von dem der Bau des werdenden Organismus abhängt, ist immer und überall in dem Richtungsbau des Eies präformiert, da es nichts anderes ausdrückt als das Resultat des gegebenen Teilungsmodus der Eizelle, welche durch gewisse angestammte, phyletische Eigenschaften charakterisiert ist.

Es erhebt sich die Frage, welcher Art jene ursprüngliche Eiorganisation sein mag, deren Existenz wir in dem bevorstehenden Absatze zu beweisen suchten. Betreffende Ansichten der Autoren wie Boveri, Conklin, Driesch, Heider, Roux, Wilson u. v. A., werden wir an dieser Stelle keiner Diskussion unterziehen. Wir sind nur genötigt zu erwähnen, daß Boveri zur Erklärung eigener und fremder Experimente mit *Paracentrotus* eine zweifache „Polarität“ annimmt: eine polare Schichtung organogenetischer Stoffe und eine Polarität gleichsinnig gestellter kleinster Plasmateilchen. Was unser Autor außerdem von der Einstellung der Entwicklung auf den jedes Mal „vegetativsten Punkt“ sagt, um Normalentwicklung von Bruchstücklarven verständlich zu machen, konnten wir selbst leider nicht recht verstehen<sup>1)</sup>. Dagegen liegen uns die Gründe seiner Annahme einer doppelten Polarität klar vor Augen. Die erstere können wir höchstens als einen zufälligen, sekundären Umstand zugeben; die zweite ist unserem Ideenkreise verwandt. Die wichtige Abhandlung von Driesch über die Organisation des Eies berücksichtigen wir hier absichtlich nicht, um den einfachen Gedanken-

<sup>1)</sup> Damit wurde offenbar eine Erklärung dafür versucht, wieso es kommt, daß ein Fragment oder ein Haufen derangierter Blastomeren eine normale Einheit liefert, und nicht etwa eine multipolare Differenzierung einleitet. Die Differenzierung setze nämlich stets „an dem vegetativsten Punkte“ ein. Wie steht es nun aber mit der Annahme der polaren Schichtung? Nehmen wir an, das Ei bestehe aus den Schichten  $a-d$ ;  $d$  ist die vegetativste. Bei einem animalen Bruchstück mit den Schichten  $a$  und  $b$  setzt die Differenzierung ebenfalls an dem vegetativsten Punkte ein, welcher hier der Schichte  $b$  angehört, und die Entwicklung geht ihren Weg. Dann ist aber überhaupt die Annahme einer polaren Schichtung überflüssig!

gang nicht zu verwickeln. Es sei lediglich bemerkt, daß das Wesen der Eiorganisation nach Driesch auf einer bilateral-polaren Orientierung der Teilchen beruht; stofflich beruhe aber die Eistruktur vor allem auf polarer Verteilung proto- und deutoplasmatischer Substanzen, wodurch das Ei polar differenziert erscheint. Wie man sieht, sind die Anschauungen beider Verfasser ziemlich ähnlich und ließen sich ohne Schwierigkeit vereinigen.

In Betreff der „kleinsten Teilchen“ glauben wir nicht, daß es zulässig sei, die postulierte Richtungsdisposition des Eies so abschließlich und so grob materiell aufzufassen. Bei schärferer Fassung würden uns solche polarisierte Teilchen dem Begriffe idioplastischer Architektonik Naegeli's bedenklich nähern. Dieser involviert nämlich die Richtungen der Struktur und das ganze Schema des künftigen Organismus. Hiermit wären aber in die Natur der Eizelle Komplikationen hineingetragen, die dem Bauplane und dem Begriffe der Monocyten widersprechen. Und gerade das historische Moment dürfen wir bei begreiflicher Formulierung stereometrischer Polarität, wie sie dem Ei gewissermaßen als Ureigenschaft alles materiellen zukommen muß, nicht aus den Augen verlieren.

Der Richtungsbau des Eies charakterisiert und bekundet sich vor allem in den Schicksalen, welche das Ei in den nachkommenden Zellgenerationen erleidet. Es handelt sich um historische Nacheinander- und Nebeneinanderfolge homo- und heterogenetischer Generationen. Mit der Annahme einer Eipolarität in rein geometrischem Sinne werden die Charaktere des Verbandes der polarisierten Einheiten zu einer spezifischen Organisation weder bestimmt noch erschöpft, gerade so wie bei Tiergesellschaften — wir kehren noch einmal zu dem Bienenbeispiel zurück — die Kenntnis der Organisation nur einer von den polymorphischen Formen, der Arbeiterin, die Merkmale der ganzen Art, die durch eine spezifisch geordnete Vergesellschaftung polymorpher Individuen charakterisiert ist, weder umfassen noch erschöpfen kann. Sagen wir es klarer und kürzer, daß eine Blastomere ebensowenig die Organisation des Keimes ausdrückt, wie ein Teilchen eines aufgelösten Kristalls die Achsen und Parameter desselben zu erklären vermag.

Der Richtungsbau verhält sich also zu der absoluten Struktur der entstehenden Zellen gewissermaßen so wie potenzielle Energie, beziehungsweise die Möglichkeit einer solchen, zu der bereits betä-

tigten. Für uns ist er somit im wesentlichen ein potenzieller Begriff, der potenziellen Struktur vergleichbar, die man den in der Mutterlauge aufgelösten Kristallteilchen zuschreiben würde. Sie besitzen nicht die wirklichen Bauverhältnisse des Kristalls, besitzen jedoch einen potenziellen Richtungsbau, insofern sie sich zu einem neuen typisch proportionierten Kristall verbinden können. Der Vergleich ist höchst vag, doch tritt an ihm wenigstens der Unterschied in der Teilbarkeit deutlich hervor. Wir waren oben genötigt, den Richtungsbau auch den entwicklungsfähigen Eiteilchen anzuerkennen. Wie nun der postulierte Richtungsbau des Eies ungleich komplizierter ist als die Verhältnisse an einem Kristall, so sind auch nur gewisse größere Teilstücke befähigt, die Richtungsstruktur in ihrer Gänze zu behalten, im Gegensatze zu den minimalen Teilchen, aus welchen Kristalle regenerieren.

Als Potenziale sind die spezifischen Merkmale der Richtungsstruktur unsichtbar. Aber auch eine andere Gedankenreihe würde uns zweifellos zu der Einsicht führen, daß sie nicht sichtbar sein können. Von diesem Gesichtspunkte aus wird manche auffallende Eigentümlichkeit in der Seeigelentwicklung verständlich. So nimmt der Vorkern des Reifeis alle möglichen Lagen ein, bevor er sich zu der polar einschneidenden ersten Teilung einstellt. Im unreifen Ei der var. *rufocincta* ist das Pigment gleichmäßig über die ganze Fläche verteilt, und wird — im Gegensatze zu den Angaben Selenka's — erst im Reifei als Äquatorialgürtel lokalisiert. Bei *Arbacia* zieht sich der Farbstoff nach Morgan (15) erst am 2—4-zelligen Stadium von dem späteren Mikromerenbereiche zurück. U. s. w.

In unseren Ausführungen über die Eipolarität haben wir den größten Nachdruck auf den Unterschied zwischen dem Stoffbau und dem Richtungsbau gelegt. Der Stoffbau wird zuweilen zur substanzialen Basis für die Richtungscoordination des Keimes (Echinodermen — Ktenophoren). Wir haben ferner betont, daß der Richtungsbau<sup>1)</sup>, als ursprünglich, über dem Stoffbau<sup>1)</sup> steht und ihm vorausgeht, obschon er mit ihm zuweilen sekundär eindeutig verbunden werden kann. Der allgemeine Richtungsbau kann nicht in den einen Eiern stärker, in anderen schwächer ausgebildet sein: es gibt nicht stärker bilateral-symmetrische und schwächer bilaterale Eier, mehr polare

<sup>1)</sup> Auch: Richtungsveranlagung, — stoffliche Veranlagung, Beschaffenheit.

und weniger polare. Der Richtungsbau ist in gleichem Maße sämtlichen Eiern außerhalb der Epigenese als Resultante physiologischer und stofflicher Eigenschaften uralter Aszendenten gemeinsam. Er steht auch nicht restlos außerhalb der epigenetischen Transmutation. Auch in ihm werden die Differentiale phyletischer Veränderungen eine Spur hinterlassen. Es gehört eben zu den Hauptmerkmalen des Lebens, daß in der Entwicklungsgeschichte kein exakter Schritt gemacht werden kann ohne Berücksichtigung der Differentiale der Transmutation. Ist doch das Wesen der Zelle, das Gesamtbild ihrer morphologischen und physiologischen Charaktere eine Funktion ihrer Vergangenheit (10, p. 158).

### Die wichtigsten Ergebnisse.

Das blastuläre und gastrale Enchym der Seeigellarve stammt nicht von zwei verschiedenen „Keimblättern“, sondern von einer einheitlichen Blastomerenplatte. Das Enchym ist kein Primärorgan der Larve, sondern Zellmaterial für verschiedene und von Anfang an verschieden funktionierende Organe.

Ein Teil der Enchymzellen produziert den larvalen Farbstoff. Der letztere gelangt in sie nicht passiv mit dem Plasma, sondern wird in ihnen von neuem abgeschieden. Das Pigment hat auch für die Zellen keine morphogenetische Bedeutung.

Unabhängig von der Quantität und der Farbenintensität der Chromatophoren ist die Zahl der Enchymzellen spezifisch fixiert.

Das Pigment verschwindet aus Zellen, in denen es sich am Anfange der Furchung befand und sammelt sich in den Chromatophoren in größerer Gesamtmenge als die Gesamtmenge des Pigmentes in der Eizelle. Die Unterschiede in der Gesamtmenge und in der Verteilung des Pigmentes im Ei, Keim und Larve beruhen nicht auf architektonischen, sondern auf physiologischen Unterschieden. Aberrante Lokalisation des Pigmentes in der Eizelle wird nicht durch Anomalien in den Entwicklungspotenzen des Eies veranlaßt und es sind keine sekundären Regulationsprozesse nötig, damit die Entwicklung normal verlaufe.

Die Unterschiede in der Menge, der Verteilung und im Farbenton des Pigmentes in pelagischen Eiern und Larven entstehen durch Anpassung. Bei *Par. lividus* (Lmk.) sind in dieser Hinsicht zwei Rassen zu unterscheiden; die allgemein verbreitete var. *diffusa* und die südfranzösische *rufocincta*.



Der Pigmentring des *Rufocinctaeies* ist nicht durch eine polare Schichtung organogenetischer Substanzen bedingt.

Die ursprüngliche Polarität der Eizelle besteht nicht in polar differenzierten Zonen des Ooplasmas, wie auch der Bau einzelliger Tiere nicht in polar differenzierten Substanzschichten besteht. Würde das Ei eine spezifisch fixierte, starre Architektur morphogenetischer Stoffe besitzen, dann wäre die Entwicklung höchst wahrscheinlich unmöglich. Bei der Entwicklung findet vielmehr vielfache Verlagerung apoplasmatischer Materialien statt.

In dem ursprünglichen Bau oder in der ursprünglichen Veranlagung der Metazoeieier gibt es keine prinzipiellen Unterschiede. Die Gegensätze einfacher und komplizierter Eistruktur, isotroper und polarer Eier, Mosaikieier und Regulationseier existieren in Wirklichkeit nicht.

Jedes Ei und jeder entwickelungsfähige Teil des Eies besitzt eine gewisse allgemeine, spezifisch charakterisierte, dreidimensionale Polarität. Die Richtung der Bilateralität ist hierbei nicht epigenetisch normiert, sondern ebenso ursprünglich wie die Polarität in der Hauptachse.

Die Existenz eines solchen ursprünglichen Richtungsbaues wird durch den Furchungsgang befruchteter und parthenogenetischer Eier (Bilateralität!) bewiesen. Die Eifurchung ist mit Arbeitsteilung und heteronomer Zelldifferenzierung oder Zellenheterogonie verbunden.

Es gibt keine eindeutig determinierte Furchung (Mosaikfurchung) im Gegensatze zur undeterminierten, epigenetischen oder Regulationsfurchung; es gibt weder ein idioplastisches noch ein cytoplasmatisches Mosaik. Die in dieser Hinsicht vorkommenden Unterschiede, welche bewirken, daß sich gewisse Eier und Keime als äquipotenzielle Systeme verhalten, andere hingegen diese Eigenschaft nicht besitzen, sind sekundärer Natur und nicht zu verwechseln mit der Ursprünglichkeit des Richtungsbaues.

(Aus dem Laboratoire Zoologique in Villefranche-sur-mer, 1904).

#### Angeführte Literatur.

1. T. Boveri, Über die Polarität des Seeigeleies. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg (N. F.). Vol. XXXIV, 1901.
2. — Die Polarität von Oocyte, Ei und Larve des *Strongylocentrotus lividus*. Zool. Jahrb., Abt. Anat. Ont., Vol. XIV, 1901.
3. — Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. Arch. Entw.-Mech., Vol. XVI, 1903.

4. H. Driesch, Die taktische Reizbarkeit der Mesenchymzellen von *Echinus microtuberculatus*. Arch. Entw.-Mech., Vol. III, 1896.
5. — Von der Beendigung morphogener Elementarprozesse. Arch. Entw.-Mech. Vol. VI, 1898.
6. — Neue Ergänzungen zur Entwicklungsphysiologie des Echinidenkeimes. Arch. Entw.-Mech., Vol. XIV, 1902.
7. — Drei Aphorismen zur Entwicklungsphysiologie jüngster Stadien. Arch. Entw.-Mech., Vol. XVII, 1903.
8. A. Fischel, Über vitale Färbung von Echinuseiern während ihrer Entwicklung. Anat. Hefte (Merkel & Bon.), 1. Abt., Vol. XI, 1899.
9. — Entwicklung und Organdifferenzierung. Arch. f. Entw.-Mech., Vol. XV, 1903.
10. T. Garbowski, Morphogenetische Studien. Jena (Fischer) 1903.
11. — Über parthenogenetische Entwicklung der Asteriden. Bull. Acad. Sc. Cracovie, Cl. math.-nat., Décembre 1903.
12. — Über Blastomeren transplantation bei Seeigeln. Bull. Acad. Sc. Cracovie, Cl. math.-nat., Mars 1904.
13. — Z badań nad sztuczną partenogenezą u rozgwiazd. (Rozprawy etc.) C. R. Acad. Sc. Cracovie, Vol. XLIII, 1904.
14. C. Herbst, Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. I. Versuche an Seeigeleiern. Zeitschr. f. wiss. Zool., Vol. LV, 1892.
15. T. H. Morgan, Experimental Studies on Echinoderm eggs. Anat. Anzeiger, 1894.
16. T. Mortensen, Die Echinodermlarven der Planktonexpedition. Kiel und Leipzig, 1898.
17. W. Roux, Über die Ursachen der Bestimmung der Haupttrichtungen des Embryo im Froschei. Anat. Anzeiger, 1903.
18. H. Schmidt, Zur Kenntnis der Larvenentwicklung von *Echinus microtuberculatus*. Verh. phys.-med. Ges. Würzburg (N. F.) Vol. XXXVI, 1904.
19. E. Selenka, Zoologische Studien. I. Befruchtung des Eies von *Toxopneustes variegatus*. Ein Beitrag zur Lehre von der Befruchtung und Eifurchung. Leipzig 1878.
20. — Studien über Entwicklungsgeschichte der Tiere. II. Die Keimblätter der Echinodermen. Wiesbaden (Kreidel) 1883.
21. E. B. Wilson & A. P. Mathews, Maturation, fertilisation and polarity in the Echinoderm egg. Journal of Morph., Vol. X, 1895.

### Tafelerklärung.

*Paracentrotus lividus* (Lmk.) var. *rufocincta*.

Fig. 1. Achtzelliges Furchungsstadium, von unten gesehen. Intra vitam. Vergrößerung 530.

Fig. 2. Pluteus aus demselben Ei, 100 Stunden nach der Befruchtung, Formalinwasser. Vergr. 275.

Fig. 3. Vierzehnzelliges Furchungsstadium, in seitlicher Ansicht. Intra vitam. Vergr. 530.

Fig. 4. Pluteus aus demselben Ei, circa 100 Stunden nach der Befruchtung. Formalinwasser. Vergr. 275.



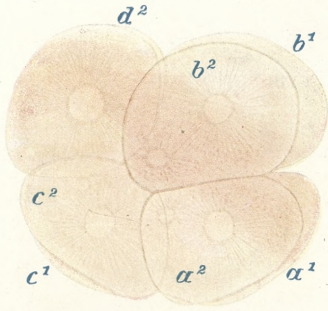


Fig. 1.

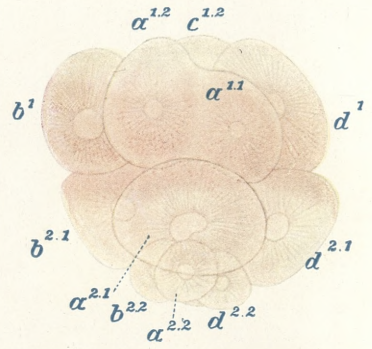


Fig. 3.



Fig. 2.



Fig. 9.



Fig. 4.

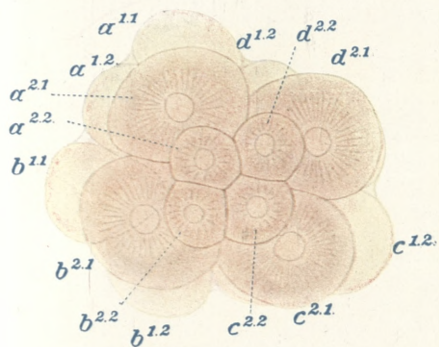


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 10.

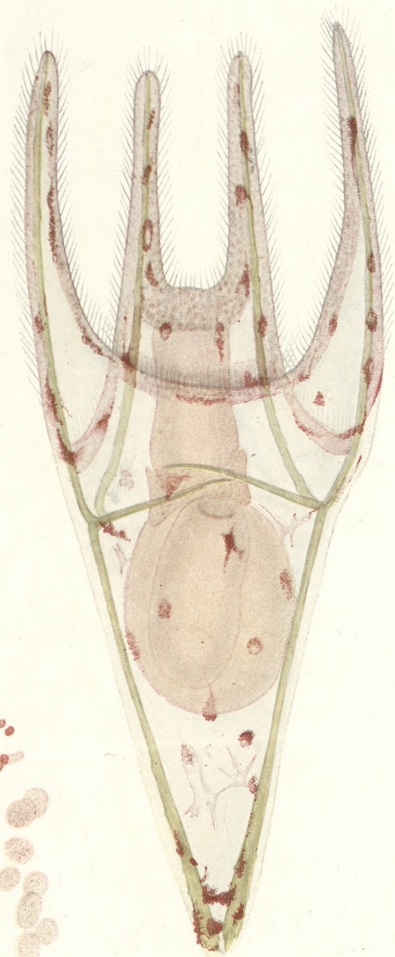


Fig. 8.



Fig. 5. Sechzehnzelliges Furchungsstadium, von unten gesehen. Intra vitam. Vergr. 530.

Fig. 6. Rosette der Enchymoblasten desselben Keimes im sechzigzelligem Furchungsstadium. Vergr. 530.

Fig. 7. Pluteus aus demselben Ei, 110 Stunden nach der Befruchtung. Formalinwasser. Vergr. 275.

Fig. 8. Pluteus aus einem normal pigmentierten Ei, 100 Stunden nach der Befruchtung. Formalinwasser. Vergr. 275.

Fig. 9. Chromatophoren aus Larven gleichen Alters. *a.* Eine zugerundete Pigmentzelle mit spärlichen Pigmentkörnchen. Beide aus der Rückengegend des Pluteus. Formalinwasser. Vergr. 2150.

Fig. 10. Eine längliche Pigmentzelle mit reichlichen Pigmentkörnchen, samt Skelettnadel; aus einem Armfortsatze. Rechts Zellkerne der Vibrisse. Formalinwasser. Vergr. 2150.

---

49. M. LAD. MICHALSKI. O działaniu niektórych alkaloidów na karaczana. (*Stylopyga orientalis*). (Über die Einwirkung einiger Alkaloide auf die Küchenschaben). (*Sur l'action des certains alcaloïdes sur les blattes*). Mémoire présenté par M. M. Siedlecki m. c.

Bei Gelegenheit von Untersuchungen über die Atmung der Küchenschaben versuchte ich behufs Lähmung der motorischen Zentren Strychnin anzuwenden, welches ich den Tieren in die Leibeshöhle einspritzte. Der Versuch blieb resultatlos, da das Tier nicht die geringsten Spuren einer Vergiftung zeigte. Eine nur wenig größere Dosis, die einem Frosch injiziert wurde, ergab ausgesprochene Vergiftungssymptome. Durch diese Erscheinungen angeregt, unternahm ich es, die Wirkung verschiedener Alkaloide auf die Küchenschaben zu prüfen.

Als Material wählte ich die Küchenschaben, weil diese jederzeit leicht und in größerer Masse zu beschaffen sind. Ich hielt die Küchenschaben in geräumigen Glasgefäßen, auf deren Boden feuchtes Fließpapier gelegt war. Die Glasgefäße standen im Winter in der Nähe eines Ofens. Diese Methode erwies sich als die geeignetste, um einen größeren Vorrat von Schaben am Leben zu erhalten. Als Nahrung gab ich denselben Albertcakes, welche sie gerne aßen und dabei Kokons ablegten.

Um die Wirkung des Alkaloids auf die Küchenschabe zu prüfen, verfuhr ich auf dreierlei Weise: 1) ich fütterte die Tiere mit einer Nahrung, welche mit verschiedenen Alkaloiden getränkt war,

2) ich injizierte den Tieren das Gift in die Leibeshöhle und 3) spritzte ihnen per anum verschiedene Alkaloide von verschiedener Konzentration ein.

Das Verhalten der Tiere in jeder Versuchsreihe wurde genau protokolliert.

### I. Untersuchungen über den Einfluß der Alkaloide, welche der Nahrung beigefügt waren.

Vor dem Versuche ließ ich die Schaben einige Tage aushungern, damit sie die vorher genommene Nahrung entleeren könnten. Wie ich mich überzeugen konnte, hat ein längeres Hungern keinen sichtbaren Einfluß auf die Tiere. Sie können sogar mehrere Monate ohne Nahrung aushalten. Aus den Albertcakes stellte ich durch Zerreiben, Anfeuchten, Durchkneten und Auswalken kleine Tabletten her, welche ich nach Austrocknen mit einer wässerigen Lösung der Alkaloide tränkte. Die so zubereiteten Tabletten wurden auf Uhrgläsern in die Glasgefäße mit Küchenschaben gestellt. Sowohl das Gewicht der Schaben, wie das der Tabletten wurden durch die Wage bestimmt.

#### *Strychnin (Strychninum nitricum).*

11. X. 1904. Zehn Küchenschaben, welche zusammen 4 G. wogen, gab ich 4 Tabletten von 21·28 Cg. Gewicht. Die Tabletten waren mit acht großen Tropfen einer 1% Lösung von Strychnin getränkt.

Am 17. X. 1904, also nach sechs Tagen waren die Tiere um 14 Cg. schwerer. Die Tabletten von 11. X. waren verzehrt. Die Tiere erhielten 4 neue Tabletten.

24. X. Die Tabletten von 17. X. waren verzehrt und wurden durch neue ersetzt.

30. X. Eine Küchenschabe tot.

3. XI. Ein Weibchen hat ein Kokon gelegt.

6. XI. Die Tabletten vom 24. X. waren verzehrt, sie wurden durch neue ersetzt.

11. XI. Die Tabletten vom 6. XI verzehrt, sie wurden durch neue ersetzt.

18. XI. Die Tabletten vom 11. XI. verzehrt und wurden durch neue ersetzt.

24. XI. Alle Küchenschaben sind lebend und normal; infolgedessen wurde der Versuch abgebrochen.



Wir können also die Wirkung von Strychnin bei solcher Konzentration und geringen Dosen als unschädlich betrachten.

*Chinin (Chininum hydrochloricum).*

Bei der Bereitung der Nahrung wurden auf 10 G. Tabletten 8 Dcg. Chininum hydrochloricum (in substantia) gegeben. Die so zubereiteten Tabletten wurden den Schaben als Nahrung gereicht. Doch fand ich nur einmal während mehrerer Wochen eine Tablette angefressen. Im übrigen berührten die Schaben selbst nach längerer Zeit keine Tabletten, verzehrten sich dagegen gegenseitig.

Hieraus folgt, daß die Tiere gegen Chinin Widerwillen haben, wovon ich mich auch noch später überzeigte, da injizierte Tiere sich gegenseitig niemals angriffen. Bei Injektionen mit anderen Alkaloiden fraßen sich die Tiere vielfach auf, wobei gewöhnlich ein bereits geschwächtes Tier anderen zum Opfer fiel.

Aus diesen Versuchen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Tiere die Fähigkeit besitzen, durch Geschmack oder Geruch die Nahrungsstoffe zu unterscheiden.

*Morphium (Morphinum hydrochloricum).*

Die Resultate mit Morphinum sind denen mit Strychnin analog, d. h. das Alkaloid blieb wirkungslos selbst dann, wenn die Tabletten mit 5% Lösung getränkt waren.

*Kokain (Cocainum hydrochloricum).*

Die Versuche mit Kokain stießen auf Schwierigkeiten, insofern als die getränkten Tabletten sich am dritten Tage mit Schimmel bedeckten. Infolgedessen wurden die Versuche aufgegeben.

*Curare*<sup>1)</sup>.

11. X. 1904. Zehn Küchenschaben, welche zusammen 5·5 G. wogen, gab ich 4 Tabletten von 21·28 Cg. Gewicht. Die Tabletten waren mit 10 großen Tropfen einer 1% Lösung von Curare getränkt.

15. X. Die Tabletten vom 11. X. waren verzehrt. Die Tiere erhielten vier neue Tabletten, wie vorher.

Am 17. X., also nach sechs Tagen, waren die Tiere um 12 Cg. schwerer.

<sup>1)</sup> In der Apotheke gekauft.

21. X. Die Tabletten vom 15. X. waren verzehrt. Die Tiere erhielten vier neue.

Auf diese Weise setzte ich die Versuche mit Curare bis zum 24. XI. fort und überzeugte mich, daß das Curare bei solcher Konzentration ganz unschädlich ist.

Aus obigen Versuchen geht hervor, daß Strychnin, Morphin, Curare, welche mit der Nahrung in den Organismus eingeführt waren, weder tödlich wirken, noch die Lebensfunktionen in merklicher Weise beeinträchtigen, da das Gewicht der Tiere größer wurde und die Vermehrungsfähigkeit nicht verringert wurde. Diese Widerstandsfähigkeit des Organismus ist wohl dadurch zu erklären, daß die Dosen der Alkaloide, welche durch die Nahrung in den Organismus gelangten, sehr gering waren.

Es läßt sich vermuten, daß andere Orthopteren, bei denen der Stoffwechsel ähnlich wie bei den Küchenschaben verlaufen mag, gegen geringe Dosen von Alkaloiden ebenso widerstandsfähig sein können wie diese. Nur so kann man verstehen, daß verschiedene pflanzenfressende Orthopteren, wie z. B. Oedipoda, jegliche Pflanzen verzehren können ohne Rücksicht darauf, ob dieselben Alkaloide enthalten oder nicht.

## II. Die Wirkung der Alkaloide, die entweder in die Leibeshöhle injiziert oder in den Darmkanal eingeführt wurden.

Bei diesen Versuchen, verfuhr ich nach folgender Methode: Mit Hilfe einer dünnen Glaskanüle, deren Ende ausgezogen und in der Flamme zu einer winzigen Kugel abgestumpft war (um die inneren Organe des Tieres nicht zu beschädigen), injizierte ich den Küchenschaben Lösungen von Alkaloiden, indem ich mit einer 8% Lösung begann und diese dann sukzessive um die Hälfte verdünnte. Die Kanüle war auf  $\frac{1}{20}$  CC genau kalibriert und diese Menge wurde in allen folgenden Versuchen in den Körper eingeführt. Die Injektionen wurden in zweifacher Weise ausgeführt: 1) unter das erste oder zweite Segment an den Seiten des Abdomens, nicht in das Herz, wobei jede größere Verwundung vermieden wurde, 2) per anum. Bei ersterem Injektionsverfahren drang nach dem Herausziehen der Kanüle manchmal ein kleiner, trüber Flüssigkeitstropfen unter dem Segment hervor.

Bei dem anderen Injektionsverfahren füllte die injizierte Flüssigkeit

sigkeitsmenge den ganzen Darmkanal aus, ohne daß eine Spur davon nach außen drang. Ich überzeugte mich davon, daß der ganze Darmkanal gefüllt war, auf diese Weise, daß ich dem Tiere  $\frac{1}{20}$  CC in Wasser zerriebene Tusche per anum injizierte und darauf das Tier sektionierte. Der ganze Darmkanal war bis zum Kropf mit Tusche gefüllt, ja sogar die Tracheen, welche, wie Petrunkiewicz<sup>1)</sup> beschreibt, mit dem Darmkanal in Kommunikation stehen.

Erst nach einer Reihe von Versuchen gelang es mir, die Tiere in der einen oder anderen Weise ohne wesentliche Beschädigung zu injizieren. Die Versuche wurden mit dem binokularen Mikroskop ausgeführt, wobei ich beide Hände auf dem Tische aufgestützt hielt, um dadurch jegliche größere Beschädigung des Tieres zu vermeiden. Die Tiere wurden nach der Injektion in Glasgefäßen in einer Dunkelkammer, welche Zimmertemperatur besaß, gehalten. Die Glasgefäße wurden möglichst rein gehalten und waren behufs Durchlüftung nur teilweise bedeckt. Die Tiere wurden nach jedem Versuch nicht weiter ernährt, da ich mich überzeugt hatte, daß die Küchenschaben unter normalen Bedingungen 2—3 Monate hungern können. Wenn also die injizierten Tiere den gleichen Zeitabschnitt von 2—3 Monaten überstanden hatten, betrachtete ich sie als normal. Die Alkaloide stammten aus der Fabrik von Merck, und ich verdanke sie größtenteils der Güte des Herrn Professor Łazarski. Ich löste dieselben in destilliertem Wasser. Es wurden folgende Alkaloide in Anwendung gebracht: 1) Chinin, 2) Morphin, 3) Kokain, 4) Koffein, 5) Apomorphin, 6) Veratrin, 7) Strychnin, 8) Nikotin, 9) Muskarin, 10) Pilokarpin, 11) Atropin.

*Chinin (Chininum hydrochloricum).*

8% Chininlösung ruft, in die Leibeshöhle injiziert, anfangs eine mehrere Sekunden dauernde Exzitation hervor, welche sich in lebhaftem Herumlaufen im Glasgefäß äußert. Die Exzitation ist keineswegs als eine Folgeerscheinung des Einführens der Flüssigkeit in die Leibeshöhle anzusehen, da eine entsprechende Dosis destillierten Wassers, keine derartige Wirkung hat. Nach dem Ex-

<sup>1)</sup> Petrunkiewicz. Die Verdauungsorgane von *Periplaneta orientalis* und *Blatta germanica*. Histologische und physiologische Studien. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. und Ontog. B. 13. 1899.

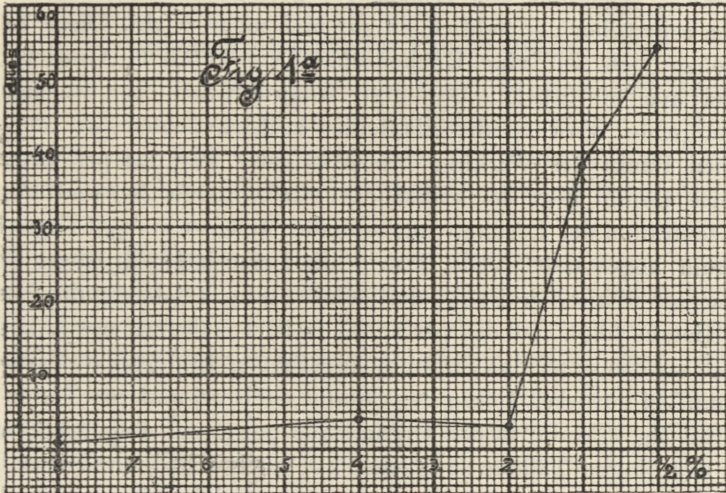
zitationsstadium erfolgt Paralyse aller Extremitäten; trotzdem lebt das Tier noch einige Stunden, was aus den minimalen Bewegungen der Kauwerkzeuge zu ersehen ist. Kneift man das Tier an den Fühlern mit einer Pinzette, so reagiert es nicht, wahrscheinlich infolge der bestehenden Anästhesierung. Fast gleiche Erscheinungen ruft 8% Chininlösung hervor, welche per anum eingeführt wurde, nur folgen auf das Exzitationsstadium krampfartige Zuckungen und dann die Paralyse. Nach der Injektion einer 4% Lösung, sei es in die Leibeshöhle, sei es per anum, treten die gleichen Erscheinungen zutage, wie nach einer 8% Lösung doch etwas später. Eine 2% in die Leibeshöhle injizierte Lösung ruft noch eine bedeutende Schwächung hervor, ohne jedoch zum Tode zu führen. Die Tiere überstehen die zeitweilige Schwächung, befinden sich am anderen Tage nach dem Versuche viel besser, indem die Vergiftungserscheinungen vollkommen zurücktreten. Eine 2% per anum eingeführte Lösung wirkt noch sehr schädlich, indem die Schwäche bestehen bleibt und Paralyse der Extremitäten erfolgt. Erst eine 1%, in die Leibeshöhle oder per anum injizierte Lösung, vertragen die Tiere ohne Schädigung.

Die Wirkungsweise des Chiniñs können wir uns in folgender Tabelle I. veranschaulichen:

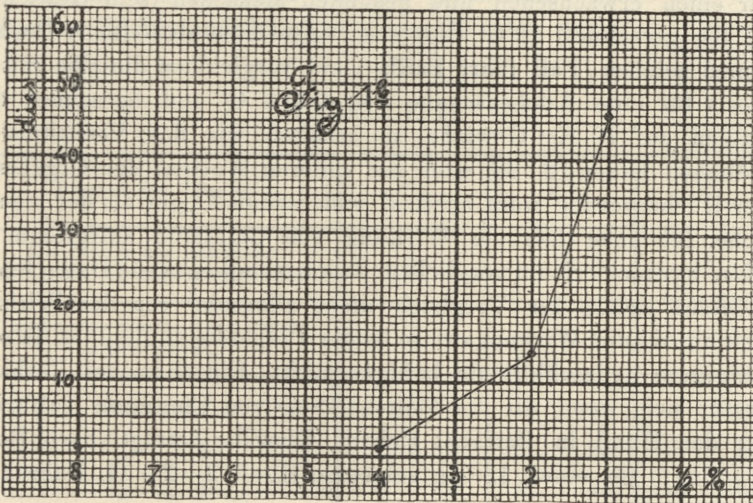
TABELLE I.

Prozent der Lösung	8%		4%		2%		1%		1/2%	
Die Menge des Alkaloids in 1/20 C C, in Mg ausgedrückt.	4		2		1		1/2		1/4	
Injektionsweise a = per anum s = Segment.	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	1	1	1	1	1	3	16	10	—
„ „ 2	1	1	1	1	2	6	4	30	16	—
„ „ 3	1	1	1	1	2	7	21	51	58	—
„ „ 4	1	1	6	1	5	23	68	58	71	—
„ „ 5	1	1	11	3	5	35	93	75	118	—
Das Mittel aus der Länge des Lebens in Tagen ausgedrückt.	1	1	4	1	3	14	38	46	54	—

Zeichnen wir uns auf den Ordinaten die Zeitdauer, in Tagen ausgedrückt, und auf der Abszisse die Konzentration der Lösung



Chinin in den Darmkanal injiziert.



Chinin in die Leibeshöhle injiziert.

in Prozenten auf, so ersehen wir sowohl aus der Tabelle wie aus den Kurven (Fig. 1 a und b), daß das in die Leibeshöhle injizierte

Chinin schwächer wirkt als das per anum eingeführte. Ferner sehen wir, daß das per anum injizierte Chinin in einer Konzentration von 8%—2% schädlich, eine Lösung von geringeren Konzentration dagegen schwächer und schließlich gar nicht mehr wirkt. Diese Zahlen beziehen sich auf eine Küchenschabe von 0·714 G. Gewicht (das Mittel aus 50 Stück). Diejenige Konzentration, bei welcher die schädigende Wirkung des Alkaloides aufhört, nennen wir den kritischen Punkt der Wirkung des Alkaloids. Für das per anum injizierte Chinin liegt der kritische Punkt zwischen 2% und 1% der Konzentration der Lösung, welche in der Menge von  $\frac{1}{20}$  CC pro Individuum angewandt wurde. Das in die Leibeshöhle injizierte Chinin hat seinen kritischen Punkt der Wirkung bei 4%—1% der Lösung.

Hieraus folgt, daß das per anum injizierte Chinin etwas heftiger wirkt als das unter das Segment eingeführte. Ein Exzitationsstadium kommt bei gewissen Dosen des Chinins auch bei anderen Tieren vor.

Ein Mg. Chinin, in den Organismus per anum eingeführt, wirkt wie aus obiger Tabelle zu ersehen ist, noch schädlich. Diese Dosis erscheint im Vergleich mit derjenigen, welche für andere Tiere tödlich ist, für die Küchenschabe sehr groß. Nehmen wir nämlich für einen erwachsenen und gesunden Menschen (sein Gewicht zu 70 Kg gerechnet) 12 G. Chininum sulfuricum als tödliche Dosis an (einen solchen Fall führt Baills<sup>1)</sup> an) vergleichen dieselbe mit der Dosis für eine Küchenschabe von 0·714 G und berechnen diese Zahlen auf 70 Kg Gewicht, so erhalten wir das Verhältnis der tödlichen Dosen 12 : 98, oder mit anderen Worten: der Organismus der Küchenschabe wäre achtmal widerstandsfähiger als der menschliche. Ich habe hier die Wirkung von Chininum sulfuricum mit Chin. hydrochloricum verglichen, da mir entsprechende Daten fehlten, indessen weicht der Vergleich nicht allzusehr von der Wirklichkeit ab, da die Wirkungsweise beider Präparate ähnlich ist, ja sogar Chininum hydrochloricum heftiger wirkt. Ein ähnliches Verhältnis ergibt sich, wenn wir die tödliche Dosis von Chininum sulfuricum für den Hund in Betracht ziehen. Dieselbe beträgt (nach Rochefontaine<sup>2)</sup> für einen 12 Kg schweren Hund 2—2·5 G. Führen wir

<sup>1)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogl. — Lehrbuch der Arzneimittellehre. Wien 1891.

<sup>2)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogl. — Lehrbuch der Arzneimittellehre. Wien 1891.

die gleiche Rechnung wie vorher aus, so erhalten wir das Verhältnis der tödlichen Dosen 2 : 16, d. h. der Organismus der Küchenschabe ist achtmal widerstandsfähiger als der des Hundes.

*Morphin (Morphinum hydrochloricum).*

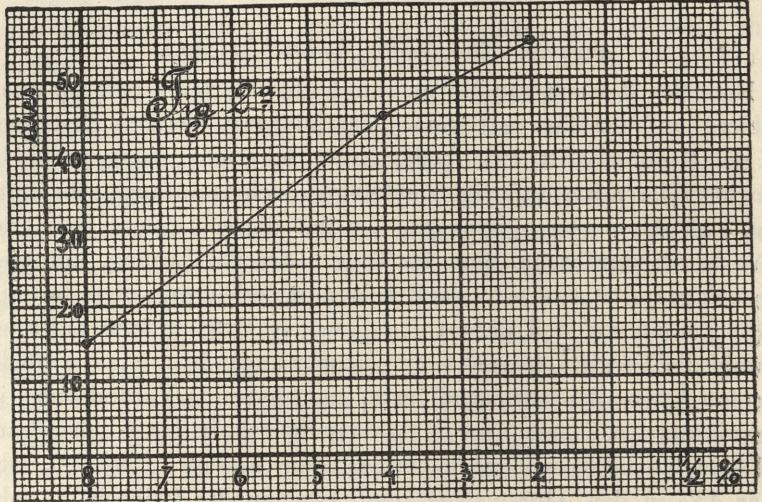
Eine 8% Lösung von Morphinum hydrochloricum ruft per anum injiziert anfangs fast gar keine Veränderung hervor. Erst nach einigen Minuten tritt eine bedeutende Schwäche zutage und bei manchen Tieren krampfartige Zuckungen, welche anfangs sehr heftig sind, sich dann aber verringern. Die mit dieser Lösung injizierten Tiere lebten durchschnittlich 15 Tage. Dieselbe Lösung, unter ein Segment gespritzt, ruft ähnliche Erscheinungen hervor, indem krampfartige Zuckungen und darauf Paralyse der Extremitäten auftreten. Obwohl die Vergiftungserscheinungen sehr augenfällig sind, ruft das Morphin keine allzusehr schädigende und bleibende Veränderung im Organismus des Tieres hervor, da dasselbe relativ lange leben kann und sein Zustand sich nach einiger Zeit bessert. Eine 2% oder sogar 4% in den Organismus, und zwar in die Leibeshöhle oder per anum eingeführte Lösung hat keine sichtbaren Folgen.

Folgende Tabelle stellt uns die Lebensdauer jedes der Tiere und seine Widerstandsfähigkeit gegen Morphin dar.

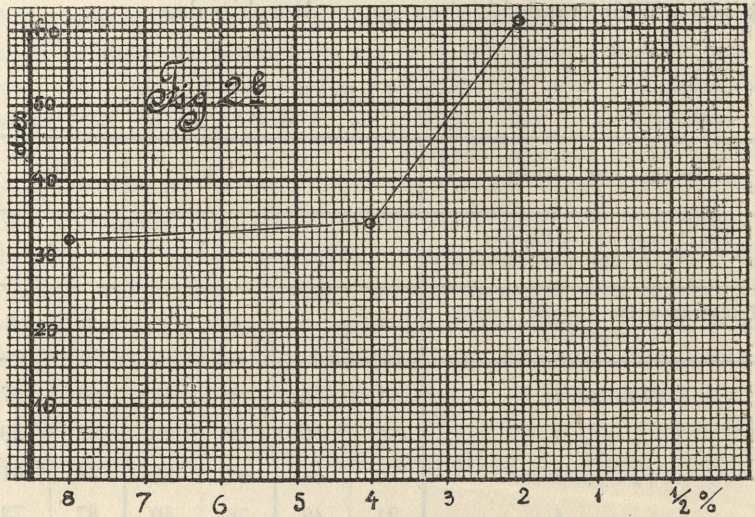
TABELLE II.

Prozent der Lösung	8%		4%		2%	
Die Menge des Alkaloids in $\frac{1}{20}$ CC in Mg. ausgedrückt.	4		2		1	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment.	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	5	4	7	5	17
" " 2	1	7	22	29	43	59
" " 3	6	33	37	33	44	61
" " 4	21	42	78	40	87	79
" " 5	48	74	83	63	95	93
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	15	32	45	34	55	61

Aus der Tabelle und den Kurven (Fig. 2 a und b) ergibt sich, daß selbst die 8% in die Leibeshöhle oder den Darmkanal eingeführte



Morphin in den Darmkanal injiziert.



Morphin in die Leibeshöhle injiziert.

Lösung, zwar unzweifelhafte Wirkungen zeigt, aber dem Organismus keinen übermäßigen Schaden bringt, da die injizierten Tiere



lange am Leben bleiben. Die Kurve erhebt sich ohne wesentliche Schwankung plötzlich ziemlich bedeutend.

Es ist bekannt, daß das Morphin auf den Menschen und auf die Tiere sehr energisch wirkt. Levin<sup>1)</sup> gibt als durchschnittliche tödliche Dosis für den Menschen 0·4 g. an. Eine kaum 100 mal schwächere Dosis wirkt gar nicht auf die Küchenschabe, welche etwa 7000 mal weniger wiegt; infolgedessen würde die Widerstandsfähigkeit der Küchenschabe gegen Morphin mehr als das 700—1000 fache im Vergleich mit der des Menschen betragen. Trotz der schwachen Wirkung des Morphins auf die Küchenschabe läßt sich ein kritischer Punkt der Wirkung allerdings nur bei Injektionen in die Leibeshöhle feststellen. Derselbe würde zwischen 4‰—2‰ der Konzentration liegen.

#### *Kokain (Cocainum hydrochloricum)*

Eine 4‰ und eine 8‰ per anum injizierte Lösung hat nicht den geringsten sichtbaren Einfluß; die Tiere verhalten sich normal.

Injizieren wir jedoch eine 8‰, 4‰ oder 2‰ Lösung unter ein Segment, so verhält sich das Tier anders. Nach der Injektion der 8‰ Lösung treten sofort heftige aber kurz dauernde krampfartige Zuckungen auf und darauf völlige Paralyse der Extremitäten. Ganz ähnliche Erscheinungen treten bei Tieren auf, welchen eine 4‰—2‰ Lösung unter ein Segment injiziert wurde, nämlich krampfartige Zuckungen und Paralyse der Extremitäten. Letztere schreitet von der Injektionsstelle, mithin von dem dritten Extremitätenpaare gegen den Kopf vor. Krampfartige Zuckungen beobachtete ich noch am nächsten Tage nach dem Versuch. Diese waren sogar bei 2‰ Injektion deutlicher sichtbar als bei 8‰ und 4‰-iger. Erst eine 1‰—1/2‰ Lösung in die Leibeshöhle injizierte Lösung hat keinen Einfluß. Der Unterschied zwischen der Wirkung einer 2‰ und einer 1‰ Lösung ist sehr augenfällig, da die Tiere zwar sehr geschwächt sind, dennoch gut gehen können. Eine 1‰ Lösung verursacht keine Schwächung; alle Küchenschaben liefen ungehindert herum wie normale Tiere.

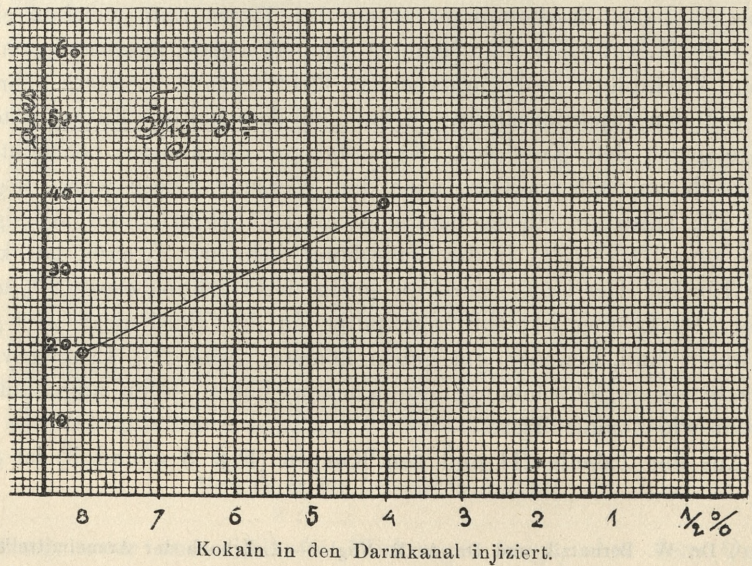
Aus der Tabelle III und den Kurven (Fig. 3 a und b) ist die

<sup>1)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogl. — Lehrbuch der Arzneimittellhere Wien 1891.

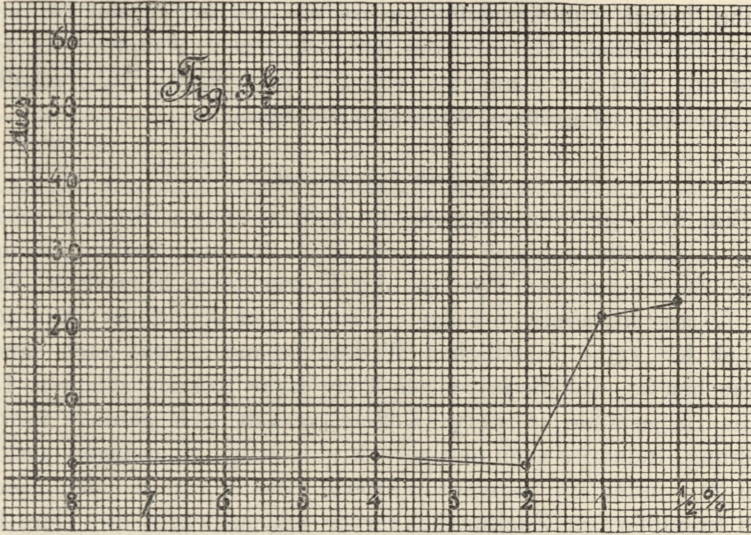
Wirkung des Kokains leicht zu ersehen. Der kritische Punkt der Wirkung des Kokains liegt zwischen der 1% und 2% Lösung.

TABELLE III.

Prozent der Lösung	8%		4%		2%		1%		1/2%	
Die Menge des Alkaloids in 1/20 C C, in Mg. ausgedrückt	4		2		1		1/2		1/4	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	3	1	2	2	—	2	—	2	—	5
„ „ 2	5	2	5	2	—	2	—	3	—	8
„ „ 3	11	2	49	2	—	2	—	6	—	9
„ „ 4	29	2	56	3	—	2	—	11	—	13
„ „ 5	45	2	83	4	—	3	—	86	—	84
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	19	2	39	3	—	2	—	22	—	24



Bei keinem der benutzten Alkaloide tritt der Unterschied in der Wirkung des in die Leibeshöhle und in den Darmkanal injizierten



Kokain in die Leibeshöhle injiziert.

Alkaloids so deutlich zutage wie bei Kokain. Man könnte sich den Unterschied in der Wirkungsweise der Alkaloide, welche auf verschiedenem Wege in den Organismus eingeführt wurden so erklären, daß das Alkaloid, welches in die alle Zellen umgebende Flüssigkeit eingeführt wurde, leichter und schneller wirkt als dasjenige, welches relativ langsam aus dem Darmkanale resorbiert wird. Es ist dies bei höheren Tieren Regel. So z. B. wirkt Kurare, welches ein Gemenge von verschiedenen Alkaloiden darstellt, warmblütigen Tieren subkutan injiziert tödlich, ist dagegen fast ganz unschädlich, wenn es innerlich genommen wird. Das eingenommene Kurare dringt nicht nur langsamer zu den Nervenendigungen vor, sondern wird auch zum Teil durch die Nieren ausgeschieden. Es ist kaum anzunehmen, daß bei der Küchenschabe das Kokain ähnlich wie das Kurare durch den Exkretionsapparat ausgeschieden wird, vielmehr ist zu vermuten, daß dasselbe in irgend einer Weise im Darmkanal und vielleicht auch in den Exkretionsgefäßen in eine für den Organismus unschädliche Verbindung übergeführt wird. Allerdings fehlen mir die entsprechenden Beweise dafür.

Vergleichen wir wiederum die tödlichen Dosen des Kokains für höhere Thiere und die Küchenschabe, so finden wir bei der Annahme einer 1% Lösung als schädlicher Dosis, daß die Küchenschabe 7 mal widerstandsfähiger ist, als das Kaninchen (Anrep<sup>1</sup>) nimmt die tödliche Gabe für das Kaninchen zu 0.1 G pro 1 Kg Gewicht an). Bei der Annahme von 2% als tödliche Gabe erhalten wir eine 14 mal größere Widerstandsfähigkeit.

#### *Koffein (Coffeinum).*

Eine 8% per anum eingespritzte Koffeinlösung wirkt sehr schädlich, da dieselbe sogleich nach der Injektion sehr heftige krampfartige Zuckungen und Paralyse der Extremitäten hervorruft. Eine 4% Lösung hat ähnliche Folgen, wirkt jedoch schwächer. Eine 2% endlich hat keine schädlichen Wirkungen mehr, was auch daraus zu ersehen ist, daß die injizierten Tiere sogar Kokons ablegten. Das in die Leibeshöhle injizierte Koffein verhält sich ähnlich in der Wirkung, indem es noch heftigere krampfartige Zuckungen auslöst. Eine 2% unter ein Segment injizierte Lösung ruft bei den Tieren noch krampfartige Zuckungen hervor und schwächt die Tiere bedeutend, was bei der gleichen Konzentration der per anum eingeführten Lösung nicht der Fall war. In den Wirkungen verhält sich das Koffein ähnlich wie das Kokain. Eine 1% unter ein Segment injizierte Koffeinlösung schwächt die Tiere nur; eine 1/2% Lösung ist ohne Wirkung, wie aus der Tabelle IV. zu ersehen ist. Der kritische Punkt der Wirkung des Koffeins, der am besten aus den Kurven (Fig. 4 a und b) zu ersehen ist, liegt bei der Injektion per anum zwischen einer 4%—1% Lösung, bei der Injektion in die Leibeshöhle zwischen 2%—1%. Als tödliche Gabe ist für eine Küchenschabe von 0.714 G Gewicht 1/2 Mg anzusehen. Charakteristisch für die Koffeinwirkung ist die Erregung der Tiere unmittelbar nach der Injektion, eine Erscheinung wie sie auch bei höheren Tieren auftritt.

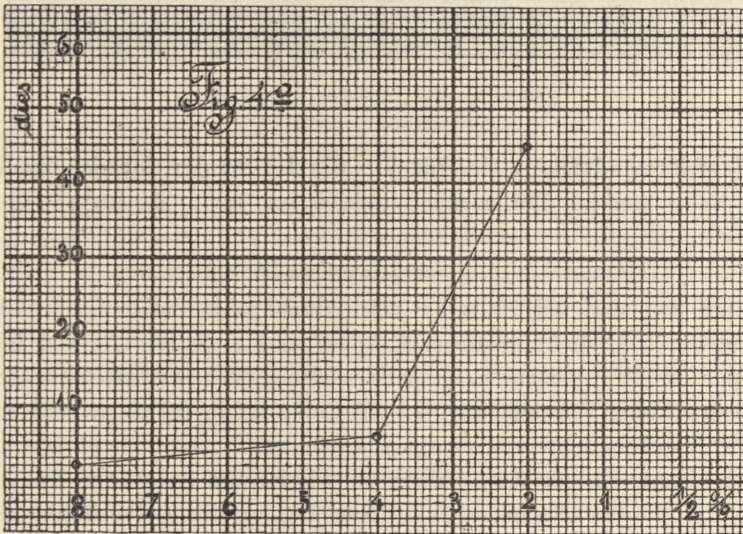
Vergleichen wir die Wirkung des Koffeins auf höhere Tiere mit der auf die Küchenschabe, so sehen wir, daß das Kaninchen und die Katze<sup>2</sup>), auf welche eine in die Gefäße eingespritzte Dosis

<sup>1</sup>) O. Schmiedeberg — Grundriß der Pharmakologie in Bezug auf Arzneimittellehre und Toxikologie — Leipzig. 1902.

<sup>2</sup>) O. Schmiedeberg — Grundriß der Pharmakologie in Bezug auf Arzneimittellehre und Toxikologie Leipzig 1902.

TABELLE IV.

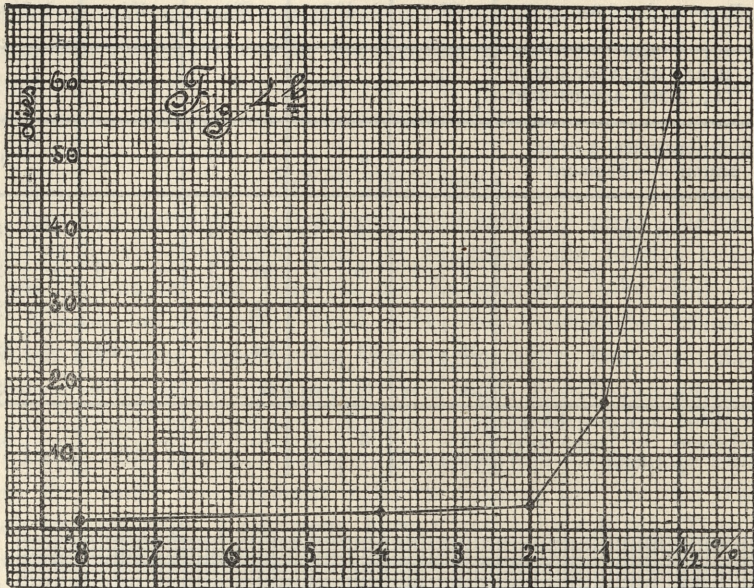
Prozent der Lösung	8%		4%		2%		1%		1/2%	
Die Menge des Alkaloids in 1/20 C C, in Mg. ausgedrückt	4		2		1		1/2		1/4	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	1	3	1	21	1	—	1	—	28
" " 2	1	1	6	1	44	1	—	6	—	42
" " 3	1	1	6	1	48	3	—	7	—	72
" " 4	2	1	11	2	54	3	—	35	—	82
" " 5	3	1	1) <sup>1)</sup>	4	60	6	—	35	—	82
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	2	1	6	2	45	3	—	17	—	61



Koffein in den Darmkanal injiziert.

<sup>1)</sup> Ein Exemplar ist mir unbemerkt verloren gegangen.

von 0·08—0·1 G. tödlich wirkt, eine 8 mal geringere Widerstandsfähigkeit als die Küchenschabe besitzen; der Hund ist 16 mal we-



Koffein in die Leibeshöhle injiziert.

niger widerstandsfähig, da für ihn die Hälfte der für das Kaninchen hinreichenden Dosis schon tödlich ist.

#### *Apomorphin (Apomorphinum hydrochloricum).*

Eine 8% und 4% Lösung von Apomorphin habe ich infolge der schweren Löslichkeit dieses Körpers nicht erhalten können. Eine 2% per anum injizierte Lösung ist wirkungslos, wenigstens zeigten die Tiere keine Veränderung. In die Leibeshöhle injiziert, schwächt sie die Tiere bedeutend, wenigstens können sie sich nicht frei bewegen. Nach einiger Zeit jedoch schwindet die Schwäche und die Tiere kehren zur Norm zurück. Eine 1%, in die Leibeshöhle injizierte Lösung bewirkte eine nur vorübergehende Schwäche ohne die Bewegungsfähigkeit der Tiere zu stören.

Die Wirkungsweise des Apomorphins ist in der Tabelle V. zusammengestellt. In Anbetracht der schwachen Wirkung dieses Alkaloids auf die Küchenschaben lassen sich die Vergiftungserscheinungen

TABELLE V.

Prozent der Lösung	2%		1%	
Die Menge des Alkaloids in $\frac{1}{20}$ CC, in Mg. ausgedrückt	1		$\frac{1}{2}$	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	4	2	—	38
" " 2	7	4	—	49
" " 3	50	9	—	51
" " 4	73	13	—	72
" " 5	82	72	—	72
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in den Tagen ausgedrückt.	43	20	—	56

mungen mit denjenigen der höheren Tiere nicht vergleichen. Im allgemeinen ist das Apomorphin in wässriger Lösung als wenig schädlich für die Kitchenschabe anzusehen.

#### *Veratrin (Veratrinum).*

Eine 8% Lösung ließ sich infolge der schweren Löslichkeit dieses Alkaloids nicht herstellen und eine 4% Lösung erhielt ich erst nach Zusatz von zwei Tropfen konzentrierter Salzsäure zu 20 CC der wässriger Lösung. Das Veratrin gehört zu den am heftigsten wirkenden Alkaloiden, daher mußte ich bis zu einer sehr schwachen ( $\frac{1}{128}$ %) Lösung herabgehen, um seine Wirkung genau festzustellen. Der Unterschied in der Applikationsweise tritt bei diesem Alkaloid viel deutlicher zutage als bei anderen Alkaloiden. Lösungen von 4%, 2%, 1% bis zu  $\frac{1}{20}$  CC in die Leibeshöhle injiziert bewirken einen augenblicklichen Stillstand jeglicher Bewegungen. Die Tiere geben fast sofort zugrunde. Selbst mit  $\frac{1}{2}$ %,  $\frac{1}{4}$ %,  $\frac{1}{8}$ %,  $\frac{1}{16}$ %,  $\frac{1}{32}$ % Lösungen wurde eine bedeutende Schwächung der Tiere und gänzliche Hemmung der Bewegung bewirkt. Ein solcher Zustand dauerte jedoch nur eine kurze Zeit, darauf folgten krampfartige Zuckungen, welche sich anfangs häufig und rhythmisch wiederholten, nach einigen Stunden schwächer wurden

und selbst am folgenden Tage, falls das Tier noch lebte, zwar schwach aber noch deutlich auftraten. Die so geschwächten Tiere konnten natürlicherweise nicht gehen. Eine Lösung von  $\frac{1}{64}\%$  bewirkt noch eine Hemmung der Bewegung und krampfartige Zuckungen, doch können diese Erscheinungen nach 24 Stunden gänzlich schwinden; trotz dieser Besserung des Zustandes geht ein großer Teil der Tiere zugrunde. Erst eine Lösung von  $\frac{1}{128}\%$ , welche in  $\frac{1}{20}$  CC kaum 0,004 Mg enthält, wirkt schwächer, da die Tiere obwohl sie unmittelbar nach dem Versuch geschwächt waren, ja sogar Anzeichen einer Paralyse der hinteren Extremitäten zeigten, dennoch nach 24 Stunden zur Norm zurückkehrten.

Wenn ich die Küchenschaben per anum mit schwachen oder starken Lösungen injizierte, erhielt ich stets die gleichen Erscheinungen, welche sich nur graduell unterschieden. Unmittelbar nach der Injektion zeigten die Tiere eine erhöhte Beweglichkeit, fingen dann an, schwach zu werden, fielen auf den Rücken und lagen einige Zeit völlig bewegungslos, selbst ohne mit den Fühlern zu zucken. Dieses Ruhestadium dauerte ziemlich lange, dann erst traten heftige, krampfartige Zuckungen der Extremitäten und des ganzen Abdomens auf. Der Anfall ging bald vorüber und wiederum lag das Tier bewegungslos da. In dieser Weise wiederholten sich diese Erscheinungen rhythmisch. Bei einigen Küchenschaben ließen sich krampfartige Zuckungen, überdies noch auch an den Fühlern beobachten, welche mit den Bewegungen eines an einem Ende befestigten Stabes Ähnlichkeit hatten.

Das Veratrin steigert auch die Sekretionstätigkeit, da die Oberfläche des Körpers der injizierten Tiere mit sehr feinen Tröpfchen gleichsam wie mit Schweiß bedeckt war. Die Menge des Sekretes mußte ziemlich bedeutend sein, da der ganze Boden des Glasgefäßes, in welchem die Tiere aufbewahrt wurden, bald nach dem Versuche feucht war. Die obigen Erscheinungen habe ich noch ganz deutlich nach Einführung einer Lösung von  $\frac{1}{8}\%$  beobachtet. Erst eine Lösung von  $\frac{1}{32}\%$  brachte keine Veränderung mehr hervor.

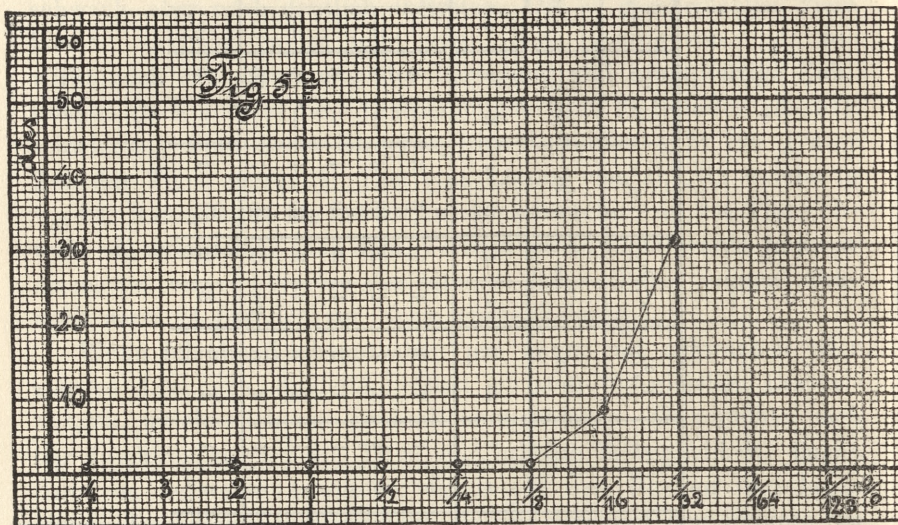
Sowohl in der Tabelle VI. wie auch aus den Kurven (Fig. 5 a und b) ersieht man, daß das in die Leibeshöhle eingespritzte Veratrin unvergleichlich heftiger wirkt als das in den Darmkanal eingeführte.

Bekanntlich gehört das Veratrin zu den für höhere Tiere am heftigsten wirkenden Giften und dasselbe gilt auch für die Kü-

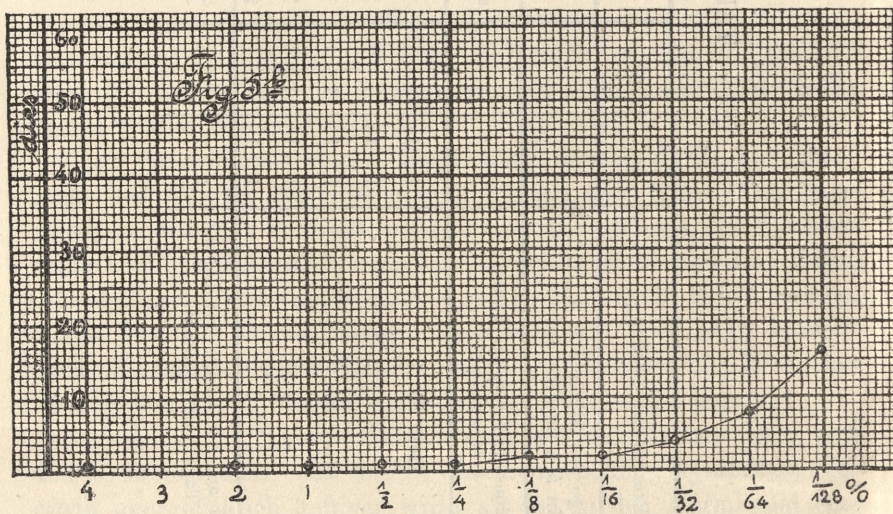


TABELLE VI.

Prozent der Lösung	$4^0/0$	$2^0/0$	$1^0/0$	$1/2^0/0$	$1/4^0/0$	$1/8^0/0$	$1/16^0/0$	$1/32^0/0$	$1/64^0/0$	$1/128^0/0$	$1/256^0/0$
Die Menge des Alkaloid in $1/20$ CC in Mg. ausgedrückt	2	1	$1/2$	$1/4$	$1/8$	$1/16$	$1/32$	$1/64$	$1/128$	$1/256$	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s	a s a s a s
Tiere Nr. 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1
" 2	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 2	1 3	1 3	1 3	1 3
" 3	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 2	1 3	1 3	1 3	1 3	1 3
" 4	1 1	1 1	1 1	2 1	1 1	1 2	1 3	1 3	1 3	1 3	1 3
" 5	1 1	1 1	2 1	2 1	1 1	2 3	2 3	2 3	2 3	2 3	2 3
Das Mittel aus der Länge des Lebens in Tagen ausgedrückt.	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2



Veratrin in den Darmkanal injiziert.



Veratrin in die Leibeshöhle injiziert.

chenschaben. Die tödliche Gabe für eine Küchenschabe von 0·714 G. Gewicht beträgt 0·004 Mg, was etwa ungefähr 5·5 Mg auf 1 Kg. Küchenschabe ausmachen würde. Da auf 1 Kg. Kaninchen<sup>1)</sup> die tödliche Gabe 2·6 Mg beträgt, so ist die Küchenschabe nur zweimal widerstandsfähiger als das Kaninchen.

Es ist sehr charakteristisch, daß das Veratrin fast eben so heftig auf die Küchenschabe wie auf die höheren Tiere wirkt. Es läßt sich hieraus vermuten, daß das Veratrin ein Körper ist, welcher sich mit der gleichen Leichtigkeit mit den Zellplasma der höheren und der niederen Tiere verbindet.

#### *Strychnin (Strychninum nitricum).*

Da Strychnin zu denjenigen Alkaloiden gehört, welche in Wasser sich schwer lösen, so konnte ich keine stärkere Lösung als eine 2% benutzen. Selbst die 2% Lösung konnte nur nach Zugabe von Glycerin hergestellt werden, und zwar nahm ich auf 80 Teile Wasser 20 Teile Glycerin. Zur Bereitung schwächerer Lösungen wurde die 2% Glycerinlösung weiter mit Wasser verdünnt; infolgedessen verminderte sich auch in diesen Lösungen der Glycerin Gehalt. Um mich zu überzeugen, ob das Glycerin keinen schädlichen Einfluß ausübt, injizierte ich den Küchenschaben Glycerin, welches zur Hälfte mit Wasser verdünnt war. Die so behandelten Tiere waren zwar geschwächt, doch war die Veränderung nicht wesentlich. Dreifach verdünntes den Tieren eingeführtes Glycerin hatte nicht die geringsten sichtbaren Folgen.

Eine 2%, 1%,  $\frac{1}{2}$ % Lösung von Strychninum nitricum, in die Leibeshöhle injiziert, rief eine bedeutende Schwächung und darauf Paralyse der Extremitäten hervor. Diese begann an dem dritten Paare, mithin in der Gegend der Injektionsstelle. Nach 24 Stunden war die Schwäche noch nicht geschwunden und es zeigten sich noch geringe krampfartige Zuckungen. Waren die Tiere sehr geschwächt, so traten keine krampfartigen Zuckungen auf. Wurde eine Lösung von  $\frac{1}{4}$ % in die Leibeshöhle eingespritzt, so hatte sie keinen so großen Einfluß, ja die Tiere konnten ziemlich gut gehen. Ferner konnte ich auf der Oberfläche des Körpers kleine Tröpfchen beobachten und der Boden des Gefäßes, in welchem ich die Tiere aufbewahrte

<sup>1)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogl. — Lehrbuch der Arzneimittellehre Wien 1891.

war feucht. Es hatte also eine starke Sekretion stattgefunden. Eine 2‰ und eine 1‰ Lösung, per anum injiziert, ruft anfangs keine charakteristischen Erscheinungen hervor; die Tiere sind nur wenig geschwächt, am anderen Tage jedoch tritt die Schwächung deutlicher auf. Eine 1/2‰ und 1/4‰ Lösung hat nicht die geringste Wirkung. Auf Grund der Tabelle VII und der Kurven (Fig. 6 a und b).

TABELLE VII.

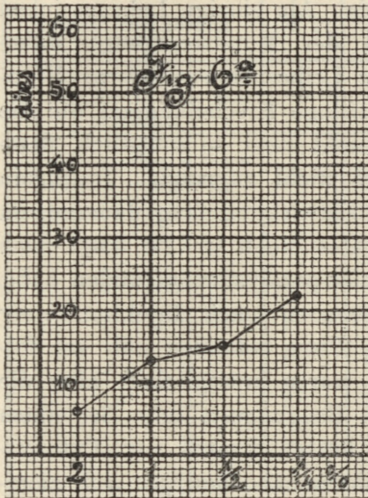
Prozent der Lösung	2‰		1‰		1/2‰		1/4‰	
Die Menge des Alkaloids in 1/20 C C, in Mg. ausgedrückt.	1		1/2		1/4		1/8	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment.	a	s	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	1	2	1	2	2	2	3
" " 2	3	1	4	3	3	3	18	3
" " 3	3	2	17	4	16	4	18	4
" " 4	9	2	30	5	22	6	33	4
" " 5	13	3	1)	9	33	6	38	5
" " 6	—	—	—	—	—	—	—	6
" " 7	—	—	—	—	—	—	—	6
" " 8	—	—	—	—	—	—	—	14
" " 9	—	—	—	—	—	—	—	20
" " 10	—	—	—	—	—	—	—	33
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	6	2	13	4	15	4	22	10

können wir als tödliche Gabe des in die Leibeshöhle injizierten Strychnins 1/4‰ aufstellen. Die Wirkung ist bei Einführung per anum viel schwächer. Rechnen wir diese Menge auf 1 Kg. Gewicht aus, so erhalten wir als tödliche Dosis für die Küchenschabe 350 Mg. Nach der Angabe von Falck <sup>2)</sup> beträgt für 1 Kg. Frosch

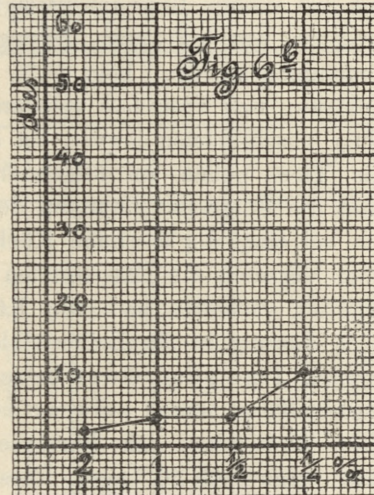
<sup>1)</sup> Ein Exemplar ist mir unbemerkt verloren gegangen.

<sup>2)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogl. Lehrbuch der Arzneimittellehre. Wien. 1901.

die tödliche Gabe 2·1 Mg., d. h. 166 mal mehr als auf 1 Kg. Küchenschabe. Das Kaninchen geht nach Injektion von 0·6 Mg. auf



Strychnin in den Darmkanal injiziert.



Strychnin in die Leibeshöhle injiziert.

1 Kg. Gewicht zugrunde, für dasselbe ist also die tödliche Gabe 583 mal größer als für die Küchenschabe. Es ist also die Wirkung dieses für die Wirbeltiere außerordentlich tödlichen Giftes auf die Küchenschabe ganz gering, was wir übrigens schon früher bei Ernährungsversuchen festgestellt haben.

Man könnte daran denken, daß der Unterschied in der Wirkung des Strychnins auf die Küchenschaben und auf höhere Tiere mit der außerordentlich spezifischen Wirkung dieses Alkaloids in Verbindung steht. Bekanntlich wirkt Strychnin auf gewisse Nervenzentren, welche bei höheren Tieren stark entwickelt sind, und daher ist das Strychnin auch für diese Tiere so giftig. Bei der Küchenschabe fehlen so stark entwickelte motorische Nervenzentren und deswegen wirkt vielleicht auch das Strychnin auf diese Tiere schwächer.

#### *Nikotin (Nicotinum).*

Eine 8%, 4%, 2% Lösung, welche in die Leibeshöhle eingeführt wurde, ruft sofort krampfartige Zuckungen und darauf vollständige Hemmung der Bewegung hervor. Das Nikotin wirkte so

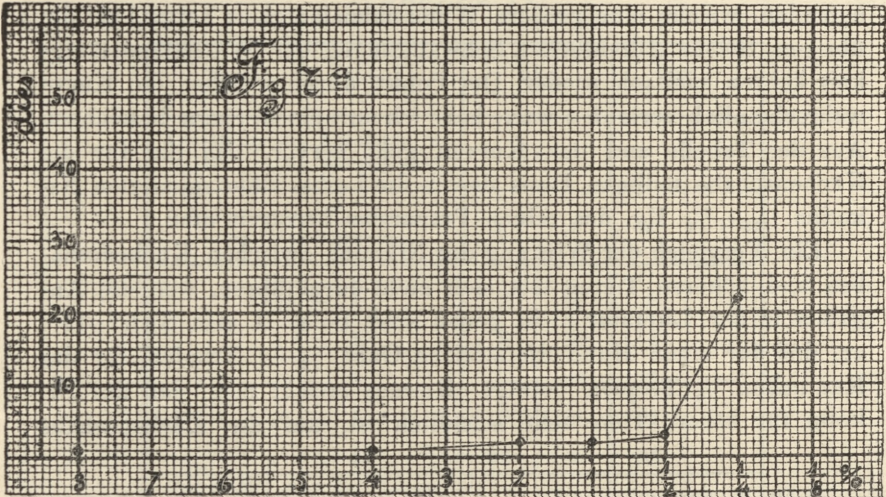
schnell, daß die Zuckungen schon unmittelbar nach der Injektion, während ich das Tier noch in den Fingern hielt, fühlbar wurden. Die krampfartigen Zuckungen dauerten kaum einige Sekunden, darauf trat völlige Bewegungslosigkeit ein. Als einzige Lebenszeichen konnten nur schwache Bewegungen der Mundwerkzeuge wahrgenommen werden. Eine  $\frac{1}{2}\%$  in die Leibeshöhle injizierte Nikotinlösung ruft zwar fast vollständig analoge Erscheinungen wie die oben geschilderten hervor, ist aber nicht mehr so schädlich, denn die Tiere gehen am folgenden Tage nicht zugrunde. Immerhin sind die Folgeerscheinungen der Nikotinwirkung lang dauernd, da ich bei einer der lebenden Kitchenschaben noch am 27. Tage nach dem Versuche die Extremitäten teilweise paralytisch gefunden habe. Ähnlich verhalten sich die Kitchenschaben nach Injektion einer  $\frac{1}{4}\%$  Lösung in die Leibeshöhle; die Tiere befanden sich am folgenden Tage zwar etwas besser und waren beweglicher, aber die Extremitäten waren teilweise noch in Beugungsstellung. Bei einem Tier beobachtete ich Paralyse des letzten Paares der Extremitäten noch nach 26 Tagen. Diese Kitchenschabe bewegte sich ziemlich lebhaft, trug aber das letzte Extremitätenpaar unbeweglich in die Höhe gestreckt. Die mit  $\frac{1}{4}\%$  Lösung injizierten Tiere legten sogar Kokons ab, welche jedoch um die Hälfte kürzer waren als normale.

Eine  $\frac{1}{8}\%$  in die Leibeshöhle injizierte Nikotinlösung bewirkte sogleich krampfartige Zuckungen, welche an dem letzten Extremitätenpaar begannen und nach vorne zu fortschritten. Dieselben hörten nach kurzer Zeit auf, es trat Paralyse ein, die Tiere bewegten nur die Mundwerkzeuge. Erst nach drei Viertelstunden begannen die ersten Bewegungen der Extremitäten, doch war das Tier noch sehr schwach. Am folgenden Tage nach dem Versuche verhielten sich die Tiere in normaler Weise, liefen herum und zwei derselben legten am fünften Tage Kokons ab, welche normale Größe hatten.

Nach Injektion von  $8\%$ ,  $4\%$ ,  $2\%$ ,  $1\%$ ,  $\frac{1}{2}\%$  Lösungen per anum beobachtete ich eine starke Schwächung der Tiere und Paralyse der Extremitäten. Zwar ruft eine  $\frac{1}{4}\%$  Lösung eine zeitweilige Schwächung hervor, aber die Tiere konnten noch gehen. Die Widerstandsfähigkeit der Tiere wurde in der Tabelle VIII und in den Kurven (Fig. 7 a und b) dargestellt, in denen die auf  $\frac{1}{4}\%$  und  $\frac{1}{8}\%$  Lösungen bezüglichen Daten der Versuche stehen, welche an zehn Tieren ausgeführt worden sind.

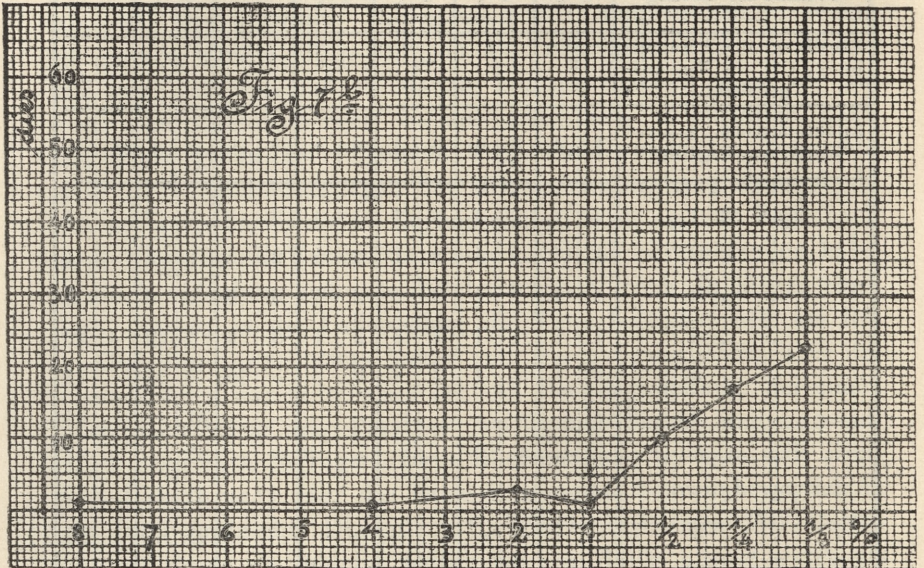
TABELLE VIII.

Prozent der Lösung	8 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1/4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	1/8 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Die Menge des Alkaloids in 1/20 CC. in Mg. ausgedrückt.	4	2	1	1/2	1/4	1/8	1/16
Injektionsweise a = per anum; s = Segment.	a s	a s	a s	a s	a s	a s	a s
Tiere Nr. 1	1 1	1 1	1 1	1 1	2 2	2 7	— 4
" " 2	1 1	1 1	1 1	2 1	2 3	2 7	— 4
" " 3	1 1	1 1	2 2	2 1	3 5	3 8	— 9
" " 4	1 1	1 1	2 3	2 1	3 6	4 29	— 22
" " 5	2 1	1 1	2 9	2 3	5 35	4 34	— 22
" " 6	— —	— —	— —	— —	— —	37 —	— 26
" " 7	— —	— —	— —	— —	— —	37 —	— 34
" " 8	— —	— —	— —	— —	— —	41 —	— 34
" " 9	— —	— —	— —	— —	— —	45 —	— 36
" " 10	— —	— —	— —	— —	— —	45 —	— 38
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	1 1	1 1	2 3	2 1	3 10	22 17	— 23



Nikotin in den Darmkanal injiziert.

Im Verlaufe der Kurve (Fig. 7 b) ist eine Unregelmäßigkeit zu konstatieren, welche sich wohl darauf zurückzuführen läßt, daß



Nikotin in die Leibeshöhle injiziert.

unter den wenigen (5) zum Versuche benutzten Tieren, sich solche befanden, welche eine größere Widerstandsfähigkeit hatten, als die übrigen. Solche individuellen Schwankungen der Widerstandsfähigkeit kehren vielfach wieder. Der Punkt, durch welchen die Kurve wahrscheinlich verlaufen wäre, habe ich mit einem Stern bezeichnet. Aus der Tabelle und den Kurven geht hervor, daß die für die Küchenschabe tödliche Dosis des in die Leibeshöhle injizierten Nikotins  $\frac{1}{16}$ — $\frac{1}{8}$  Mg. des reinen Präparates betragen muß.

Ein Vergleich der Wirkung des Nikotins zwischen Küchenschaben und höheren Tieren läßt sich nicht durchführen, weil die Angaben in der Literatur nicht genau sind. So z. B. gibt Schroff<sup>1)</sup> an, daß für einen Hund die tödliche Gabe  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen, für das Kaninchen  $\frac{1}{4}$  Tropfen beträgt. Hieraus ersieht man, daß das Nikotin für höhere Tiere sehr schädlich\* ist, auf die Küchenschabe

<sup>1)</sup> Dr. W. Bernatzik und Dr. A. E. Vogt — Lehrbuch der Arzneimittellehre Wien. 1891.<sup>2</sup>



hingegen nicht so heftig wirkt, aber immerhin zu den am stärksten wirkenden Alkaloiden gehört. In dieser Beziehung nähert sich das Nikotin dem Veratrin. Es ist bemerkenswert, daß der Charakter der Kurven beider Alkaloide sehr ähnlich ist; bei beiden steigt die Kurve für die per anum injizierten Alkaloide steil an, dagegen erhebt sich die Kurve für das in die Leibeshöhle injizierte Alkaloid langsam.

Auch ist es für das Nikotin charakteristisch, daß die Folgeerscheinungen im Organismus lange sichtbar bleiben. Mit dem allgemeinen Schwächerzustand mag es vielleicht zusammenhängen, daß die Tiere die Kokons schneller ablegen und diese dann kürzer sind.

*Muskarin (Muscarinum).*

Die Küchenschaben vertragen eine 8% unter ein Segment injizierte Lösung sehr gut. Man konnte an den Tieren nach der Injektion keine Schwächung beobachten; nur die Oberfläche des Körpers war mit kleinen Tröpfchen bedeckt und der Boden des Gefäßes, in welchem sich die Tiere befanden, war naß, was auf eine verstärkte Sekretion schließen ließ.

Ähnlich verhalten sich die Tiere, denen Muskarin per anum injiziert worden ist; eine Schwächung ist zwar nicht sichtbar, doch

TABELLE IX.

Prozent der Lösung	8%		4%	
Die Menge des Alkaloids in $\frac{1}{20}$ CC, in Mg. ausgedrückt	4		2	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment.	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	2	26	3	—
„ „ 2	6	28	6	—
„ „ 3	7	29	21	—
„ „ 4	7	41	21	—
„ „ 5	22	43	33	—
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	9	33	17	—

ist das aus der Länge des Lebens berechnete Mittel viel kürzer. Unter den mit einer 8% Lösung per anum injizierten Tieren legten zwei am dritten Tage nach dem Versuche sogar Kokons ab. Die Wirkungsweise des Muskarins ist am besten aus der Tabelle IX zu ersehen, welche zugleich die Unschädlichkeit desselben dartut.

Das Muskarin gehört zu den heftigsten Giften für höhere Wirbeltiere. Für 1 Kg Kaninchen beträgt die tödliche Gabe 0.0026 G. Die 8% Lösung, welche ich zu der Injektion der Küchenschaben benutzte, war 2154 mal stärker, als die tödliche Gabe für Kaninchen und dennoch für die Küchenschabe fast unschädlich. Es ist dies um so interessanter, als andere Insekten wie z. B. Fliegen gegen die Wirkung des Muskarins sehr empfindlich sind.

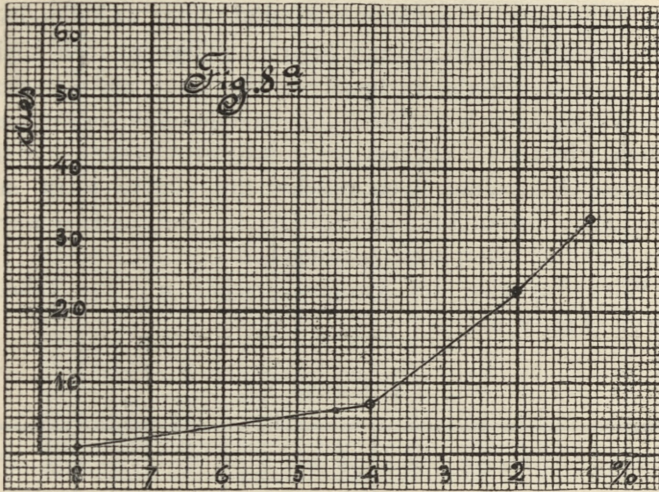
*Pilokarpin (Pilocarpinum hydrochloricum).*

Eine 8% unter ein Segment injizierte Lösung wirkt auf den Organismus tödlich, da die Tiere sofort nach der Injektion in Pa-

TABELLE X.

Prozent der Lösung	8%		4%		2%		1%	
Die Menge des Alkaloids in $\frac{1}{20}$ C.C. in Mg. ausgedrückt.	4		2		1		$\frac{1}{2}$	
Injektionsweise a = per anum, s = Segment.	a	s	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	1	40	2	—	6	—	5
" " 2	4	1	79	2	—	6	—	7
" " 3	4	1	89	2	—	7	—	29
" " 4	4	2	111	4	—	10	—	31
" " 5	5	2	124	23	—	14	—	31
" " 6	7	—	—	—	—	20	—	33
" " 7	7	—	—	—	—	23	—	41
" " 8	8	—	—	—	—	36	—	45
" " 9	10	—	—	—	—	45	—	48
" " 10	18	—	—	—	—	59	—	56
Das Mittel aus der Länge des Lebens in Tagen ausgedrückt.	7	1	89	7	—	23	—	33

ralyse verfallen, welche vor der Injektionsstelle nach vorne fortschreitet. Nach einer Stunde waren die Tiere noch wie leblos und



Pilocarpin in die Leibeshöhle injiziert.

bewegten nur schwach die Mundwerkzeuge. Die Sekretionsfunktion war außerordentlich gesteigert, da der Boden des Gefäßes, in welchem sich die Tiere befanden, naß war. Ähnlich wirkt eine 4% Lösung und ruft bei manchen Tieren sowohl krampfartige Zuckungen wie auch eine bedeutende Sekretion hervor. Auch eine 2% Lösung wirkte noch schwächend und erhöhte die Sekretionstätigkeit, zuweilen traten auch schwache krampfartige Zuckungen auf. Erst eine 1% Lösung wirkte schwach. Bei der Injektion des Pilocarpins per anum ließen sich keine Veränderungen an den Tieren wahrnehmen; die Tiere verhielten sich normal.

Aus der Tabelle X. und Kurve (Fig. 8 a) geht hervor, daß das Pilocarpin auf die Kitchenschaben nur schwach einwirkt; die Wirkungen sind ähnlich denjenigen, welche bei höheren Tieren beobachtet werden können, vor allem nämlich die erhöhte Sekretion.

#### *Atropin (Atropinum sulfuricum).*

Eine 8% in die Leibeshöhle injizierte Lösung von Atropin ruft eine sofortige Schwächung hervor. Das Tier bleibt bewegungslos liegen, dann treten krampfartige Zuckungen auf. Die Sekretions-

tätigkeit ist erhöht, und der Boden des Gefäßes ist naß. Am folgenden Tage lassen sich fast rhythmisch aufeinander folgende krampfartige Zuckungen beobachten. Ähnlich wirkt eine 4% Lösung und erst eine 2% hat einen geringeren Einfluß. Zwar ruft dieselbe noch eine bedeutende Schwächung und Sekretion hervor, doch sind diese Erscheinungen nur vorübergehend, da die Tiere am anderen Tage nach dem Versuche sich ziemlich gut befanden und frei herumliefen.

Ähnlich wirkt eine 8% per anum injizierte Lösung, indem dieselbe manche Individuen wenig schwächt, andere stark angreift. Die einen Tiere hatten krampfartige Zuckungen, andere waren geschwächt, konnten aber noch herumgehen.

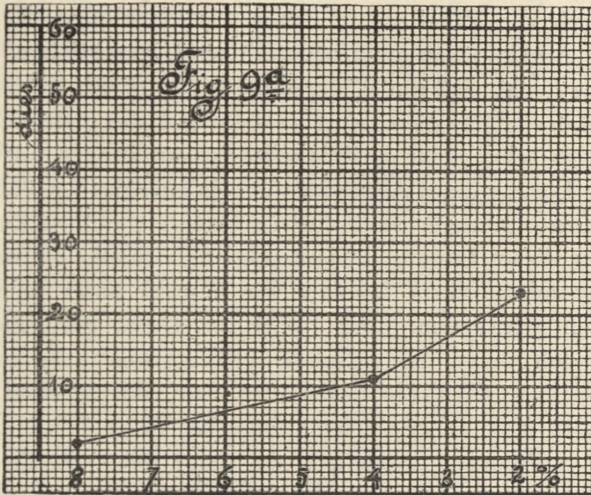
Die Wirkungsweise des Atropins ersehen wir aus Tabelle XI. und Kurve (Fig. 9 a).

TABELLE XI.

Prozent der Lösung	8%		4%		2%	
Die Menge des Alkaloids in $\frac{1}{20}$ CC, in Mg. ausgedrückt.	4		2		1	
Injektionsweise a = per anum; s = Segment.	a	s	a	s	a	s
Tiere Nr. 1	1	1	—	4	—	3
" " 2	2	1	—	4	—	4
" " 3	2	1	—	4	—	4
" " 4	3	2	—	13	—	4
" " 5	4	2	—	31	—	7
" " 6	41	2	—	—	—	31
" " 7	41	3	—	—	—	35
" " 8	43	3	—	—	—	37
" " 9	52	4	—	—	—	44
" " 10	79	4	—	—	—	64
Das Mittel aus der Länge des Lebens, in Tagen ausgedrückt.	27	2	—	11	—	23

Die bemerkenswerteste Erscheinung, welche während der Versuche mit Atropin zu beobachten war, ist die vermehrte sekreto-

rische Tätigkeit. Diese Erscheinung steht im Gegensatz zu der Wirkung des Atropins auf höhere Tiere, bei welchen bekanntlich die



Atropin in die Leibeshöhle injiziert.

sekretorische Tätigkeit durch das Atropin verringert wird. Diese Unterschiede in der Wirkung sind möglicherweise in der Eigentümlichkeit des Nervensystems der Kitchenschaben begründet.

Ähnlich wie bei den Versuchen mit Nikotin zeigte es sich, daß die Wirkung des Atropins längere Zeit (bis zu einigen Tagen) anhält. Man konnte annehmen, daß das Alkaloid längere Zeit hindurch in dem Organismus verbleibt. Um mich davon zu überzeugen, injizierte ich eine Anzahl von Kitchenschaben per anum mit Atropin (8%) und bewahrte diese längere Zeit auf. Nach einer Woche wurde der Darmkanal herauspräpariert, zerrieben, mit absolutem Alkohol ausgezogen, filtriert und dem Filtrat ein Tropfen Salzsäure hinzugefügt. Nachdem die Flüssigkeit bis zur Trockenheit auf dem Wasserbade abgedampft war, löste ich die trockene Substanz in ein wenig destilliertem Wasser und führte einige Tropfen von dieser Flüssigkeit in den Konjunktivalsack einer Katze ein. Nach zehn bis fünfzehn Minuten trat eine sehr deutliche lang anhaltende Erweiterung der Pupille ein, welche unzweifelhaft auf die Gegenwart von Atropin in der Flüssigkeit schließen ließ. Das Extrakt aus dem Darmkanal von nicht injizierten Kitchenschaben in der gleichen

Weise wie vorher zubereitet und in den Konjunktivalsack einer Katze eingeführt, blieb wirkungslos.

Wenn wir die Tabellen, in denen die Wirkungsweise der verschiedenen Alkaloide zusammengestellt sind, überblicken, überzeugen wir uns leicht, daß die Widerstandsfähigkeit der Küchenschaben gegen die Lösung des gleichen Alkaloids und des gleichen Konzentrationsgrades sehr große individuelle Schwankungen aufweist. Je stärker die Lösung eines Alkaloides und je energischer dessen Wirkung ist, umso geringer sind die individuellen Schwankungen der Tiere gegen diese Lösung. Bedeutende individuelle Schwankungen der Widerstandsfähigkeit können wir sowohl unter dem Einfluß von schwach wirkenden, aber in großer Dosis gereichten Alkaloide, als auch unter dem Einfluß von starken aber in kleinen Dosen gereichten Alkaloide beobachten. Die individuellen Schwankungen ließen sich daher am leichtesten bei Versuchen mit schwach wirkenden Substanzen feststellen, da unter dem schädlichen Einfluß derselben die weniger widerstandsfähigen Tiere schnell zugrunde gehen, während die stärkeren bedeutend länger leben.

Wie oben bereits erwähnt wurde, wirken die per anum eingeführten Alkaloide weniger heftig, als die in die Leibeshöhle eingeführten. Eine Ausnahme von dieser Regel scheint nur das Chinin zu bilden; doch ist eine Ursache dafür nicht leicht zu finden. Die schwächere Wirkung der in den Darmkanal injizierten Alkaloide findet ihre Erklärung in den Hindernissen, welche die Substanzen bei ihrer Verbreitung im Organismus antreffen. Diese können dreierlei Art sein: 1) das Alkaloid kann aus dem von einer verhältnismäßig dicken Wand begrenzten Raume nicht leicht in das Blut diffundieren, obwohl die Alkaloide selbst gewöhnlich osmotisch bedeutend wirksame Körper sind; 2) die Alkaloide können im Darmkanal unschädliche Verbindungen eingehen; 3) schließlich können einzelne Alkaloide aus dem Darmkanal leicht ausgeschieden werden. Gegen die letztere Behauptung spricht jedoch der Versuch mit Atropin, bei welchem es sich zeigte, daß das Alkaloid noch eine Woche nach dem Versuche sich im Organismus befindet.

Die verwendeten Alkaloide zeichnen sich durch verschiedene Wirkungsgrade aus. Nach ihrer Wirkung zusammengestellt, ergeben sie folgende Reihe, wobei das am stärksten wirkende Alkaloid den Anfang bildet: 1) Veratrin, 2) Nikotin, 3) Strychnin,

4) Kokain, 5) Koffein, 6) Pilocarpin, 7) Chinin, 8) Apomorphin, 9) Atropin, 10) Morphin, 11) Muskarin.

Es ist auffallend, daß ein auf höhere Tiere sehr stark wirkendes Alkaloid, nämlich das Muskarin, sich am Ende dieser Reihe befindet. Abgesehen von verschiedenen anderen Unterschieden würde diese Tatsache allein schon zur Begründung der Behauptung ausreichen, daß die Alkaloide auf Kitchenschaben ganz anders wirken als auf höhere Tiere.

Wir müssen daher mit aller Entschiedenheit hervorheben, daß man die an höheren Tieren erlangten Resultate nicht ohne weiteres auf niedere Tiere übertragen kann.

Überhaupt zeichnen sich die Kitchenschaben durch eine viel höhere Widerstandsfähigkeit gegen Alkaloide aus, als die höheren Tiere. Worin dieselbe begründet ist, ist schwer zu sagen. Nach unserer Meinung ist die Ursache dafür in dem langsamen Stoffwechsel der Kitchenschaben zu suchen. Dafür spricht unter anderen der Umstand, daß die Kitchenschabe außerordentlich lange ohne Nahrung leben kann, ferner, daß sie gegen niedere Temperaturen sehr empfindlich ist; sie kann offenbar nicht so viel Energie entwickeln, um dem schädlichen Einfluß der niederen Temperatur zu widerstehen. Analoge Erscheinungen finden wir bei Pflanzen und auch bei Tieren, bei denen ein schwacher Stoffwechsel festgestellt ist. Diese sind gegen giftige Substanzen sehr widerstandsfähig, z. B. Pflanzen in lethargischem Zustande oder z. B. die Raupen der gemeinen Kleidermotte<sup>1)</sup>.

Es ist jedoch auch möglich, daß die Widerstandsfähigkeit der Kitchenschaben von der verhältnismäßig geringen Entwicklung ihres Nervensystems abhängt, auf welches der größte Teil der Alkaloide heftig wirkt. Zum Belege dafür wäre das Strychnin anzuführen, welches auf die Kitchenschabe sehr schwach, dagegen auf die Nervenzentren der höheren Tiere sehr stark einwirkt.

Der schwache Stoffwechsel und das vollständig anders geartete Nervensystem sind unserer Meinung nach die Ursachen, der auffallend großen Widerstandsfähigkeit der Kitchenschaben gegen Alkaloide, wie man sie bei anderen bisher daraufhin untersuchten Organismen nicht findet.

<sup>1)</sup> L. Sitowski. Spostrzeżenia biologiczne nad molowcami. Rozpr. Ak. Um. T. XLV. Ser. B.

Diese Arbeit habe ich im Institute für vergleichende Anatomie der Krakauer Universität unter der Leitung des Prof. Dr. H. Hoyer (jun.) ausgeführt, welchem ich an diesem Orte meinen aufrichtigen Dank ausspreche, desgleichen auch Herrn Prof. Dr. M. Siedlecki, der mir mit seinen Ratschlägen in freundlichster Weise stets beigestanden hat.

- 
50. M. M. RACIBORSKI m. c. *Utleniające i redukujące własności komórki żywej. Część II. Oxydaza zewnątrzkomórkowa. (Oxydierende und reduzierende Eigenschaften der lebenden Zelle. Abth. II. Über die extrazelluläre Oxydase). (Propriétés oxydantes et réductrices de la cellule vivante. II partie. Sur l'oxydase extracellulaire.*

#### Oxydase der *Alternaria tenuis*.

Nachdem ich bei *Aspergillus niger* festgestellt hatte, daß die Jodide oxydierende Oxydase nach außen durch die jungen Hyphen sezerniert wird, suchte ich nach Pilzen, welche eine guajakbläuende Oxydase ausscheiden. Daß die Pilze verschiedene Oxydasen bilden, ist seit den Untersuchungen Schönbeins bekannt; in neuerer Zeit wurde besonders bei den Hutpilzen die Anwesenheit der Lakkase konstatiert, welche Polyphenole oxydiert, sowie auch die Anwesenheit der Tyrosin oxydierenden Tyrosinase (Bertrand, Bourquelot und Andere).

Als einige mit gewöhnlicher Agarnährlösung, in welcher mit Guajakharz durchtränktes Fließpapier eingebettet war, beschickte Petrischalen kurze Zeit im Laboratorium unbedeckt standen, entwickelten sich darin unter anderen nicht reagierenden Pilzen und Bakterien graue, rasch wachsende Kolonien einer *Alternaria*art, in deren Umgebung Guajakpapier sich intensiv blau färbte. Die Art entspricht wahrscheinlich der *Alternaria tenuis* Nees (Saccardo, *Sylogae fungorum*, IV, pag. 545, nr. 2612). Mit dieser anspruchslosen Art, welche in verschiedenen Nährlösungen gut gedeiht, habe ich manche Kulturversuche durchgeführt, um die Bildung und die Eigenschaften ihrer Oxydase kennen zu lernen.

Es wurden Stücke einer kräftig wachsenden Agarkultur auf verschiedene, befeuchtete Indikatoren-papiere gelegt, und zwar mit folgendem Resultat:



Guajak wird im Verlaufe einiger Stunden in der Umgebung der Kultur gebläut.

Benzidinpapier wird gebläut.

Ursol- d. wird schwarz.

Pyrogallol wird dunkelbraun.

Aloe-Barbados rot.

Phenolphthalin wird zu Phenolphthalein oxydiert.

In verdünnter Lösung des Ferroammoniumsulfats bildet sich rings um den Pilz ein brauner Niederschlag.

Dagegen wurde in zahlreichen Kulturen aus Jodkali kein Jod freigemacht, Tyrosinpapier blieb ohne jede Verfärbung. Aus diesen Reaktionen läßt sich folgern, daß wir bei *Alternaria* mit einer Oxydase, von dem Typus der Lakkase zu tun haben, und daß sie derjenigen ähnlich ist, welche von den Wurzeln der Phanerogamen nach außen sezerniert wird. Die Oxydase wird durch *Alternaria* ebenfalls ausgeschieden, und das Filtrat einer *Alternaria*kultur gibt die oben angegebenen Reaktionen z. T. noch besser und intensiver als die lebenden Pilzkolonien. Die Filtrate mancher Kulturen färben z. B. Guajak momentan.

Aus einigen Kulturen, welche aus 1% Saccharose als Kohlenstoffquelle, und 1% Ammonsulfat als Stickstoffquelle, außerdem je 0.5% Kaliumphosphat, Kaliumchlorid und Magnesiumsulfat zusammengestellt war, wurde etwa 1 Liter Filtrat gewonnen. In ein Glas wurde 50 ccm reines Wasser, in ein anderes 50 ccm des *Alternaria*filtrats, in beide Gläser je 0.25 ccm einer schwachen, doch frischen alkoholischen Guajaklösung zugesetzt. Die Flüssigkeit der *Alternaria* wurde gleich schwach blau, nach einigen Minuten deutlich blau, während das reine Wasser erst nach 6 Stunden die ersten Spuren der Oxydation des Guajak durch den Sauerstoff der Luft zeigte.

Auf je 100 ccm Flüssigkeit wurden zugesetzt a) 25 gr, b) 50 gr, c) 75 gr Ammoniumsulfat. Das Filtrat von b) und c) zeigt keine Guajakreaktion, von a) eine sehr schwache nach Verlauf von 4 Stunden. Da möglicherweise die Anwesenheit des Ammoniumsulfats die Reaktion hemmen könnte, wurden alle drei Flüssigkeiten gegen reines Wasser in Schläuchen dialysiert. Tatsächlich zeigt die Flüssigkeit a) nach wenige Stunden anhaltender Dialyse eine intensive Reaktion, während b) und c) auch nach 24 Stunden lang anhaltender Dialyse nicht reagiert. Durch Zusatz von 50—75 gr.

zu je 100 ccm. der Oxydaselösung wird diese ausgesalzen und schwimmt auf der Oberfläche der Flüssigkeit. Dieser Niederschlag gibt im Wasser gelöst eine sehr intensive Guajakreaktion.

Wie ich schon in meinen Leptominstudien bemerkt habe, hemmen manchmal die reduzierenden Stoffe der Pflanze die Guajakreaktion. F. W. T. Hunger (Ber. d. d. bot. Ges. XIX, 375) sieht in dem reduzierenden Einflusse des in den Pflanzen so häufigen Traubenzuckers die Ursache des Nichterscheinens der Oxydase-reaktion auch in den Fällen, wo diese zweifellos, aber neben der Glykose vorhanden ist. Um zu erfahren durch wie großen Glykosezusatz die Reaktionsfähigkeit der Oxydase der *Alternaria* gehemmt wird, wurden derselben folgende Mengen Traubenzucker zugesetzt: 0.2%, 5%, 10%, 20%, 40%. In den ersten fünf Lösungen war die Guajakreaktion gleichmäßig stark und momentan, in der 40%-Lösung war sie schwächer und erst nach einigen Minuten deutlich sichtbar. Es wird also die Guajakreaktion der Oxydase der *Alternaria* durch die in den Pflanzen vorkommenden Glykosemengen, im Gegensatz zu der Kokosmilchoxydase, welche in dieser Beziehung von Hunger untersucht war, gar nicht gehemmt. Möglicherweise üben andere bis jetzt uns unbekannte Stoffe, insofern solche außer der Glykose in der Kokosmilch vorhanden sind, den durch Hunger konstatierten hemmenden Einfluß auf die oxydative Tätigkeit der Oxydase aus.

In Anbetracht der in einer anderen Abhandlung beschriebenen Abhängigkeit der Jodidoxydasebildung bei *Aspergillus* von der chemischen Zusammensetzung der Nährlösung erschien eine analoge Untersuchung der *Alternaria* erwünscht. Sie lieferte jedoch nur negative Resultate; in allen Nährlösungen, in welchen *Alternaria* kultiviert wurde, zeigte sich auch die Reaktion der Guajakoxydase. Ich habe zwar nur die Kohlenstoffquelle variiert, als Stickstoffquelle diente in allen Fällen 1% Ammonsulfatlösung. Es wurde benützt Pepton, Acetamid, Glykokoll, Äthylenglykol, Seignettesalz, essigsaures Natrium, Rohrzucker, Traubenzucker, Maltose, alles in 2% Lösung. In weinsaurem Kalium-Natrium gedeiht unser Pilz gar nicht, in Glykokoll und in essigsaurem Natrium wächst er sehr schwach; bildet doch aber die Oxydase, in allen anderen Lösungen wächst er stärker und bildet reichlich die Oxydase. In allen Fällen wird die Reaktion durch Zusatz von  $H_2O_2$  verstärkt. Doch zeigen die älteren, fruktifizierenden Kulturen, also solche die etwa 12—20

Tage alt sind, keine Reaktion mehr, die Oxydase wird also entweder zerstört oder in ihrer Wirkung gehemmt. Am schnellsten verschwindet die Oxydasereaktion in den am üppigsten und am schnellsten wachsenden Kulturen, also in den Lösungen der Kohlehydrate und des Peptons.

Aus Anlaß der Untersuchungen G. Bertrand's (Comptes rendus 1897, pag. 1032; 1355) über die sog. Co-Fermente und die Rolle der organischen Mangansalze bei Oxydationen will ich hervorheben, daß die Kulturen der *Alternaria* bei mir schon über ein Jahr lang fortgesetzt werden und während dieser Zeit zahlreiche Male in frische Nährlösungen umgeimpft wurden. Es wurde jedoch denselben absichtlich nie Eisen, Mangan oder Kupfer zugesetzt. Die Chemikalien wurden möglichst rein bezogen. Trotzdem bildet sich in diesen manganfreien Nährlösungen immer die Oxydase. Obwohl in Betracht der verschwindend geringen Metallmengen, um welche es sich hier handeln kann, Vorsicht geboten ist, so glaube ich doch als sehr wahrscheinlich annehmen zu können, daß die Oxydase der *Alternaria* sich in tatsächlich manganfreiem Nährboden bildet.

### Über die Oxydase der Tracheen und Tracheiden.

Während der Versuche mit der Oxydase der Wurzeloberfläche der Phanerogamen habe ich die Beobachtung gemacht, daß manche der benützten, leicht oxydablen Chromogene in das Innere der lebenden Wurzel diosmieren und erst im Inneren der lebenden Pflanze oxydiert werden. Ich habe solche Chromogene benützt, um die Stellen der Oxydation derselben im Inneren der Pflanze festzustellen; eine Aufgabe, welche W. Pfeffer mit Hilfe des Cyanins und des Methylblaus vor langen Jahren lösen wollte. Zu meinen Versuchen wurde Benzidin und  $\alpha$ -Naphtylamin in sehr verdünnten, nicht toxischen Dosen verwandt und zwar Benzidin als freie Base in 0.01, 0.001 und 0.0005%,  $\alpha$ -Naphtylamin als 0.005, 0.001 und 0.0005% Lösung. Wie wenig und wie langsam solche Lösungen schädlich wirken, zeigt der Umstand, daß in einer 0.001% Benzidinlösung, welche mehrere Male gewechselt wurde, Zweige der *Hoya carnosa*, *Tradescantia*, *Phalaris*, *Peperomia* drei Monate lang lebend bleiben konnten. Die Keimpflanzen des *Fagopyrum*, *Zea Mays* und *Pisum sativum* wachsen in solcher Lösung im Dunkeln ebenso lange, wie in destilliertem Wasser, falls sich nur keine Bakterien in derselben

einnisten, welche sich in diesen Flüssigkeiten doch viel stärker, als in einer gewöhnlichen Wasserkultur vermehren.

Die Ergebnisse der Untersuchung waren im ersten Augenblick überraschend. Während die benutzten Chromogene durch die Oxydase der Wurzeloberfläche teilweise oxydiert wurden, ist doch ein Quantum derselben durch die Plasmahaut in das Innere der Zellen eingedrungen, ohne hier — und diese Erscheinung stimmt mit den Ergebnissen Pfeffers überein — eine Oxydation zu erleiden. Nicht nur die parenchymatischen Zellen, sondern auch die an Oxydase reichen Siebröhren blieben ungefärbt, dagegen wurden farbige, unlösliche Oxydationsprodukte an der inneren Wand der Gefäße sichtbar. Also diosmiert die stark verdünnte, nicht toxische wässrige Lösung des Chromogens, für welche die Plasmahäute permeabel sind, in das Innere der Wurzel, ohne jedoch auf ihrem Wege irgendwelche der nötigen Bedingungen der Oxydation, also die Anwesenheit der Oxydase oder des Sauerstoffs anzutreffen, und dringt in nicht oxydiertem Zustande bis in die Gefäßröhren der Pflanze ein, wo beide Bedingungen der Oxydation, diese letztere an der inneren Wand desselben, bewirken. Ähnlich wie an der Oberfläche der Wurzel kommt auch hier eine extrazelluläre Oxydation vor, welche von den normalen intrazellulären Atmungs-Oxydationen der lebenden Pflanze sehr verschieden ist.

Zur Klärung der Sache sollte einerseits die Lokalisation der Oxydase zwischen der Epidermisaußenwand und den Gefäßen bekannt, andererseits die Erscheinung der Oxydation an der inneren Gefäßwand näher untersucht und dabei die Möglichkeit erwogen werden, ob hier nicht etwa eine Täuschung vorliegt, welche durch die stärkere Adsorption des Farbstoffs durch die verholzten Wände verursacht wäre, und zwar eines Farbstoffes, der vielleicht in äußerst starken Verdünnungen ohne eine durch Adsorption bedingte Anreicherung für uns unsichtbar bleiben müßte.

Die Lokalisationsuntersuchungen, über welche ich weiter unten berichten werde, haben ergeben, daß mit Ausnahme der Sieb- und Milchröhren die guajakbläuende (und andere Phenolderivate oxydierende) Oxydase — in der vorliegenden Abhandlung behandle ich nur diese Oxydase — außerhalb des Protoplasten der Pflanzen lokalisiert ist. Die Chromogene, welche mit dem durch die Wurzelresorptionsfläche aufgenommenen Wasser auf dem Wege der Osmose durch die plasmaerfüllten Zellen bis in die Gefäße gelangen, treffen

also auf ihrem Wege vor dem Erreichen der Gefäße gar keine Oxydase an.

Um die Möglichkeit eines Fehlers, welcher durch Färbung der Gefäßwände mit einer vorher schon gebildeten, doch zu stark verdünnten und deswegen nicht beobachteten Farbstofflösung verursacht worden wäre, zu prüfen, habe ich einige Versuche mit Oxynaphtamin angestellt. Der Farbstoff wurde durch die Oxydation des  $\alpha$ -Naphtylamins mit Ammoniumpersulfat als schwarz-blauer Niederschlag erhalten, mit Wasser gewaschen, davon wurde eine alkoholische Lösung mit wenig Wasser gemacht und zum Färben benutzt. Es wurden damit keine brillanten Färbungen erzielt, doch färben sich die Siebröhren rötlich, ferner ein wenig die Wände der Parenchymzellen, der Bastzellen, der Gefäße und Tracheiden. Es resultiert also mit Oxynaphtamin eine ganz andere postmortale Färbung der Pflanzenschnitte als die erwähnte Lebendfärbung mit  $\alpha$ -Naphtylamin. Ein anderer schon mit lebenden Keimlingen der Zea und des Pisum angestellter Versuch wurde mit einer wäßrigen Emulsion des Oxynaphtamins angestellt. Jetzt zeigten die Keimlinge eine schwache braunviolette Färbung mehrerer äußeren Schichten der Wurzelrinde, vielleicht auch eine, doch kaum sicher konstaterbare Färbung der verholzten Wände der Tracheen, dagegen keine solche Färbung, wie sie durch  $\alpha$ -Naphtylamin in den Gefäßen zu erzielen ist. Es muß zwar zugestanden werden, daß in länger andauernden Versuchen der anfangs an der Oberfläche der Resorptionsfläche der Wurzel, dann in den Gefäßen gebildete, in Wasser praktisch fast unlösliche Farbstoff doch langsam herausdiffundiert und anderswo festgehalten werden kann. Ein solcher Fehler ist jedoch zu vermeiden, falls der Gang der Reaktion schrittweise von Zeit zur Zeit an mehreren Kontrollpflanzen untersucht wird.

Die intratracheale Oxydation der erwähnten Benzolderivate habe ich zunächst an den Wasserkulturen beobachtet. Nachträglich wurden, um eine größere Zahl von Exemplaren untersuchen zu können, die zahlreichen auf Fließpapier in breiten Glasschalen gekeimten Samen mit Chromogenlösung übergossen. Dann wurden, um mehrere Arten untersuchen zu können, abgeschnittene Zweige in die entsprechende Lösungen getaucht, und endlich wurde zum Studium der Lokalisation der Oxydasen auf den Tracheenwänden die weiter unten beschriebene Methode angewandt, nämlich das mit gesättigtem

Ammoniumsulfat unter der Luftpumpe durchtränkte Material wurde nachträglich an den Schnitten mit Benzidin  $H_2O_2$  behandelt.

An sehr jungen Tracheen scheint die Oxydase ziemlich gleichmäßig deren Innenwände auszukleiden, in älteren Tracheen und Tracheiden aber nicht mehr. Ganz alte Tracheen sind oxydasefrei. In ausgewachsenen Sprossen einer Cucurbita ist die Oxydase da, wo zwei Tracheen aneinander seitlich angrenzen, auf diese Grenzfläche beschränkt, und hier besonders reichlich in den Tüpfeln vorhanden. Bei zahlreichen Pflanzen ist gerade die Benzidin-Wasserstoff-superoxyd-Reaktion die schönste, und augenfälligste (im Vergleich zu der Ruthenium oxychloratum amoniacale mehr distinkte, zugleich billigere) Reaktion auf die Tüpfel z. B. auf die Hoftüpfel der Coniferen. Bei der Kiefer oder der Fichte nehmen diese, speziell der Torus eine dunkelblaue, dauerhafte Farbe an. Ich habe keine Gelegenheit gehabt, die zahlreichen Farbstoffe, welche nach Mangin spezielle Pektinindikatoren sind und die Mittellamelle tingieren, in betreff der interessanten Parallele der Lokalisation mit dem Benzidin-Wasserstoffsuperoxyd zu untersuchen. Die Färbung mit Rutheniumrot ist jedoch eine rein physikalische Erscheinung, welche auch an oxydasefreien Schnitten (resp. oxydasefreien Stellen der Mittellamelle) erscheint, während die Benzidinreaktion einer Oxydation ihren Ursprung verdankt.

Die Oxydase der Tracheen und Tracheiden scheint ihren Ursprung einer Sekretion der Strangparenchymzellen zu verdanken; diese scheiden einen Stoff in die Gefäßröhre aus, welcher sich dort in Oxydase verwandelt. Die Lokalisation dieses Körpers in älteren Gefäßen und Tracheiden an den Tüpfeln, durch welche das Wasser filtrierend wandert, könnte vielleicht uns ein Mittel in die Hand geben, die Wege der Wasserwanderung näher zu erforschen.

### Über die Interzellularoxydase der Pflanzen.

Vor mehreren Jahren ist mir die sehr starke Oxydasereaktion, welche die Atemorgane mancher Pflanzen, nämlich die Aerophoren des *Nephrodium callosum* und diejenigen der keimenden Samen der *Victoria regia* zeigen, aufgefallen. (Raciborski, Weitere Mitteilungen über das Leptomin, Berichte d. d. bot. Ges. 1898, pag. 120). Eine sehr starke Reaktion geben ferner die Aerenchyme der *Jussiaea*arten, *Lycopus europäus*, *Bidens tripartita*, und überhaupt die an Inter-

zellularen reichen Pflanzenorgane. In Anbetracht der erwiesenen Lokalisation der Guajakoxydase außerhalb des Plasmaleibes an den Resorptionszellen der Wurzel, ferner auf der inneren Wand der plasmafreien Tracheen und Tracheiden war es angezeigt, die Lokalisation der Oxydase in parenchymatischen Geweben der Pflanzen festzustellen. Da jedoch in den Pflanzen verschiedene Oxydasen vorhanden sind, so sollte zunächst die Interzellularenoxydase möglichst rein dargestellt werden, damit man ihre Eigenschaften kennen lernt, und erst auf Grund solcher Kenntnisse war eventuell die Möglichkeit vorhanden, eine Methode, welche die Lokalisation derselben anzeigen könnte, auszuarbeiten. Hervorheben will ich nämlich, was wahrscheinlich jeder auf dem Gebiete der Lokalisationen der Oxydasen Arbeitende empfindet, daß einerseits infolge der bedeutenden Löslichkeit der Oxydase in wäßrigen und alkoholischen Lösungen, andererseits infolge der ungewöhnlichen Empfindlichkeit mancher Indikatoren Schwierigkeiten und eine Möglichkeit der Irrtümer in stärkerem Maße als auf anderen Gebieten der Mikrochemie dem Forscher entgegenreten.

Wird durch frische Blattstiele der *Nymphaea* eine frisch bereitete Guajakemulsion ganz kurze Zeit, etwa einige Sekunden, und unmittelbar danach reines Wasser durchgesaugt, so färbt sich das letzte deutlich blau. Wird durch andere solche Blattstiele reines Wasser durchgesaugt, so färbt sich dasselbe nach Zusatz von Guajaktinktur blau. Das die intakten Zellwände umspülende, destillierte Wasser hat also die Oxydase gelöst, welche in Anbetracht der kurzen Zeit des Versuches schwerlich aus dem Inneren der Zellen, sondern vielmehr aus der Oberfläche der Membrane aus der bekannten schleimigen Auskleidung der Lufträume gelöst wurde. Die Mengen der auf solche Weise erhaltenen Oxydase sind gering, die beiderseitigen Schnittwunden des Blattstiels erregen Bedenken und so habe ich mich entschlossen, destilliertes Wasser durch die Spaltöffnungen der Blattlamina unter Saugung am Ende des Blattstiels mittelst einer Luftpumpe in die Lufträume eintreten zu lassen, die bei unserer Pflanze enorm große Oberfläche dieser Lufträume auszulaugen und das aus dem basalen Ende des Blattstieles austretende Wasser in eine Kolbe, welche mit dem Saugrohr der Luftpumpe verbunden war, zu sammeln. Diese Arbeitsweise erwies sich als ganz praktisch, sofern nur die Blattstiele unverletzt sind, die Blattlamina gänzlich unter Wasser liegen und die Gummischläuche,

welche die Sammelkolbe mit dem Blattstiel verbinden, sich bequem an die Blattstiele anlegen lassen. Unter dem Druck einer nicht besonders stark arbeitenden Wasserstrahl-Luftpumpe fängt aus dem Blattstiel bald die mit vielen Luftblasen gemengte Flüssigkeit an, in die Sammelkolbe zu tröpfeln, die Luftblasen werden dann immer kleiner, und man kann beliebige Mengen des durch die Blattinterzellularen filtrierten Wassers erhalten. Da jedoch die oxydative Fähigkeit eines solchen Filtrats mit dem Andauern des Saugens immer schwächer wird, so habe ich von einem Blatt nur 50 bis 250 cem. Filtrat gesammelt. Das Filtrieren geht besser mit ganz frischen Blättern als mit solchen, die nach dem Abschneiden einige Stunden im Laboratorium in Wasser aufbewahrt waren, besser während der sonnigen Tagesstunden als am Abend. Benützt wurden die Blätter der *Nymphaea alba*, *odorata* und der als Zierpflanze bekannten *N. Marliacii*. Doch habe ich schmerzlich den Mangel einer *Victoria*-pflanze empfunden.

Mit anderen an Lufträumen reichen Wasserpflanzen konnte ich nicht mehr so bequem, wie mit *Nymphaea* arbeiten, z. T. wegen der verminderten Wegsamkeit der Interzellularen wie bei *Typha*, oder wegen der zur Anlegung eines luftdichten Verschlusses wenig geeigneten Blattstiele, wie bei *Sagittaria*, oder endlich wegen der Kleinheit der Blätter wie bei *Trapa*. Bei vielen Landpflanzen konnte ich gar kein Wasser durch die Spaltöffnungen und Lufträume der Blattfläche filtrieren (*Catalpa*, *Solanum tuberosum*), bei anderen bekam ich nur geringe Mengen des Filtrats (*Nicotiana Tabacum*). Das Manometer der Luftpumpe zeigte zwar immer mehr als 50 mm., gewöhnlich wurde bei etwa 100 mm. Quecksilberhöhe gearbeitet.

Die Flüssigkeit, welche klar, sehr wenig opalisierend ist, oxydiert Guajak sehr stark und momentan ohne Zusatz von  $H_2O_2$ . Wir haben also eine verhältnismäßig sehr reine, jedenfalls von Zellinhaltsbestandteilen ganz freie Oxydaselösung in der Hand, wie sie wahrscheinlich noch nicht dargestellt worden ist. Auch können wir leicht fast beliebige Mengen davon bekommen. Die Lösung dieser extrazellulären Oxydase zeigte folgende Eigenschaften.

Reaktion ganz neutral. Mit Millon's Reagens keine Rötung auch nach dem Erwärmen; auch der über Schwefelsäure bei 30 mm. Druck durch Austrocknen erhaltene, sehr spärliche Niederschlag zeigt keine Reaktion. Biuretreaktion negativ. Reaktion Fehlings (auch nach Inversion), Ihl's Aldehydreaktion, Legal's Aldehydreaktion,



Schiff's schwefligsaures Fuchsin, salzsaures Orzin und Phlorogluzin zeigen keine Reaktion, Vanillin-Schwefelsäure ebensowenig. Vanadinsaures Ammonium, Titanschwefelsäure, eine Spur Chromsäure und Äther zeigen ebenfalls keine Reaktion. Bei Behandlung mit Eisenchlorid ist das Resultat nicht ganz klar; mit sehr geringen Mengen des Reagens scheint eine Spur von grauvioletter Färbung zu entstehen. Durch diese Reaktionen glaube ich in dem Filtrate die Abwesenheit der Eiweißstoffe, der Zuckerarten, Aldehyde, Wasserstoff-superoxyd annehmen zu können.

Dagegen charakterisierte unsere Flüssigkeit die Fähigkeit, zahlreiche Oxydationen bei Gegenwart von Luftsauerstoff zu übermitteln, respektive zu beschleunigen. Die momentan auftretende Bildung des Guajakblau habe ich schon erwähnt, da jedoch diese für mikroskopische Untersuchungen der Lokalisation, soweit es sich um feinere Einzelheiten, in erster Linie um Entscheidung der Frage handelt, ob die Oxydase außerhalb oder innerhalb des Plasmaleibes ihren Sitz hat, wegen der Löslichkeit des Farbstoffs fast ganz untauglich ist und schon zu häufig zu Irrtümern Anlaß gegeben hat, habe ich eine ganze Anzahl anderer leicht oxydabler Stoffe mit Hilfe dieser Oxydase zu oxydieren versucht, und zwar ausnahmslos in neutraler Lösung. Es wurde dabei einerseits nach einer brauchbaren mikrochemischen Reaktion gesucht, das heißt nach einer solchen, die schnell auftritt, intensive Färbung zeigt und unlösliche gefärbte Produkte liefert; andererseits wurde der Bereich der Oxydationsfähigkeit der Interzelluläroxydase festzustellen gesucht, um sie dadurch, — heute die einzig mögliche Methode — mit einer der schon bekannten identifizieren zu können.

Pyrogallol. Es wurde in je 100 ccm. Oxydaseflüssigkeit 1, 2 und 5 gr. Pyrogallol gelöst. Die Flüssigkeit bräunt sich rasch, die Bildung der unlöslichen Purpurogallinkristalle erfolgt jedoch erst nach längerer Zeit, und zwar am schnellsten in 1% Lösung. Dabei wurde Sauerstoff, wie die Versuche im Atmungsapparat zeigen, energisch absorbiert.

Hydrochinon verhält sich ähnlich, gebildet werden die schwarz grünlichen Chinhydrontäfelchen. Die Reaktion verläuft langsam.

Benzidin allein wurde auch nach 24 Stunden nicht gebläut. Dagegen nach Zusatz von  $H_2O_2$  zu der Nymphaeaflüssigkeit wird dieselbe momentan oxydiert, der unlösliche dunkelblaue Farbstoff geht aber rasch in einen braunen über.

$\alpha$ -Naphthylamin liefert erst nach längerer Zeit eine schwach violette Färbung.

Aloe Barbados liefert eine intensiv rote Reaktion.

Phenolphthalin wird nur langsam zu Phenolphthalein.

Ferroammoniumsulfat liefert einen gallertartigen grauen Niederschlag, welcher nach einigen Tagen gelbbraun wird. eine meßbare Oxydation zu Ferri findet nicht statt.

Mannit liefert auch nach 48 Stunden keine die Fehlingsche Lösung reduzierende Substanz.

Traubenzuckerlösung und Formalin in der Oxydase gelöst absorbieren keinen Sauerstoff.

Tyrosin und Phenylalanin werden nicht oxydiert, auch nicht nach Zusatz von  $H_2O_2$ .

Jodkali liefert in 1 und 2%-Lösung kein Jod. Ebenso wenig 10% IK-Lösung mit trockener Oxydase. In sehr konzentrierten IK-Lösungen wird dagegen etwas Jod nach 12—24 Stunden frei, doch es ist nicht zulässig, diese verspätete Jodkalisplaltung der Wirkung einer Oxydase zuzuschreiben.

Guajakol allein gibt keine, nach Zusatz von  $H_2O_2$  eine sehr intensive braunrote Reaktion.

Kaffeegerbsäure bräunt sich ein wenig nach längerer Zeit, die blaue Farbe wird nicht gebildet. Phloridzin wird nicht verändert.

p-Phenylendiaminchlorhydrat verursacht eine schwach violette Färbung, o-Phenylendiamin eine gelborange, m-Phenylendiamin gar keine Färbung. Mit  $\alpha$ -Naphtol erzielt man nach längerer Zeit eine schwach violette, mit Para-Amidophenol rasch eine dunkel-violette, mit Dimethylparaphenylendiamin eine violette Färbung.

Eine lange Reihe sehr intensiv-gefärbter, z. T. unlöslicher Reaktionen der Oxydase wird durch die Bildung der Indophenole, Indoaniline und Indamine erhalten. Um die mikrochemische Reaktion sehr bedeutend zu beschleunigen, setze ich vielfach ein wenig  $H_2O_2$  zu dem Gemisch hinzu, wobei jedoch immer festgestellt sein muß, ob  $H_2O_2$  allein, schon ohne Oxydase die betreffende Oxydation herbeiführen kann oder nicht. Nur die für botanische Zwecke wichtigsten dieser Reaktionen notiere ich hier, ein Chemiker könnte die Zahl derselben bedeutend vermehren.

Dimethylparaphenylendiamin + Anilin, dunkelviolet.

„ +  $\alpha$ -Naphtol, dunkelblau.

- Dimethylparaphenyldiamin + Toluyldiamin (1, 2, 4), dunkelviolett.  
 „ + Dimethylanilin + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dunkelviolett.  
 „ + Chinolin, prachtvoll purpur, doch löslich.  
 „ + Paratoluidin + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, purpur.

Paraphenyldiaminchlorhydrat sowie Paramidophenol liefert mit oben genannten Stoffen und mit der Oxydase wiederum zahlreiche Farbstoffe, von welchen die durch Zusatz von Anilin, Dimethylanilin, Toluidin (Ortho und Para), Xylidin, Phenol,  $\alpha$ -Naphtol für mikroskopische Zwecke mehr oder weniger sich eignen.

Die durch die Interzelluläroxydase der Nymphaea bewirkten Oxydationen werden durch manche Körper gehemmt, so durch Hydroxylaminchlorhydrat (1%), Hydrazinchlorhydrat (1%, durch schwächere Lösungen nur abgeschwächt), Blausäure, Kalium sulfurosum, Kalium bisulfurosum. Ohne hemmende Wirkung ist Formaldehyd (2 ccm. der käuflichen Lösung zu 100 ccm. Oxydase), ebenso Salizylaldehyd, Sublimat (20 ccm. der 2‰-Lösung zu 100 ccm. Oxydase), Kalium hyposulfurosum. Traubenzuckerlösung verhindert — und das will ich als Ergänzung des bei Alternaria Gesagten hervorheben — in Konzentrationen 2, 4, 10, 20, 40% angewandt, die Guajakreaktion nicht. Phenyl- und Benzylphenylhydrazin zerstören die Oxydase. Die oben erwähnte Phenyldiamine, welche z. T. durch die Oxydase farbig oxydiert werden, zerstören jedoch die Oxydase bald. Alkaloide wirken nicht hemmend (untersucht wurde Nikotin, Morphin, Strychnin, Brucin). Karbamid, Oxamid, Acetamid, Asparaginsäure bleiben wirkungslos, dagegen wird die Oxydasereaktion durch Koffein langsam, durch Alloëan in kürzester Zeit zerstört. Tannin und Gallussäure zerstören sie ebenfalls. Nach Säurezusatz (HCl, Oxalsäure) wird Guajak nicht oxydiert, doch tritt die blaue Farbe gleich nach der Neutralisation auf. Geringer Alkalizusatz stört die oxydative Wirkung der Oxydase nicht. Malzdiastase, Pepsin, Papayotin sind gleichfalls wirkungslos, dagegen wird sie durch verschiedene Bakterien zerstört. Die verhindernde Wirkung des Alloëyn, des Hydroxylamins und der Sulfite ist eine Folge der Reduktion des oxydierten Benzidins.

Die Oxydase wird durch 25% Ammonsulfat teilweise, durch 50% Lösung fast vollständig, durch die gesättigte Lösung vollstän-

dig ausgesalzen und schwimmt in der spärlichen, etwas schaumigen, an der Luft sich etwas schwärzenden Kammschicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit. In 24 Stunden ist gegen reines Wasser, sowohl in Schleicher'schen Dialysierhülsen, wie in gewöhnlichen Dialysierschläuchen keine reaktionsfähige Oxydase nach außen herausdiffundiert. In 76% Alkohol ist die Oxydase löslich, in 86% Alkohol schon unlöslich, in Äther und Benzol unlöslich. Was die Wirkung der Temperatur anbelangt, so wird diese in bedeutendem Grade durch die fremden Stoffe alteriert. Während mehrere Oxydaseportionen fünf Minuten lang auf 90° erwärmt ganz reaktionsunfähig wurden, zeigten andere sonst nicht besonders intensiv reagierende, trotz 10 Minuten langen Aufenthaltes in Autoklav bei 100° C. eine Schwächung, doch keine Vernichtung der oxydasischen Kraft, die nach Zusatz von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stärker wurde. Andere Interzellularoxydasen z. B. der Nicotiana, wie ich es an anderer Stelle ausführen werde, vertragen eine noch höhere Temperatur, während die Oxydase des Saccharum officinale, welche ich vor Jahren untersucht habe (es war dies zwar keine reine Interzellularoxydase) schon bei 60° C., ihre Wirkungskraft eingebüßt hat.

In der Interzellularoxydase der Nymphaea haben wir also keine Tyrosinase (— eine Oxydase, welche Tyrosin rötet, ist mir übrigens bis heute bei keiner Blütenpflanze vorgekommen, die dunklen Färbungen mancher Tyrosin enthaltenden Pflanzen, z. B. der Dahlia oder der Zuckerrübe sind durch die weitere Oxydation der Phenoloxysäuren entstanden —), weiter keine Oxydase, welche Jodide, Aldehyde, Mannit oder Glykose oxydieren könnte. Sie gehört also zu dem Typus der s. g. Lakkase, ebenso wie die Oxydase der Resorptionsfläche der Wurzel. Die Differenzen, welche sie von der letzteren unterscheiden, beruhen auf verschiedenem Verhalten gegen reines Benzidin,  $\alpha$ -Naphthylamin, Phloridzin, Kaffeegerbsäure, Ferrosalze, auf einer nur schwachen Oxydation des Phenolphthalins und sind entweder durch Verschiedenheiten der chemischen Zusammensetzung der Oxydase, oder durch Verschiedenheiten der Beimengungen bedingt, was ich nicht entscheiden kann. Mit Enzymen im engeren Sinne scheint die Interzellularoxydase in keiner chemischen Beziehung zu stehen.

Auf dieselbe Weise wie bei Nymphaea habe ich destilliertes Wasser durch die Blätter einiger anderen Pflanzen unter dem Saugdruck einer Wasserpumpe filtriert, um die Eigenschaften der so

erhaltenen Interzelluläroxydasen vergleichen zu können. Ebenso leicht, wie bei *Nymphaea*, ist das Wasser durch die Blätter des *Nelumbium luteum* zu filtrieren. Die Flüssigkeit färbt sich mit Guajak momentan blau, mit der Benzidinlösung ergibt sich keine farbige Reaktion, doch setzt sich nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd ein tiefblauer Niederschlag ab, welcher bald braun wird, mit Diphenylparaphenylendiaminchlorhydrat und  $\alpha$ -Naphthol die rotviolette Indophenolreaktion, mit Pyrogallol oder Hydrochinon die bekannte, Purpurogallein, resp. Chinhydron liefernde Oxydation ergibt. Dagegen erzielt man mit Jodkali und Stärke keine Jodbildung. Tyrosin oder Guajakol allein werden nicht gefärbt, dagegen Guajakol und  $H_2O_2$  liefern eine sehr intensive rotbraune Reaktion, welche besonders intensiv und rasch erscheint, falls *Nelumbium*-filtrat und Guajakol längere Zeit ( $\frac{1}{2}$ —2 Stunden) gemischt standen, und erst nachträglich  $H_2O_2$  zugesetzt wurde. Die Guajakol- $H_2O_2$ -Reaktion ist beim *Nelumbium*- und *Sagittaria*-filtrat sogar viel intensiver als bei *Nymphaea* (vielleicht infolge weniger weitgehender Verdünnung derselben).

*Sagittaria variabilis* läßt das Wasser nur sehr schwer, langsam und in sehr geringen Mengen durch das Blatt filtrieren. Alle Reaktionen stimmen mit denjenigen des *Nelumbium*-filtrats überein, mit der alleinigen Ausnahme der Jodidreaktion, welche positiv ist. Immerhin bildet sich die violettblaue Jod-Stärkefarbe erst nach Verlauf einiger Stunden. Eben in *Sagittaria*, und zwar in den Knospen hat *Aso* die Jodidreaktion des Auszuges beschrieben und als eine Nitritreaktion gedeutet. In Anbetracht des Verhaltens des *Aspergillus niger* muß man annehmen, daß in der *Sagittaria*-flüssigkeit zwei verschiedene Oxydasen gemengt vorkommen: in großer Menge die gewöhnliche Interzellulärenoxydase von dem Typus der Lakkase, in sehr geringer Menge die Jodidoxydase. Ob jedoch die letzte, in Anbetracht ihrer geringen Menge und in Berücksichtigung der Schwierigkeiten, mit welchen die Filtration durch die *Sagittaria*-blätter durchführbar ist, tatsächlich in ganz normalen, intakten Lufträumen der *Sagittaria*-blätter vorhanden ist, oder erst sekundär in denselben vorkommt, ist doch auf grund des Filtrationsversuches allein — meiner Meinung nach — nicht sicher zu entscheiden. Es kann das nur eine geeignete mikroskopische Lokalisationsuntersuchung ermitteln.

*Limnasthemum nymphaeoides* lieferte mir nur sehr wenig Flüs-

sigkeit, ebenso *Trapa natans*. Beide, sowie auch *Nicotiana Tabacum*, über welche ich bei Gelegenheit einer Arbeit über die Rolle der Oxydase bei dem Trocknungsprozesse des Tabaks berichten werde, stimmen in ihren Reaktionen mit den vorher beschriebenen Filtraten.

Inwiefern geringe Mengen mancher Metallsalze die oxydative Wirkung der *Nymphaeaoxydase* beschleunigen, habe ich zunächst für Mangansulfat untersucht. Zu diesem Zwecke wurde Pyrogallol und Hydrochinon verwendet und zwar in 2% Lösungen in der *Nymphaea*-Flüssigkeit, zur Hälfte mit 0.01%  $\text{Mn-SO}_4$ , zur Hälfte ohne Mangan; dabei dienten zur Kontrolle mit und ohne Mangan zusammengestellte Lösungen der 2% Lösungen der genannten Phenole in reinem Wasser. Die Oxydation des Pyrogallols und des Hydrochinons läßt sich bequem kolorimetrisch beurteilen, außerdem bilden sich endlich durch Oxydation des Pyrogallols die unlöslichen Kristalle des Purpurogallins, durch Oxydation des Hydrochinons die grünlichen Blättchen des Chinhydrons, welche jedoch bald oberflächlich mit braunem Farbstoff beschmutzt werden. Die beschleunigende Wirkung des Manganzusatzes auf die Oxydase war in der obigen Versuchsanstellung ganz klar und in wenigen Stunden bei Hydrochinon sichtbar, es war auch eine solche, wenn auch schwache Beschleunigung in der wäßrigen Hydrochinonlösung wahrnehmbar, dagegen war sie in der wäßrigen Pyrogallollösung auch nach 3 Tagen nicht sichtbar. Nach drei Tagen notierte ich: Pyrogallol in Wasser blaßgelb.

Pyrogallol in Wasser + 0.01%  $\text{MnSO}_4$ , ebenfalls blaßgelb, keine Purpurogallinbildung.

Pyrogallol in *Nymphaea*-Oxydase, dunkelbraun; zahlreiche Purpurogallin-Körner schwimmen auf der Oberfläche und liegen am Boden des Kolbens.

Pyrogallol in *Nymphaea*-Oxydase + 0.01%  $\text{Mn SO}_4$ , ein wenig dunkler als im vorigen Glase.

Hydrochinon in Wasser gelblich.

„ „ „ + 0.01%  $\text{Mn SO}_4$ , deutlich dunkler.

„ in *Nymphaeaoxydase*, dunkelrotgelb, Chinhydronbildung.

„ in *Nymphaeaoxydase* + 0.01%  $\text{Mn SO}_4$ , bedeutend rascher eintretende und stärkere Reaktion als ohne Manganzusatz.

Die Oxydationen des Hydrochinons und Pyrogallols verlaufen unter Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydbildung. Auf beide Prozesse bei gewöhnlicher Atmung der Pflanzen wirken bekanntlich geringe Mengen verschiedener z. T. metallischer Reizmittel beschleunigend; es war also angezeigt zu prüfen, ob auf unsere Oxydase die Mangansalze eine spezifische Wirkung ausüben, oder ob andere Metalle sich ähnlich verhalten. Die Versuche waren durchgeführt mit einer 1% Pyrogallollösung in einer Reihe von Kolben in Nymphaeoxydase, der Kontrollreihe in reinem Wasser. Nach 10 Stunden wurde notiert:

1. Pyrogallol in Wasser blaßgelblich.
  2. Pyrogallol in Nymphaea-Oxydase braungelb.
- |  |   |   |
|--|---|---|
| Mit 0·01 %<br>Ferrikalium-<br>cyanatum | } | 3. In Wasser. Dunkler als Nr. 1, doch ohne Purpurogallin.                     |
|  | } | 4. In Nymphaea-Oxydase. Bedeutend dunkler als Nr. 3, doch ohne Purpurogallin. |
| Mit 0·01 %<br>Zn SO <sub>4</sub>       | } | 5. In Wasser, wie Nr. 3.  |
|  | } | 6. In Nymphaea-Oxydase dunkel braun, Purpurogallin fängt an sich zu bilden.   |
| Mit 0·01 %<br>Ni Cl <sub>2</sub>       | } | 7. In Wasser, wie Nr. 3.  |
|  | } | 8. In Nymphaea-Oxydase, wie Nr. 6.  |
| Mit 0·01 %<br>Co Cl <sub>2</sub>       | } | 9. In Wasser, wie Nr. 3.  |
|  | } | 10. In Nymphaea-Oxydase, wie Nr. 6 und 8.                                     |

Mit Pyrogallol allein habe ich noch die Wirkung der Zugabe von essigsaurem Blei, Sublimat, Ferrokaliumcyanat, Kupferchlorid, Eisenchlorid, salpetersaurem Silber untersucht. Pyrogallol wurde wieder in 1%, die Metallsalze in 0·01% Lösung verwendet, zu Kontrollversuchen dienten einerseits dieselben Reagenzien mit reinem Wasser, ohne Metallsalz andererseits. Die Resultate mit essigsaurem Blei, Eisenchlorid, Kupferchlorid, und salpetersaurem Silber sind nicht zu verwerten wegen der trübenden Reaktionen zwischen Pyrogallol und der betreffenden Verbindung, mit Sublimat ließ sich keine Verstärkung der Oxydation, mit Ferrokaliumcyanat dagegen eine sehr intensive erzielen.

Die Beschleunigung der Oxydation der Nymphaea-Oxydase ist also durch Zugabe geringer Menge von Zink, Nickel, Kobalt, Mangan, Ferri-, und Ferrocyanatsalze zu erzielen.

Obwohl die Oxydationslösung, welche durch die Methode der Blatt-

filtration erhalten wurde, höchst wahrscheinlich von der Oberfläche der intakten Lufträume, und nicht aus dem Zellinnern stammten, so war doch, um volle Sicherheit darüber zu erlangen, eine mikroskopische Untersuchung der Lokalisation derselben unbedingt notwendig. Dabei hat man mit verschiedenen Schwierigkeiten zu kämpfen. Da die Oxydase selbst in Wasser und sogar noch in 76% Alkohol leicht löslich ist und während des Schneidens der frischen Objekte durch das Messer auch an verschiedene sonst oxydasefreie Stellen des Präparates geschleppt wird, können ganz falsche oder verschwommene Bilder der Lokalisation entstehen. Freilich ist diese Schwierigkeit bei den meisten botanischen Objekten nicht so trügerisch, wie bei den tierischen, doch ebenso auf dem Gebiete der Botanik wie auf dem Gebiete der Zoologie sind auf diese Weise schon viele Irrtümer entstanden. Sogar durch Behandeln der Präparate mit absolutem Alkohol sind nicht immer ganz fehlerhafte Bilder zu vermeiden, indem wahrscheinlich vor dem vollständigen Imprägnieren der Präparate mit absolutem Alkohol schon hier und da, besonders falls die Objekte etwas dicker sind, die Oxydase in dem Gemisch des Zellinhaltes und des Alkohols sich lösen kann. Doch kann man an dünnen Objekten, z. B. an den rasch abgerissenen Epidermstücken mittelst des durch absoluten Alkohol bewirkten Niederschlags der Oxydase richtige Bilder erhalten. Man soll jedoch immer daran denken, daß in Alkohol manche Pflanzenstoffe (— es handelt sich dabei sicher nicht nur um Gerbstoffe —) löslich sind, welche die Oxydase reaktionsunfähig machen können. Die „tötende“ Wirkung des Alkohols auf die Oxydase des Zuckerrohrs, vielleicht infolge der in Alkohol löslichen Hemmungskörper habe ich schon vor acht Jahren beobachtet und beschrieben und sogar zur Unterscheidung derselben von dem Leptomin benutzt.

Deswegen habe ich mich mit dem Fixieren der Oxydase mit absolutem Alkohol nicht begnügt, sondern versuchte wenigstens die Oxydase der Lufträume mit einer gesättigten Lösung des Ammonsulfats unter Luftpumpe vollständig und rapid zu fixieren. Gesättigte Kochsalzlösung genügt nicht, gesättigtes Natriumthiosulfat liefert zwar manchmal gute Bilder, doch schädigt es endlich die Oxydase. Mit Ammonsulfat dagegen bekomme ich Resultate, welche mich noch am besten befriedigen. Diese Arbeitsweise hat manche Unannehmlichkeiten. Man soll nur kleine Pflanzenstücke im Vakuum injizieren, diese werden aber dabei vielfach weich und zum



Schneiden wenig bequem. Solche werfe ich noch vor dem Schneiden in absoluten Alkohol, dabei bildet sich jedoch eine Kristallkruste, welche wiederum beim Schneiden hinderlich ist. Die meisten pflanzlichen Objekte liefern jedoch mit Ammonsulfat auch ohne Alkohol gute Bilder. Eine andere Schwierigkeit liegt in den Reagenzien, als welche leicht oxydable Chromogene verwendet werden. Wässerige Lösungen derselben sollen vermieden werden, da sonst die Oxydase wiederum gelöst wird. Manche dieser Reagenzien reagieren zwar gut, aber langsam, wie ich in der Abhandlung über die Oxydase der Wurzeloberfläche gezeigt habe; mit intakten, lebenden Pflanzen bekommen wir dann gute Resultate, in den Schnitten verbreitet sich dagegen die Oxydase weit außerhalb der primären Lokalisationsstelle. Manche der oxydablen Chromogene z. B. Guajak liefern lösliche, also herausdiffundierende Oxydationsprodukte, müssen also im Momente der Reaktion gleich untersucht werden; schon wenige Sekunden nachher entspricht die Lokalisation der Farbe nicht mehr derjenigen der Oxydase; unter strikter Berücksichtigung dieses Umstandes liefert jedoch sogar die schwer zu behandelnde Guajakreaktion richtige Resultate.

Wie aus der oben angegebenen Zusammenstellung zu ersehen ist, kann man sehr verschiedene Reagenzien zum Nachweis der Oxydase verwenden. Ich habe mich an Benzidin +  $H_2O_2$  gewöhnt und bediene mich dieser am meisten.

Die Hauptfrage, welche ich bei den Lokalisationsuntersuchungen zu lösen versuchte, war, ob die Oxydase wirklich wie die Filtrationsversuche zeigen, an der Oberfläche der die Lufträume der Pflanzen auskleidenden Zellmembranen oder aber auch im Inneren des Protoplasten vorkommt. Für viele Zellgruppen war eigentlich die letzt erwähnte Möglichkeit seit den Untersuchungen Pfeffers über die oxydativen Wirkungen des Wasserstoffsperoxyds auf die leicht oxydablen Chromogene des Zellsaftes ausgeschlossen. Falls die Parenchymzellen der *Vicia Faba*, und die Wurzelhaare der *Trianea bogotensis* erst nach Zusatz. von  $H_2O_2$  sich bräunlich färben, so ist offenbar in denselben Zellen (wenn überhaupt Sauerstoff disponibel ist), keine Oxydase vorhanden, welche so stark wie  $H_2O_2$  oxydieren konnte. Und die Oxydasen oxydieren bekanntlich Körper, welche durch Wasserstoffsperoxyd allein nicht zu oxydieren sind. Doch hat Pfeffer nicht alle Gewebearten der Pflanzen auf die Abwesenheit eines ähnlich dem  $H_2O_2$  oxydierend wirkenden Körpers unter-

sucht; wir wissen nämlich nicht, wie sich in dieser Hinsicht die Siebröhren, Geleitzellen, Milch-, Schleim- und Harzgänge verhalten.

Als Hauptresultat kann ich angeben, daß im Inneren der gewöhnlichen Parenchym- oder Epidermzellen eine Oxydase wirklich fehlt. Und zwar fehlt sie ebenso im Zellsaft, wie im Plasma selbst. Bei den Untersuchungen über die Oxydase der Resorptionsfläche der Wurzeln war es mir durch die Lebendfärbung nicht möglich, darüber ins Reine zu kommen, ob die äußere Schicht des Plasmas doch keine Oxydase enthält. An stark plasmolysierten Parenchymzellen gelingt die Feststellung der Abwesenheit derselben im Plasma leicht. Wenn in manchen Fällen, wie z. B. bei den Schließzellen bei *Ficus*, oder den Zellen der Stärkescheide bei *Vicia Faba* ich die Abwesenheit der Oxydase im Inneren der Zellen nicht endgiltig feststellen kann, so handelt es sich dabei um die Schwierigkeiten der Technik, und ebenso wenig darf ich behaupten, daß in den genannten Zellen die Oxydase tatsächlich vorhanden ist. Es sind dies Einzelheiten, welche mit Hilfe anderer Methoden zu lösen sind.

Anders verhält es sich mit den Siebröhren und Milchröhren. Hier ist die Oxydase wirklich intrazellulär und kolorimetrisch geschätzt in größerer Menge vorhanden als außerhalb der Parenchymzellen oder in den Tracheen. Ihr Vorhandensein kann benutzt werden, um in schwierigeren Fällen die vereinzelt Siebröhren oder weniger distinkte Milchröhren in den Präparaten zu entdecken. Auf diese Weise konnte ich z. B. die Milchröhren bei *Daemenorops* und *Calamusarten* ausfindig machen. Doch befaße ich mich in der vorliegenden Abhandlung mit interzellularen Oxydasen nicht, deren Isolierung mit besonderen Schwierigkeiten verbunden ist. Wir haben in den Sieb- und Milchröhren mit chemisch komplizierten Mischungen zu tun, und der Mechanismus ihrer oxydativen Wirkung ist möglicherweise von demjenigen der interzellularen Oxydase verschieden. Die Siebröhren oxydieren doch vielfach Jodkali, reduzieren verschiedene Stoffe, enthalten Leptomin<sup>1)</sup>. Sogar die Identität

<sup>1)</sup> In letzten Jahren konnte ich an manchen Stellen lesen, daß mein „Leptomin wahrscheinlich eine Peroxydase ist“. Ich benutze die Gelegenheit um in Erinnerung zu bringen, daß z. Z., als ich die Leptominreaktion der Siebröhren beschrieben habe, die Benennung der Peroxydase noch nicht existierte. Diese ist nämlich einige Monate jünger, hat jedoch allgemein Annahme gefunden, meiner Ansicht nach mit Unrecht. Nach kurzer Überlegung kommt man zu der Einsicht, daß die Bezeichnung der Oxydase als „Peroxydase des Leptomins“ vielleicht nicht

der Interzellularoxydase und der Siebröhrenoxydase ist noch nicht festgestellt.

Die Oxydase, welche die Oberfläche der Interzellularen auskleidet und welche in der Mittellamelle der Zellen häufig vorhanden ist, muß von der Zelle abstammen. Nun könnte man denken, daß dieselbe trotz negativer Befunde doch in der Zelle vorhanden, aber an ihrer oxydativen Tätigkeit, durch andere Zellinhaltbestandteile verhindert wird. Dagegen sprechen jedoch die intrazellularen, vermittelt des Wasserstoffsperoxyds bewirkten Oxydationen, welche doch nicht (nach Zusatz von  $H_2O_2$ ) gehemmt werden. Ist aber die Oxydase in den parenchymatischen Zellen fertig nicht vorhanden, so muß gleichzeitig angenommen werden, daß sie durch die Plasmahaut während des Lebens der Zelle nicht hineindiffundieren kann. Es wird also wahrscheinlich die Oxydase der Lufträume als ein anderer, nicht oxydierender Stoff durch die Zellen ausgeschieden, welcher erst nachträglich in dem Sauerstoffbade der Lufträume oxydatische Eigenschaften bekommt.

Obwohl viele Pflanzenarten auf die Lokalisation der Oxydase untersucht waren, so gebe ich hier wegen der Gleichförmigkeit der Resultate nur die Beschreibungen der Befunde bei einigen Pflanzen wieder.

*Zea Mays*. Blatt. In den Epidermiszellen der Blattober- und Blattunterseite ist keine Oxydase nachweisbar, weder im Inneren der Zelle, noch auf der Membran. Mesophyll ist oxydasereich. Zellkern, Plasma, Chromatophoren und Zellsaft sind jedoch immer oxydasefrei, dagegen die Membran färbt sich von Benzidin- $H_2O_2$  blau, besonders stark in der Nähe der Spaltöffnungen. Auf der Unterseite der Epidermiszellen sind die Umrisse der angrenzenden Mesophyllzellen blau gefärbt. Die Tüpfel zwischen den Mesophyllzellen, sowie zwischen dem Epiderm und den Mesophyllzellen bleiben farblos. Die großen, grünen Zellen, welche eine Scheide um die kleinen Gefäßbündel bilden, zeigen im Inneren gar keine Reaktion, dagegen wohl eine starke an der Oberfläche der Membran, besonders an den Ecken, wo drei Zellen zusammenstoßen. Die Bastbelege um die Bündel sind oxydasefrei, obwohl an nicht genügend gut fixier-

so ganz verfehlt wäre, daß es aber noch besser sei, das zu viel sagende „Per“ gar nicht zu gebrauchen. Der Terminus: „indirekte Oxydase“ (auch jünger als Leptomin) ist jedenfalls besser als „Peroxydase“.

ten Präparaten, besonders an den Querschnitten, leicht die Oxydase in ihr Inneres gelangen kann. Die großen, toten, lufterfüllten Zellen oberhalb der Mittelrippe zeigen eine Reaktion nicht nur der Membran, sondern auch der vertrockneten Plasmabelege, besonders stark in der unmittelbaren Nähe der Spaltöffnungen. Hier bilden sich reichlich die blauen Kristallnadeln des oxydierten Benzidins. In den Siebröhren und Geleitzellen werden dunkelblaue Körner reichlich gebildet. In den Gefäßen färben sich sowohl die Verdickungsringe der Ringgefäße wie besonders die Zwischenwände benachbarter Tüpfelgefäße, wo diese unmittelbar aneinander grenzen.

Stamm. Epidermiszellen im Inneren und an der Oberfläche sind oxydasefrei, dagegen die Oberfläche der Membran der unmittelbar unter der Epidermis liegenden Zellen reichlich oxydasehaltig. An den Tangentialschnitten der Stammoberfläche, welche von unten angeschaut werden, ist die Abhängigkeit der intensiven Oxydase-reaktion von der unmittelbaren Nähe der Spaltöffnung besonders auffallend. Die Parenchymzellen zeigen die Reaktion nur in der Mittellamelle benachbarter Zellen und besonders in den dreieckigen Lufträumen zwischen je drei Zellen. Hier ist diese auch mit Guajaklösung gut nachweisbar. Plasma ist oxydasefrei. Die Bastbelege der Gefäßbündel, welche mit Alkohol fixiert gewöhnlich die Oxydasereaktion zeigen, erweisen sich nach richtiger Behandlung mit gesättigtem Ammonsulfat als oxydasefrei. In den Siebröhren und Geleitzellen findet reichliche Reaktion, ebenso an den Wänden statt. Ring- und Spiralgefäße reichlich reagierend, weniger die Tüpfelgefäße und zwar nur im Inneren der Tüpfel. Besonders günstig für die Untersuchungen sind die Längsschnitte.

Wurzel. Die Reaktion zeigt die Oberfläche der Wurzel, der Wurzelhaare, die äußere Schicht der Membran der Parenchymzellen der Rinde und des Zentralzylinders, die Gefäße, sowie die Siebröhren und die Geleitzellen. Es war keine Reaktion mit Benzidin sichtbar in und an den dickwandigen, peripherischen Zellen der dicken Stützwurzel, des Zentralzylinders und der Endodermis. Die gänsekiel-dicken Luft- und Stützwurzel der ausgewachsenen Pflanzen, besonders der hohen Varietäten zeigen eine enorm dicke Schleimhülle der Wurzelspitze, wie ich eine solche in Europa nicht mehr gesehen habe. Auf Java sind diese Schleimüberzüge der Maiswurzel in frühen Morgenstunden bis 1 cm dick, und mit dem Schleimhüllen des *Lycopodium volubile* oder der Luftwurzel der epiphy-

tischen Orchideen vergleichbar. In den trockenen Tagesstunden trocknen sie immer mehr aus, und quellen dann erst während des Regens oder nach künstlicher Befeuchtung auf. Ihren Ursprung verdanken sie größtenteils den ovalen, sich ablösenden Zellen der Wurzelhaube, z. T. auch den Epidermiszellen. Es ist nun auch diese schleimige Masse oxydasehaltig und die in derselben lose liegenden Zellen der Wurzelhaube färben sich intensiv im Inneren, besonders reichlich die Zellkerne. Doch haben wir hier schon mit toten Zellen zu tun.

*Tradescantia discolor.* Die Zellen der Staubfadenhaaren geben keine Oxydasereaktion.

*Galtonia candicans.* Werden die Blattstücke lange Zeit, z. B. eine halbe Stunde in alkoholischer Benzidinlösung gehalten und dann in Wasserstoffsperoxyd momentan untergetaucht, so scheiden sich Benzidinblaukristalle in langen Nadeln reichlich aus, doch nie im Inneren der Parenchymzellen, sondern auf der Oberfläche derselben. Besonders reichlich an Oxydase sind die dreieckigen Lufträume zwischen den großen Zellen der Gefäßscheide und dem Gefäßbündel.

*Nymphaea.* Blatt. Die Pflanze ist sehr reich an Gerbstoff, welcher auch in die gesättigte Ammonsulfatlösung herausdiffundiert, und bei längerer Einwirkung die Oxydasereaktion verhindert. Man darf also nicht Blattstücke, welche zu lange in der Flüssigkeit lagen, untersuchen. Mit Ausnahme der Siebröhren und ihrer Nachbarzellen, weiter der Gefäße ist die Reaktion auf die Oberfläche der Membran, eventuell auf die Grenzschicht zweier Zellen beschränkt, oxydase-reich ist die Schleimschicht, welche die Lufträume auskleidet. Zwischen die Palissadenzellen ragen von derselben blaue Oxydaseplatten hinein, und sehr reichlich reagiert die Grenzschicht zwischen den Epidermiszellen der Blattoberseite und den Palissadenzellen.

*Ficus elastica.* Blatt. In den Blattstücken, in welchen die Oxydase zu kurze Zeit fixiert war, kann diese aus den Milchröhren ausfließen und das Bild der Lokalisation verderben, in solchen, welche zu lange fixiert waren, kann der Gerbstoff störend wirken, und dann muß man mit stärkerer Behandlung mit  $H_2O_2$  nachhelfen.

Die Milchröhren geben eine sehr starke Reaktion im Inneren, eine bedeutend stärkere als die Siebröhren und Geleitzellen. Sonst ist die Oxydase in keiner Zelle des Blattinneren enthalten, obwohl

die tiefste (dritte) Zellschicht der Epidermis der Blattunterseite fast ganz gefärbt erscheint. Es ist in dieser an die Mesophyllzellen grenzenden Schicht die Oxydase in den Mittellamellen und an den Zellecken sehr reichlich vorhanden, außerdem schlängeln sich zwischen den Zellen dieser „Oxydaseschicht“ viele Milchröhren. Die sternförmigen Mesophyllzellen haben an der Oberfläche der Membran etwas Oxydase, an den Palissadenzellen konnte ich keine nachweisen. Die Wasserepidermiszellen zeigen eine schwache Reaktion der Membran, die Spaltöffnungszellen der Blattunterseite geben eine intensive Reaktion, doch war es mir nicht möglich, endgiltig zu entscheiden, ob die Reaktion an der Oberfläche der Membran oder im Inneren dieser Zellen ihren Sitz hat.

Richtig behandelte Flachschnitte der Blattunterseite, von der Innenseite gesehen, liefern wegen der intensiven Reaktion der Oxydaseschicht interessante Bilder, die an die versilberten Präparate der tierischen Epidermen erinnern. Rings um die vertieften Spaltöffnungen, sowie um die an der Blattunterseite spärlichen Cystolithe ordnen sich die oxydasereichen Membranstücke zu schönen Ringen.

*Vicia Fabu.* Nach Zusatz des Benzidin- $H_2O_2$  färbt sich, wie W. Pfeffer zeigte, infolge der Oxydation mittelst des Wasserstoffsperoxyds der Zellsaft verschiedener Zellen rötlich, während gleichzeitig die Oxydase der Oberfläche der Zellen die dunkelbraune Reaktion gibt. Reichlich ist die Oxydase in den Cambiumzellen der Stengel, besonders reichlich um die Stärkezellen der Leptomscheide vorhanden. Es macht sogar in manchen Fällen den Eindruck, als wäre die Oxydase auch im Inneren der letzteren vorhanden. Liegen die Gewebestücke längere Zeit (einige Tagen oder Wochen) in gesättigtem Ammoniumsulfat, dann erscheint die Oxydasereaktion nicht nur auf der Außenwand der Zellen, sondern auch auf der Innenwand, doch außerhalb des zusammengeballten Protoplasten. Die letzten bleiben immer farblos.

Viele Pflanzen verschiedener Pflanzenfamilien, von den Lebermoosen angefangen, habe ich auf die Lokalisation der Oxydase untersucht, habe dabei immer dieselbe außerhalb des Protoplasten der gewöhnlichen parenchymatischen Zellen gefunden. Besonders reichlich in den großen Lufträumen der Wasserpflanzen z. B. *Trianea* und *Eichhornia* oder in den Interzellularen des Aerenchyms der Wurzel (*Jussiaea repens*) oder Stengel (*Lycopus*, *Bidens*). Die Oxydase wird besonders reichlich in jungen Organen z. B. Wurzelspitzen

(*Zea Mays*, *Vicia Faba*) oder Stammspitzen (*Vicia Faba*, *Pisum*) gebildet, auch hier in der Membran, und in den erst entstehenden Interzellularen. Doch über die Oxydasen der Siebröhren, Milchröhren, Harz- und Schleimgänge, worüber noch vieles mir bis heute unklar ist, will ich hier nicht berichten. Vielleicht werden Untersuchungen anderer Forscher darüber Licht verbreiten.

Aus den oben mitgeteilten Tatsachen ist ersichtlich, daß die Oberfläche vieler Zellen mit einer „Oxydase“ bedeckt ist, welche zu dem Typus der „Lakkase“ gehört. Den Namen „Lakkase“ will ich für dieselbe vorläufig nicht benutzen, weil zu demselben Typus auch die Oxydase der resorbierenden Wurzeloberfläche gehört, welche doch, wie gezeigt wurde, in manchen Reaktionen von derjenigen der Lufträume verschieden ist. Die Lakkase Bertrand's ist eine Oxydase der Milchröhren der japanesischen Rhusarten, vielleicht mit der Interzellular- und Siebröhren-Oxydase derselben gemengt.

Mit den Enzymen, mit welchen diese Oxydase so häufig und so gerne zusammengeworfen wird, zeigt sie jedoch keine Ähnlichkeit. Dagegen haben wir in derselben mit einem zahlreiche Benzolverbindungen oxydierenden Körper zu tun, von welchen nicht einmal festgestellt ist, ob derselbe in die Rahmen der organischen oder nichtorganischen Verbindungen gehört.

Ganz der Oxydase ähnlich wirken doch verschiedene Peroxyde, Persäuren oder Chinone. Die Klärung der chemischen Zusammensetzung der Oxydase gehört ganz in den Bereich der chemischen Analyse. Beijerinck hat vor einigen Jahren (*Bakt. Centrallblatt*. 1900 pag. 2 sq.) die Oxydase des *Streptotrix chromogena* einfach als Chinon gedeutet. Gegen die Chinonnatur der Interzellularoxydase spricht die Farblosigkeit des trockenen Niederschlages, gegen die Chinonnatur der Jodidoxydase des *Aspergillus glaucus* auch die Unfähigkeit der Chinhydrinbindung mit Hydrochinon.

Dagegen wäre noch zu untersuchen, ob vielleicht in den farbstoff-erzeugenden Bakterien, in welchen Pfeffer und Ewart (*Berichte der sächs. Akademie* 1896. pag. 379) eine dem Hämoglobin analoge lockere Bindung des Sauerstoffs konstatieren konnten, eine Chinonbindung des Sauerstoffs auftritt.

Die extrazelluläre Lokalisation der Oxydase, die Anhäufung derselben in jungen Organen, wie auch in den Atmungsorganen der Pflanzen, endlich die allgemeine Verbreitung derselben zwingt uns drei neue Fragen aufzuwerfen, die einer Antwort harren.

1) Ob die Interzellularoxydase den Sauerstoff an die angrenzenden lebenden Plasmateile auf ähnliche Weise wie auf tote Zellsaftbestandteile, oder außerhalb der Pflanze liegende geeignete Verbindungen übertragen kann und so die Anfangsstadien des Atmungsprozesses (da, wo diese vorhanden sind), einleitet?;

2) Ob sie vielleicht leicht oxydable Stoffwechselprodukte, welche die Zelle nach außen ausscheidet, zu Kohlendioxyd oxydiert und so die Atmungsprozesse der Zelle vollendet?

3) Ob sie vielleicht als Schutzmittel der Zellen gegen die Eingriffe der Mikroorganismen dient? Man wäre versucht, als eine Stütze der letztgenannten Vermutung die interessanten Befunde N. Siebers zu verwenden, nach welchen die Wurzeloxydase der *Scorzonera hispanica* die Toxine des Tetanus und der Diphtherie, dagegen nicht das Abrin entgiftet (Nencki, Opera omnia II, pag. 843). Zwar verhindert die nach dem Tode des Organismus überbleibende Oxydase nicht die Invasion der Fäulniserreger, doch habe ich untersucht, wie manche Pilze in mit Nährstoffen beschickter Nymphaeoxydase wachsen werden. Da ich die Lösungen nicht sterilisieren wollte, um die Oxydase nicht abzuschwächen, so wurden manche Kolben durch Bakterien und Hefe verunreinigt. Doch wachsen in den Oxydaselösungen *Mucor racemosus*, *Thamnidium elegans*, *Basidiobolus ranarum*, *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea* (welche beide selbst eine guajakbläuende Oxydase erzeugen), *Aspergillus niger*, ohne irgend welche Störungen des Wachstums zu zeigen. Dasselbe tun die erwähnten, nicht näher bestimmten, die Kulturen verunreinigenden Hefe und Bakterienarten. Die Versuche dauerten 84 Stunden; nach dieser Zeit zeigten die Kolben die Oxydasereaktion (in den stark durch die Bakterien verunreinigten eine geschwächte), ein Beweis dafür, daß die Oxydase, während des Versuches tätig war. Da nur wenige Pilzspezies untersucht wurden, die Oxydase in einer naturgemäß mehr verdünnten Lösung als an der Oberfläche der Lufträume war, so ist immerhin die Möglichkeit nicht zu bestreiten, daß andere Arten, durch eine größere Dosis der Oxydase in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Doch habe ich die Frage als wahrscheinlich wenig lohnend nicht weiter verfolgt.

Anmerkung während des Druckes:

Daß die Interzellularoxydase der *Nymphaea* mit den Enzymen



nichts zu tun hat, zeigte schon während des Druckes der vorliegenden Arbeit der Assistent des hiesigen Instituts Dr. Niklewski. Indem ich eine ausführlichere Erörterung dieser Verhältnisse ihm überlasse, will ich an dieser Stelle nur folgende kurze Notiz mitteilen.

Das Verhältnis zwischen der Menge der Oxydase und derjenigen der oxydierten Benzidinbase ist konstant. Der Prozeß verläuft in kurzer Zeit, und man kann im Filtrat des Benzidinniederschlages den einen oder den anderen Körper nachweisen. War Benzidin im Überschuß vorhanden, so ist keine weitere Oxydasewirkung, auch nach längerer Zeit mehr wahrzunehmen; andererseits können durch einen Überschuß der Oxydase weitere Benzidinmengen oxydiert werden. So lassen sich denn mit Hilfe des Benzidins verschiedene Oxydaseflüssigkeiten in bezug auf ihre oxydativen Wirkungen vergleichen.

- 
51. M. M. RACIBORSKI m. c. *Uleniające i redukujące własności komórki żywej. Część III. Reakcja jodowa Aspergillus niger. (Oxydierende und reduzierende Eigenschaften der lebenden Zelle. Abt. III. Über die Jodidreaktion des Aspergillus niger). (Propriétés oxydantes et réductrices de la cellule vivante. III partie. Sur la réaction iodée de l'Aspergillus niger).*

In der ersten Abteilung habe ich nachgewiesen, daß die Wurzeln aller untersuchten Blütenpflanzen eine Oxydase ausscheiden, welche viele aromatische Körper, auch Ferrosalze oxydiert, dagegen nicht imstande ist, Jod aus Jodiden zu bilden. Die Menge des ausgeschiedenen Stoffes ist sehr gering, und es war mir nicht möglich, denselben in bedeutenderer Menge zu sammeln. Es ist jedoch zu erwarten, daß eine nach außen durch die Pflanze ausgeschiedene Oxydase ein reineres Produkt sein wird, als eine nach den üblichen Methoden des Zerreibens und der Extraktion ganzer Pflanzen oder Tierorgane dargestellte, in welcher notwendigerweise nicht nur verschiedene andere Stoffe vorhanden, sondern daß diese auch aufeinander, also auch auf die Oxydase modifizierend einwirken müssen. Deswegen habe ich mich bemüht, nach extrazellulären Oxydasen zu suchen.

Unter den oxydativen Eigenschaften der Pflanzen- und der Tier-säfte gehört die von Schönbein entdeckte Bildung des freien Jods

aus Jodiden, wie wir solche an den Schnitten einer frischen Kartoffelknolle beobachteten, zu den anschaulichsten. Diese Eigenschaft findet sich auch bei manchen Pilzen und Bakterien. So schreibt Kobert in seinem „Lehrbuch der Intoxikationen“ 1904, Bd. II, S. 186: „Altenburg hat auf meine Veranlassung die Jodkaliumzersetzung im Brüteschrank durch Mikroben, nämlich durch *Vibrio luminescens*, *Spirillum Cholerae asiaticae*, *Bacillus pyocyaneus*, *Aspergillus niger* studiert und bestätigen können. Für *Aspergillus* ließ sich ferner nachweisen, daß auch die von ihm verflüssigte und dann von dem Mikroben abgetrennte Nährgelatine jodkaliumzersetzend wirkte. Ich zweifle nicht, daß für viele andere Mikroben sich dasselbe nachweisen lassen wird. Wir dürfen also wohl den Satz aufstellen, daß viele Mikroben die Fähigkeit der Jodkaliumzersetzung besitzen und daß diese Fähigkeit, wenn nicht bei allen, so doch bei einzelnen Mikroben auch noch den von denselben abgesonderten Enzymen zukommt“.

Um eine Pilzspezies ausfindig zu machen, welche die Jodide möglichst kräftig zersetzt, habe ich eine gewöhnliche Nährgalgallerte gemacht, welcher 1% IK und etwas lösliche Stärke zugesetzt wurde. In flache Kulturschalen gegossen, wurde dieselbe eine zeitlang in dem Laboratorium offen stehen gelassen, um möglichst verschiedenen Pilz- und Bakteriensporen die Möglichkeit zu geben, sich an derselben anzusiedeln. Tatsächlich war schon nach wenigen Tagen, bei manchen Pilzkolonien eine mehr oder weniger intensive Stärkebläuung sichtbar, am meisten intensiv bei den winzigen, weißen, kompakten, kugelförmig nach oben wachsenden Körpern eines sterilen Pilzes, welcher in dieser Gestalt, keiner mir bekannten Art entsprechend, die äußere Ähnlichkeit mit Hefeansiedlungen zeigte. Es war doch ein Hyphenpilz mit dichtseptierten, engverklebten Hyphen, dessen Reinzüchtung mir anfangs gar nicht gelingen wollte. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß diese Jodkalium zu freiem Jod intensiv oxydierende Art gewöhnlich bald durch dieses Jod getötet wurde. Zahlreiche Abimpfungen auf gewöhnliche jodkalifreie Agargallerte der noch möglichst schwache Jodreaktion zeigenden Kolonien gaben zu meiner Überraschung jedesmal Reinkulturen des *Aspergillus niger*, und dies erschien mir deswegen auffallend, weil dieser Pilz in verschiedenen IK enthaltenden Lösungen mir vorher gar keine Jodreaktion ergab. Ich dachte anfangs an die Möglichkeit einer Verunreinigung der *Aspergillus*kolonien

durch irgend welche Jod erzeugende Bakterienart; indessen war keine solche zu finden, und es stellte sich endlich heraus, daß die Oxydation der Jodide nur unter besonderen Wachstums Umständen stattfindet. Die Sekretion der Jodjonoxydase des *Aspergillus niger*, welche bei manchen Kulturen stark, bei anderen schwach, bei anderen wieder gar nicht stattfindet, mithin also anfangs fast kapri zios erscheint, ist einerseits von der Wachstumsperiode des Pilzes, andererseits von der Nährstoffzusammensetzung abhängig.

Läßt man die Sporen des *Aspergillus niger* in einer Nährlösung keimen, welcher 1—20% Rohrzucker, außerdem etwas Jodkali und lösliche Stärke zugesetzt sind, so bläut sich die Flüssigkeit je nach der Temperatur in 2—4 Tagen. Die Jodbildung schreitet, wie man besonders in den mit größerer Menge Nährlösung beschickten Kolben beobachten kann, von den oberflächlich-schwimmenden, jungen Keimlingen in die Tiefe, bis endlich die ganze Flüssigkeit schwarz erscheint. Die Jodbildung ist so intensiv, daß die (stärkehaltigen) Papierstreifen, welche im Halse der Kolbe neben dem Watta pfropf stecken und zur Aufnahme von Notizen während der vorherigen Sterilisation der Nährlösung dienten, sich schwärzen. Die Hyphen des Pilzes hören auf zu wachsen. Wird eine solche Kultur einige Tage oder Wochen sich selbst überlassen, so können zwei verschiedene Fälle stattfinden. Entweder war die Jodbildung intensiv, und die Flüssigkeit bleibt ständig schwarz, aber auch steril, da die Pilzhyphen durch Jod getötet worden sind, oder, falls die freie Jodmenge nicht so bedeutend war, wächst der Pilz weiter, kompakte Klumpen, manchmal sogar glänzende, tröpfchen- und knöllchenartige Kolonien bildend, welche sehr langsam, doch ohne zu fruktifizieren, weiter wachsen. Zugleich wird aber, die vorher gleichmäßig schwarzblaue Flüssigkeit in der Umgebung des weiter wachsenden Pilzes entfärbt, das freie Jod nimmt immer mehr ab und verschwindet in einer bestimmten Zeit gänzlich. Ist in der Umgebung des Pilzes kein freies Jod mehr vorhanden, dann bildet er gewöhnliche, lose Nährhyphen und fängt endlich an zu fruktifizieren. Eine Untersuchung zeigte, daß die Entfärbung der Flüssigkeit ein Reduktionsvorgang ist, welcher zur Bildung der Jodide führt. Jodate werden dabei nicht gebildet. Junge Keimlinge des *Aspergillus niger* oxydieren also Jodide zu freiem Jod, welches nachträglich durch den erwachsenen Pilz, (falls dieser trotz der besprochenen Oxydation überhaupt am Leben bleibt) wiederum zu Jodiden re-

duziert wird. Über diesen Reduktionsvorgang, welcher dem *Aspergillus* mit sehr vielen anderen Pilzen und Bakterien gemein ist, sowie über die merkwürdige morphogenetische Wirkung des Jods auf die Zellbildung und Zellgestalt des Pilzes, welche nicht nur unserem Pilz, sondern auch Menschenzellen bei Jodismus eigen ist, werde ich bei anderer Gelegenheit berichten. In der vorliegenden Abhandlung interessiert uns nur die oxydative Wirkung des Pilzes, worüber ich folgende spezielle Erfahrungen sammeln konnte. Die Nährlösungen haben immer folgende anorganische Zusammensetzung: Dikaliumphosphat 0.5‰; Kaliumchlorid 0.5‰; Magnesiumsulfat 0.5‰, als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle dienten die verschiedenen unten erwähnten Verbindungen; Eisen wurde nie zugesetzt.

Es war zunächst wünschenswert zu erfahren, welche Konzentration des freien Jods *Aspergillus niger* ertragen kann. Zu einer Nährlösung, welche 1‰ Ammoniumsulfat und 1‰ Glukose enthielt, wurde so viel freies Jod zugesetzt, daß eine  $\frac{1}{1000}$ , eine  $\frac{1}{500}$  und eine  $\frac{1}{100}$  normale Jodlösung resultierte. Da mir aber unbekannt war, ob die Wirkung des freien Jods und die der Jodstärke gleich, oder die letzte abgeschwächt ist, so wurde in eine andere Parallelreihe lösliche Stärke Effront's in genügender Menge zugesetzt. Während in dem Kontrollkolben, in dessen Nährlösung kein Jod vorhanden war, die ersten Sporen in 24 Stunden keimten und nach drei Tagen die Pilzdecke reichlich fruktifizierte, keimten die Sporen in der  $\frac{1}{500}$  (und  $\frac{1}{100}$ ) normalen Jodlösung gar nicht. In der  $\frac{1}{1000}$  normalen Lösung sind jedoch sowohl in der stärkefreien, wie in der stärkehaltigen Nährlösung wenige (nicht alle) Sporen gekeimt, diese wuchsen zunächst sehr langsam, doch nach 9 Tagen waren schon die ersten Fruchttäger sichtbar, während die Jodstärke schon stark entfärbt war.

Wir können also die  $\frac{1}{1000}$  normale Jodlösung, als diejenige bezeichnen, in welcher wenigstens für manche Pilzsporen noch Keimung und Wachstum möglich ist, wobei der Stärkezusatz ohne Einfluß ist.  $\frac{1}{500}$  normale Lösung wirkt tödend.

Ob die Art der Stickstoffquelle von Einfluß auf die Bildung der Jodidoxydase ist, sollte folgende Versuchsreihe entscheiden. Einer Nährlösung, welche 1‰ Glukose, 0.5‰ IK und etwas lösliche Stärke enthielt, wurde als Stickstoffnahrung zugesetzt:

- a) Ammoniumsulfat 1 $\frac{0}{0}$ ;
- b) Ammoniumnitrat 1 $\frac{0}{0}$ ;
- c) Kalinitrat 1 $\frac{0}{0}$ ;
- d) Acetamid 1 $\frac{0}{0}$ ;
- e) Pepton 1 $\frac{0}{0}$ .

In allen Nährlösungen wurde Jod freigemacht, freilich in sehr verschiedenen Mengen. Am meisten schwarz waren die Flüssigkeiten *a*, *b* und *d*; in der Kultur *e* schwindet Jod sehr bald, wahrscheinlich an Pepton addiert, in Kalinitrat wächst der Pilz äußerst schwach, doch ist die Jodbildung, wenn auch erst am sechsten Tage wahrzunehmen.

Da Jodentwicklung in allen erwähnten Kulturen stattgefunden hat, die Differenzen in der Jodmenge mit der Üppigkeit des Wachstums parallel gehen, so muß man annehmen, daß die Art der Stickstoffnahrung ohne Einfluß auf die Bildung der Jodidoxydase bleibt.

Anders verhält es sich mit der Kohlenstoffquelle. Darüber habe ich folgende Versuche angestellt.

Einer Nährlösung mit 0.5 $\frac{0}{0}$  KI und ein wenig Stärke, die auf 7 Kolben à 100 ccm. verteilt war, wurde als Stickstoffquelle (und zum Teil zugleich auch als Kohlenstoffquelle) Acetamid zugesetzt, und zwar:

- |         |     |          |   |
|---------|-----|----------|---|
| Versuch | 18. | Acetamid | 1 $\frac{0}{0}$ .   |
| "       | 19. | "        | 3 $\frac{0}{0}$ .   |
| "       | 20. | "        | 5 $\frac{0}{0}$ .   |
| "       | 21. | "        | 1 $\frac{0}{0}$ + Glukose 5 $\frac{0}{0}$ .                                       |
| "       | 22. | "        | 1 $\frac{0}{0}$ + Ammonsulfat 1 $\frac{0}{0}$ .                                   |
| "       | 23. | "        | 1 $\frac{0}{0}$ + eine Spur verdünnte Essigsäure bis zu deutlich saurer Reaktion. |
| "       | 24. | "        | 1 $\frac{0}{0}$ + etwas Natriumkarbonat bis zu deutlich alkalischer Reaktion.     |

Die alkalische Nährlösung Nr. 24 bleibt ohne Wachstum, sonst wächst *Aspergillus* in allen Gläsern. Nur in Nr. 21 mit Traubenzucker ist Jod entwickelt, die Nährlösung dadurch schwarz gefärbt und das Pilzwachstum retardiert.

Versuch 25. Die Nährlösung wie oben, doch statt Jodkali, 1 $\frac{0}{0}$  Jodammonium zugesetzt + 1 $\frac{0}{0}$  Glukose.

- |         |     |  |     |   |   |                                  |
|---------|-----|--|-----|---|---|----------------------------------|
| Versuch | 26. | Wie 25, doch statt Glukose 1 $\frac{0}{0}$ essigsäures Natron. |     |   |   |                                  |
| "       | 27. | "  | 25, | " | " | 1 $\frac{0}{0}$ Pepton.          |
| "       | 28. | "  | 25, | " | " | 1 $\frac{0}{0}$ weinsaures Kali. |

Nur in Nr. 25 hat sich Jod entwickelt, sonst wächst der Aspergillus in allen Gefäßen mehr oder weniger üppig.

Der gewöhnlichen Nährlösung wurde 1% Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle, sonst 0.5% IK + 0.5% lösliche Stärke Effront's zugesetzt. Die Kohlenstoffquelle wurde folgendermaßen variiert:

Nr. 34.	Lävulose	1%
„	35. Saccharose	1%
„	36. Maltose	1%
„	37. Galaktose	1%
„	38. Holzgummi	1%
„	39. Inulin	1%
„	40. Laktose	1%
„	41. Raffinose	1%
„	42. Mannit	1%
„	43. Leucin	1%
„	44. Glykokoll	1%
„	45. Phloridzin	1%
„	46. Amygdalin	1%
„	47. Glukose	1%

Nach 50 Stunden sind die Kolben Nr. 35 ganz schwarz; nach 70 Stunden auch die Kolben Nr. 47. Sonst sind alle anderen auch später frei von Jod geblieben.

Da mir die Abhängigkeit der Oxydase von der Anwesenheit des Traubenzuckers oder des Rohrzuckers, welche durch die nächstverwandte Hexosen, Biosen oder Polysaccharide nicht zu ersetzen waren, sehr rätselhaft erschien, habe ich den Versuch noch mit 2 anderen Maltosepräparaten anderer Provenienz wiederholt, doch dabei gleiches Resultat erzielt. Nun habe ich von der Firma Kahlbaum — Berlin eine neue Sendung einiger Kohlehydrate mir kommen lassen und wiederum neue Kulturen angelegt. Es wurde der gewöhnlichen Nährlösung 0.5% Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle, 0.5% IK + lösliche Stärke zugesetzt und in die Kolben verteilt, in welchen die Kohlenstoffquelle folgendermaßen variiert wurde:

Nr. 168.	Lävulose	2%
„	169. Arabinose	2%
„	170. Mannose	2%
„	171. Maltose	2%
„	172. Glukose	2%
„	173. Saccharose	2%

- Nr. 174. Asparagin (bis zur Sättigung der Lösung),  
 „ 175. Natrium butyricum 1%,  
 „ 176. Neutrales, weinsaures Natrium 2%,  
 „ 177. Saures zitronensaures Natrium 2%.

Nach 36 Stunden war die schwarze Reaktion in der Traubenzuckerlösung (172) deutlich wahrnehmbar, nach 44 Stunden auch in der Rohrzuckerlösung (Nr. 173), wo sie endlich viel stärker als in Nr. 172 auftrat, sonst aber in keiner Nährlösung. In der Lösung Nr. 175 (buttersaures Natrium) gedeiht *Aspergillus* überhaupt nicht, in den übrigen aber wohl, in allen Zuckerlösungen wächst er sogar sehr üppig und fruktifiziert.

Da es sich inzwischen herausgestellt hat, daß durch konzentrierten Jodkalizusatz die Jodentwicklung beschleunigt (wenn auch, was die absolute Menge anbelangt, vermindert wird), so habe ich doch alle die zuletzt genannten Nährlösungen, insofern sie keine Jodentwicklung zeigten, mit sehr bedeutenden IK-Mengen, nämlich 40% beschickt, indem einfach die entsprechende Menge von Salzkristallen in die Kultur geworfen wurde. Jetzt zeigte sich tatsächlich im Verlaufe einiger Stunden eine sehr schwache Reaktion in Nr. 171 (Maltose), Nr. 168 (Lävulose), Nr. 170 (Mannose), am schwächsten bei Nr. 169 (Arabinose). Im Verlaufe von 30 Stunden wurde endlich die Reaktion in Nr. 177 (saures zitronensaures Natrium) sichtbar. Diese Reaktionen waren jedoch im Vergleich mit den gewöhnlichen in Glukose- oder Saccharoselösung auftretenden so schwach und verspätet, daß ich sogar von einer vergleichenden Messung Abstand nahm, umso mehr da es mir doch als zweifelhaft erscheint, ob die Jodentwicklung in diesen Fällen tatsächlich ein Produkt der Oxydase ist. Bei der leichten Zersetzbarkeit des IK ist ja Vorsicht geboten.

Noch eine Versuchsreihe, welche die Wirkung des Traubenzuckers auf die Bildung der Jodidoxydase deutlich zeigt, möchte ich hier notieren. Von einer Nährlösung mit 1% Ammoniumsulfat, 1% Jodkali, 0.5% lösliche Stärke Effront's wurden folgende Nährlösungen zusammengestellt:

- Nr. 51. Pepton 1%,  
 „ 52. Pepton 1% + Glukose 1%,  
 „ 53. Essigsaures Natrium 1%,  
 „ 54. „ „ 1% + Glukose 1%,  
 „ 55. Weinsaures Kali 1%,  
 „ 56. „ „ 1% + Glukose 1%.

Wie ich nach 36 Stunden beobachtete, war die Lösung Nr. 54 ganz schwarz, Nr. 56 hellblau, in Nr. 52 waren nur Spuren von Jodstärke, offenbar infolge des schon erwähnten Addierens des Jods an Pepton, sichtbar. Die glukosefreien Lösungen Nr. 51, 53, 55 sind ohne jede Reaktion geblieben.

Auf Grund der beschriebenen Versuche glaube ich feststellen zu dürfen, daß die Bildung (oder wenigstens die Bildung reichlicherer Mengen) der Jodidoxydase durch den *Aspergillus niger* von der Anwesenheit der Glukose oder Saccharose in der Nährlösung abhängig ist.

Die Bildung der Jodid-Oxydase ist jedoch auch von der Menge der angewandten Zuckerart abhängig. Der gewöhnlichen Nährlösung mit 1% Ammoniumsulfat wurden wechselnde Mengen Rohrzucker zugesetzt außer 0.2% KI und Stärke. Und zwar:

Nr. 107.	1%	Saccharose,
„ 108.	2%	„
„ 109.	5%	„
„ 110.	10%	„
„ 111.	20%	„

Die Kulturen waren an heißen Julitagen angestellt. 17 Stunden nach der Aussaat war die Kolbe Nr. 111 und 110 ganz schwarz, Nr. 109 nur unterhalb der keimenden Sporen blau, Nr. 107 und 108 blieb farblos. Es wurde mit  $\frac{1}{100}$  normalen thioschwefelsaurem Natrium titriert und zwar verbrauchte Nr. 111 — 1 ccm.; Nr. 110 — 0.90 ccm.; Nr. 109 — 0.50 ccm. Titrierlösung. Wenige Stunden später wurde auch in Nr. 108 und Nr. 107 Jod sichtbar. Da jedoch das Wachstum des Pilzes den angewandten Zuckermengen proportional war, so ist vielleicht auch die verfrühte und vermehrte Jodidoxydasemenge als unmittelbare Folge der Wachstumsbeschleunigung zu betrachten.

Aus den beschriebenen Versuchen ist ersichtlich, daß der *Aspergillus* nur in jungen Stadien, während der Keimung und kurz nach der Keimung die Oxydase ausscheidet, daß jedoch in älteren Kulturen keine oxydative, sondern im Gegenteil eine jodreduzierende Wirkung vorhanden ist. Ich habe mehrere Reihen von Versuchen angestellt, um die Abhängigkeit der Oxydasebildung von der Entwicklung des Pilzes festzustellen. Alle sind gleich ausgefallen. Ich will hier nur eine dieser Reihen erwähnen. Mit einer Nährlösung mit 2% Traubenzucker und 1% Ammoniumsulfat wurde eine größere



Anzahl von Kolben beschickt und sterilisiert, doch nicht gleichzeitig mit Sporen besät.

Nr. 57, die Sporen wurden am 24. VII., 10 Uhr Morgens ausgesät.

Nr. 58, zwölf Stunden später,

" 59,	"	"	"
" 60,	"	"	"
" 61,	"	"	"
" 62,	elf	"	"

und erst jetzt wurde in jede Kolbe dieselbe Menge Jodkalistärkekleister zugesetzt. Nach einigen Stunden untersucht, erwies sich Nr. 57 (60 Stunden alt) farblos, Nr. 58 (48 Stunden alt) wenig gefärbt, Nr. 59 (34 Stunden alt) sehr stark schwarz gefärbt, Nr. 60–62 farblos, doch nachträglich der Reihenfolge nach Jod bildend, während Nr. 57 anfang zu fruktifizieren, und auch nachträglich kein Jod bildete. Nicht alle der in verschiedenen Zeiten angestellten Kulturen fangen an, die Oxydase zu derselben Stunde ihres Lebens zu bilden. Es hängt dies von der Zuckermenge und der Temperatur ab, welche beschleunigend wirken, doch läßt sich bald experimentell für eine gewisse Zuckerkonzentration und Temperatur die Zeit der reichlichsten Oxydasebildung bestimmen.

Die jodidoxydierende Wirkung des *Aspergillus niger* ist durch ein Sekret bedingt, verläuft also extrazellulär. Wird mit einer zuckerhaltigen doch jodidfreien *Aspergillus*kultur die richtige Zeit abgewartet, also im Sommer etwa 34–40, im Winter bis 60 und mehr Stunden nach der Aussaat, bis die Sporen eben gekeimt und die Flüssigkeit mit einem feinen, grauweißen Häutchen der noch nicht fruktifizierenden Hyphen sich bedeckt hat, wird dann die Kulturflüssigkeit abfiltriert, so hat man eben eine zellenfreie Jodidoxydaselösung vor sich, mit deren Hilfe Jodkali ebenso freies Jod bildet, wie es die *Aspergillus*kulturen tun. Von der Zeit des Filtrierens hängt es ab, ob man eine schwache, erst nach Stunden Jodkalistärke bläuernde Lösung, oder eine fast momentan reagierende bekommt. Da die chemische Zusammensetzung der Nährlösung einfach und bekannt war, dieselbe durch die Stoffwechselprozesse in der kurzen Zeit des Wachsens, abgesehen von der ausgeschiedenen Säure, wenig verändert sein kann, so sind wir in der Lage, beliebige Mengen einer verhältnismäßig reinen, oder richtiger einer Lösung von bekannter Verunreinigung zu bekommen. Es wäre die Sache eines

Chemikers zu versuchen, den fraglichen Körper zu isolieren und zu analysieren; meine Aufgabe beschränkte sich auf die Untersuchung der wichtigsten Eigenschaften desselben.

Es wurde zunächst die Lösung auf die Anwesenheit der Katalase Loew's, einer guajakbläuenden Oxydase, des  $H_2O_2$ , sowie der salpetrigen Säure untersucht, jedoch in allen Fällen mit negativem Erfolg.

In ein entsprechendes, kalibriertes, unten verjüngtes und offenes Glasgefäß wurde eine Mischung von 100 ccm einer sehr aktiven, sauer reagierenden Jodidoxydaselösung mit 30 ccm, einer 3%  $H_2O_2$ -lösung luftfrei gebracht. Nach 24 Stunden haben sich oben 2.5 ccm Sauerstoff gesammelt, während eine Kontrollprobe mit destilliertem Wasser mit gleichem Zusatz Wasserstoffsuperoxyd 3.5 ccm Sauerstoff lieferte. Es ist also in der Lösung keine Katalase vorhanden.

Mit Guajaklösung habe ich zahlreiche Male die Aspergillusflüssigkeit auf Vorhandensein der Lakkase oder einer ähnlich wirkenden Oxydase untersucht, doch waren die Resultate immer negativ. Ebenso negativ waren die Resultate mit Pyrogallol (1%), Hydrochinon (1%), Benzidin  $H_2O_2$ , Tyrosin, Phenylalanin. Dagegen gab die Aspergillusflüssigkeit mit einer Ausnahme immer, wenn auch stets eine äußerst schwache und spät erscheinende, bläuliche Reaktion mit Guajak und  $H_2O_2$ . Die erwähnte Ausnahme bezieht sich auf eine Flüssigkeit mit 20% Saccharose, welche infolge allzureichlich ausgesäter Sporen durch den Farbstoff derselben, s. g. Aspergillin (oder ein Derivat desselben; die Flüssigkeit reagierte doch sauer) ein wenig dunkel gefärbt, nicht wie sonst farblos war. Die Reaktion mit Guajak und  $H_2O_2$ , welche ich Leptomin und Linoisier etwas später Peroxydasereaktion nannte, ist in ihrem Verhältnis zu der gewöhnlichen Oxydasereaktion noch nicht aufgeklärt. Unzweifelhaft kann man die Guajakreaktion beschleunigen und vielfach, wie es mir scheint, durch Zusatz des  $H_2O_2$  verstärken. Dann ist aber die Möglichkeit vorhanden, daß in der Aspergillusflüssigkeit nicht unbedingt eine Spur von Leptomin, sondern sogar der gewöhnlichen Oxydase vorhanden ist, jedenfalls aber nur eine Spur. Ferner genügen unsere Aspergillusversuche zum Feststellen der Tatsache, daß die jodentwickelnde Oxydase etwas ganz Anderes ist als die Lakkase, wie dies klar bei dem Vergleich der Aspergillus und der Interzelluläroxidase hervortritt. Daraus ergibt sich aber die höchst wahrscheinliche Schlußfolgerung, daß auch bei anderen

Pflanzen und zwar bei solchen, deren Extrakte oder Querschnitte sowohl Guajak als Jodkalistärkepapier bläuen (z. B. Kartoffelknolle), dies zwei verschiedene, wenn auch in dem Extrakte gemischte Substanzen tun.

Die eben erwähnten negativen Versuche mit Hydrochinon oder Pyrogallol, die vollständige Farblosigkeit der Aspergillusflüssigkeit sprechen gegen das Vorhandensein eines Chinons in derselben, dem durch Beyierink die Jodentwicklung bei *Streptotrix chromogena* zugeschrieben wurde. Ein Chinon hätte doch mit dem Hydrochinon sich zu Chinhydronkristallen addieren müssen.

Die negativen Versuche mit Tyrosin und Phenylalanin sprechen gegen die Anwesenheit der Tyrosinase in der Flüssigkeit. Bis heute ist es mir überhaupt nicht gelungen, eine extrazellulär lokalisierte Tyrosinase zu finden.

Mit Chromsäure und Äther war keine Spur von  $H_2O_2$  in der Aspergillusflüssigkeit zu finden. In Anbetracht der Publikationen K. Aso's (Beihefte zum botan. Centralblatt, 1903, Bd. XV, 208; 1905, Bd. XVIII, 319), welcher die Entwicklung des freien Jods an Jodiden durch die Pflanzen der Wirkung der Nitrite zuschreibt (was auch von zoologischer Seite für die Tiere geschehen ist), war es angezeigt, in der Flüssigkeit nach salpetriger Säure zu suchen. Ich muß dabei ausdrücklich hervorheben, daß die Jodkalistärke-lösung, welche ich bei meinen Versuchen benützt habe, immer neutral, nie angesäuert war. Da jedoch die Aspergillusflüssigkeit sauer reagierte, so habe ich dieselbe mit wechselnden Kalilaugemengen neutralisiert oder sogar schwach alkalisch gemacht. Nun wird Jod stärker in der neutralen, als in der sauren, stärker in der schwach alkalischen als in der sauren Lösung gebildet. Dagegen war mit der gewöhnlich benutzten Reaktion mit Sulfanilsäure und  $\alpha$ -Naphthylamin (in der Modifikation von Lunge) immer eine zwar schwache und verspätete, doch deutliche Rosafärbung zu erzielen. Doch spricht diese Rosafärbung noch gar nicht dafür, daß die Jodidreaktion infolge der salpetrigen Säure entsteht. Dieselbe Rosafärbung bekomme ich doch, falls statt der Aspergillusflüssigkeit, die Lösungen des Ammoniumpersulfats, Kalipersulfats, Kaliperkarbonats,  $H_2O_2$  benutzt wurden. Auch finde ich in der analytischen Literatur in Tiemann-Gärtner's Handbuch der Wasseruntersuchung 1895, pag. 48, die Bemerkung, daß die Reaktion fast zu empfindlich ist, da der Gehalt der Luft an salpetriger Säure bewirkt, daß die Versuchsflüs-

sigkeit sich von oben nach unten rot färbt, wenn dieselbe längere Zeit mit der Atmosphäre in Berührung kommt. In unserem Fall haben wir aber mit Kulturflüssigkeiten zu tun, welche mit möglichst breiter Fläche unter Wattaverschluß frei längere Zeit an der Luft standen.

Der braune Farbstoff der Sporen des *Aspergillus niger*, des sog. Aspergillin, wurde von G. Linossier wegen der Sauerstoffabsorption als vegetabilisches Hämatin bezeichnet (Sur une hématine végétale: l'aspergilline, Compt. rend. 112, pag. 489, 1891). Daß dieser Farbstoff Jod aus IK nicht entwickelt und bei dem Jodfreimachen in Aspergilluskulturen unbeteiligt ist, habe ich durch folgende Versuche festgestellt. Aspergillin wurde auf bekannte Weise mit schwach amoniakalischem Wasser aus den Sporen ausgezogen, mit verdünnter Salzsäure niedergeschlagen, mit  $H_2O$  gewaschen, und mit 1·25, 2·5, 5, 10% IK zwölf Stunden stehen gelassen. Jod war nicht freigemacht.

Die durch die Aspergillusflüssigkeit bewirkte Jodentwicklung wird durch Blausäure und Hydroxylaminchlorat gestört, dagegen nicht durch Sublimat, sehr wenig durch Formalin. Eine fünf Minuten lang dauernde Erwärmung auf  $70^\circ$  ist ohne Wirkung, eine gleichlange bis auf  $80^\circ$  schwächt ein wenig die Wirkung, eine gleichlang dauernde bis auf  $90^\circ$  gebrachte Erhitzung vernichtet sie gänzlich und ohne nachfolgende Regeneration.

Daß Quecksilbersalze die Oxydasewirkung nicht stören, zeigt der Umstand, daß dieselbe aus einer Quecksilberkaliumjodidlösung ebenso Jod frei macht, wie aus einer Jodkalilösung. Dabei wird rotes Quecksilberjodid kristallinisch ausgeschieden und mit Hilfe dieser Reaktion könnte man durch Wägung des ausgeschiedenen Quecksilberjodids die oxydative Kraft der Oxydase messen.

Um den zeitlichen Verlauf der Jodidoxydase auf Jodkali kennen zu lernen, habe ich mit dem thioschwefelsauren Natrium einige Messungen angestellt, ohne jedoch kleine Temperaturschwankungen zu beachten. Dabei hat sich herausgestellt, daß die Wirkung der Jodidoxydase am Beginn der Reaktion am stärksten ist, dann schnell und bedeutend abgeschwächt wird, daß aber diese abgeschwächte Wirkung sehr lange andauert und nur sehr wenig und langsam während der weiteren Reaktion abgeschwächt wird. Als Belege sollen folgende Ziffern dienen, die eine charakteristische, zunächst sehr steil, nachträglich äußerst langsam fallende Kurve darstellen. Titriert wurde immer mit  $\frac{1}{100}$  normaler Natriumthiosulfatlösung.

A) 400 ccm Aspergillusfiltrat + 40 ccm von einer 10% IK-lösung und Stärkekleister. Beginn des Versuches um 2 Uhr 39 Min. Nach einer Minute verbrauchte die Flüssigkeit zum Entfärben der Jodstärke 1·40 ccm Titrierflüssigkeit, nach 5 Minuten 3·00; nach weiteren 5 Minuten 2·20, wieder nach 10 Minuten 2·90, dann nach je zehn weiteren Minuten 2·22, 1·25, 0·60, 0·40, nach weiteren 20 Minuten 0·58, nach einer Stunde 0·90. Auf je eine Minute umgerechnet, und in  $\frac{1}{100}$  ccm ausgedrückt, verläuft die Wirkung folgendermaßen: 140, 60, 45, 29, 22, 12·5, 6, 4, 2·9, 1·5.

B) 40 ccm einer anderen Aspergillusflüssigkeit + 2 ccm einer 50% IK-lösung + Stärke, Beginn des Versuchs um 12 Uhr 8 Min. Nach 5 Minuten wurden verbraucht 0·96 ccm; nach weiteren 5 — 0·41, nach zehn Minuten 0·40, nach 10 Minuten 0·36, nach 60 Min. 1·60, nach 80 Minuten 1·33.

C) 200 ccm einer anderen Aspergillusflüssigkeit + 30 ccm einer 20% IK-lösung + Stärke. Der Versuch wurde um 1 Uhr 53 Minuten angestellt. Nach sieben Minuten wurde zum Entfärben 1·02 ccm verbraucht; nach je weiteren 15 Min. — 0·77, 0·23, 0·20, 0·14; nach je weiteren 30 Minuten — 0·25, 0·21, 0·11; nach einer Stunde 0·21; nach sechs Stunden 0·96; nach zehn Stunden 0·82; nach weiteren 24 Stunden 0·79, und in der Flüssigkeit wird noch weiter Jod ausgeschieden.

Die Abhängigkeit der gebildeten Menge des freien Jods von der Menge der gebrauchten Aspergillusflüssigkeit zeigt die folgende Versuchsreihe. In vier flache Kolben wurden je 6 ccm einer 20% KI-lösung und Stärke gegeben und diese wurden um 4 Uhr 45 Min. mit verschiedenen Mengen der Aspergillusoxydase beschickt.

	A.	B.	C.	D.
Menge der Oxydase	25 ccm.	50 ccm.	100 ccm.	200 ccm.
Titriert um 5 Uhr . . . . .	0·44	0·54	0·69	0·77
Um 6 Uhr . . . . .	0	0·17	0·70	1·41
Um 7 Uhr 45 M. abds	0·14	0·45	0·67	1·31
Um 9 Uhr früh . . . . .	0·78	0·93	2·03	3·98
Zusammen . . . . .	1·36	2·09	4·09	7·47

Eine ganz andere Abhängigkeit der gebildeten Jodmenge von derjenigen des zugesetzten Jodkali folgende Tabelle. Auf je 250 ccm der Aspergillusflüssigkeit und Stärke wurde eine wechselnde Menge einer 50% IK-lösung zugesetzt. Anfang des Versuches 10 Uhr 15 Minuten.

	A.	B.	C.	D.
IK in ccm	5	10	20	40
Titriert um 10 U. 30 M.	0	0.69	0.94	1.02
Um 11 Uhr . . . . .	0.56	0.34	0	0
Um 1 Uhr 45 M. . . . .	1.87	1.15	0.43	0.28
Zusammen . . . . .	2.43	2.18	1.37	1.30

Die Reaktion der Jodidoxydation verläuft also der Menge der Oxydase ziemlich gut proportional, dagegen wird durch die steigenden Jodkalimengen die Schnelligkeit der Reaktion zwar beschleunigt, doch die Tätigkeit der Oxydase im Ganzen vermindert.

Wie ich oben gesagt habe, scheiden nur junge Kulturen des Aspergillus die Jodidoxydase aus, in älteren, fruktifizierenden Kulturen ist dagegen keine Spur davon zu finden. Es wird also die Oxydase im Verlaufe der Pilzentwicklung zerstört. Die Säurebildung durch den Pilz genügt, um die Zerstörung der Oxydase her-

Zusatz	A.	B.	C.	D.	E.	F.
	2 ccm. Essigsäure	1 ccm. Essigsäure	—	2 ccm NaOH	4 ccm. NaOH	8 ccm. NaOH
Titriert um 12 Uhr 32 M.	0.52	0.48	0.55	0.51	0.51	0.49
Um 2 Uhr 2 M. . . . .	0.10	0.22	0.35	0.82	1.01	0.60
Um 6 Uhr abends . . . . .	0	0	0.29	1.75	2.63	0.96
Um 9 Uhr morgens . . . . .	0	0	0.90	4.20	3.62	2.22
Um 2 Uhr nachm. . . . .	0	0	0.33	1.29	1.53	0.49
Um 5 Uhr 30 M. nachm. . . . .	0	0	0.30	1.36	1.05	0.44
Um 9 Uhr morgens . . . . .	0	0	0.72	2.05	1.95	1.04

beizuführen. Dieses beweist die folgende Versuchsreihe, welche zugleich die Wirkung des Alkali auf die Reaktion der Oxydase demonstriert. In mehrere Kolben wurde je 100 cem Aspergillusfiltrat mit Stärke und je 10 cem einer 10% Jodkalilösung gegeben. Noch vor IK-Zusatz wurden in die Kolben verschiedener Mengen von Essigsäure, oder  $\frac{1}{10}$  normale Natronlauge zugesetzt. Jodkali wurde um 12 Uhr 2 Minuten zugesetzt.

Die Lösungen A bis D reagierten sauer, E fast neutral, doch ein wenig alkalisch, F alkalisch. Die Tabelle zeigt deutlich die vernichtende Wirkung der Säure, die konservierende der Neutralisation und die die Oxydase nur wenig schädigende, durch stärkeren Alkalizusatz hervorgerufene Wirkung.

Die Resultate der beschriebenen Versuche fasse ich kurz zusammen. Die Bildung der extrazellulären Oxydase der Aspergilluswirkung hängt von der Entwicklung des Pilzes, so wie von der Kohlenstoffquelle der Nährlösung ab. Die jodentwickelnde Wirkung der Flüssigkeit wird weder durch eine Lakkase, noch durch die salpetrige Säure, oder durch ein Chinon veranlaßt. Solange keine Analyse vorhanden ist, wird es wohl am bequemsten sein, den wirkenden Körper als eine Jodidoxydase zu bezeichnen, ohne dadurch die enzymatische Natur der fraglichen Substanz präjudizieren zu wollen. Der Begriff der s. g. „Oxydationsenzyme“ ist ja heute so weit, wie wenig bestimmt.

52. M. A. BECK. *Zjawiska elektryczne kory mózgowej po częściowem jej zniszczeniu. Przyczynek do lokalizacyi czucia bólu. (Elektrische Erscheinungen in der Hirnrinde nach partieller Exstirpation derselben. Ein Beitrag zur Lokalisation der Schmerzempfindung). (Phénomènes électriques dans l'écorce cérébrale après son extirpation partielle. Contribution à la localisation de la sensibilité à la douleur). Mémoire présenté par M. N. Cybulski m. t.*

Es ist bekannt, daß die infolge partieller Exstirpation wie auch von pathologischen Vernichtungen der Hirnrinde auftretenden Ausfallerscheinungen mit der Zeit allmählich zurückgehen bis auf einen kleinen eng begrenzten Symptomenkomplex, welcher unverändert sehr lange Zeit, respektive bis zum Tode bestehen bleibt.

Ein Teil der Symptome, namentlich diejenigen, welche am frühesten vorübergehen, ist bekanntlich auf die Mitleidenschaft der die vernichtete Rindenstelle umgebenden Partien der Hirnrinde zurückzuführen; diese Symptome sind somit als Folge von Druck, Zirkulationsstörungen und dergleichen in den benachbarten Partien der Hirnrinde zu betrachten. Ein anderer Teil der Ausfallserscheinungen, welche ebenfalls vergänglich sind, doch länger als die vorhererwähnten dauern, kann nicht irgendwelchen Veränderungen in der Nachbarschaft zugeschrieben werden, und zwar aus dem Grunde, weil diese Symptome sehr regelmäßig sind und im Gegensatz zu jenen genau von der Lage und der Größe der exstirpierten Stelle abhängen.

Es sind dies die Gemeinempfindungen, nämlich die Schmerzempfindung, welche nach der Exstirpation einer Extremitätenstelle der Hirnrinde gleichzeitig mit der Tastempfindung in dem entsprechenden Körperteile verloren geht.

Hermann Munk hat darauf hingewiesen, daß der Wegfall der Tastempfindung von demjenigen der Schmerzempfindung zu unterscheiden ist und zeigte, daß nur die erstere infolge der Vernichtung der entsprechenden Rindenpartien dauernd geschädigt bleibt. Daraus wäre zu schließen, daß die Schmerzempfindung zwar ebenfalls an derselben Stelle der Hirnrinde wie die Tastempfindung lokalisiert ist, jedoch sich nicht auf diese Stelle beschränkt. Munk nimmt an, daß sie auch in den umgebenden Partien der Hirnrinde entsteht. Nach anderen Autoren wäre aber anzunehmen, daß die Gemeingefühle in den niederen Hirnteilen lokalisiert sein können, wofür die bekannten Versuche von Goltz am großhirnlosen Hunde zu sprechen scheinen.

Der Verfasser hat es unternommen, eine Entscheidung dieser Frage durch elektrische Untersuchung der Hirnrinde zu ermöglichen. Die Untersuchungen der elektrischen Erscheinungen in der Hirnrinde, über welche der Verfasser selbst, wie auch gemeinschaftlich mit Cybulski früher berichtet hatte, haben gezeigt, daß diese Methode sehr gut zum Aufsuchen jener Rindenstellen anwendbar ist, in welchen unter dem Einflusse peripherer zentripetaler Reize Aktionszustände entstehen.

Die Versuche vermittels zweier Galvanometer, bei denen die elektrischen Vorgänge an vier Punkten der Hirnrinde gleichzeitig geprüft wurden, erscheinen als besonders geeignet, um zu beweisen,



daß die Stelle, wo sich auf Reizung peripherer Endapparate die Herabsetzung des elektrischen Potentials, als Ausdruck des in der gegebenen Rindenstelle entstandenen Aktionszustandes konstatieren läßt, ganz eng begrenzt ist.

Diese Methode schien somit besonders zur Erforschung geeignet zu sein, in welchen Hirnteilen jene Empfindungen lokalisiert sind, welche nachdem dieselben infolge teilweiser Exstirpation der Hirnrinde verschwunden waren, dann wiedergekehrt sind. Zu diesem Behufe exstirpierte der Verfasser Hunden (und Affen)<sup>1)</sup> aus der Hirnrinde einer Seite die Sinnessphäre für eine Extremität. Die Operation wurde selbstverständlich unter den peinlichsten Kautelen der Asepsis ausgeführt. Die Resultate der Operation waren auch sehr günstig; in keinem einzigen Falle ist irgend eine Komplikation (Eiterung) eingetreten.

Sowohl vor der Operation, wie auch bald am Tage nach derselben und je einige Tage in der darauf folgenden Zeit wurde die Tast- und Schmerzempfindung in der angegriffenen Extremität genau untersucht und mit der gesunden Seite verglichen. Nach einem gewissen Zeitraum, welcher 45 bis 200 Tage betrug, jedenfalls aber nachdem konstatiert worden ist, daß die Schmerzempfindung total oder fast total zurückgekehrt war, wurde zur galvanometrischen Untersuchung der Hirnrinde geschritten.

Beide Hemisphären wurden bloßgelegt und zuerst die operierte mit dem Galvanometer derart verbunden, daß die eine Elektrode irgend einen indifferenten Punkt der Hirnoberfläche berührte, während mit der anderen der Reihe nach verschiedene Punkte der geschädigten Rindenstelle, dann ihrer Nachbarschaft und auch ferner gelegene Punkte der Hemisphäre abgetastet wurden.

Durch Beobachtung der primären Galvanometer-Ablenkung und deren Schwankungen auf Reizung derjenigen Extremität, deren Tast- und Schmerzempfindung nach der Exstirpation der Hirnrinde aufgehoben gewesen war, suchte der Verfasser herauszufinden, ob irgend welche Stelle der Hirnrinde bei Reizung dieser Extremität negativ wird.

Hierauf wurde auch die Hirnrinde der anderen nicht geschädigten Hemisphäre galvanometrisch untersucht, um zu ermitteln, ob

<sup>1)</sup> Vorläufig berichtet der Verfasser lediglich über die Ergebnisse seiner Untersuchungen an Hunden.

nicht hier elektrische Veränderungen bei Reizung der Extremität derselben Seite entstehen, ob nicht etwa in symmetrischen Punkten dieser Hemisphäre Aktionsströme erscheinen, welche vorher in dem nunmehr exstirpierten Rindenteile entstanden waren.

Selbstverständlich wurde auch kontrolliert, ob sowohl in der operierten, wie auch in der normalen Hemisphäre auf Reizung der entsprechenden, kontralateralen Extremitäten, welche nicht geschädigt waren, elektrische Veränderungen auftreten und nur solche Versuche konnten als überzeugend betrachtet werden, wo eben in den gesunden, unverletzten Hirnteilen Aktionsströme bei der Reizung desjenigen Körperteiles entstanden, dessen Projektion die untersuchte Hirnstelle war.

Die Resultate der geschilderten Untersuchungen können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Nach Exstirpation eines Teiles der Sinnessphäre der Hirnrinde tritt auf dem Defekte, welcher nach der Exstirpation zurückgeblieben ist, keine Herabsetzung des elektrischen Potentials bei Reizung der entsprechenden kontralateralen Extremität ein.

In den Fällen, in welchen die Exstirpation eine bedeutende Fläche umfaßte, das heißt nicht nur eine Extremitätenregion vernichtet, sondern auch ein Teil der benachbarten Region entfernt worden war, so daß unmittelbar nach der Operation auch in der anderen gleichseitigen Extremität, respektive am Halse und am Kopfe Ausfallsymptome aufgetreten waren, welche dann später verschwanden, war auch in den den Defekt umgrenzenden benachbarten Teilen der Hirnrinde bei Reizung der entsprechenden Extremität keine negative Ablenkung zu beobachten.

War aber die Exstirpation nur auf eine kleine Partie der Hirnrinde beschränkt, welche der entsprechenden Extremitätensphäre genau entsprach, so fielen die Resultate der elektrischen Untersuchung anders aus:

In diesen Fällen sah der Verfasser nämlich in der Umgebung des Defektes Elektronegativität auftreten, welche aber nicht so stark war wie auf der anderen, normalen Hemisphäre bei Reizung der kontralateralen Extremität und Ableitung von der entsprechenden Extremitätenregion.

Eine weitere Beobachtung, die zu notieren wäre, ist die folgende: Aus den früheren Untersuchungen des Verfassers war bekannt, daß bei Ableitung von der Hirnrinde zum Galvanometer außer der

primären Ablenkung eine ganze Reihe von Schwankungen entstehen, die weder von den Bewegungen des Gehirns abhängen, noch mit dem Atemrhythmus oder Puls synchron sind. Diese spontanen Schwankungen betrachtet der Verfasser als Folge von Aktionsströmen, welche in der Hirnrinde entstehen und durch Tätigkeitszustände derselben verursacht werden. Ferner hatte der Verfasser bemerkt, daß bei Reizung beliebiger zentripetaler Nerven oder deren peripherer Endigungen diese spontanen Schwankungen aufhören. Dem gegenüber wurde bei den gegenwärtigen Versuchen nach der Exstirpation konstatiert, daß wenn jene Extremität gereizt wird, deren entsprechende Region in der Hirnrinde entfernt worden ist, nur bei sehr intensiven Reizen, bei Reizung vermittelt starker Induktionsströme die spontanen Schwankungen (und auch dann nicht immer) aufhören, während schwache mechanische Reize, solche die sonst am leichtesten negative Ablenkung hervorrufen, kein Aufhören der spontanen Schwankungen zur Folge haben.

Der Verfasser zieht aus seinen Untersuchungen folgende Schlüsse:

Das Ausbleiben der negativen Ablenkung an der Hirnrinde nach ausgebreiteter Exstirpation, während eine solche Ablenkung in der Umgebung der exstirpierten Stellen dann zu beobachten ist, wenn diese Stelle genau nur eine Extremitätenregion einnahm, bestätigt vor allen die bereits anerkannte Tatsache, daß die Extremitätenregionen nicht voneinander scharf abgegrenzt sind, sondern vielmehr ineinander übergehen, ihre Felder also sich teilweise decken. Besonders gilt dies nach den Beobachtungen des Verfassers für die Lokalisation der Schmerzempfindung.

Nach ausgebreiteter Exstirpation ließ sich an keiner Stelle der Hirnrinde negative Schwankung konstatieren. Da aber doch die Schmerzempfindung in der vorerst angegriffenen Extremität sich wieder eingestellt hat, muß in diesen Fällen die Schmerzempfindung irgendwo anders als in der Hirnrinde, somit in den niederen Zentren entstehen, eine Beobachtung, die mit der von Luciani, Flechsig ausgesprochenen Behauptung in Einklang stehen würde.

Das Aufhören der sog. spontanen Schwankungen bei Reizung der peripheren Nerven, betrachtet Verfasser als Folge einer Hemmung der selbstständigen Aktionszustände der Hirnrindenzentren. Wenn nun auf mechanische, taktile Reizung derjenigen Nervenendigungen, deren Rindenregion exstirpiert worden ist, kein Aufhören dieser Schwankungen zu sehen ist, darf daraus geschlossen

werden, daß normalerweise diese Hemmung nur von den entsprechenden Zentren ausgeht.

---

**Errata du mémoire de M. S. Zaremba:  
Solution générale du Problème de Fourier.**

Rétablir le facteur  $\frac{1}{\sin \frac{\theta}{2}}$  aux seconds membres des inégalités

suyvantes: page 80, in. (13); page 81, in. (14); page 83, in. (25) et (27); page 86, in. (36); page 100, lignes 10, 12, 17 et 19; page 102, lignes 9 et 11; page 103, in. (27) et lignes 11, 13 et 16; page 111, in. (10) et ligne 9; page 113, ligue 1.

Page 90, équation (11). Remplacer dans le second membre les valeurs des exposants des exponentielles par la valeur:  $-\mu r$ .

Page 100, ligne 20. Au lieu de: „ce qui donne“, lisez: „On trouve en s'appuyant sur l'une des inégalités (12) du ch. II et en tenant compte de (7):“

Page 102, ligne 12. Au lieu de: „Il résulte... que“, lisez: „On trouve d'autre part, en s'appuyant sur l'une des inégalités (12) du ch. II:“

Page 103, ligne 5. Au lieu de: „A cause de cela on aura“: lisez: „On aura d'autre part, à cause des inégalités (16) du ch. II:“

Rétablir le facteur  $\frac{1}{\sin^2 \frac{\theta}{2}}$  aux seconds membres des inégalités

suyvantes: page 111, in (11); page 113, in. (15) et 16; page 132, in. (17).

Rétablir au second membre de l'inégalité (22) page 132 le facteur  $\frac{1}{\sin \frac{\theta'}{2}}$ .

Rétablir le facteur  $\frac{1}{\sin^2 \frac{\theta'}{2}}$  aux seconds membres des inégalités

suyvantes: page 133, ligne 5 et in. (23).

Nakładem Akademii Umiejętności.

Pod redakcją

Członka delegowanego Wydziału matem.-przyr., Dra Leona Marchlewskiego.

Kraków. 1905. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod zarządkiem J. Filipowskiego.

15 Listopada 1905.