AUS DEM LABORATORIUM DES INSTITUTS FÜR VERGLEICHENDE ANATOMIE,
MIKROSKOPIE UND EMBRYOLOGIE ZU WÜRZBURG.

DIE
REIFUNG UND BEFRUCHTUNG
DES
FORELLENEIES.

VON
G. BEHRENS,
GÖTTINGEN.

Mit 23 Abbildungen auf Tafel XII—XVII.

Einleitung.

Es ist eine auf den ersten Blick recht auffällige Thatsache, dass die Reifungs- und Befruchtungserscheinungen des Teleostier-eies so wenig untersucht sind, obwohl sich das Material ohne grosse Mühe beschaffen und insbesondere die künstliche Befruchtung ohne Schwierigkeiten ausführen lässt.

Der Mangel an umfassenden Arbeiten auf diesem Gebiete erklärt sich jedoch dadurch, dass eine direkte Beobachtung der betreffenden Phänomene nur bei durchsichtigen Eiern von sehr geringer Grösse zugänglich ist und dabei nur spärliche Resultate liefert und dass man sich daher, namentlich bei grösseren Eiern, auf die Untersuchung von Schnitten angewiesen sieht, die Anfertigung solcher aber in technischer Hinsicht grosse Schwierigkeiten verursacht. Der Dotter nämlich wird bei der Konservierung fast steinhart und macht das Schneiden mit dem Mikrotom — wenigstens nach Paraffineinbettung — nahezu unmöglich.

Unter diesen Umständen ist es Kupffer¹⁾ nicht gelungen, eine genaue und erschöpfende Darstellung der Vorgänge bei der Reifung und Befruchtung des Forelleneies zu geben. Auch Boehm²⁾ gelangte wohl aus ähnlichen Gründen nicht völlig zum Ziele, da seiner vorläufigen Mitteilung keine ausführliche Publikation gefolgt ist.

¹⁾ C. Kupffer, Die Befruchtung des Forelleneies. Bayerische Fischereizeitung. Jahrgang 1886.

²⁾ A. Boehm, Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München. Jahrgang 1891.

Blanc³⁾ hat nun zwar die genannten Schwierigkeiten, an denen früher die Herstellung einer lückenlosen Serie von Schnitten scheiterte, bis zu einem gewissen Grade überwunden, ist aber bei seiner Untersuchung desselben Objekts zu Resultaten gekommen, die nicht nur den Beobachtungen der beiden erstgenannten Forscher widersprechen, sondern sich auch mit unseren sonstigen Kenntnissen der Befruchtungsvorgänge nicht in Einklang bringen lassen.

Umsomehr erschien es bei der Wichtigkeit des Gegenstandes angezeigt, eine neue möglichst genaue Untersuchung der Reifungs- und Befruchtungerscheinungen des Forelleneies vorzunehmen, erstlich um die in den früheren Beobachtungen vorhandenen Lücken möglichst zu ergänzen, vor allem aber, um die Angaben Blancs einer sorgfältigen Nachprüfung zu unterziehen.

Ich folgte daher sehr gerne der Anregung des Herrn Privat-Dozenten Dr. Sobotta, Prosektors am Institute für vergleichende Anatomie, Mikroskopie und Embryologie zu Würzburg, mit ihm eine erneute Untersuchung desselben Objekts in Angriff zu nehmen.

Da Herr Dr. Sobotta jedoch später von anderen Arbeiten zu sehr in Anspruch genommen war, habe ich auf seinen Wunsch die ursprünglich als gemeinsame Arbeit geplante, in diesem Sinne auch im Wintersemester 1895/96 begonnene und mehrere Semester fortgesetzte Untersuchung allein zu Ende geführt.

Wenn ich mich der Hoffnung hingeben darf, im nachstehenden eine zwar nicht absolut, aber doch einigermaßen vollständige Darstellung der Reifung und Befruchtung des Forelleneies gegeben, vor allem aber die Unrichtigkeit der von

³⁾ H. Blanc, *Étude sur la fécondation de l'œuf de la truite*. Zoologische Abhandlungen. August Weismann zu seinem sechzigsten Geburtstag gewidmet von der naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg i. B. 1894.

Blanc gemachten Behauptungen nachgewiesen und die Gültigkeit der Prinzipien, nach denen diese Vorgänge, soweit unsere Kenntnisse zur Zeit reichen, allgemein verlaufen, auch in diesem besonderen Falle dargethan zu haben, so verdanke ich dies der umsichtigen Leitung des Herrn Dr. Sobotta, der mich bei der Überwindung der technischen Schwierigkeiten und bei der Herstellung der Zeichnungen in liebenswürdigster Weise unterstützt hat. Ihm spreche ich daher für seine gütige Unterstützung wie auch für das mir sonst stets bewiesene Interesse meinen wärmsten Dank aus.

Material und Methode.

Zur Verarbeitung gelangten Eier sowohl von der gemeinen Forelle (*Trutta fario*) als auch von der Regenbogenforelle (*Trutta iridea*). Das Material stammt sämtlich aus der Fischzuchtanstalt Seewiese bei Gemünden in Bayern. Es wurde teils im oben genannten Institute durch Streichen lebend übersandter, laichreifer Tiere, teils in Seewiese gewonnen.

Dem Besitzer der Anstalt, dem Königl. preuss. Oberst-Lieutenant a. D. Herrn v. Derschau, erlaube ich mir für sein liebenswürdiges Entgegenkommen und sein lebhaftes Interesse auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Von den vier nach der sog. russischen. (trockenen) Methode vorgenommenen Befruchtungsversuchen waren leider aus uns unbekannt gebliebenen Gründen nur zwei durchgängig von Erfolg begleitet, sodass sich die folgende Untersuchung im wesentlichen auf zwei Serien erstreckt, von denen die eine von der gemeinen Forelle (*Trutta fario*) stammt und im vergleichend-anatomischen Institut zu Würzburg gewonnen wurde, während die Eier der anderen von der Regenbogenforelle (*Trutta iridea*) in Seewiese konserviert wurden. Bei beiden Serien fand sich

kaum ein unbefruchtetes Ei; bei der ersten wurde die Entwicklung bis in die mittleren Embryonalstadien hinein verfolgt.

Es wäre vielleicht erwünscht gewesen, noch mehr Material der Kontrolle wegen zu untersuchen. Die gelegentlich aus den beiden anderen (nicht völlig geglückten) Serien untersuchten (und befruchteten) Keime zeigten jedoch genau dieselben Bilder, wie die hier beschriebenen.

Leider weist die erste Serie einige Lücken auf, die dadurch entstanden sind, dass es selbst bei angestrengtester Arbeit nicht möglich war, die für jedes Stadium ursprünglich geplante Zahl von Eiern zu konservieren, weil die Art der Konservierung sehr viel Zeit erfordert. Jedoch ist dieser Ausfall bei der ersten Serie durch die entsprechenden Stadien der zweiten einigermaßen ergänzt worden, was sich um so mehr rechtfertigen lässt, als, wie zu erwarten war, wesentliche Unterschiede zwischen den Befruchtungsvorgängen bei der gemeinen Forelle und der Regenbogenforelle nicht hervorgetreten sind.

Beide Serien, auf welche sich die hier mitgeteilten Befunde stützen, entwickelten sich relativ schnell; die der gewöhnlichen Forelle wegen der relativ hohen Temperatur des hiesigen Leitungswassers noch schneller (erste Furche schon nach 12 Stunden sehr deutlich) als die der Regenbogenforelle. Eine andere Serie von *Trutta fario*, die bei sehr kalter Wassertemperatur befruchtet wurde, zeigte nach 20 Stunden noch keine Andeutung einer Furche. Länger wurde der Prozess aus Zeitrücksichten nicht weiter verfolgt.

Die Gewinnung des Materials ging in folgender Weise vor sich. Für jedes Stadium wurden ungefähr zehn Eier konserviert. Mit der Konservierung wurde begonnen kurz vor der Besamung. Die nächste Portion Eier wurde alsdann gleich nach derselben eingelegt, die dritte zwei Minuten nach Besamung, die vierte fünf Minuten nach Besamung. Von da ab erfolgte

die Konservierung alle zehn Minuten bis zur zweiten Stunde nach dem Zusatz des Spermas. Hierauf wurden die Eier nur noch in Zwischenräumen von 20 Minuten, späterhin in solchen von 30 Minuten konserviert¹⁾.

Die Methode der Konservierung ist von H. Virchow erfunden und wird noch an anderer Stelle genauer publiziert werden. Ihr Hauptvorteil besteht darin, dass sie gestattet, Dotter und Keim völlig voneinander zu trennen, bezw. sämtliche Dotterelemente schon während der Konservierung zu entfernen.

Man bringt zuerst die Eier in ein Schälchen mit $\frac{2}{100}$ Chromsäure mit starkem Eisessigzusatz, bis der Keim durch die Schale hindurch eben sichtbar wird. Dann kommen die Eier sofort in eine möglichst grosse Menge $\frac{2}{100}$ Chromsäure ohne Eisessig auf ungefähr eine Stunde. Hierauf werden dieselben auf der Gegenpolseite²⁾ geöffnet und die Reste des von der Konservierungsflüssigkeit angegriffenen Dotters von dem bereits erhärteten Keim durch Abblasen mittelst eines fein ausgezogenen Glasröhrchens in Kochsalzlösung³⁾ entfernt, bis die Unterfläche des Keims völlig sauber ist. Der letztere löst sich dann von selbst von der Schale los.

Auf diese Weise erhält man nicht bloss den eigentlichen Keim mit dem unter ihm gelegenen, von Ölkugeln durchsetzten Protoplasma, sondern auch das in der Peripherie desselben gelegene, den Dotter umhüllende Protoplasmahäutchen in grosser Ausdehnung.

¹⁾ Wie oben angegeben, gelang es nicht bei beiden Serien namentlich die Anfangszeiten völlig inne zu halten, so dass die Untersuchungen hier bald bei der Regenbogen- bald bei der gewöhnlichen Forelle angestellt wurden.

²⁾ D. h. der dem Keim abgewandten Seite. Der Keim ist dann immer deutlich sichtbar. Länger als $1\frac{1}{2}$ Stunden dürfen die Eier nicht in der Chromsäure verweilen, sonst ist der Keim nicht mehr durch die Schale hindurch vom Dotter zu unterscheiden und auch schwer von ihm zu trennen.

³⁾ In Wasser gerinnt der Teleostierdotter bekanntlich.

Der Keim samt diesem Häutchen kommt nun auf ungefähr drei Stunden in Pikrinsublimat¹⁾, dann in gewöhnlicher Weise in 50% Spiritus und hierauf in 70% Spiritus, beide mit Jodzusatze, sodann in 90% Spiritus, absoluten Alkohol, Chloroform und absoluten Alkohol, Chloroform, Chloroform-Paraffin und auf höchstens $\frac{1}{2}$ Minute in reines Paraffin. Die Einbettung geht sehr schnell vor sich, da der Keim ohne Dotter leicht vom Paraffin durchtränkt wird.

Das so gewonnene Material wurde stets in Schnittserien zwischen 5 und 10 μ Dicke zerlegt, mit Eiweissglycerin und Wasser auf den Objektträger aufgeklebt und mit M. Heidenhainschem Eisenhämatoxylin mit und ohne Vorfärbung von Bordeaux gefärbt (letzteres war ohne Vorteil).

Die Beobachtung und Kontrolle der Differenzierung war sehr zeitraubend, da unter den vielen Schnitten — es ergaben sich meist ungefähr 200 Schnitte von jedem Keim, häufig sogar mehr — natürlich immer nur sehr wenige vorhanden waren, die Kerne oder Centrosomen enthielten. Massgebend war daher für den Grad der Differenzierung häufig nur der Entfärbungszustand des Protoplasmas, was sich in den meisten Fällen auch als genügend erwies. In einer Reihe von Fällen wurde auch die Kontrolle während der Konservierung mittelst Wasserimmersion ausgeführt.

Keime mit Schale wurden so gut wie gar nicht geschnitten, da das Schneiden unverhältnismässige Schwierigkeiten verursacht und der einzige Vorteil, der sich daraus vielleicht ergeben könnte, nämlich die Erhaltung der zwischen Keim und Schale gelegenen Richtungskörperchen dagegen nicht ins Gewicht fiel. Ausserdem waren diese in den meisten Fällen auch ohnehin er-

¹⁾ Pikrinsäure, gesättigt, wässrig. 1 Teil; Sublimat, ges. wäss. 1 Teil; Aq. dest. 2 Teile. Die Anwendung dieser Lösung erschien Herrn Dr. Sobotta nach ausgedehnten, neueren Erfahrungen besser als die von H. Virchow angewandte Pikrinschwefelsäure.

halten geblieben, d. h. sie lagen an der Oberfläche des von der Schale befreiten Keims.

Das so gewonnene und verarbeitete Material weist zwar einige Lücken auf, jedoch sind diese nicht so von Bedeutung, dass sie die Möglichkeit einer richtigen und vollständigen Darstellung der Befruchtungsvorgänge des Forelleneies zu beeinträchtigen vermöchten.

Die von Blanc angewendete Konservierungsmethode wurde daneben versucht, lieferte aber in jeder Beziehung schlechtere Resultate, zumal insbesondere die Ablösung des Keims vom Dotter viel schwerer und nur unvollständig gelingt, auch der Keim leicht dabei verletzt wird, was bei Anwendung der oben beschriebenen Methode nahezu ausgeschlossen ist.

Litteratur.

Wie ich bereits in der Einleitung hervorhob, haben die Befruchtungsvorgänge des Knochenfischeies nur wenige Bearbeiter gefunden. Wir besitzen Arbeiten von A. Agassiz und C. O. Whitmann¹⁾, C. K. Hoffmann²⁾, J. S. Kingsley und H. W. Conn³⁾, ferner von C. Kupffer⁴⁾, A. Boehm⁴⁾ und H. Blanc⁴⁾.

Da für unser spezielles Untersuchungsobjekt nur die Arbeiten der drei letztgenannten Autoren in Betracht kommen, so kann ich mich bezüglich der übrigen darauf beschränken, auf das im Jahrgang 1896 der „Ergebnisse der Anatomie und Ent-

1) Agassiz, A., and C. O. Whitmann, The Development of Osseous Fishes II The praembryonic stages of Development. P I. Memoirs of the Museum of Comparative Zoology of Harvard College. Vol. XIV. Nr. 1. 1889.

2) Hoffmann, C. K., Zur Ontogenie der Knochenfische. Abhandlungen der kgl. Akademie der Wissenschaften zu Amsterdam. 1881.

3) Kingsley, J. S. and H. W. Conn, Some Observations on the Embryology of the Teleosts. Memoirs of the Boston society of Natural History. Vol. III. Nr. 6. 1883.

4) l. c.

wicklungsgeschichte“ enthaltene Referat „Die Reifung und Befruchtung des Wirbeltiereies“ von J. Sobotta zu verweisen, wo die betreffenden Arbeiten einer genauen Besprechung unterzogen sind.

Die ersten Angaben über unseren Gegenstand finden sich in einem die „Befruchtung des Forelleneies“ betitelten Vortrage von C. Kupffer¹⁾. Allerdings waren die Resultate der mühsamen Untersuchung infolge der oben auseinander gesetzten Schwierigkeiten nur sehr unvollständig, was der Autor selbst zugiebt; doch finden sich ausserdem wohl auch einige Irrtümer in seiner Veröffentlichung, wie später gezeigt werden soll.

Sodann hat sich A. Boehm¹⁾ eingehend mit demselben Objekt beschäftigt. Seine Untersuchung ist weit umfangreicher und vollständiger als die vorige und enthält eine grosse Anzahl sehr guter Beobachtungen, allerdings auch einige Lücken im Material. Die schönen Untersuchungen Boehms sind nicht bis zur Bildung des Furchungskerns oder der ersten Furchungsspindel fortgeführt, sondern schliessen mit einem Stadium ab, das noch nicht das eigentliche Resultat der Befruchtungsphänomene erkennen lässt, nämlich mit der völligen Ausbildung und Aneinanderlagerung der Vorkerne.

Die umfassendste — aber sicherlich nicht die beste — Arbeit ist wohl diejenige von H. Blanc: „Étude sur la fécondation de l'œuf de la truite“¹⁾. Wie ich bereits oben betonte, stehen die Resultate seiner Untersuchung nicht nur in direktem Widerspruch mit den Beobachtungen Boehms, sondern beschreiben bezüglich des Verhaltens der Centrosomen einen Vorgang, der von allen sonstigen an anderen Objekten gemachten Beobachtungen völlig abweicht. Diese Ausnahmestellung, welche Blanc dem Forellenei in Bezug auf die Befruchtungsvorgänge anweist, war daher von vornherein schon vielen Forschern recht

¹⁾ l. c.

unwahrscheinlich, sodass mehrfach, so auch von Boveri¹⁾, offene Bedenken gegen dieselbe ausgesprochen wurden, und in der That haben gerade die neuesten Veröffentlichungen auf diesem Gebiete die Auffassung bestätigt, dass wir es bei den Befruchtungserscheinungen mit Vorgängen zu thun haben, die sowohl bei Wirbeltieren als auch bei Wirbellosen, im ganzen Tierreich, ja selbst wahrscheinlich auch im ganzen Pflanzenreiche nach denselben Prinzipien verlaufen.

Ich will daher gleich vorweg bemerken, dass meine Beobachtungen nicht nur diejenigen Boehms im grossen und ganzen bestätigen bzw. in einzelnen Phasen ergänzen, sondern auch die völlige Unhaltbarkeit der von Blanc behaupteten Ausnahmestellung der Forellenbefruchtung aufs deutlichste beweisen, sodass ich nicht umhin kann, Fehler in der Konservierung, Verarbeitung oder Beobachtung des Materials seitens Blancs anzunehmen.

Auf Einzelheiten kann ich mich hier natürlich noch nicht einlassen, sondern muss dieselben bei den betreffenden Abschnitten genauer behandeln. Nur zweierlei möchte ich noch hervorheben, erstlich, dass Blanc mit Methoden gearbeitet hat, die schlechterdings nicht imstande sind, Aufschluss über so subtile Vorgänge zu geben, wie über das Verhalten der Centrosomen beim Befruchtungsakt. Blanc hat nämlich die Mehrzahl seiner Untersuchungen an nicht mikrotomierten sondern in toto gefärbten und eingelegten Keimen angestellt und die Schnittmethode nur daneben „zur Kontrolle“ angewandt. So vorteilhaft die erstere Methode für die Gesamtorientierung, namentlich embryonaler Stadien ist, so wenig kann sie leisten, wenn die allerfeinsten Strukturverhältnisse in Frage kommen, Strukturen, die meist sogar die Anwendung besonders dünner Schnitte erheischen.

Ich glaube daher nicht fehl zu gehen, wenn ich die meisten der leider recht zahlreichen Irrtümer Blancs auf diesen Mangel

1) Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Bd. I. 1891.

der Methode schiebe. Man bedenke z. B., dass Blanc selbst an einer Stelle angiebt, er habe mit den beiden angewandten Methoden nicht konforme Resultate erzielt.

Ferner, was für die Beurteilung und Deutung der Präparate nicht ohne Belang ist und gerade bei den Blanc'schen Abbildungen die Klarheit und das Verständnis sehr beeinträchtigt, hat Blanc auf allen Abbildungen versäumt zur Orientierung die Eioberfläche anzudeuten, sodass seine Tafeln eine Zusammenstellung von beliebigen Ausschnitten der Keime bilden, an denen eine Orientierung kaum mit Hilfe des Textes möglich ist. Seine Abbildungen verfehlen daher auch völlig ihren Zweck, nämlich das Verständnis der Beschreibung zu erleichtern; sie verwirren an manchen Stellen vielmehr im höchsten Grade. Ganz abgesehen davon sind sie technisch ziemlich schlecht und viele derselben machen wohl jedem unbefangenen Leser bereits den Eindruck starker Schematisierung.

Allgemeines Verhalten des Forellenkeimes während der Befruchtung.

Das befruchtungsfähige, aber noch nicht befruchtete Ei der Forelle misst im Durchmesser etwa $\frac{1}{2}$ cm und ist wegen der völlig undurchsichtigen, ihm ganz eng anliegenden Schale der direkten Beobachtung unzugänglich. Wie alle Teleostiereier ist es meroblastisch.

Der Keim, d. h. derjenige protoplasmatische Bezirk der Eioberfläche, an dem sich die ersten Entwicklungsvorgänge vollziehen, stellt sich als eine flache, aber doch deutliche Verdickung des den Dotter umgebenden Protoplasmas dar und besitzt anfangs noch keine scharfe Umgrenzung, ist also diffus und ziemlich gross. Fig. 1 stellt ihn im senkrechten Durchchnitt dar.

Während der Befruchtungsvorgänge verdickt sich der Keim allmählich durch Konzentration bei gleichzeitiger bedeutender

Flächenabnahme sehr stark (vergl. Fig. 1—6) und hebt sich dann deutlich von dem den Dotter umhüllenden Protoplasma ab. Zugleich tritt eine immer deutlicher werdende Trennungslinie auf, die den eigentlichen, rein protoplasmatischen Keim von einer unter ihm gelegenen, mit Fortsätzen in den Dotter (Ölkugelschicht) hereinragenden, dünnen Lage Protoplasma trennt. Erst später, aber noch während der eigentlichen Befruchtungsstadien setzt sich diese immer deutlicher werdende Trennungslinie auch nach den Seiten zu fort derart, dass nun auch der eigentliche Keim in seiner Peripherie sich von dem den Dotter ausserhalb des Keimbereichs umgebenden Protoplasma sondert. Die Fig. 1—7 veranschaulichen uns diesen Vorgang. Stets ist die Trennungslinie an der ganzen Unterfläche des Keims deutlicher als an den Rändern.

Fig. 1 zeigt uns den Keim in dem Stadium von 20 Minuten nach der Besamung. Wir sehen hier das Protoplasma als eine ziemlich flache Scheibe, die sich an ihrer Peripherie ohne Grenze in ein dünnes Häutchen fortsetzt.

In Fig. 2 macht sich bereits eine geringe Konzentration und Verdickung geltend, die jedoch erst in der folgenden Figur schärfer hervortritt. Jetzt tritt die Trennungslinie zwischen Keim und Dotter auf und zwar zunächst nur in der Mitte der Bodenfläche des ersteren. Dieselbe schneidet also noch nicht bis zu den Rändern des Keims hindurch, d. h. der Keim ist wohl bereits von dem unter ihm gelegenen Protoplasma (und Dotter) abgegrenzt, aber noch nicht von dem seitlich an ihn grenzenden. Unter der Trennungslinie bemerken wir noch, wie dünne Protoplasmaabälkchen in den Dotter hineinragen und Maschen für die im Salmonidenei gelegenen, meist gefärbten Ölkugeln bilden.

Im folgenden Stadium, Fig. 4, sehen wir auch die seitliche Trennungslinie angedeutet, während die untere nunmehr ganz

scharf hervortritt. Zugleich hat der Keim beträchtlich an Dicke zugenommen.

In Fig. 5 ist die Abgrenzung des Keims bereits allseitig zu erkennen. Der Keim beginnt jetzt sich deutlich von der den Dotter umhüllenden Protoplasmaschicht durch Verdickung abzuheben und sich sowohl nach innen gegen den Dotter als auch vor allem nach aussen stark vorzuwölben. Die Konzentration des Keimes ist jetzt vollendet.

Nun haben wir im Teleostierei zwei völlig getrennte Abschnitte, den protoplasmatischen Keim und den ringsum von einem dünnen Protoplasmahäutchen umgebenen Dotter.

Das folgende Stadium, Fig. 6, zeigt uns in dem ziemlich stark verdickten und kontrahierten Keim in Gestalt eines Keimhügels das Auftreten einer schrägen Scheidewand, die mit der von Kupffer¹⁾ beschriebenen Zellplatte identisch sein dürfte.

In Fig. 7 haben wir eigentlich bereits ein zweizelliges Stadium vor uns. Der auf dem Querschnitt ungefähr als abgerundetes Rechteck erscheinende Keim hebt sich scharf von dem unter ihm liegenden Dotter und der peripherischen Protoplasmaschicht ab und zeigt in der Mitte des seitlichen Randes eine kleine Einbuchtung, welche die Anlage der nun auftretenden ersten Furche ist. (Die Teilung der Tochterkerne hatte an dem Präparate bereits begonnen) [siehe auch u. Nachtrag].

Die Trennungslinie, welche während der Befruchtung des Salmonideneies zwischen Keim und dem den Dotter umhüllenden Protoplasma auftritt, scheint den Wert einer Zellmembran zu besitzen. Sie zeigt übrigens ziemlich starke Verwandtschaft zu Eisen-Hämatoxylin und erscheint häufig trotz starker Differenzierung der Schnitte fast schwarz. Ferner lässt sich deutlich sehen, wie die Fäden des Protoplasmanetzwerkes des Keims an sie inserieren bzw. an ihr ihr Ende finden. Aus diesem

¹⁾ l. c.

Verhalten kann man die Grenzlinie bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen schon zu einer Zeit erkennen, wo bei schwacher Vergrößerung von ihr noch nichts wahrzunehmen ist. Die Trennungslinie ist übrigens selbst messbar dick, wenigstens an der Bodenfläche des Keimes.

Das Forellenei besitzt im befruchtungsfähigen Zustande eine Hornschale mit einer Mikropyle für den Durchtritt der Samenfäden. Da ich fast alles Material nach Ablösung der Schale verarbeitet habe, fehlen mir eigene Beobachtungen über diesen Punkt so gut wie ganz. Ich verweise bezüglich dieser auf die Arbeiten von Boehm¹⁾ und Blanc¹⁾, wo sich genauere Angaben über die Schale finden. Boehm giebt auch zwei sehr gute Abbildungen der Mikropyle.

Bildung der Richtungskörper.

Meine frühesten Beobachtungen sind an Eiern gemacht, die kurz vor der Besamung konserviert wurden. Leider war es mir nicht möglich, noch frühere Stadien zu erhalten, was wohl wünschenswert gewesen wäre, da die Bildung der ersten Richtungsspindel schon vor der Ablage des Eies, also noch in der Bauchhöhle oder gar im Eierstock vor sich geht.

Blanc hat nun einige Beobachtungen an direkt aus der Bauchhöhle entnommenen Eiern gemacht und ich will daher seine Angaben darüber hier kurz anführen.

Die noch im Eierstock befindlichen Eier besitzen nach Blanc ein sehr deutliches Keimbläschen, das von einer Membran begrenzt wird und mehrere Keimflecke enthält.

Kupffer giebt an, dass Eier, die im November dem Eierstock entnommen wurden, an dem Keimbläschen entweder eine dünne, sich leicht faltende Hülle oder aber keine Membran

¹⁾ l. c.

mehr zeigten. Eier von 0,8 mm Durchmesser lassen nach ihm die fragliche Membran nicht mehr erkennen.

Blanc giebt dann weiter die Beschreibung eines älteren Stadiums, d. h. eines unreifen Eies aus der Bauchhöhle einer noch nicht laichreifen Forelle. Das Keimbläschen ist hier verschwunden. An seiner Stelle sieht man in einem hellen Hof einen Haufen von kleinen Chromatinkörnchen, die von 18–20 aus Mikrosomen gebildeten Stäbchen oder Fäden strahlenförmig umgeben sind. Blanc deutet diese Figur als einen Kern im Zustande der „Auflösung“ und Umbildung der Kernelemente zu Chromosomen. In der ganzen Umgebung des hellen Hofes und sogar zwischen den schon deutlichen Chromosomen soll das Protoplasma des Keims in diesem Zustande dasselbe granulirte Aussehen zeigen wie an anderen Stellen.

Bei dem reifen Ei soll nach Blanc die Umbildung des Kerns dann weiter vorgeschritten, insbesondere sollen auch die Chromosomen weit zahlreicher sein wie vorher. Er hat, wie er angiebt, die Zahl der Chromosomen nicht ermitteln können. Nach der von ihm gegebenen Zeichnung würden es sicher mindestens 20–30 sein. Sie sind zum Teil schleifenförmig gekrümmt und bilden eine der Keimoberfläche parallele Äquatorialplatte.

Dieses Stadium geht nach Blanc der Bildung der ersten Richtungsspindel vorher, die noch in der Bauchhöhle erfolgt. Die Chromosomen sollen dann eine zur Oberfläche des Keims fast senkrechte Platte bilden.

Das von Blanc gegebene Bild der ersten Richtungsspindel macht wie viele seiner Figuren einen durchaus schematischen Eindruck. Es hat mit den von Boehm und mir beobachteten ersten Richtungsspindeln keine auch nur entfernte Ähnlichkeit. Jedenfalls erscheinen [Schnittbilder der ersten Richtungsspindel an auch] nur einigermaßen gut konservierten Präparaten so, wie Boehm und ich sie beobachtet haben.

Wenn Blanc die völlige Verschiedenheit der von ihm beschriebenen ersten Richtungsspindel von der von Boehm gegebenen einfach mit der Behauptung abzuthun sucht, der letztere Autor habe die erste Richtungsspindel infolge seiner mangelhaften Methode überhaupt gar nicht zu Gesicht bekommen und alle seine Angaben hierüber seien auf die zweite Richtungsspindel zu beziehen, so ist das zwar eine recht bequeme, aber damit doch noch nicht zweifellos bewiesene Behauptung. Es mag vielleicht für einige wenige (vielleicht nur eine) der Beobachtungen Boehms zutreffen, keineswegs aber für alle.

Ich kann im Gegenteil die recht genauen Angaben Boehms im wesentlichen nur bestätigen, bzw. in einigen Punkten ergänzen. Ich will daher zunächst die Beschreibung der ersten Richtungsspindel geben, wie sie von Boehm und mir beobachtet worden ist.

Ziemlich nahe an der Oberfläche des Keims, unter einem Winkel von $60-70^{\circ}$ gegen dieselbe geneigt, sehen wir eine der Kugelform ziemlich ähnliche Spindel, Fig. 8 (vor der Besamung). Im Äquator derselben sind etwa 12 längliche, leicht gekrümmte, stark gefärbte, chromatische Stäbchen sichtbar. An keinem der vielen Keime, die vor der Besamung bis zwei Minuten nach derselben geschnitten wurden, fand sich ein bereits abgestossener Richtungskörper. In diesen Fällen handelte es sich wohl bestimmt um die erste Richtungsspindel.

Boehm schätzt die Zahl der von ihm beobachteten Chromosomen auf etwa sechs. Die von ihm beschriebene erste Richtungsspindel stimmt im übrigen fast völlig mit der von mir beobachteten überein.

Die ziemlich deutlichen Spindelfasern konvergieren zwar nach den Polen der Spindel, doch zeigt sich keine Spur eines Centrosomas oder einer Polstrahlung. Man kann an der Spindel leicht von Pol zu Pol verlaufende Fasern erkennen, während zu den Chromosomen ziehende Zugfasern deutlich nicht sichtbar

sind. Das Protoplasma zeigt in der unmittelbaren Umgebung der Pole genau die gleiche Struktur wie weiter von ihnen entfernt.

Ebenso gestaltete erste Richtungsspindeln fand ich sofort nach der Besamung und zwei Minuten nach derselben (bei niedriger Wassertemperatur).

Eine Drehung der ersten Richtungsspindel habe ich leider nicht direkt beobachten können. Doch erinnert die in Fig. 8 sichtlich vorhandene Neigung der Spindelachse gegen die Keimoberfläche offenbar an eine solche.

Bei dieser Erscheinung, die nicht nur bei sehr vielen Wirbellosen, sondern auch bei den meisten bis jetzt untersuchten Wirbeltieren gefunden ist, handelt es sich bekanntlich darum, die vorher in einem beliebigen Längsdurchmesser der flachen Keimscheibe (oder des runden Eies) liegende, also in Bezug auf das Ei tangential Spindel durch eine Drehung um 90° senkrecht gegen die Keimoberfläche, also in einen Eiradius einzustellen, sodass die Bildung der Richtungskörper in der bei gewöhnlichen Zellteilungen üblichen Weise vor sich gehen kann.

Wie ich bereits oben hervorhob, hat Blanc frühere Stadien als ich beobachtet, und auch seine Angaben deuten auf eine Drehung der ersten Richtungsspindel hin. Allerdings ist mir dabei folgendes aus seinen Angaben völlig unverständlich geblieben und mit dem sonst allgemein beobachteten Verlauf der Spindeldrehung ganz unvereinbar.

Das Stadium, in dem die Chromosomen eine zur Keimoberfläche parallele und dieser etwas genäherte Platte bilden und in dem ihre Längsteilung vor sich geht, soll der Bildung der Richtungsspindel vorhergehen, bei der dann die Äquatorialplatte fast senkrecht zur Oberfläche des Keims steht.

Wir hätten hier also geradezu eine Drehung im entgegengesetzten Sinne, die um so unwahrscheinlicher ist, als man nicht einsieht, wie dabei die Bildung der Richtungskörper er-

folgen soll. Die Angaben Blancs müssen also hier offenbar auf unrichtiger Beobachtung infolge mangelhafter Orientierung der Präparate oder, was wahrscheinlicher ist, auf Verwechslung der Aufeinanderfolge der Stadien beruhen.

Was nun die von Blanc beschriebene Richtungsspindel selbst betrifft, so weicht ihre Gestalt völlig von der von Boehm und mir beobachteten ab.

Während ich sie als ein der Kugelform ziemlich ähnliches Gebilde beobachten konnte, bei dem die Spindelfasern stark gebogen nach den beiden Polen zu konvergieren, bildet Blanc sie in der Gestalt von zwei mit ihren Basen in der Äquatorialplatte aneinander stossenden Kegeln ab. Die Fasern konvergieren scharf nach den beiden Polen, an denen man jederseits einen hellen, runden Hof bemerkt, von dem einige wenige strahlenartige Fasern ausgehen. Die Zahl der Chromosomen giebt Blanc erheblich grösser an, als ich sie bei meinen Untersuchungen fand.

Meine Beobachtungen stimmen mit denjenigen Boehms dagegen bis auf die Chromosomenzahl fast völlig überein; es dürften die Angaben dieses Autors, die von vornherein schon viel wahrscheinlicher für sich hatten, als durchaus zuverlässig anzusehen sein, die Angaben Blancs aber mindestens stark in Zweifel gezogen werden müssen. Meine eigenen Beobachtungen sind in diesem Punkte leider zu spärlich¹⁾, um auf Grund derselben den direkten Nachweis der Unrichtigkeit der Blancschen Behauptungen führen zu können.

Es soll übrigens im obigen nicht gesagt sein, dass ich die Angabe Boehms, dass die erste Richtungsspindel zu einer gewissen Zeit nur sechs Chromosomen habe, bezweifle. Ich

¹⁾ Insofern als sie sich nicht auf alle Stadien der Richtungsmitosen beziehen. Ein unglücklicher Zufall brachte bei der Regenbogenforelle fast genau dieselben Stadien, die wir schon zur Genüge bei der Forelle beobachtet hatten.

habe ein solches Stadium mit nur sechs Chromosomen nur nicht zu Gesicht bekommen, und es ist wohl möglich, dass ein solches existiert. Wahrscheinlicher ist mir allerdings, dass B o e h m die Zahl der Chromosomen unterschätzt hat, da dieselben im Stadium meiner Abbildung 8 allerdings in anscheinend viel weniger als halber Zahl vorhanden waren als später (Fig. 9). Der Grund hierfür liegt aber in der etwas abweichenden Form der Chromosomen, die anfangs ganz gerade Stäbchen sind und von denen sich häufig zwei im Schnitt genau decken, sodass erst die Zuhülfenahme eines starken Okulars die Zählung mit Sicherheit ermöglicht.

Ich wende mich nun zu der Beschreibung der zweiten Richtungsspindel, die wahrscheinlich ohne Ruhepause unmittelbar aus der im Ei verbliebenen Chromosomengruppe der ersten Richtungsspindel gebildet wird. Leider konnte ich keine Beobachtungen über diesen Vorgang selbst machen. Ich muss mich daher auf die von mir allein beobachteten späteren Phasen der zweiten Richtungsmitose beschränken.

Das in Fig. 9 dargestellte Stadium von 20 Minuten stammt von Eiern mit schneller Entwicklung (Leitungswasser des Instituts) und dürfte wohl schon eine zweite Richtungsspindel darstellen, obwohl der abgestossene erste Richtungskörper nicht nachgewiesen werden konnte¹⁾.

Die Spindel ist durch Streckung etwas länger geworden als vorher. Sie liegt jetzt hart an der Oberfläche des Keims in einem durch lockeres Protoplasmagefüge ausgezeichneten Hofe und hebt sich so von dem übrigen Protoplasma ein wenig mehr ab, als die der Fig. 8.

Die Gesamtzahl der Chromosomen konnte ich mit ziemlicher Sicherheit auf etwa 24 bestimmen. Sie sind in zwei an-

¹⁾ Dieselben können leicht bei Entfernung der Schalen an diesen hängen geblieben sein. Ein mit Schale geschnittener Keim dieses Stadiums gab darüber leider auch keinen Aufschluss, da mehrere Schnitte verunglückten.

nähernd parallelen Platten zu je 12 angeordnet. Die Form der Chromosomen ist die von Stäbchen, doch sind sie im Gegensatz zu vorher leicht gekrümmt, und von mehr unregelmässiger Gestalt. Die einzelnen Elemente sind auch deutlich kleiner, insbesondere schmaler.

Auch hier war es mir selbst bei genauester Beobachtung nicht möglich, ein Centrosoma oder centrosomaähnliches Gebilde oder eine Polstrahlung oder auch nur eine besondere, an eine Polstrahlung erinnernde Protoplasmastruktur aufzufinden.

Ein späteres Stadium der zweiten Richtungsmitose von der Regenbogenforelle (*Trutta iridea*) — das früheste, das ich bei dieser beobachten konnte — zeigt Fig. 10.

Die Richtungsspindel liegt ziemlich nahe der Keimoberfläche, die sich mit einem mässigen Protoplasmahügel vorwölbt. Das in diesem gelegene Ende der Spindel ist etwas abgerundet, das entgegengesetzte zugespitzt. Die Chromosomen sind bereits im Begriff, die Tochterplatten zu bilden, es hat also die Teilung der ersteren schon stattgefunden. Jede Tochterplatte enthält 12 chromatische Elemente, die mit Sicherheit zu zählen waren. Die Chromosomen bilden Schleifen, deren Umbiegungsstellen den Spindelpolen zugekehrt sind. Die Tochterplatten verbinden sehr deutliche Centralspindelfasern. Daneben bemerkt man andeutungsweise von den Polen ausgehende, seitlich von der Centralspindel verlaufende Fasern, die im Protoplasma neben der letzteren enden, dieses selbst aber nicht weiter alterieren. Von einer strahligen Anordnung des Protoplasmas ist nichts zu erkennen. An den Spindelpolen fehlt auch jetzt jede Spur eines Centrosomas oder eines centrosomaähnlichen Gebildes. Ebenso ist keine Andeutung einer Polstrahlung zu sehen; denn die bereits erwähnten Seitenstrahlen, die wir unten nochmals wiederfinden werden, stellen jedenfalls keine Polstrahlung dar. Die Spindel liegt in einem kleinen, etwas helleren Protoplasmahof.

Ein etwas weiter vorgeschrittenes Stadium konnte ich an den Eiern der gewöhnlichen Forelle mehrfach beobachten (40 Min. nach der Besamung bei der Temperatur des Leitungswassers des Instituts).

Es handelt sich um die in den Abbildungen 11 und 12 der Taf. XIV wiedergegebenen Spindel-Figuren der zweiten Richtungsmitose. Wir haben es hier mit dem eigentlichen Diasterstadium zu thun. Die Chromosomen liegen in zwei ausgebildeten Tochterplatten eng aneinander an den Enden der Spindelfigur. Ihre Elemente sind jetzt mit Sicherheit nicht mehr zählbar. Die Zahl derselben beträgt schätzungsweise 12, und wir müssen diese nach Massgabe der oben mitgeteilten Behauptungen als die richtige annehmen. Ihre Gestalt ist die leicht gekrümmter Stäbchen bzw. ganz kurzer Schleifen. Die ausserordentlich deutlichen und ziemlich dicken Centralspindelfasern laufen jetzt annähernd parallel von Tochterplatte zu Tochterplatte und zeigen eine leichte Torsion. Ausserdem besitzen sie in der Mitte deutliche Verdickungen¹⁾. Über die Grenze der Chromosomen hinaus sind keinerlei Spindelfasern mit Sicherheit mehr erkennbar. Die Spindelfigur selbst ist bereits stark verlängert gegenüber dem vorigen Stadium.

Ausser diesen sozusagen gewöhnlichen Charakteren finden wir in diesem Stadium der zweiten Richtungsmitose in einer sicherlich ungewöhnlichen Weise oder wenigstens ungewöhnlichen Stärke die oben bereits erwähnten Seitenfasern, die als mächtige, recht dicke Strahlungen von den beiden Tochterplatten der Spindel (der Gegend des nicht mehr erkennbaren Spindelpols) aus seitwärts in das Protoplasma hineinragen und dort frei endigen. Diese Fasern zeigen häufig die mannigfachsten Krümmungen und insbesondere Torsionen. Die meisten Fasern

1) Verdickungen der Centralspindelfasern (Centralspindelkörperchen) sind auch bei Richtungsmitosen schon an verschiedenen Objekten beobachtet worden.

treffen sich in der Ebene der Mitte der Spindelfasern und laufen dann häufig plötzlich umbiegend parallel neben einander weiter (Fig. 11). Nie verschmelzen die von der Gegend der Pole kommenden Fasern in der Region des ehemaligen Spindeläquators. Ebenso wenig findet eine Überkreuzung der Fasern statt. Es handelt sich stets um Fasern, die an der letzteren Stelle ihr Ende haben, dagegen an der Stelle des Spindelpols mit der Centralspindelfigur zusammenhängen.

Ihrem Verlaufe nach sind diese Fasern also jedenfalls keine Centralspindelfasern, sondern eher als Zugfasern aufzufassen. Allerdings inserieren sie auch nicht an die Chromosomen. Merkwürdig ist, dass das Stadium des Monasters, Fig. 8, 9, von diesen Fasern nichts zeigt. Allerdings handelt es sich bei Fig. 8 wohl um die erste Richtungsspindel, bei Fig. 9 dagegen wahrscheinlich um das Stadium der Äquatorialplatte der zweiten. Ähnliche Strahlungen kommen auch bei Richtungsspindeln anderer Eier vor und sind bei Wirbeltiereiern zuerst von Born¹⁾ aber unter einer unrichtigen Deutung abgebildet worden. Kürzlich hat dieselben Sobotta²⁾ als eine konstante Erscheinung an der zweiten Richtungsspindel des *Amphioxus* beschrieben. Hier fanden sie sich schon im Stadium der Äquatorialplatte der zweiten Richtungsspindel, wenn auch im Diasterstadium viel deutlicher.

Das umliegende Protoplasma des Keims zeigte in den beiden von mir beschriebenen Stadien (Fig. 11 und 12) eine völlig indifferente Struktur. Es war insbesondere keinerlei Spur einer Strahlung darin zu entdecken. Das Protoplasmagefüge unterschied sich durch nichts von demjenigen an weiter entfernten Stellen des Keims.

¹⁾ Born, G., Die Struktur des Keimbläschens im Ovarialei von *Triton taeniatus*. Arch. f. mikrosk. Anatomie. 43. Bd. 1894.

²⁾ Sobotta, J., Die Befruchtung des Eies von *Amphioxus lanceolatus*. Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. L. 1897. — Siehe ebenda auch Erklärungsversuche.

Boehm giebt ebenfalls eine Beschreibung von Diaster-Stadien. Die Zahl der von ihm beobachteten Chromosomen stimmt mit meinen Beobachtungen überein. Weitere Angaben über die Gestalt derselben finden sich bei ihm nicht. Die von ihm abgebildete zweite Richtungsspindel gleicht auch insofern der von mir beobachteten, als die Enden derselben eher flach oder nur schwach abgerundet erscheinen. Eine Polstrahlung oder ein centrosomähnliches Gebilde hat auch er nicht gefunden.

Zu einem ganz anderen Resultate ist dagegen Blanc gekommen. Die von ihm abgebildeten zweiten Richtungsspindeln weichen ganz erheblich von den von Boehm und mir beobachteten ab. Die Verschiedenheit ist fast noch grösser, als es schon bei der ersten Richtungsspindel der Fall war.

Während, wie wir oben gesehen haben, die Fasern bei *Trutta iridea* nur schwach nach den abgerundeten Enden konvergieren und bei *Trutta fario* sogar nahezu parallel nach den abgestumpften Enden verlaufen, zeigen die von Blanc abgebildeten Richtungsspindeln wieder das Bild eines Doppelkegels. Die Fasern konvergieren dabei scharf nach den beiden Enden, die von je einer Polstrahlung umgeben sind, in deren Centrum sich ein heller Fleck zeigt. Seitenfasern scheint Blanc nicht beobachtet zu haben, da er nichts beschreibt, was darauf hindeuten könnte. Dagegen hat er die von mir oben angegebene Torsion der Centralspindelfasern beobachtet und führt deren Entstehen auf den Stellungswechsel der Spindel (Übergang von der tangentialen zur radialen Stellung) zurück.

Was nun die Chromosomen betrifft, so sind diese nach Blancs Angaben nach der Ausstossung des ersten Richtungskörpers zu 9 oder 10 mehr oder weniger körnigen Packetchen vereinigt. Kurz darauf sollen sich dann die Kernelemente zu einem wurstähnlichen oder bandartig gekrümmten Gebilde vereinigen, das in der Äquatorialebene der nunmehr auftretenden zweiten Richtungsspindel gelegen ist und dann durch Querteilung in

einzelne Stücke zerfällt. Die Äquatorialplatte soll sich senkrecht zur Keimoberfläche einzustellen streben, was Blanc aus zwei Strahlungen schliesst, die er an den beiden Spindelpolen beobachtet hat.

Die Gestalt der Chromosomen hat Blanc in diesem Stadium nicht erkennen können. Dagegen beschreibt er dieselben in einem folgenden Stadium, dem Diaster-Stadium. Die Chromosomen sollen jetzt weniger zahlreich und dünner sein als in den vorhergehenden Stadien. Sie bilden zwei parallele Platten, die durch achromatische Fäden mit zwei gut sichtbaren Strahlungen verbunden sind.

Von derartigen Polstrahlungen habe ich, wie ich schon wiederholt betonte, durchaus nichts bemerken können, so grosse Mühe ich mir auch gegeben habe, auch nur irgend eine besondere Struktur des Protoplasmas oder ein einem Centrosoma ähnliches Gebilde zu entdecken, obwohl an meinen Präparaten die Protoplasmastruktur vortrefflich zu erkennen war.

Was die Struktur des Protoplasmas im Forellenei zur Zeit der Befruchtung betrifft, so beschränke ich mich hier auf eine geringe Anzahl von Angaben, die nicht den Anspruch erheben; diese Frage zu lösen, sondern nur dazu bestimmt sind, dasjenige kurz zu erläutern, was auf meinen Präparaten mit der von mir angewandten Methode erkennbar war und was ich auch auf den Abbildungen der Tafeln wiedergegeben habe.

Das Protoplasma des Forellenskeimes erschien in allen Stadien in Gestalt eines deutlichen Maschen- oder Netzwerkes feiner Fädchen, welche wiederum an einzelnen Stellen häufig an den Knotenpunkten leichte Verdickungen zeigten. In den früheren Stadien der Befruchtung, wo der Keim noch niedrig ist, war dieses Netzwerk ausserordentlich viel engmaschiger als in den späteren Stadien. Stets fanden sich an der Keimoberfläche die engsten, in der Tiefe die weitesten Maschen. Zur Zeit, wo die oben erwähnte Abgrenzungslinie (s. oben S. 239)

des Keims auftritt, setzen die Fäden der weitesten unteren Maschen an diese Linie an. Letztere sind jetzt mehrfach so gross als die in der Nähe der Keimoberfläche. In den späteren Stadien findet man im Bereiche des Keims stets nur das Protoplasma, Kerne bzw. Kerngebilde und Centrosomen. Früher jedoch, wenn die Konzentration des Keims noch im Gange ist, findet man mitunter — aber nicht konstant — einzelne meist runde Dotterpartikel von sehr variabler Grösse und Gestalt, namentlich in den tieferen Schichten des Keims (sie färben sich mit Eisenhämatoxylin ziemlich intensiv). Dort werden sie anscheinend bald aufgelöst, sodass, wie gesagt, in den späteren Befruchtungsphasen der Keim stets frei davon ist¹⁾.

Da Blanc nun einerseits mit so grosser Bestimmtheit das Vorhandensein von Polstrahlungen behauptet, aber andererseits die — wenigstens an den zweiten Richtungsspindeln — mit ziemlich Konstanz auftretenden Seitenfasern völlig übersehen hat, so liegt die Annahme sehr nahe, dass diese Fasern bei ihm den Eindruck einer von den Polen ausgehenden Strahlung hervorgerufen haben. Durch diese Fasern ist ja auch Born²⁾ beim Triton irre geleitet worden. In der That würde ja auch ein zur Spindelachse senkrechter Schnitt recht wohl ein Bild ergeben, wie es Blanc gesehen haben will und bei Beobachtung eines in toto eingelegten, ungeschnittenen Keims mag das noch mehr der Fall sein.

Wenn Blanc dann weiter die Differenzen, die zwischen seinen Angaben und denjenigen Boehms in betreff des Auftretens des ersten Richtungskörpers bestehen, dazu verwerten will, die Zuverlässigkeit der Beobachtungen des letztgenannten Forschers anzuzweifeln, so bin ich durchaus nicht davon überzeugt, dass Boehms Beobachtungen zu verwerfen sind, da die abweichenden Angaben sich durch den Einfluss der Tem-

1) Keime unbefruchteter Eier sind bei ihrer (ebenfalls eintretenden) Konzentration mit solchen Dotterpartikeln vollkommen durchsetzt.

2) l. c. vergl. auch oben p. 249.

peratur des Wassers erklären lassen, und ich halte daher den absoluten Zeitpunkt der Ausstossung des Richtungskörpers für völlig irrelevant. Es liegt also ohne weiteres kein Grund vor, die auf sorgfältiger Beobachtung beruhenden Angaben Boehms in solcher Weise zu kritisieren, denn wenn auch Boehms Untersuchungen, ebenso wie die meinigen, nicht lückenlos sind, so sind doch die von Boehm untersuchten und beschriebenen Stadien sicherlich viel genauer und besser beobachtet, als dies von seiten Blancs geschehen ist, dessen Angaben jedem Nachuntersucher überhaupt unverständlich bleiben müssen, so sehr weichen sie von dem thatsächlichen Verhalten ab.

Ich wende mich nun zur Beschreibung des ersten Richtungskörpers. Ein etwaiger Einwand Blancs, dass auch ich infolge meiner Methode den ersten Richtungskörper gar nicht zu Gesicht bekommen hätte, dürfte von vornherein dadurch ausgeschlossen sein, dass ich zu gleicher Zeit in mehreren Fällen einen völlig abgestossenen (ersten) und daneben einen zweiten Richtungskörper beobachten konnte, der noch durch Reste der Centralspindel mit dem Keim verbunden war, wie uns Fig. 16 zeigt. Auch in dem Präparat zu Fig. 14 lag einige Schnitte neben dem der Abbildung ein bereits abgestossener, runder, chromatische Kernbestandteile enthaltender Körper, der nur der erste Richtungskörper sein konnte.

Möglicherweise hat bereits Kupffer, wie er auch selbst vermutet, die Richtungskörper des Forelleneies gesehen. Er beobachtete nämlich an zwei Präparaten in der Nähe der Mikropyle, zwischen Eihaut und Keimoberfläche eingeklemmt, einen abgeplatteten Ballen fein granulierter Substanz. In dem einen Falle bestand der Ballen deutlich aus zwei dicht aneinander gelagerten Portionen, in deren einer ein gefärbter, kleiner Kern zu sehen war.

Boehm hat dann die Bildung der Richtungskörper genauer beobachtet und bestimmtere, zuverlässige Angaben darüber ge-

macht. Die zwei aus der Äquatorialplatte der ersten Richtungs-
spindel entstandenen Tochterplatten rücken auseinander, wobei
die entsprechenden Elemente beider durch Verbindungsfäden
verknüpft bleiben. Die eine Tochterplatte erreicht die Ober-
fläche des Keims, der hier einen Hügel bildet. Derselbe schnürt
sich dann mit der in ihm liegenden Platte von etwa 12 färb-
baren Elementen (Chromosomen) von dem Protoplasma des
Keims ab.

Blanc beschreibt den ersten Richtungskörper als ein ovales
Bläschen, das eine körnige Masse enthält, die Hälfte des ur-
sprünglichen Eikerns. Genauere Angaben macht er jedoch
nicht und aus seinen Abbildungen lässt sich auch nichts weiter
ersehen. Der angebliche Richtungskörper Blancs liegt aber in
einer seiner Abbildungen (8) gar nicht ausserhalb des Keims,
sondern innerhalb (!) desselben und sieht allem andern ähnlich
nur nicht einem Richtungskörper. Anders kann ich die Ab-
bildung Blancs wenigstens nicht deuten.

Ich habe in Übereinstimmung mit Boehm in dem ersten
Richtungskörper deutlich distinkte, färbbare, stäbchenförmige,
leicht gekrümmte Gebilde beobachtet und vermochte ihre Zahl
zu etwa 10—12 festzustellen. Der Richtungskörper selbst hatte
die Gestalt eines rundlichen Bläschens, das von einer Art
membranähnlicher Aussenschicht begrenzt und von lockerem
Protoplasma erfüllt war.

Blanc behauptet nun, dass in jedem Falle der erste Rich-
tungskörper bis zum Sichtbarwerden des zweiten völlig zu Grunde
gehe. Dass diese Behauptung hinfällig ist, zeigt uns z. B.
Fig. 16, wo sich neben dem abgeschnürten zweiten Richtungs-
körper der erste noch völlig intakt findet. Dasselbe konnte ich
in fast allen Fällen beobachten, wo nicht überhaupt die Rich-
tungskörper durch die angewandte Methode vom Keim getrennt
waren. Der erste Richtungskörper geht bei der Forelle, was
a priori anzunehmen war, nicht zu Grunde, sondern erhält sich

neben dem zweiten wahrscheinlich in die Zeit der Furchung hinein.

Über die Abschnürung des zweiten Richtungskörpers macht Boehm keine genaueren Angaben, sondern beschränkt sich darauf, auf die Analogie dieses Vorgangs mit demjenigen bei der Bildung des ersten hinzuweisen. Ausserdem giebt er die Zahl der Chromosomen im zweiten Richtungskörper zu zwölf an. Über die Grösse desselben im Verhältnis zu der des ersten finden sich bei ihm keine näheren Angaben.

Bezüglich des Zeitpunktes der Bildung des zweiten Richtungskörpers stimmen Boehm und Blanc ungefähr überein. Der erstere giebt die Zeit von 1 Stunde 20 Minuten an, der zweite von 1 Stunde 30 Minuten. Ich fand in einem Stadium von 1 Stunde 45 Minuten (Fig. 14) den zweiten Richtungskörper bereits abgeschnürt.

Nach Blanc besitzt der zweite Richtungskörper ungefähr dieselbe Gestalt und Grösse wie der erste. Er ist von einer deutlichen Membran begrenzt und enthält innerhalb einer Flüssigkeit Chromatinkörnchen. Dieselben bilden jedoch hier keine kompakte Masse wie beim ersten. Der zweite Richtungskörper soll sich bis neun Stunden nach der Befruchtung erhalten.

Ich fand den ersten Richtungskörper dagegen meist etwas grösser als den zweiten, wie auch Fig. 16 zeigt. Der letztere zeigt sich uns als ein rundliches oder ovales Körperchen (Fig. 15 und 16) mit einer Art Membran und lockerer Protoplasmastruktur. In allen Fällen waren chromatische Gebilde darin zu erkennen. Jedoch waren die Chromosomen kaum noch einzeln zu unterscheiden, sondern bildeten eine kernähnliche, zusammengeballte Gruppe. Die Anzahl der Chromosomen war daher nicht festzustellen.

Nachdem nun die Abstossung des zweiten Richtungskörpers auf dem Wege der gewöhnlichen Mitose erfolgt ist (Fig. 14), bilden die im Keim zurückgebliebenen Elemente sich zu einem

neuen Kern, dem „Eikern“ um, der seine Beziehung zum zweiten Richtungskörper noch längere Zeit bewahrt (Fig. 15 und 16). Wir sehen in den letzten beiden Fällen den Richtungskörper mit der im Ei zurückgebliebenen Chromosomengruppe durch achromatische Spindelfasern verbunden.

In Fig. 14, dem Stadium der eben vollendeten Mitose, bemerken wir ausserdem noch eine besonders auffällige, stumpfwinkelige Knickung der den Richtungskörper mit dem Ei noch verbindenden Centralspindelfasern, die auch Boehm bereits beobachtet hat. Er gewinnt den Eindruck, als ob der weibliche Vorkern, d. h. die oben erwähnte Chromosomengruppe (centrale Tochterplatte) heftig von dem männlichen Vorkern resp. dessen Strahlung angezogen würde.

Die Reifungserscheinungen und die Befruchtungsvorgänge verlaufen im Ei der Forelle nicht etwa zeitlich völlig getrennt nach einander, sondern das Ende der ersteren fällt mit dem Beginn der zweiten, d. h. dem Eindringen des Samenfadens ins Ei zusammen, wie das an den meisten Eiern in gleicher Weise zu beobachten ist.

Ehe ich mich jedoch zur Besprechung der Befruchtungsvorgänge wende, möchte ich nochmals kurz die wichtigsten Ergebnisse meiner leider nicht ganz vollständigen Untersuchung der Reifungserscheinungen des Forelleneies zusammenfassen und mit den völlig abweichenden Resultaten Blancs vergleichen.

Von entscheidender Bedeutung dürfte vor allem die Frage nach dem Vorhandensein oder Fehlen der Centrosomen und Polstrahlungen an den Richtungsspindeln sein. Denn wenn nachgewiesen ist, dass dieselben hier bereits gänzlich fehlen, so muss mit um so grösserer Wahrscheinlichkeit oder vielmehr völliger Gewissheit ihr Mangel beim neugebildeten Eikern gefolgert werden, da ja andernfalls eine Neubildung derselben angenommen werden müsste.

In dieser prinzipiellen Frage muss ich nun mit derselben Bestimmtheit, mit der Blanc das Vorhandensein von Polstrahlungen behauptet, die Anwesenheit derselben in Abrede stellen und kann dies, wie ich glaube, mit um so grösserer Berechtigung thun, als ich mich dabei nicht nur auf eine grosse Anzahl mit der grössten Sorgfalt daraufhin untersuchter und völlig einwandfreier Präparate stützen kann, die mit viel vollkommeneren Methoden¹⁾ hergestellt wurden als die Blancs, sondern auch die von vornherein schon wahrscheinliche Annahme einer unrichtigen Beobachtung Blancs dadurch ziemlich sicher gemacht habe, dass ich angeben kann, wodurch der letztere möglicherweise getäuscht und zu seinen irrigen Behauptungen verleitet ist.

Es ist wohl kein Zweifel möglich, dass Blanc die von mir beschriebenen Seitenfasern auf dem Durchschnitt als Polstrahlung aufgefasst und gedeutet hat. Denn es wäre ja fast unerklärlich, wie er die doch mit ziemlich grosser Konstanz und Deutlichkeit auftretenden Fasern so völlig hätte übersehen sollen. Möglicherweise hat auch der schon in der Einleitung von mir erwähnte Mangel an genügender Orientierung seiner Präparate beziehungsweise an Durchschnitten Blanc zu seinem schwerwiegendem Irrtum mit Veranlassung gegeben.

Damit dürfte wohl der Nachweis geführt sein, dass an den Richtungsspindeln des Forelleneies — der Umstand, dass ich nicht alle Phasen beobachtet habe, spielt in dieser Frage ja keine Rolle — weder Centrosoma noch Polstrahlung vorhanden, ja nicht einmal mehr angedeutet ist und dass schon die Bildung der Richtungskörper ohne das Auftreten derselben sich vollzieht. Höchstens könnte an der ersten Richtungsspindel in den von mir nicht beobachteten Prophasen ein Centrosoma nachweisbar sein, was aber wenig wahrscheinlich ist.

¹⁾ Wenn die Strahlungen so deutlich sind, dass man sie an mit Boraxkarmin gefärbten Präparaten schon sehen kann, so ist es geradezu unmöglich, dass man sie bei Anwendung der von mir benutzten Methode völlig übersieht.

Eindringen des Spermatozoons ins Ei. Bildung des Sperma- und Eikerns.

Während der im vorigen Abschnitt beschriebenen Vorgänge findet sich bereits konstant im Ei ein eingedrungener Samenfadens.

Wenn ich auch das Eindringen des Spermatozoons nicht direkt beobachten konnte, so unterliegt es doch keinem Zweifel, dass das in der Nähe der Keimoberfläche gelegene, stark gefärbte, kompakte, annähernd kugelige oder konische Gebilde mit einer begleitenden Strahlung als der bereits in Umwandlung begriffene Kopf eines eingedrungenen Samenfadens anzusehen ist (Fig. 10, 11).

Das Centrum der hinter ihm gelegenen, d. h. der Keimoberfläche zugekehrten Strahlung bildet ein mit Eisenhämatoxylin intensiv färbbares, punktförmiges Körperchen, das Centrosoma. Die Strahlung selbst ist zwar sehr deutlich, aber doch nur schwach entwickelt. Insbesondere sind die einzelnen Strahlen relativ kurz und setzen sich nicht auf grössere Strecken des Protoplasmas fort.

Blanc hat bereits eine halbe Minute nach dem Zusatz des Spermas zu den Eiern im Mikropylkanal ein oder zuweilen auch mehrere Spermatozoen beobachtet; er lässt den ganzen Samenfaden in den Keim eintreten. Der Schwanz desselben soll alsdann resorbiert werden.

Boehm hat im Stadium von 20 Minuten nach der Besamung ziemlich regelmässig bei fast allen Eiern den Hals der Mikropyle mit Samenfäden vollgepfropft gefunden. Es waren nach seiner Beobachtung deren stets mehrere (3—7) in demselben vorhanden.

30 Minuten nach der Besamung sah er innerhalb des Keims in der nächsten Nähe seiner Oberfläche und der Mikropyle ein stark tingiertes Körperchen, welches mit den oben er-

wähnten, im Mikropylenhals steckenden Spermatozoenköpfen sich identisch erwies.

Über die Bildung eines Empfängnishügels fehlen mir Beobachtungen, ebenso machen Boehm und Blanc keine Angaben darüber.

Dagegen hat Kupffer beim Forellenei eine gewisse Zeit nach der Berührung der Geschlechtsprodukte an der Keimoberfläche mehrere Kopulationshügel beobachtet.

Daneben beschreibt Kupffer ganz eigenartige Bildungen, die er mit dem Eindringen der Samenfäden direkt in Verbindung bringt und als „Polscheiben“ bezeichnet. Nach seinen Beobachtungen soll das Forellenei stets mehrere völlig ausgebildete Polscheiben besitzen. Diese Scheiben liegen nach seinen Angaben an der Oberfläche des Keims und bestehen aus einer senkrecht gestrichelten hellen Substanz, die als Fortsetzung der dünnen „Dotterhaut“ erscheint, gegen die Mitte zu an Dicke zunimmt und hier von einem Pfropfe der Keimsubstanz durchbohrt wird.

Von derartigen eigentümlichen Bildungen habe ich jedoch nichts mehr vorfinden können, sodass dieselben also nach kurzer Zeit schon verschwinden müssten. Da nun auch Boehm und Blanc davon nichts gesehen haben, so liegt jedenfalls trotz der bestimmten Angaben Kupffers doch wohl ein Irrtum dieses Forschers vor, der durch irgend welche andere Gebilde zu der Annahme eines so eigenartigen und von vornherein unwahrscheinlichen Apparates verleitet ist, zumal das Forellenei gar keine Dotterhaut besitzt¹⁾.

Ich wende mich nun zu der Beschreibung des Spermatozoonkopfes in dem Zustande, wie ich ihn zuerst erblickte.

¹⁾ Eine unter der Schale gelegene, vielleicht eiweisshaltige Flüssigkeit gerinnt oft namentlich in den früheren Befruchtungsstadien membranartig auf der Keimoberfläche. Vielleicht hat Kupffer derartige unregelmässige Gerinnungen beobachtet. Kupffers Präparate waren ja auch infolge der nicht überwundenen technischen Schwierigkeiten nicht mustergiltig.

Wie aus Fig. 11 und 12 ersichtlich, ist das betreffende Gebilde stark gefärbt, kompakt und konisch oder halbkugelig bis nahezu kugelig gestaltet. Die Basis ist der Eioberfläche zugekehrt. Ziemlich nahe derselben sehen wir eine relativ schwach entwickelte Strahlung mit wenigen, aber sehr deutlichen Fäden, die das übrige Protoplasma nicht weiter alterieren, sondern sich nach kurzem Verlauf in demselben verlieren. Im Centrum der Strahlung bemerkt man ein kleines punktförmiges Centrosoma, welches sich intensiv färbt.

Kupffer hat zuerst das Vorhandensein der Strahlung am Spermakern im Forellenei beschrieben. Er sah nämlich am Scheitelpunkte des Keims unmittelbar unter der Oberfläche desselben in einem Empfängnishügel ein Gebilde, das aus einem stabförmigen „Centralkörperchen“, einem dieses umschliessenden hyalinen Hof und einer centralwärts gerichteten Strahlung bestand. Bei genauerer Untersuchung konnte er konstatieren, dass das anscheinend stabförmige „Centralkörperchen“ aus fünf aneinander gereihten Partikeln bestand, von denen vier kugelig, das fünfte am Ende der Reihe aber ungefähr kegelförmig erschien. Bei einem zweiten, etwas älteren Stadium beobachtete Kupffer einen ähnlichen Kern mit einem centralwärts gerichteten, halbkreisförmigen Strahlensystem.

Blanc macht über die ersten Veränderungen, die das Spermatozoon im Forellenei erleidet, folgende Angaben. Bis zu zehn Minuten nach der Besamung hatte der homogene Kopf des Samenfadens nur wenig an Grösse zugenommen und war von einem hellen, rundlichen, vom Protoplasma des Keims deutlich begrenzten Hof umgeben. Im Stadium von 30 Minuten hatte er dagegen seine ursprüngliche Form schon verloren; er war oval geworden und hatte an Grösse etwas zugenommen.

Zugleich konstatiert Blanc in unmittelbarer Nähe des Spermatozoonkopfes das Vorhandensein eines schwach gefärbten rundlichen Hofes.

Jetzt beginnt der Spermakopf erheblich zu wachsen und seine Homogenität zu verlieren. Nach 40 Minuten bemerkte Blanc dann in dem umgebenden Protoplasma kurze, strahlenförmige Körnchenreihen.

1 $\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Eindringen des Spermatozoons in den Keim sah Blanc in unmittelbarer Nähe desselben einen Kreis, den optischen Durchschnitt einer Kugel, von dem netzförmig unter einander verbundene, radiär angeordnete und aus stark lichtbrechenden Körnchen bestehende Fasern in grosser Deutlichkeit ziemlich weit ins Protoplasma des Keims ausstrahlten.

Ein sehr wichtiger Vorgang, der bei fast allen Eiern beobachtet werden konnte und der auch an unserem Untersuchungsobjekt mit sehr grosser Deutlichkeit zu sehen war (Fig. 13), nämlich die Drehung des Spermakopfes, scheint Blanc völlig entgangen zu sein.

Es handelt sich, um auf meine eigenen Beobachtungen zurückzukommen, dabei, wie überall, um folgendes. Während das von einer Strahlung umgebene Centrosoma anfangs am hinteren Ende des Spermakopfes liegt¹⁾, erfolgt bald eine Drehung des letzteren, sodass das Centrosoma nunmehr dem Eiinneren zugekehrt ist (Fig. 13). Wegen der nahezu kugeligen Form des Spermatozoonkopfes der Forelle, ist es nicht zu entscheiden, ob eine Drehung des Kopfes mitsamt dem Centrosoma stattfindet, wie es anderweitig beobachtet wurde und wahrscheinlich auch bei der Forelle stattfindet, oder ob das Centrosoma allein den Weg beschreibt.

Eine Bemerkung Kupffers könnte fast darauf hindeuten, dass er bereits die oben beschriebene Drehung des Spermakopfes für wahrscheinlich gehalten hat.

1) Weil dasselbe wahrscheinlich auch bei den Fischen aus dem Mittelstück des Spermatozoon hervorgeht.

Indem er nämlich in den schon erwähnten beiden Fällen die Spermaköpfe bezüglich ihrer Lage mit einander vergleicht, hat er den Eindruck gewonnen, als wenn das in dem einen Falle sichtbare Gebilde sich aus der tangentialen in die radiäre Richtung gestellt und centralwärts sich von der Eioberfläche entfernt hätte.

Doch würde andererseits dieser Annahme die schon sehr weit vorgeschrittene Umbildung des Spermakopfes zu „Spermato-meriten“ widersprechen, da die Drehung des letzteren gewöhnlich schon ziemlich früh erfolgt, ehe Umbildungen an ihm zu beobachten sind.

In den Beobachtungen Boehms findet sich bezüglich der ersten Veränderungen, die der Spermakopf erleidet, und des Auftretens der Strahlung eine gewisse Lücke. Boehm hat an zahlreichen Serien bis zum Stadium von 1 Stunde 10 Minuten vergeblich nach Attraktionsphären (Archoplasma, Centrosoma, Sonne) gesucht. Erst von diesem Zeitpunkt ab hat er sie konstant gefunden und ganz richtig beschrieben.

In dem frühesten von ihm beobachteten Stadium war der Samenfadenkopf bereits stark verändert und von einer starken, dichten Strahlung begleitet. Er zeigte sich schon nicht mehr kompakt, sondern hatte Maulbeerform angenommen, ja schien fast direkt aus Kügelchen zu bestehen.

Ich wende mich jetzt wieder zu meinen eigenen Beobachtungen. Längere Zeit hindurch erleidet der Spermakopf keine wesentlichen Veränderungen und erscheint in nahezu gleicher und stets kompakter Form: allmählich jedoch bildet er sich zum „Spermakern“ oder „männlichen Vorkern“ um.

In Fig. 15 sehen wir ihn bereits nicht mehr kompakt, sondern es macht sich eine deutliche Vakuolenbildung bei ihm geltend, die durch Flüssigkeitsaufnahme bewirkt wird und eine erhebliche Grössenzunahme des so entstehenden Kernes zur Folge hat.

Ferner bemerken wir in einer erheblich grösseren Entfernung vom Spermakern als vorher das Centrosoma in Gestalt eines Punktes. Während es selbst gegenüber dem vorhin beschriebenen Stadium keine Veränderungen erkennen lässt, bildet es nun das Centrum einer mächtigen, dichten Strahlung, die fast die ganze Dicke des Keimes durchsetzt und schon bei sehr schwacher Vergrößerung recht deutlich erkannt werden kann; das Centrosoma innerhalb derselben ist dagegen jetzt weniger leicht zu beobachten als vorher. Die Strahlen selbst zeigen einen leicht welligen Verlauf und setzen sich auf eine lange Strecke in das umgebende Protoplasma fort derart, dass sie die Maschen desselben in der Richtung der Strahlungen verlängern (Fig. 15).

So lässt sich die Wirkung der Strahlung bis selbst an die Keimoberfläche verfolgen, wo unter dem zweiten Richtungskörper und mit ihm noch durch ziemlich intensiv färbbare Reste der Centralspindel verbunden die centrale im Ei verbliebene und in Umbildung zum „Eikern“ oder „weiblichen Vorkern“ begriffene Chromosomengruppe der zweiten Richtungsspindel liegt.

Von einer Polstrahlung ist in der Umgebung des so entstehenden Eikerns keine Spur wahrzunehmen, sondern derselbe liegt, von einem hellen, durch lockeres Protoplasma gebildeten, kleinen Hofe umgeben, völlig passiv im Eiprotoplasma nur eben noch berührt von den letzten Ausläufern der vom Spermacentrosoma ausgehenden Strahlung. Das Protoplasma in der nächsten Umgebung des entstehenden Eikerns steht deutlich unter dem Einfluss des männlichen Centrosomas (Fig. 15).

Eine sehr wichtige Thatsache können wir an einem bereits weiter in der Umbildung vorgeschrittenen, aber gleichalterigen Spermakern beobachten, nämlich das Vorhandensein von zwei punktförmigen Centrosomen innerhalb einer einheitlichen, dichten Strahlung (Fig. 17). Dieselben sind offenbar durch Teilung aus dem ursprünglich vorhandenen einfachen Centrosoma hervorgegangen. Es findet also frühzeitig eine Verdoppelung des Sperma-

centrosomas auch bei der Forelle statt. Leider konnte ich diesen Vorgang der direkten Teilung des Centrosomas selbst nicht beobachten, jedoch lagen die Teilstücke so unmittelbar neben einander, dass sie anscheinend eben erst von einander entstanden sind. Der Spermakern selbst hatte durch weitere Flüssigkeitsaufnahme seine ursprünglich kompakte Chromatinmasse in ein allerdings noch grobes Chromatingerüst umgewandelt.

Nach den Ergebnissen des vorigen Abschnitts war es von vornherein wahrscheinlich oder vielmehr notwendig, dass wir den Eikern ohne jede Spur von Centrosoma und Strahlung finden würden. Diese Vermutung hat sich, wie wir soeben gesehen haben, völlig bestätigt, dagegen konnten wir als äusserst wichtiges Faktum die Teilung des ursprünglich einfachen männlichen Centrosoma und seiner Strahlung konstatieren. Der Keim des Forelleneies hat also schon während der ersten Befruchtungsphasen zwei Centrosomen männlichen Ursprungs.

Blanc ist nun zu ganz anderen Resultaten gekommen. Ich will daher zunächst die Bildung des Eikerns nach seiner Darstellung hier folgen lassen.

Die nach der Ausstossung des zweiten Richtungskörpers im Ei verbliebenen Chromosomen der zweiten Richtungsspindel bilden einen Haufen von rundlichen, stark färbbaren Körnchen (Ovomeriten). Sie sind in einer Flüssigkeitsmasse enthalten, die mangels einer festen Membran von dem umgebenden Protoplasma begrenzt wird.

Zwei Stunden nach der Besamung, in dem Stadium, wo die zweite Richtungsspindel senkrecht gegen die Keimoberfläche gerichtet ist, will nun Blanc zwischen dem späteren zweiten Richtungskörper und dem nachher im Ei verbleibenden Kern einen hellen, ziemlich schlecht begrenzten, schwach gefärbten Hof bemerkt haben, von dem Reihen von feinen lichtbrechenden Körnchen ausstrahlen.

Aus diesen Angaben dürfte zur Genüge hervorgehen, was es mit dem beschriebenen hellen, schlecht begrenzten Hof und den von ihm ausgehenden Strahlen auf sich hat. Wir haben eben in ihm nichts weiter vor uns, als einen in der Gegend zwischen Mitte und Ende durch die zweite Richtungsspindel gelegten (optischen) Querschnitt. Dann bilden die quer durchschnittenen Spindelfasern die Begrenzung des hellen Hofes, d. h. des Innern der Spindel und die z. T. schräg oder gar längs getroffenen Seitenfasern die von ihm ausgehenden Strahlen. (Vergl. Blanc, Fig. 12B und meine Fig. 10—12.)

Eine andere Erklärung dieser schwerwiegenden Täuschung Blancs ist gar nicht denkbar. Übrigens ist dies nicht die einzige Angabe aus der Arbeit Blancs, welche den auf die einfachste Weise leicht zu beobachtenden Thatsachen dermassen widerspricht, dass es eigentlich völlig unnötig ist, sich nach einem Grunde für die irre geleitete Untersuchung dieses Forschers umzusehen. Hier zeigt sich vor allem wieder die aus den Abbildungen ersichtliche, mangelhafte Orientierung der von Blanc untersuchten Keime, anderenfalls hätte ihm ein solcher Irrtum nicht unterlaufen können.

Der Eikern selbst soll nun nach Blanc in der Zeit von 2—4 Stunden nach der Besamung keine nennenswerte Veränderungen erleiden, also ein Ruhestadium durchmachen. Er zeigt jetzt die Maulbeerform, d. h. er ist aus kleinen Bläschen (Ovomeriten) zusammengesetzt, wie wir sie oben auch beim Spermakern fanden. Dagegen tritt nach Blancs Beobachtungen etwa drei Stunden nach der Besamung in unmittelbarer Nachbarschaft des weiblichen Vorkerns ein rundlicher Fleck auf, von dem noch längere und zahlreichere Strahlen ausgehen, als im vorhergehenden Stadium. Diese Strahlung soll nun als Attraktionssphäre den Eikern bis zu seiner Verschmelzung mit dem Spermakern begleiten. Ein Centrosoma hat Blanc jedoch nicht zu erkennen vermocht.

Diese ganze Behauptung widerspricht einfach den Tatsachen, wie ich durch Präparate wie das in Fig. 18 beweisen kann. Wir sehen hier zwei Kerne, von denen der eine zwei selbständige, ungefähr um 45° der Kernperipherie von einander entfernte Strahlungen mit punktförmigen Centrosomen zeigt, während der andere Kern ohne jede Spur einer solchen ist. Wie lässt sich diese Beobachtung mit der Behauptung Blancs vereinen?

Dass der Kern mit den beiden Strahlungen wirklich der Spermakern ist, dürfte nach dem oben beschriebenen Teilungsstadium des männlichen Centrosomas (Fig. 12) wohl keinem Zweifel unterliegen. Der Teilung des Centrosomas ist jetzt auch die Teilung der Strahlung gefolgt. Die beiden Strahlensysteme haben sich von einander bereits etwas entfernt. — Auch die Struktur der beiden Kerne deutet übrigens darauf hin. Der Spermakern hatte ja, wie wir oben gesehen haben, seine Chromatinmasse bereits im vorhergehenden Stadium in ein Chromatingerüst umgewandelt. Dieses beobachten wir auch in Fig. 18 an dem von zwei Strahlungen begleiteten Kern, während der andere strahlungsfreie wie aus Bläschen zusammengesetzt erscheint. Der letztere ist also wohl ohne Zweifel der noch auf einem früheren Stadium der Umbildung befindliche und daher auch der Keimoberfläche näher liegende Eikern. Allerdings ist dieses Verhalten sicherlich nicht ohne weiteres massgebend, denn es kann sehr wohl sein, dass namentlich bei Eiern verschiedener Befruchtungsserien bald der eine, bald der andere Kern voraus ist.

Die Bildung des Eikerns oder weiblichen Vorkerns geht nun nach meinen Beobachtungen in der Weise vor sich, dass sich die nach der Ausstossung des zweiten Richtungskörpers im Keim verbliebene Chromosomengruppe der zweiten Richtungs-
spindel (Fig. 18), welche zunächst noch ohne sichtbare besondere Begrenzung in einem hellen Hof liegt, mit einer achro-

matischen Kernmembran umgiebt. Nach einiger Zeit zeigt dann der Eikern die oben beschriebene Maulbeerform, die an anderen Präparaten aber auch am Spermakern beobachtet wurde.

Die von Kupffer beschriebene eigentümliche Meritenstruktur des Spermakerns habe ich nicht in dieser schroffen Form auffinden können. Anscheinend entspricht sie der lappigen Maulbeerform und stellt nur einen hochentwickelten Grad derselben dar. Da sie sowohl Ei- wie Spermakern zukommt und sich nur im Ausbildungsstadium der Kerne typisch ausgeprägt zeigt, so dürfte sie jedenfalls nichts für das Wesen des Befruchtungsvorganges Charakteristisches darstellen. Auch die in Bildung begriffenen Tochterkerne zeigen ähnliche oder gleiche Struktur.

Wir haben nun die Bildung des Spermakerns und des Eikerns bis zu dem Stadium verfolgt, wo beide ihre Ausbildung zu echten Vorkernen erreicht haben. Ehe ich mich nun zur Beschreibung der weiteren Umwandlungen derselben und ihrer Konjugationsvorgänge wende, will ich das wesentliche über die in diesem Abschnitte besprochenen Beobachtungen nochmals hervorheben.

Vor allem handelte es sich bei der Bildung der beiden Vorkerne darum, den Ursprung der beiden Centrosomen nachzuweisen, welche während der späteren Befruchtungsstadien im Keime des Forelleneies — zuletzt als die Pole der ersten Furchungsspindel — angetroffen werden.

Wenn Blanc nun mit aller Entschiedenheit die allgemeine Annahme, dass die zwei Attraktionssphären des Furchungskerns durch Teilung der Sphäre des Spermakerns entstehen, als irrig verwirft und den sicheren Nachweis erbracht zu haben glaubt, dass auch der weibliche Vorkern eine Strahlung besitzt, die bei der Kopulation der beiden Vorkerne mit derjenigen des Spermakerns verschmilzt, so kann ich ihm nicht nur nicht bei

stimmen, sondern muss das Gegenteil auf Grund meiner Präparate behaupten. Weder Blancs Präparationsmethode noch seine Beweisgründe kann ich als ausreichend zur Entscheidung dieser Frage anerkennen.

Ich glaube vielmehr nicht bloss den wirklichen Vorgang an der Hand einwandfreier, gut verarbeiteter und wohl orientierter Präparate nachgewiesen, sondern auch gezeigt zu haben, wie wenig die Zuverlässigkeit der Beobachtungen Blancs die Entschiedenheit seiner Behauptungen rechtfertigt.

Boehm hat das erste Auftreten einer Attraktionssphäre erst verhältnismässig spät, nämlich an Stadien von einer Stunde zehn Minuten beobachten können. Die Strahlung war bereits ziemlich stark, der Spermakern selbst zeigte Maulbeerform. Weiterhin sah er dann (3 Std. 30 Min.) an einem Spermakern zwei selbständige Strahlungen, deren Ursprung aus einer einzigen er für wahrscheinlich hält. An allen weiblichen Vorkernen hat er mit voller Bestimmtheit den Mangel jeder Andeutung einer Strahlung konstatieren können.

Boehm hat also, wenn seine Beobachtungen auch einige Lücken aufweisen und infolgedessen noch keinen vollständigen Nachweis der Abstammung der Attraktionssphäre zu geben vermögen, doch das Verdienst, bereits die Abstammung der beiden Centrosomen des befruchteten Eies vom Samenfaden mindestens sehr wahrscheinlich gemacht zu haben.

Es erscheint wohl jedem unbefangenen Beobachter um so unbegreiflicher, wie Blanc auf Grund seiner technisch entschieden inferioren Untersuchungsmethode die Zuverlässigkeit der Beobachtungen Boehms bezweifeln konnte, da Blanc seine Untersuchung vorwiegend an Keimen vorgenommen hat, die nach Ablösung vom Dotter in toto gefärbt und eingeschlossen waren, und nur nebenher zur Kontrolle die Schnittmethode angewandt hat. Es liegt wohl auf der Hand, dass bei unserem Objekt nur die Untersuchung von Serienschnitten zum Ziele führen

konnte. In wie wenig zuverlässiger Weise aber gerade diese Methode von *Blanc* angewandt sein muss, ergibt sich wohl am besten aus der Angabe dieses Forschers, dass er von der am Spermakopf auftretenden Strahlung auf Schnitten nichts habe wahrnehmen können!

Weitere Ausbildung der Vorkerne.

Wir hatten im vorigen Abschnitt verfolgt, wie die vom Centrosom des Spermakerns ausgehende, anfänglich sehr undeutliche und schwache Strahlung immer deutlicher und dicker wurde. Wir hatten dann weiter beobachtet, wie das vom Samenfaden ins Ei gebrachte Centrosoma sich innerhalb der Strahlung, deren Centrum es bildete, teilte, wie dann auch eine Teilung der ganzen Strahlung erfolgte, sodass nun zwei getrennte Strahlensysteme noch nahe benachbart den Spermakern begleiten.

Ebenso hatten wir weiterhin die Bildung des Eikerns verfolgt, an ihm den Mangel jeglicher Strahlung und Centrosomen nachgewiesen und gezeigt, wie derselbe in dem protoplasmatischen Maschenwerk der vom Centrosoma des Spermakerns ausgehenden, mächtigen Strahlung liegend sich völlig passiv verhält, sodass es den Eindruck macht, als ob er, zwar von den achromatischen Centralspindelfasern, die ihn mit dem zweiten Richtungskörper noch verbinden, festgehalten, doch bereits heftig vom Spermakern bzw. dessen Centrosoma angezogen würde.

Wir sahen dann endlich den Eikern von seinem Richtungskörper losgelöst ohne jede Spur einer Strahlung mitten im Keim in der Nähe des mit zwei selbständigen Strahlungen versehenen Spermakerns liegen.

Ich werde nun zunächst meine eigenen Beobachtungen über den weiteren Verlauf der Konjugationsvorgänge angeben,

denn sehr bald nach völliger Ausbildung der Vorkerne und Teilung der Strahlung legen sich die Kerne unmittelbar neben einander und leiten somit die Konjugationsvorgänge ein.

In Fig. 19 (4 Std. 5 Min.) sehen wir bereits die beiden Vorkerne in inniger Berührung miteinander. Eine Unterscheidung beider ist nicht mehr mit voller Sicherheit möglich; doch scheint der länglichere Kern wegen der innigeren Beziehungen zu den Centrosomen der Spermakern zu sein. Beide Kerne sind erheblich grösser als zur Zeit ihrer eben erfolgten Ausbildung. Ihre Struktur ist ungefähr die gleiche, nämlich ein feines Chromatinnetz. Die Centrosomen, von sehr dichten und deutlichen Strahlungen umgeben — Strahlungen, die man jetzt schon bei schwachen Vergrösserungen leicht erkennt, — liegen einander genau gegenüber. Diese Lage behalten sie von nun an dauernd bei. Sie sind im wesentlichen noch punktförmig und jedenfalls nicht erheblich grösser als in den früheren Stadien.

In dem folgenden Stadium (Fig. 20), welches ich hier abgebildet habe (5 Std. 15 Min. nach der Besamung bei ziemlich hoher Wassertemperatur), ist die Berührung der beiden Vorkerne eine noch innigere geworden. Der eine Kern — vielleicht der Spermakern; eine Unterscheidung beider Vorkerne ist jetzt so gut wie gar nicht mehr möglich — zeigt sich abgerundet und ist mit einer chromatischen Membran umgeben. Auch durch seine Struktur unterscheidet er sich von dem anderen Vorkern, da dieser aus einem viel feineren, chromatischen Netzwerk besteht. Der zweite Vorkern, vielleicht der Eikern, ist bedeutend grösser, etwas lappig, anscheinend mit chromatischer Membran. Er ist langgestreckt und umfasst so gewissermassen den Spermakern. Das Chromatinnetz des fraglichen Eikerns ist gröber und dunkler als das des männlichen Vorkerns. Die beiden Vorkerne sind jetzt ganz beträchtlich grösser als in den vorhergehenden Stadien und vielmals so gross als unmittelbar nach ihrer Bildung.

Die in dem zur Abbildung gebrachten Präparat dargestellten Verschiedenheiten in der Kernstruktur der Vorkerne dürfte jedoch nicht etwa für den einen oder den anderen charakteristisch sein. Wahrscheinlich handelt es sich nur um Altersdifferenzen, da ja gewöhnlich der eine oder andere der Kerne, meist wohl der Spermakern etwas in der Entwicklung voraus ist. Das hier beschriebene Verhalten war auch durchaus kein konstantes, im Gegenteil, es wechselte von Präparat zu Präparat selbst bei Keimen genau desselben Alters und desselben Tieres.

Zu beiden Seiten der Vorkerngruppe sehen wir je ein Centrosoma mit sehr deutlicher und überaus dichter Strahlung, die sich ähnlich verhält wie im Stadium der Fig. 19. Die Strahlungen selbst zeigen übrigens nach Annäherung der Vorkerne einen anderen Charakter als diejenigen der früheren Stadien. Während z. B. in Fig. 15 ein Strahlensystem mit langen, wellig verlaufenden Fasern sich in ein ebenfalls noch leicht strahlig angeordnetes Protoplasmanetzeswerk fortsetzt, haben wir im gegenwärtigen Stadium ganz dichte, relativ gerade Strahlensonnen mit weit längeren eigentlichen Strahlen, die sich aber weniger direkt, wenn auch trotzdem deutlich in das umliegende Protoplasma fortsetzen.

Ich wende mich nun zu der Besprechung der einschlägigen Beobachtungen von Boehm und Blanc.

Boehms Angaben stimmen in den wesentlichen Punkten mit meinen Beobachtungen völlig überein. Auch seine Abbildungen ähneln in hohem Massstabe den meinigen. Den Nachweis von Centrosomen im Centrum der Strahlungen konnte Boehm mit der von ihm angewandten Färbungsmethode nicht erbringen.

Blanc behauptet dagegen, dass auch den weiblichen Vorkern eine Sphäre bis zu seiner Vereinigung mit dem Spermakern begleite und alsdann mit der Sphäre des letzteren verschmelze.

Blancs Beobachtungen widersprechen also durchaus dem mit Leichtigkeit zu beobachtenden thatsächlichen Vorgang. Auch finden sich bei Blanc in Bezug auf das weitere Verhalten der am Eikern von ihm beobachteten Strahlung einige Widersprüche.

Während er nämlich, wie wir oben gesehen haben, im Stadium der zweiten Richtungsspindel zwischen der im Ei zurückgebliebenen Chromosomengruppe und dem in Abschnürung begriffenen Richtungskörper eine deutliche Sphäre in Gestalt eines hellen Hofes mit davon ausgehenden Strahlen gesehen haben will, fand er dann im Stadium von vier Stunden, als die Chromosomengruppe in Bildung zum Eikern begriffen und mit dem Richtungskörper noch durch achromatische Fäden verbunden war, dieselbe seitwärts vom Eikern. Es müsste demnach eine Drehung der Sphäre stattgefunden haben, was um so unwahrscheinlicher ist, als die letztere doch nur in der Gegend des ehemaligen Spindelpoles gelegen haben könnte, nicht zwischen den Spindelpolen. Auch hier macht sich wie überall in der Arbeit Blancs die völlige Mangelhaftigkeit seiner Methode wieder geltend.

Die Angaben Blancs über Gestalt und Struktur der Vorkerne weichen nicht wesentlich von meinen Beobachtungen ab. Blanc nimmt bei beiden Vorkernen eine Meritenstruktur an.

Boehm hat ausser den beiden Vorkernen noch eine Anzahl anderer Kerne oder kernähnlicher Gebilde beobachtet, die er mit dem Namen „Partialkerne“ bezeichnet. Dieselben sind stets kleiner als die Vorkerne. Man wird nach den Erfahrungen an anderen, namentlich anderen meroblastischen Wirbeltiereiern geneigt sein, wie das auch Boehm in Erwägung zieht, dieselben für Nebenspermakerne, d. h. umgewandelte überzählige Spermatozoen zu halten. Boehm glaubt das jedoch ausschliessen zu müssen und hält dieselben vielmehr für Abkömmlinge des

weiblichen Vorkerns, mit dem sie auch später wieder verschmelzen sollen, denn erstens konnte er die Umwandlung der Ovomeriten in, den Partialkernen gleichende Gebilde Schritt für Schritt verfolgen, und zweitens konnte er am Spermakern, der sich in einem Ruhezustande befand, während dieses Stadiums keinerlei Veränderungen bemerken.

Ich habe derartige Partialkerne nicht beobachten können¹⁾, möchte aber hier gleich die Frage der Polyspermie des Forelleneies berühren. Ich selbst habe kein einziges polyspermes Ei beobachtet, d. h. weder mehr als zwei Vorkerne gesehen noch auch mehrere ins Ei eingedrungene Spermaköpfe. Blanc hat zwar verschiedentlich Polyspermie beim Forellenei konstatiert, vermag aber über die weitere Entwicklung dieser Eier keine genauere Angaben zu machen, da er dieselbe nicht weiter verfolgt hat. Er hält die Polyspermie beim Forellenei für einen normalen, physiologischen Vorgang. — Im Gegensatz dazu habe ich die Auffassung, dass die Polyspermie des Forelleneies nicht häufig sein kann und als nichts weniger als physiologisch betrachtet werden darf²⁾.

Die Verschmelzung der Vorkerne zum Furchungskern und die Bildung der ersten Furchungsspindel.

Die Verschmelzung der beiden Vorkerne hat Boehm nicht mehr verfolgt. Das letzte Stadium, welches er beschreibt, zeigt

¹⁾ Ich glaube fast annehmen zu müssen, dass die Partialkerne Boehms gar keine Kerne sind, sondern vielleicht in Auflösung begriffene Dotterpartikelchen (s. oben S. 252), die sich auch lebhaft färben und oft seltsam aussehen.

²⁾ Übrigens teilt mir Herr Dr. Sobotta mit, dass er auch bei marinen Teleostiereiern keine Polyspermie gesehen hat, sodass die Angaben Blancs über Polyspermie bei der Forelle, die den meinigen direkt entgegengesetzt sind, wohl in Anbetracht der vielen Irrtümer dieses Autors bei der Beurteilung der Beobachtungen der Forellenbefruchtung mindestens mit Vorsicht aufgenommen werden müssen. Eine Polyspermie des Teleostiereies ist auch nach den von Sobotta erläuterten Grundsätzen durchaus unwahrscheinlich und jedenfalls nicht physiologisch.

uns die beiden Vorkerne in inniger Berührung, doch sind beide noch völlig von einander getrennt.

Blanc hat nun die Verschmelzung der beiden Vorkerne beobachtet und beschreibt sie in folgender Weise. Zuerst schwindet an den Berührungsflächen die Membran, sodass alsdann die beiden Kerne einen aus zwei halbmondförmigen, mit Netzstruktur versehenen Teilstücken bestehenden Kern bilden, der von einer dichten Strahlensonne umgeben wird; letztere ist aus der Verschmelzung der Sphäre des männlichen und weiblichen Vorkerns entstanden. Der aus der Konjugation von Spermakern und Eikern hervorgehende Furchungskern ist deutlich begrenzt; sein Inhalt zeigt ein aus Mikrosomen bestehendes Netzwerk. $9\frac{1}{2}$ Stunden nach der Besamung sollen die männlichen und weiblichen Bestandteile derart vermischt sein dass der Furchungskern einen völlig gleichmässigen Anblick gewährt. Zugleich soll die Strahlung fast völlig verschwunden sein. Der Verschmelzung der Kerne soll die Verschmelzung der (ungleich geschlechtlichen) Sphären vorhergehen.

Während Blanc die Konjugation der beiden Vorkerne sich stets in einer Meridionalebene senkrecht zur Keimoberfläche vollziehen lässt, beobachtete ich, dass die Lage der Vorkerne vor der Konjugation sehr wechselt. Dieselben bleiben mehrere Stunden dicht neben einander liegen, ehe die völlige Verschmelzung desselben vollzogen ist. Kupffer giebt an, dass er in der Zeit von der dritten bis zur zehnten Stunde in allen von ihm untersuchten Eiern nur einen Kern gefunden habe. Das ist wohl darauf zurückzuführen, dass die beiden ganz dicht aneinander gelagerten Kerne erst bei genauer Betrachtung auf dünnen Schnitten als zwei sich unterscheiden lassen.

Wenn ich nun auch die direkte Verschmelzung der beiden Vorkerne nicht habe verfolgen können, wie Blanc, so habe ich doch den Furchungskern selbst beobachtet, und da weichen

nun meine Beobachtungen von denjenigen Blancs wieder ganz erheblich ab.

Wie uns Fig. 21 zeigt, stellt der Furchungskern ein grosses, kugeliges Bläschen mit deutlicher Kernmembran dar, indem sich ausgeprägte Chromatinfäden in nicht genau analysierbarer¹⁾ Form finden. Von zwei diametral entgegengesetzten Punkten sehen wir starke, dichte Strahlungen laufen, die einerseits den Kern mit einem festen Gewirr umfassen, andererseits sich weit ins Protoplasma hinein erstrecken. Im Centrum jeder Strahlung befindet sich ein immer noch nicht viel mehr als punktförmiges Centrosoma. Der ganze Kern ist anscheinend von einem Strahlenmantel umgeben.

Leider habe ich nun die Vorgänge bei der Bildung der ersten Furchungsspindel aus dem Furchungskern nicht beobachten können; auch Blanc hat dies nicht weiter verfolgt. Jedoch habe ich die erste Furchungsspindel selbst an einer Reihe von Keimen der gewöhnlichen Forelle beobachtet. Leider waren die Schnitte nicht so gerichtet, dass die Spindelfigur genau längs getroffen wurde. Ich gebe daher in Fig. 22 ein aus vier Schnitten rekonstruiertes Bild einer etwas schräg, aber doch nahezu längs getroffenen ersten Furchungsspindel im Stadium der Äquatorialplatte.

In der Äquatorialplatte sehen wir 24 schleifenförmig gebogene, stark gefärbte, ziemlich lange und dicke Chromosomen von erheblicher Grösse. Die Spindel selbst wird von sehr deutlichen und fast messbar dicken achromatischen Fasern²⁾ gebildet, welche jedenfalls z. T. von Pol zu Pol laufen und somit eine Centralspindel darstellen. Daneben bestehen aber auch zahlreiche an die Chromosomen inserierende Zugfasern. An den

1) Es war nicht zu unterscheiden, ob es sich um einen langen oder mehrere getrennte Fäden handelte.

2) Dies trat sehr deutlich dann hervor, wenn die Spindelfigur quer durchschnitten wurde.

Polen der riesigen Spindel bemerken wir je ein auffallend grosses, schwach gefärbtes, fein granuliertes, kugelförmiges Centrosoma als Mittelpunkt einer Polstrahlung. Die Polstrahlen zeigten ziemlich geraden Verlauf und enden im umgebenden Protoplasma, ohne dass eine übermässig deutliche Einwirkung auf dessen Gefüge zu erkennen war. Die Centrosomen waren durchweg homogen und enthielten keinerlei stärker färbbares Centralkorn. In der Strahlensonne selbst fanden sich dagegen zahlreiche, ziemlich intensiv färbbare, punktförmige Gebilde, insbesondere in der Nähe des Centrosomas zwischen den Strahlen, über deren Bedeutung ich nähere Angaben nicht machen kann, die ich jedoch in den betreffenden Stadien an allen Präparaten konstant vorfand und die auch nach starker Extraktion den Farbstoff festhielten.

Recht auffällig erscheint die beträchtliche Grösse der Centrosomen, doch haben bereits zahlreiche andere Untersuchungen ergeben, dass die Centrosomen der Furchungsspindeln durchaus nicht immer punktförmig sind, sondern sehr häufig stärkere Grösse besitzen, was wohl bei der Forelle ähnlich wie beim Amphioxusei wegen der Anwesenheit zahlreicher Strahlen, die an einem einzigen punktförmigen Centrosoma kaum Platz zur Insertion finden würden, sich erklärt.

Bemerkenswert ist es, dass die Centrosomen während der früheren Befruchtungsstadien sehr lange Punktform behalten und auch am ausgebildeten Furchungskern kaum ein Zeichen von Vergrösserung aufweisen. Hier haben wir analoge Vorgänge bei der Befruchtung des Amphioxuseies. Auch zur Zeit, wo sich der Furchungskern noch im vollen Ruhestadium befindet, sind die Centrosomen sehr klein, und erst wenn die Umbildung des Kerns zur ersten Furchungsspindel beginnt, fängt auch das Wachstum der Centrosomen¹⁾ an. Die letzteren Stadien habe ich bei der Forelle leider nicht beobachtet.

1) Sobotta, l. c.

Aus demselben Grunde kann ich auch keine Angaben über die Entstehung der achromatischen Spindelfigur machen. Ich möchte aber nur eins erwähnen, dass die Centralspindel unmöglich durch die Teilung des Centrosoma entstehen kann, da dieselbe zu einer Zeit erfolgt, wo von Spindelbildung noch keine Rede ist. Die Teilstücke rücken dabei auch mit getrennten Strahlungen weit auseinander, sodass die äussersten Enden dieser sich kaum berühren. Erst wenn die Verschmelzung der Vorkerne beginnt, laufen dichtere Strahlenzüge um die eng genäherten Vorkerne von den Centrosomen aus und liefern so die Anlage der achromatischen Spindelfigur. Die Centralspindel entsteht also bei der Forelle (ebenso wie auch beim *Amphioxus*) aus zwei getrennten von den Centrosomen ausgehenden Strahlenkegeln, welche in der Mitte verschmelzen, also nach dem von Drüner beschriebenen Modus.

Wenn wir die erste Furchungsspindel mit den Richtungsspindeln vergleichen, so fällt uns natürlich vor allem der gewaltige Grössenunterschied auf (Vergl Fig. 8 und 9 mit Fig. 22). Während die Richtungsspindeln wegen ihrer geringen Grösse oft auch bei stärkeren Vergrösserungen nicht sofort aufzufinden sind, kann man selbst bei sehr schwacher Vergrösserung die viele Male grössere erste Furchungsspindel mit ihren riesigen Strahlungen ohne weiteres erkennen. Weiterhin fällt dann das Vorhandensein der beiden grossen Centrosomen mit ihren Strahlensonnen bei der ersten Furchungsspindel ins Auge, während wir bei den Richtungsspindeln das Fehlen jeder Spur eines Centrosomas oder einer Polstrahlung konstatierten.

Die achromatische Spindelfigur der ersten Furchungsspindel ist nicht nur erheblich grösser als die der Richtungsspindel, sondern auch die Zahl der Fasern ist eine bedeutend stärkere. Zugleich sind auch die einzelnen Fasern, insbesondere die Centralspindelfasern der Furchungsspindel viel stärker als die der Richtungsspindel.

Bei der letzteren konnte im wesentlichen nur eine bauschige Centralspindel nachgewiesen werden und daneben die oben mehrfach erwähnten Seitenstrahlen. Letztere fehlen der Furchungsspindel, die dagegen typische Zugfasern besitzt.

Weiterhin finden wir bezüglich der Chromosomen grosse Unterschiede zwischen der ersten Furchungsspindel und den Richtungsspindeln. Während wir bei der ersten Richtungsspindel die Chromosomen noch in Gestalt von 12 länglichen, leicht gekrümmten Stäbchen fanden, zeigen diejenigen der zweiten bereits die Form von kleinen Schleifen oder wenigstens gekrümmten Stäbchen. Bei der ersten Furchungsspindel finden wir natürlich in der Äquatorialplatte die doppelte Anzahl von Chromosomen als in dem entsprechenden Stadium der Richtungsspindeln, nämlich 24 recht lange, dicke, stark gekrümmte, häufig etwas eingebogene Schleifen. Sie sind nicht bloss mehrfach, sondern vielfach so gross als die Chromosomen der Richtungsspindeln.

Ähnliche Verschiedenheiten zwischen der ersten Furchungsspindel und den Richtungsspindeln finden sich bekanntlich bei vielen Eiern, doch sind beim Forellenei wohl in mancher Beziehung extrem starke Unterschiede zu bemerken.

Die Längsteilung der Chromosomen der ersten Furchungsspindel habe ich nicht beobachtet. Dagegen kann ich noch einzelne Angaben über ein weiteres Stadium der ersten Furchungsspindel machen, nämlich über das Dispirem-Stadium.

Fig. 23 stellt uns einen Querschnitt durch die eine Tochterplatte derselben dar. Die Chromosomen haben sich zu Ringen zusammengelegt, eine Erscheinung, die auch bei einigen anderen Wirbeltieren bereits beobachtet worden ist; auch bei Wirbellosen ist ähnliches gefunden, jedoch scheint es sich hier um Bläschen, nicht um Ringe zu handeln. Die erste derartige Beobachtung stammt wohl von Bellonci¹⁾, vom Ei des Axolotl (spätere Furchungsspindeln).

¹⁾ Bellonci, G., *Intorno alla cariocinesi nella segmentazione dell' ovo di Axolotl*. Reale Acad. dei Lincei. Roma 1883/84.

Mit dem soeben beschriebenen Stadium schliessen meine Beobachtungen ab. Die eigentlichen Befruchtungserscheinungen sind ja schon mit der Bildung des Furchungskerns als beendet anzusehen. Indessen war es zweckmässig, auch die erste Furchungsspindel zur Betrachtung heranzuziehen, nicht bloss wegen der Feststellung der Normalzahl der Chromosomen des Forelleneies, sondern auch wegen der übrigen Vergleiche mit den Richtungsspindeln.

Was den ersteren Punkt betrifft, so kann die Normalzahl der Chromosomen bei der Forelle mit fast absoluter Sicherheit auf 24 angegeben werden, eine bekanntlich sehr beliebte Zahl, die auch bei den Säugetieren und vielleicht auch dem Menschen sich findet.

Schlussbetrachtung.

Im vorhergehenden glaube ich zur Genüge gezeigt zu haben, dass die Vorgänge bei der Reifung und Befruchtung des Forelleneies im wesentlichen der allgemein giltigen Auffassung dieser Vorgänge entsprechen. Ich hoffe den sicheren Nachweis erbracht zu haben, dass die Ausnahmestellung, welche Blanc für das Forellenei in Bezug auf Reifung und Befruchtung behauptet, auf irrigen Beobachtungen beruht und daher keinen Anspruch auf Gültigkeit besitzt. Es ist unbegreiflich, wie der genannte Forscher auf Grund seiner mit einer unzulänglichen Methode unternommenen Untersuchung die Zuverlässigkeit der recht sorgfältigen Beobachtungen Boehms anzweifeln konnte. Letztere kann ich voll und ganz bestätigen.

Während bereits zahllose Arbeiten für die fast schon zur Gewissheit erhobene Hypothese Boveris sprachen, dass bei der Befruchtung aller Eier nur das Centrosoma des Spermakerns in Thätigkeit tritt, war Blanc einer der wenigen, die die Boverische Entdeckung als irrig angriffen. Blanc hat aber durch seine Untersuchung der Forellenbefruchtung die Angaben

Boehms, die in allen wesentlichen Punkten die Boverische Theorie stützen, nicht widerlegt, wie ich oben gezeigt habe, sondern die Befruchtungserscheinungen dieses Eies verlaufen völlig nach den zuerst von Boveri genau formulierten Grundsätzen, an deren Gültigkeit die Untersuchung Blancs am wenigsten etwas ändern kann.

Die Centrosomen der ersten Furchungsspindel leitet Blanc aus der Teilung eines einfachen Centrosoma her, welches vor der Verschmelzung der Vorkerne aus der Vereinigung des männlichen und angeblich beobachteten weiblichen Centrosoma hervorgegangen sein soll.

Diese Angaben Blancs sind sicherlich irrtümlich. Wie ich oben gezeigt, konnte ich im Forellenei stets nur zwei männliche Centrosomen und kein weibliches finden und eine (Wieder-Vereinigung dieser Centrosomen findet überhaupt nicht statt, ist auch a priori höchst unwahrscheinlich¹⁾. Das Verhalten der Centrosomen im Forellenei ist vielmehr genau dasselbe wie auch bei anderen Eiern, die einen Furchungskern bilden, z. B. Seeigel und Amphioxus. Die Angaben Blancs waren daher auch anderen Autoren von Anfang an mehr als zweifelhaft. Wer aber am Forellenei die gerade an diesem Objekt so überaus klaren Verhältnisse selbst untersucht, der begreift überhaupt nicht, wie ein Forscher bei sorgfältiger und planmässiger Untersuchung zu derartigen Fehlschlüssen gelangen konnte.

Hoffentlich dient diese Veröffentlichung dazu, das Verhalten der Centrosomen bei der Befruchtung des Forelleneies endlich definitiv aufzuklären.

¹⁾ Existirte wirklich irgendwo ein weibliches Centrosoma im Ei, dann kann doch nur die Centrenquadrille Fols oder eine ähnliche Erscheinung statthaben.

Zusammenfassung.

1. Das unbefruchtete, aber befruchtungsfähige Forellenei enthält eine Richtungsspindel innerhalb eines noch sehr flachen, aber sehr ausgedehnten und diffusen Keims, der ohne Grenze in das übrige Protoplasma des Eies übergeht. Die Richtungsspindel hat weder Centrosomen noch Polstrahlung und zeigt 12 stäbchenförmige Chromosomen.

2. In die Keime eingedrungene Samenfäden wurden stets nur in Einzahl gefunden. Polyspermie konnte nicht beobachtet werden. Zur Zeit, wo die Samenfäden eindringen, enthält der Keim wahrscheinlich immer bereits die zweite Richtungsspindel.

3. Während das befruchtungsfähige Ei der Forelle schon zur Zeit der Bildung der Richtungskörper kein Centrosoma mehr enthält, bringt der Samenfaden ein solches in das Ei hinein. Dasselbe entwickelt sehr bald nach seinem Eintritt eine anfangs nur kurze Strahlung. Durch eine deutliche Drehung des Samenfadens kommt das anfangs hinter diesem gelegene Centrosoma vor denselben zu liegen.

4. Die Bildung des Eikerns geht erst nach dem Eindringen des Samenfadens vor sich und erfolgt aus der central gelegenen Chromosomengruppe der zweiten Richtungsspindel unter gleichzeitiger Ausstossung des zweiten Richtungskörpers. Der junge Eikern entbehrt natürlich (ebenso wie die Richtungsspindeln) eines Centrosomas oder einer Strahlung und liegt in völlig indifferentem Protoplasma. Die Richtungskörper sind echte Zellen, bilden aber aus ihren Chromosomen anscheinend keinen ruhenden Kern. Sie sind während der Befruchtung auf der Oberfläche des Keims leicht zu beobachten.

5. Wenn der Kopf des eingedrungenen Samenfadens sich zum Spermakern umwandelt, teilt sich sein anfangs einfaches Centrosoma unter gleichzeitiger Ausdehnung der Strahlung. Der

Teilung des Centrosomas folgt bald die Teilung der Strahlung, sodass der männliche Vorkern unmittelbar nach seiner völligen Ausbildung stets von einer doppelten, jetzt sehr dichten Strahlensonne begleitet wird, während dem Eikern diese Attribute fehlen. Der ganze Keim verdickt sich dabei allmählich immer stärker unter gleichzeitiger Abnahme seiner Flächenausdehnung. Ausserdem tritt eine Trennungslinie auf, welche zunächst an der Unterseite des Keims diesen von dem übrigen Protoplasma sondert.

6. Weiblicher und männlicher Vorkern wachsen unter mannigfachen, häufig wechselnden und vielfach unregelmässigen Gestalt- und Strukturveränderungen zur mehrfachen Grösse ihrer ursprünglichen Ausdehnung heran. Sehr bald nach ihrer Ausbildung legen sie sich dicht nebeneinander und sind dann nur noch in seltenen Fällen voneinander zu unterscheiden. In dieser Lage verharren sie sehr lange.

7. Die Vorkerne des Forelleneies verschmelzen anscheinend immer vor der Bildung der ersten Furchungsspindel zu einem ruhenden Kern, dem ersten Furchungskern. Derselbe ist grösser als jeder der Vorkerne auf dem Höhestadium ihrer Ausbildung. Die zu jeder Seite des Furchungskernes gelegenen Centrosomen sind die direkten Abkömmlinge des vom Spermatozoon ins Ei gebrachten Centrosoms. Sie liegen meist in einer der Keimoberfläche parallelen Ebene. Der Keim hat um diese Zeit eine beträchtliche Dicke erreicht.

8. Aus dem Furchungskern geht die erste Furchungsspindel hervor, die vielmal so gross ist als die Richtungsspindeln und 24 ziemlich lange schleifenförmige Chromosomen führt. Ihre Centrosomen sind nicht punktförmig, sondern grosse Kugeln. Sie stammen beide von dem Centrosoma des Spermatozoons. Im Dispiremstadium bilden sich die Chromosomen zu Ringen um.

9. Die Dauer der Befruchtungsphänomene ist sehr abhängig von der Temperatur des Wassers und dürfte durch extrem

kaltes Wasser bis auf das Doppelte der Zeit verlangsamt werden können, die bei einer nur mittleren Wassertemperatur von 15° erforderlich ist.

Zum Schlusse gestatte ich mir noch, Sr. Excellenz Herrn Geheimen Rat Professor Dr. von Kolliker für die gütige Überlassung eines Arbeitsplatzes im Laboratorium des Instituts für vergleichende Anatomie, Mikroskopie und Embryologie meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen.

Nachtrag.

Nach Abschluss des Manuskriptes bemerke ich, dass auch Hennegny (*Recherches sur le développement des poissons osseux. Journal de l'anatomie et de la physiologie. Année XXIV. 1888*) bereits die während der Befruchtung entstehende Trennungslinie des Keimes vom daruntergelegenen Protoplasma während der früheren Furchung beobachtet, abgebildet (Fig. 60 : Zweiteilung) und richtig gedeutet hat.

Erklärung der Abbildungen.

Alle Figuren sind so orientiert, dass die Keimoberfläche — auch da wo sie der Raumperspektive wegen nicht mit gezeichnet werden konnte — nach dem oberen Ende der Tafel gelegen ist.

Sämtliche Zeichnungen wurden mit dem Zeichenapparat nach Abbe möglichst genau nach den Präparaten gezeichnet. Die stärkeren Vergrößerungen (500—1000) wurden mit Hilfe eines Apochromaten Zeiss homogene Immersion 3 mm, 1,30 Apertur hergestellt; Feinheiten einzelner Figuren mit Hilfe eines Apochromaten 2 mm 1,40 eingezeichnet, beziehungsweise kontrolliert. Einige Abbildungen wurden aus mehreren Schnitten so sorgfältig als möglich kombiniert.

Für alle Figuren gültige Bezeichnungen.

c = Centrosoma.	ok = Ölkugel.
dk = Dotterkugel.	plh = Protoplasmahäutchen.
ek = Eikern.	1 Rk. = erster Richtungskörper.
f = erste Furche.	2 Rk. = zweiter Richtungskörper.
k = Keim.	sp. = Spermatozoon.

tl = Trennungslinie.

Fig. 1. Senkrechter Durchschnitt des Keims eines Forelleneies 20 Min. nach der Besamung nebst einem Teile des die Dotterkugel umgebenden Protoplasmahäutchens. Vergr. 50.

Fig. 2. Dasselbe 1 Std. 45 Min. n. d. B. Vergr. 50.

Fig. 3. Dasselbe 3 Std. 20 Min. „ „ „ „ „

Fig. 4. Dasselbe 4 Std. 5 Min. „ „ „ „ „

Fig. 5. Dasselbe 5 Std. 45 Min. „ „ „ „ „

Fig. 6. Dasselbe 7 Std. 15 Min. „ „ „ „ „

Fig. 7. Senkrechter Durchschnitt des Forellenkeims während des Auftretens der ersten Furche. Vergr. 50.

Die dunklen Flecke in den Abbildungen der Fig. 1—7 sind die Kerne bzw. Centrosomen und deuten also die Lage derselben im Keim während der betreffenden Befruchtungsperiode an.

Fig. 8. Senkrechter Durchschnitt durch einen befruchtungsfähigen Forellenkeim vor der Besamung mit der ersten Richtungsspindel. Vergr. 1000.

Fig. 9. Oberer Teil eines senkrechten Durchschnitts eines Forellenkeims 20 Min. nach d. B. Zweite Richtungsspindel. Vergr. 1000.

Fig. 10. Dasselbe von der Regenbogenforelle 55 Min. n. d. B. Zweite Richtungsspindel im Stadium der Metakinese. Eindringener Samenfadenskopf mit Centrosoma und Strahlung. Vergr. 1000.

Fig. 11. Dasselbe von der Forelle 40 Min. n. d. B. Richtungsspindel in Diasterphase. Eingedrungener Samenfaden wie in Fig. 10 Vergr. 1000.

Fig. 12. Dasselbe wie in Fig. 11. Besonders deutliche Seitenstrahlen an der Richtungsspindel. Vergr. 1000.

Fig. 13. Dasselbe Stadium wie 11 und 12. Samenfadenskopf gedreht. Vergr. 1000.

Fig. 14. Oberer Teil eines senkrechten Durchschnittes eines Forellenkeims 1 Std. 45 Min. n. d. B. Abschnürung des zweiten Richtungskörpers. Vergr. 1000.

Fig. 15. Dasselbe 2 Std. 40 Min. n. d. B. von der Regenbogenforelle. Zweiter Richtungskörper abgestossen. Spermakern in Bildung Vergr. 1000.

Fig. 16. Die beiden Richtungskörper des Forelleneies einige Zeit nach ihrer Bildung. 3 Std. 10 Min. n. d. B. Vergr. 1000.

Fig. 17. Teil eines senkrechten Durchschnittes eines Regenbogenforellenkeims 2 Std. 40 Min. n. d. B. Centrosoma des Spermakerns geteilt. Vergr. 1000.

Fig. 18. Teil eines senkrechten Durchschnittes eines Forellenkeims 3 Std. 20 Min. n. d. B. Spermakern mit 2 Centrosomen und Strahlung. Eikern. Vergr. 500.

Fig. 19. Dasselbe 4 Std. 5 Min. n. d. B. Spermakern und Eikern nicht mehr mit voller Sicherheit von einander zu unterscheiden. Vergr. 500.

Fig. 20. Dasselbe. 5 Std. 15 Min. n. d. B. Vorkerne in naher Berührung. Vergr. 750.

Fig. 21. Dasselbe von der Regenbogenforelle. 7 Std. Furchungskern. Vergr. 1000.

Fig. 22. Dasselbe von der Forelle. 7 Std. 15 Min. Erste Furchungsspindel. Vergr. 1000.

Fig. 23. Dasselbe von der Forelle. 7 Std. 15 Min. Querschnitt einer Tochterplatte der ersten Furchungsspindel in Dispiremphase. Vergr. 1000.