(Aus der kgl. ungar. tierphysiol. Versuchsstation in Budapest.
Vorstand: Univ.-Prof. Franz Tangl.)

Beiträge zur Energetik der Ontogenese.

Vierte Mitteilung.

Über den Stoff- und Energieumsatz im bebrüteten Forellenei.

Von

Franz Tangl und **Koloman Farkas**.

Unsere Versuche, über welche wir im Folgenden berichten, bilden die Fortsetzung der Studien über die Entwicklungsarbeit bei verschiedenen Organismen¹⁾, d. i. die Menge der chemischen Energie, welche während der Entwicklung des Organismus in andere Energiearten umgewandelt wird. Das Forellenei bot um so mehr Interesse, als die Entwicklung des Embryo in demselben unter ganz anderen Bedingungen erfolgt als in den von uns bisher untersuchten Eiern (Vogelei, Seidenspinnerei). Das befruchtete Ei befindet sich im Wasser; die Entwicklung des Embryo erfolgt bei sehr niedriger Temperatur.

Die Untersuchungen wurden durch das freundliche Entgegenkommen des königl. ung. Fischereiinspectors, des Herrn J. Landgraf ermöglicht, durch dessen Intervention wir 20 000 Stück Forelleneier, sofort nach ihrer Befruchtung, zugeschiekt erhalten haben. Die erste Sendung (10 000 Stück) erhielten wir am 2. Januar, die zweite und dritte am 17. bzw. 31. Januar.

Von jeder Sendung wurde ein Teil zur Bestimmung des Gewichtes und der chemischen Zusammensetzung der (unbebrüteten)

1) F. Tangl, Die Entwicklungsarbeit im Vogelei. Dieses Archiv Bd. 93 S. 327. 1903. — F. Tangl, Über den Verbrauch an chemischer Energie während der Entwicklung von Bakterienkulturen. Dieses Archiv Bd. 98 S. 475. 1903. — K. Farkas, Über den Energieumsatz des Seidenspinners während der Entwicklung im Ei und während der Metamorphose. Dieses Archiv Bd. 98 S. 490. 1903.

Eier verwendet; die übrigen Eier wurden bebrütet. Das geschah nicht immer in der üblichen Weise. Im ersten Versuche wollten wir die Eier nicht in Wasser, sondern, wie es auch Forellenzüchter schon mit Erfolg versuchten, in feuchter Luft zur Entwicklung bringen. Zu diesem Zwecke legten wir die Eier auf in kleine Holzrähmchen ausgespannten Tüll unter eine mit Wasser gekühlte Glasglocke. Durch die Glasglocke liessen wir mit Wasserdampf gesättigte Luft streichen, die dann, nach Passieren der Glasglocke, durch mit KOH-Lösung beschickte Gefässe geleitet wurde. Auf diese Weise wollten wir die CO₂-Production bestimmen. Das gelang aber nur sieben Tage hindurch, worauf eine rasch um sich greifende Verschimmelung den grössten Teil der Eier vernichtete. Das bewog uns, den Rest der unversehrten Eier (etwa 2000 Stück), auf Aluminiumsieben ausgebreitet, in fliessendem Wasserleitungswasser (Donauwasser), dessen Temperatur zwischen 8—11 ° C. gehalten wurde, weiter auszubrüten. Das Umliegen in das Wasser geschah am 12. Januar. Auch so gingen noch Eier zu Grunde, was übrigens mehr oder weniger bei jedem Bebrüten der Fall ist. Die abgestorbenen Eier, die an ihrer weissen Farbe und Undurchsichtigkeit leicht erkenntlich sind, wurden sorgfältig jeden zweiten bis dritten Tag entfernt. (Besonders, wenn die Temperatur schnell sank, z. B. von 10 ° auf 8 °, haben wir ein zahlreicheres Absterben beobachtet.) Die ersten Augenpunkte sahen wir am 30. Januar; von da an starben auch relativ viel weniger Eier ab. Der erste Embryo schlüpfte am 10. Februar aus. Am 11. Februar Abends suchten wir alle Eier, die einen zum Ausschlüpfen reifen Embryo enthielten, heraus. Solche Eier fallen durch ihre blassrötliche Farbe und ihren lebhaft beweglichen Embryo auf; die grösseren Blutgefässe schimmern deutlich durch. Im Ganzen waren es 367 Stück; dazu kamen noch 151 Stück, welche wir am 12. Februar Nachmittag herausnahmen, so dass wir zusammen 518 Stück Eier mit zum Ausschlüpfen reifen Embryonen hatten. Diese Eier wurden genau so wie die unbebrüteten verarbeitet.

Die Brutversuche mit der zweiten und dritten Eiersendung schlugen fehl; die Eier gingen alle aus unbekannten Gründen noch vor dem Ausschlüpfen der Embryonen zu Grunde. Einen Teil dieser Eier haben wir nicht in fliessendem Wasser bebrütet, sondern in Glasgefässen belassen, in welchen wir das Wasser nur alle acht Tage erneuert haben. Mit diesen Versuchen wollten wir feststellen, ob während der Entwicklung des Embryo aus den Eiern organische

Substanzen, also solche hindusdiffundieren, welche chemische Energie enthalten. Die Entscheidung dieser Frage war unerlässlich; denn die Differenz im Gehalte an chemischer Energie zwischen unbebrüteten und bebrüteten Eiern entspricht nur dann der Menge der verbrauchten, richtiger gesagt: umgewandelten, chemischen Energie — also der Entwicklungsarbeit —, wenn während der Entwicklung des Embryo keine chemische Energie — eben durch Diffusion organischer Stoffe — verloren geht. Diese Frage trachteten wir so zu entscheiden, dass wir das (stehende) Wasser, in welchen die Eier je acht Tage hindurch lagen, sorgfältig abliessen und bis zur Trockne eindampften und den Rückstand auf organische Substanz prüften. Minimale, nicht wägbare Mengen organischer Substanzen fanden wir nur dann, wenn eine grössere Anzahl abgestorbener Eier im Wasser war. Also nur dann, wenn der Embryo im Ei abstirbt, verändert sich die Permeabilität der Eischale so, dass organische Substanzen hindurchgehen können, was, solange der Embryo lebt, wenigstens in nachweisbarer Menge nicht geschieht. Die organischen Stoffwechselproducte, die sich während der Entwicklung des Embryo bilden, bleiben also bis zum Ausschlüpfen des letzteren im Ei.

Auf Grund dieser Versuche halten wir uns zur Annahme berechtigt, dass während der Entwicklung des Embryo im Forellenei chemische Energie als solche aus dem Ei nicht entweicht, wenigstens nicht in nachweisbarer Menge. Gasförmige organische Stoffwechselproducte dürften sich im Forellenei ebenso wenig bilden wie in anderen tierischen Zellen. Wenn also im Forellenei während der Entwicklung des Embryo die Menge der chemischen Energie abnimmt, so kann das nur die Folge der Umwandlung in andere Energiearten sein, die dann schliesslich, in Wärme umgewandelt, das Ei verlassen.

Nach dem oben Mitgeteilten gelang es uns, in unserem ersten Versuche 518 Forelleneier bis zum Ausschlüpfen des Embryo zu bebrüten. Die Bebrütung dauerte 42 Tage. Durch die chemische und calorimetrische Untersuchung der bebrüteten und unbebrüteten Eier wollten wir einen Einblick in den Stoffwechsel während der Embryogenese gewinnen und andererseits die Grösse der Entwicklungsarbeit messen. Bestimmt haben wir Gewicht, Trockensubstanz-, Fett-, N- und C-Gehalt und die Verbrennungswärme mit derselben Methodik, die wir in unseren früheren Mitteilungen beschrieben haben. Es soll dementsprechend bloss ganz kurz erwähnt sein, dass der N nach

Kjeldahl, dass Fett sowohl nach der Liebermann'schen Verseifungsmethode als auch mittels Extraction mit Äther im Soxhlet'schen Apparate und der C-Gehalt im Anschluss an die calorimetrische Verbrennung mit der Berthelot'schen Bombe, so, wie es einer von uns (Farkas) beschrieb¹⁾, bestimmt wurde.

Jede Analyse und jede calorimetrische Verbrennung wurde mindestens doppelt ausgeführt. Zu den einzelnen Bestimmungen wurde die durch Trocknen im Vacuum bei 60—65° aus den frischen Eiern gewonnene und pulverisierte Substanz verwendet, die nach dem Trocknen ein bis zwei Tage im Zimmer gehalten wurde („lufttrockene Substanz“). Der Trockensubstanzgehalt dieses Pulvers wurde auch durch weiteres Trocknen im Vacuum festgestellt.

Unbebrütete Eier.

(Erste Sendung vom 2. Januar.)

Zur Analyse (und calorimetrischen Bestimmung) wurden verwendet 1186 Stück:

1186 Eier wiegen frisch	104,64 g
1186 „ „ „lufttrocken“	37,54 „
Durchschnittliches Gewicht eines (frischen) Eies	0,0882 g.

Die Eier enthalten:

Wasser	66,12 %
Trockensubstanz	33,88 %
Fett	$\left\{ \begin{array}{l} 7,25 \% \text{ (nach der Liebermann'schen Verseifungsmethode)}^2) \\ 3,20 \% \text{ (Ätherextract)}^3) \end{array} \right.$
N	4,07 %
C	18,97 %

1) K. Farkas, l. c. S. 496 u. 497.

2) Von der zur Analyse verwendeten „lufttrockenen Substanz“ (Trockensubstanzgehalt 94,44 %) wurden zur Bestimmung a) 1,5351 g, b) 1,5436 g abgewogen; a) gab 19,94 %, b) 20,47 %, im Mittel beider Analysen 20,21 % Fett.

3) Zur Extraction von der „lufttrockenen Substanz“ (s. Anmerkung 2) abgewogen: a) 4,0267 g, b) 4,3122 g. Aus a) 9,03 %, aus b) 8,80 % Fett gewonnen; Mittel: 8,915 %.

Diese analytischen Belege haben wir deshalb angeführt, um dem möglichen Einwande zu begegnen, dass die grosse Differenz zwischen den Resultaten der zweierlei Bestimmungsmethoden auf Analysenfehler zurückzuführen sei.

Specificher Energiegehalt (Verbrennungswärme von 1 g):

Frisches Ei . . . 2185 cal.

Eitrockensubstanz 6453 „

(C-Gehalt der Trockensubstanz: 55,995 %).

Wir wollen hier gleich die Zusammensetzung der unbebrüteten Eier der zweiten und dritten Sendung angeben, weil daraus die ausserordentlich gleichmässige Zusammensetzung der Forelleneier ersichtlich ist. Dieser überzeugende Beweis der Homogenität des Materials ist um so wertvoller, als er eine kräftige Stütze für unsere Annahme ist, dass die bebrüteten Eier vor der Bebrütung dieselbe Zusammensetzung hatten wie die unbebrüteten, so dass die tatsächlich beobachteten Unterschiede auf Veränderungen während der Embryogenese zurückgeführt werden müssen.

Unbebrütete Eier.

a) Zweite Sendung vom 17. Januar.

Zur Analyse genommen 874 Eier = 77,68 g.

Gewicht eines Eies: 0,0889 g.

Die Eier enthalten:

Wasser 66,67 %

Trockensubstanz 33,33 %

Fett 6,73 % (nach Liebermann's Verseifungsmethode)

N 4,01 %

C 18,59 %.

Specificher Energiegehalt des frischen Eies: 2155 cal.

b) Dritte Sendung vom 31. Januar.

Zur Analyse genommen 834 Eier = 71,99 g.

Gewicht eines Eies: 0,0863 g.

Die Eier enthalten:

Wasser 66,08 %

Trockensubstanz . 33,92 %

Fett 7,58 % (nach Liebermann's Verseifungsmethode)

N 4,10 %

C 18,94 %

Specificher Energiegehalt des frischen Eies: 2140 cal.

Dem gegenüber hatten die 42 Tage lang bebrüteten Eier die folgende Zusammensetzung:

Bebrütete Eier.

518 Eier wiegen 43,16 g („lufttrocken“: 16,508 g).

Gewicht eines Eies: 0,0833 g.

Die Eier enthalten:

Wasser	65,06 %
Trockensubstanz	34,94 %
Fett	$\left\{ \begin{array}{l} 7,98 \% \text{ (nach Liebermann's Verseifungs-} \\ \text{methode)}^1) \\ 4,24 \% \text{ (Ätherextract)}^2) \end{array} \right.$
N	4,28 %
C	19,66 %.

Spezifischer Energiegehalt des frischen Eies: 2233 cal.

„ „ der Trockensubstanz: 6392 „

(Die Trockensubstanz enthält 56,26 % C.)

Aus der Zusammensetzung der unbebrüteten Eier lässt sich der Wasser-, Trockensubstanz-, Fett-, N-, C- und Energiegehalt der 518 bebrüteten Eier am Beginn und ebenso aus der Zusammensetzung der bebrüteten am Ende der Bebrütung berechnen, woraus sich dann die Veränderungen während der Bebrütung ergeben.

Demnach enthielten:

518 Eier

	vor der Bebrütung	nach der Bebrütung	Veränderung
Gewicht	45,70 g	43,16 g	— 2,54 g
Wasser	30,21 „	28,08 „	— 2,13 „
Trockensubstanz	15,49 „	15,08 „	— 0,41 „
Fett $\left\{ \begin{array}{l} \text{nach Liebermann's} \\ \text{Verseifungsmethode} \end{array} \right.$	3,31 „	3,44 „	+ 0,13 „
Ätherextract	1,46 „	1,84 „	+ 0,38 „
N	1,86 „	1,85 „	— 0,01 „
C	8,67 „	8,48 „	— 0,19 „
Energie	99,85 kg-Cal	96,39 kg-Cal	— 3,46 kg-Cal

1) Von der zur Analyse verwendeten „lufttrockenen“ Substanz (Trockensubstanzgehalt 91,36 %) wurden abgewogen: a) 1,5138 g, b) 1,5857 g; a) gab 21,02 %, b) 20,72 %, im Mittel 20,87 % Fett.

2) Zur Extraction „lufttrockene“ Substanz abgewogen: a) 3,642 g, b) 3,860 g; a) gab 11,38 %, b) gab 10,98 % Fett; im Mittel 11,18 %.

Rechnet man die Differenz zwischen bebrüteten und unbebrüteten Eiern auf ein Ei um, so erfährt man den Stoff- und Energieumsatz bzw. -Verbrauch, den die Entwicklung eines Forellenembryos bis zum Ausschlüpfen aus dem Ei erfordert.

Während dieser Entwicklungsperiode eines Forellenembryos werden verbraucht an:

Substanz . . .	4,9	mg, davon:
Wasser . . .	4,11	"
Trockensubstanz	0,792	"
C	0,367	"
Chem. Energie.	6,68	g-cal.

Dagegen geht weder N noch Fett verloren. Die Differenz im N-Gehalt der unbebrüteten und bebrüteten Eier ist so gering, dass sie innerhalb der Fehlergrenzen der Analysen liegt. Der Gehalt an Fett hat nicht nur nicht abgenommen, sondern im Gegenteil sogar zugenommen, so dass auf eine Bildung von fettartigen Substanzen während der Bebrütung gefolgert werden muss. Nach den Daten der Verseifungsmethode bildet sich in je einem Forellenei bis zum Ausschlüpfen des Embryos 0,251 mg Fett, nach der Menge des Ätherextractes 0,695 mg.

Als Ergänzung obiger Daten teilen wir noch die auf die CO₂-Production bezüglichen mit, die, wie oben angegeben, in den ersten sieben Tagen der Bebrütung festgestellt wurde:

			96,48 g Eier producierten
am ersten	Tage	7,8	mg CO ₂
" zweiten	"	13,9	" "
" dritten	"	24,4	" "
" vierten	"	24,8	" "
" fünften	"	30,2	" "
" sechsten	"	47,7	" "
" siebenten	"	50,6	" "

Aus dieser unvollständigen Beobachtungsreihe ist nur so viel ersichtlich, dass die CO₂-Production mit fortschreitender Entwicklung steigt. Auf das Verhältnis, in welchem sie steigt, kann man aber nicht mehr folgern, weil durch das Absterben vieler Eier Unregelmäßigkeiten erzeugt wurden. Diese Zahlenreihe ist auch deshalb nicht wertlos für uns, weil wir aus ihr folgern können, dass in dem

kurzen Zeitraum, welcher zwischen der Befruchtung und dem ersten Tage der Bebrütung liegt — drei Tage —, der Stoffwechsel (und Energieverbrauch) nur ein ganz minimaler sein konnte, der um so geringer war, als die Eier nach der Befruchtung und während des Transportes mit Eis gekühlt wurden. Der auf diese drei Tage fallende Stoff- und Energieumsatz kann also als belanglos ausser Acht gelassen werden.

Bevor wir auf die Erörterung der Ergebnisse unseres Versuches weiter eingehen, muss ein Mangel desselben hervorgehoben werden, der den Vergleich dieses Versuches mit den an Vogel- und Seidenspinnereiern angestellten beeinträchtigt. Wir können nämlich weder die relative noch die spezifische Entwicklungsarbeit berechnen, d. h. die Energiemenge¹⁾, welche während der Entwicklung von 1 g Forellenembryo bzw. von 1 g embryonaler Trockensubstanz umgewandelt wird. Diese Berechnung ist deshalb unmöglich, weil wir weder das Gewicht des ausschlüpfenden Embryo noch dessen Trockensubstanzgehalt kennen. In der Litteratur haben wir hierüber keine Angaben gefunden. Wir selbst liessen es nicht zum Ausschlüpfen der Embryonen kommen, was für die Untersuchung Fehler ergeben hätte, weil dabei ein Teil des Eiinhaltes — (was ausserhalb des Embryo und des Dottersackes ist) — in das fliessende Wasser gelangt und verloren gegangen wäre. Ausserdem hätten wir das Gewicht der Körpersubstanz der sehr kleinen Embryonen nicht feststellen können, weil der Dottersack nicht ohne Verletzung vom Körper getrennt werden kann.

Trotz dieses Mangels können wir doch den ermittelten Stoff- und Energieumsatz des Forelleneies in anderen Beziehungen mit dem des Vogel- und Seidenspinnereies vergleichen.

Was zunächst den Substanzverlust während der Bebrütung betrifft, so ist die interessante Tatsache zu vermerken, dass aus dem in Wasser bebrüteten Forellenei nicht nur Trockensubstanz, sondern auch Wasser verloren geht; denn vom Substanzverlust, der 5,6 % des Eigewichtes ausmacht, fallen etwa 84 % auf Wasser und 16 % auf Trockensubstanz, so dass vom ursprünglichen Wassergehalt des Eies während der Bebrütung 7,1 %, von der Trockensubstanz 2,7 % verloren gehen.

Auch das Hühner- und Seidenspinnerei verliert während der

1) Wenn nicht anders bemerkt, ist unter Energie stets chemische Energie verstanden.

Entwicklung des Embryo Wasser und Trockensubstanz. Nach unseren Untersuchungen sind die relativen Werte dieser Verluste die folgenden:

	Während der Bebrütung bis zum Ausschlüpfen des Embryo gehen verloren beim		
	Forellenei %	Hühnerei %	Seidenspinnerei %
vom Gewicht	5,6	17	26
vom Wasser	7,1	21	69
von der Trockensubstanz . .	2,7	18	17
Vom gesammten Gewichtsverlust entfallen			
auf das Wasser	84	85	77
auf die Trockensubstanz . .	16	15	23

Bei diesem Vergleiche dürfen wir nicht vergessen, dass die Entwicklungsperiode, für welche mit dem Ausschlüpfen des Embryo aus dem Ei bei den drei verschiedenen Organismen äusserlich eine gleiche Entwicklungsstufe markiert wird, in den drei Eiern durchaus nicht denselben Grad der Entwicklung der Organe bedeutet. Eine gewisse Gleichheit besteht nur insofern, als mit dem Ausschlüpfen durch die veränderten Ernährungsbedingungen und mit der freien Bewegung der Stoff- und Energieumsatz bei allen dreien wesentliche Veränderungen erleidet.

Tatsächlich ist der Wasser- und Trockensubstanzverlust beim Forellenei bis zum Ausschlüpfen des Embryo wesentlich kleiner wie bei den zwei anderen Eiern. Dabei ist das Verhältnis zwischen Wasser- und Trockensubstanzverlust bei dem Forellen- und Hühnerei fast identisch (85:15) und auch bei dem Seidenspinnerei ähnlich (77:23). Da der Wasserverbrauch eine Function des Stoffwechsels ist, dürfte dieses übereinstimmende Verhältnis bei allen drei Eiern nicht ohne Bedeutung sein, die vor der Hand noch unbekannt ist.

Daraus, dass im Forellenei am Ende der Bebrütung weniger Wasser vorhanden ist als am Anfange, folgt aber noch nicht, dass das ganze fehlende Wasser aus dem Ei entwichen ist. Es ist möglich, dass wenigstens ein Teil dieses Wassers im Laufe hydrolytischer Processe, die im Ei zweifellos vor sich gehen, in die Moleküle gewisser Verbindungen tritt, also Bestandteil der Trockensubstanz wird. Solange man nicht feststellen kann, ob und wieviel Wasser aus dem Eiinneren in das umgebende fliessende Wasser gelangt, ist diese Frage nicht zu entscheiden. Wenn aus dem Ei tatsächlich Wasser

herausgelangt, so geschieht dies sicherlich nicht auf dem Wege einer einfachen Osmose; denn es wird ja Wasser aus einer viel concentrirteren Lösung — (aus dem Eiinneren) — in eine äusserst verdünnte — (das fliessende Wasser) — befördert. Möglicher Weise verbindet sich das Wasser mit anderen Stoffen, z. B. CO_2 zu H_2CO_3 , und gelangt so durch die Eihülle, um dann nach Zerfall dieses Hydrates in CO_2 und H_2O wieder frei zu werden. Auf diese Weise könnte aber auch nur ein geringer Teil des Wassers hinausbefördert werden, weil die producierte CO_2 zu gering ist. Man könnte auch an einen Secretionsvorgang in der Eihülle denken. Unsere Versuche reichen natürlich nicht aus, diese interessante Frage zu beantworten.

Ebenso wie der Stoffverbrauch ist auch der Energieverbrauch im Forellenei relativ geringer wie in den zwei anderen Eiern. In einem Forellenei werden bis zum Ausschlüpfen des Embryo 6,68 cal chemischer Energie verbraucht; das macht bloss 3,5 % des Energiegehaltes des unbebrüteten Eies aus, während im Hühnerei 18 %, im Seidenspinnerei 24 % der chemischen Energie verbraucht werden.

Hieraus folgt natürlich nicht, dass auch die relative Entwicklungsarbeit des Forellenembryo geringer ist wie die der anderen zwei Embryonen. Berechnen können wir diese, wie gesagt, nicht, weil wir das Körpergewicht des Forellenembryo nicht kennen. Gesetzt, dass die Körpergewichte der ausschlüpfenden Embryonen zu einander in demselben Verhältnisse stehen wie die Gewichte der unbebrüteten Eier, so würde sich das Gewicht des (zum Ausschlüpfen) reifen Hühnerembryo zu dem des Forellenembryo verhalten wie 568:1, da ein unbebrütetes Hühnerei durchschnittlich 50,0 g, ein Forellenei 0,088 g wiegt. Würde nun die relative Entwicklungsarbeit des Forellenembryo — (Energieverbrauch pro 1 g Embryo) — dieselbe sein wie die des Hühnerembryo, d. h. 658 cal, so müssten bis zum Ausschlüpfen 28 cal chemischer Energie verbraucht werden; tatsächlich werden aber bloss 6,7 cal verbraucht. Selbst wenn der Forellenembryo im Verhältnis zum Eigewicht dreimal kleiner wäre wie der Hühnerembryo, wäre seine Entwicklungsarbeit noch immer kleiner wie die des Hühnerembryo. (Stellt man denselben Vergleich mit dem Seidenspinnerei an, so erhält man noch grössere Unterschiede; denn die so berechnete Entwicklungsarbeit ist mehr als siebenmal so gross wie die tatsächliche). Wenn auch diese Vergleiche gar nichts beweisen, so kann man doch vermuten, dass die relative

Entwicklungsarbeit im Forellenei kleiner ist wie in den zwei anderen Eiern.

Die angeführten Daten des Stoff- und Energieumsatzes lassen noch folgende Erörterungen zu.

Zunächst sei die Tatsache noch einmal hervorgehoben, dass während der Entwicklung des Embryo kein N aus dem Ei verloren ging; in den 518 Eiern waren vor der Bebrütung 1,86 g N, nach der Bebrütung 1,85 g; die Differenz liegt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler. Die Forelleneier geben also ebenso wenig wie die Seidenspinnereier¹⁾ während des Bebrütens N in elementarer Form oder in Form flüchtiger Verbindungen aus. Daraus, dass die Menge des N unverändert bleibt, folgt natürlich nicht, dass die Menge der Eiweisskörper auch unverändert geblieben ist. Wir werden im Gegenteil, wie es aus dem Folgenden hervorgeht, zu der Annahme gedrängt, dass gerade die Eiweisskörper die Quelle der Entwicklungsarbeit sind. Nur weil die N-haltigen Zersetzungsproducte des Eiweisses bis zum Ausschlüpfen des Embryo im Ei zurückgehalten werden, bleibt der N-Gehalt des letzteren unverändert.

Die zweite interessante Tatsache, von welcher wir uns überzeugen, ist die Fettbildung im bebrüteten Forellenei. Während im Hühner- als auch im Seidenspinnerei während der Embryogenese Fett verbraucht wird, also der Fettgehalt des Eies abnimmt, ist im Forellenei am Ende der Bebrütung mehr Fett wie am Anfange. Während der Bebrütung wird also im Forellenei Fett neugebildet. Analytische Fehler sind hier auszuschliessen. Um auch beim Leser diesbezüglich einen Zweifel vorzubeugen, haben wir bei der Angabe des Fettgehaltes der bebrüteten und unbebrüteten Eier die analytischen Belege mitgeteilt, die nicht nur die gute Übereinstimmung der Doppelanalysen unter sich zeigen, sondern auch erkennen lassen, dass die Differenz zwischen unbebrüteten und bebrüteten Eiern ausserhalb der Beobachtungsfehler liegt. Wenn auch die zwei Fettbestimmungsmethoden — die Liebermann'sche Verseifungsmethode und die Extraction mit Äther — ganz bedeutend verschiedene Werte lieferten, so ergeben doch beide eine Neubildung von Fett, erstere für die 518 bebrüteten Eier eine solche von 0,13 g, die letztere von 0,38 g

1) K. Farkas, l. c. S. 516.

Fett. Welcher Wert der richtige ist, können wir vor der Hand nicht entscheiden; ebenso könnten wir höchstens Vermutungen darüber aussprechen, warum wir mit der Liebermann'schen Methode sowohl bei den unbebrüteten als auch bei den bebrüteten Eiern um so viel mehr Fett erhalten haben: die Unterschiede gegenüber der Ätherextraction sind sonst bei anderen Organen und Substanzen bei Weitem nicht so gross. Da wir die Absicht haben, diese Frage weiter zu verfolgen, so wollen wir sie hier nicht weiter erörtern.

Dafür, dass im Ei Fett gebildet wurde, kann auch der Umstand sprechen, dass die Trockensubstanz der unbebrüteten Eier 55,995 % C, die der bebrüteten hingegen 56,26 % C enthält. Da gleichzeitig Trockensubstanz verbraucht wurde, so kann diese Veränderung im C-Gehalt durch Bildung C-reicherer Verbindungen — Fett — erklärt werden. Freilich hätte dann gleichzeitig der spezifische Energiegehalt der Trockensubstanz sich erhöhen müssen, während er tatsächlich vor der Bebrütung 6453 cal, nach der Bebrütung 6392 cal beträgt. Er blieb also unverändert, nahm sogar etwas ab. Das schliesst aber nicht aus, dass die Trockensubstanz mehr Fett enthalte, da einerseits die energieärmeren Stoffwechselproducte in ihr enthalten sind und andererseits der Aschengehalt — infolge des Verbrauches organischer Substanz — wahrscheinlich gestiegen ist, falls die Salze nicht teilweise hinausdiffundierten.

Auch für das bebrütete Schneckenei (*Limnaeus stagnalis*) nimmt F. W. Burdach eine Fettbildung an. Seine Arbeit war uns nicht zugänglich; über seine Untersuchungen sind wir nur durch die Besprechung von W. Preyer¹⁾ unterrichtet, welche wir wörtlich anführen wollen: „Eine Zunahme der Fettbildung während der Entwicklung behauptet auf Grund weniger Bestimmungen F. W. Burdach²⁾ auch für das Schneckenei (*Limnaeus stagnalis*). Denn die in der Furchung begriffenen Eier A lieferten viel weniger Ätherextract als die fast reife Embryonen enthaltende Eier B. Es betrug nämlich die Trockensubstanz der

Eier	A	A	B	B
Gewicht	0,4375	0,2335	0,275	0,161
Fett .	0,003	0,0015	0,006	0,001
Procent	0,685	0,642	2,181	1,553.

1) W. Preyer, Specielle Physiologie des Embryo S. 274. Leipzig 1885.

2) F. W. Burdach, Die Fettbildung im embryonierten Schneckenei. In des Verfassers Inaug.-Diss. „De commutatione substantiarum proteineacearum in adipem“ p. 5—9. Königsberg 1853.

Die Gewichte der frischen Eier waren bei A 12,4655 und 5,5015, bei B 7,089 und 3,82 g. Aus diesen Zahlen geht schon hervor, um wie kleine Mengen Fett es sich überhaupt handelt. Die Methode der Darstellung durch Extraction mit Äther und Alkohol und die Anzahl der Versuche sind unzureichend. Doch sind die Endresultate nicht widerlegt worden. Die mit Zahlen belegte Angabe des Verfassers, dass mit der Entwicklung die Albumine ab-, die Mineralstoffe zunehmen, erhöht nicht das Vertrauen in dieselben.“

Mit der Feststellung der Neubildung von Fett wird gleich die Frage nach dem Ursprung dieses Fettes aufgeworfen, und es wäre nun zu entscheiden, ob das neugebildete Fett aus Kohlehydraten oder aus Eiweiss entstanden ist. Im Hühnerei wurde in sehr geringen Mengen Glykose nachgewiesen¹⁾. „Das Vorkommen von Glykogen ist dagegen zweifelhaft,“ — sagt an derselben Stelle Hammarsten. In Pflüger's grosser Glykogenarbeit findet sich diesbezüglich folgende Angabe²⁾: „Das Glykogen ist ferner, wie oben bereits gemeldet, nachgewiesen bei niederen Tieren, die keine Leber haben, sowie bei Vogelembryonen vor der Anlage der Leber, während das Ei vor der Entwicklung kein Glykogen enthalten soll.(?)“

Um jedem Missverständnisse vorzubeugen, möchten wir gleich betonen, dass wir uns dessen wohl bewusst sind, dass unser Versuch zur Entscheidung dieser wichtigen Frage nicht ausreicht, weil er zu unvollständig ist. Wir beabsichtigen auch, den Versuch an einem grösseren Material zu wiederholen und die notwendigen Ergänzungen zu bringen.

Glykose haben wir in den unbebrüteten Eiern nicht nachgewiesen. Glykogen versuchten wir nach der sichersten und besten Methode, nach der von Pflüger, nachzuweisen, wobei wir genau seine Vorschriften befolgten, wie er sie auch neuestens in seiner grossen Monographie angegeben hat³⁾. Wir haben etwa 15 g Eier (= 5 g lufttrockener Substanz) mit 15 ccm Wasser und 20 ccm 60 %iger KOH-Lösung zwei Stunden lang gekocht. Nach dem Abkühlen wurde auf 100 ccm aufgegossen und durch Glaswatte filtriert. In dem klaren Filtrate konnten wir mit nach Vorschrift zugefügtem Alkohol (gleiches Volum) nur eine ganz minimale, kaum sichtbare Trübung erhalten, so dass wägbare Mengen von Glykogen sicher nicht vorhanden waren. (Bei dieser Bestimmung haben wir die

1) Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie, 5. Aufl., S. 432. 1904.

2) E. Pflüger, Glykogen. Dieses Arch. Bd. 96 S. 294. 1903.

3) E. Pflüger, dieses Archiv Bd. 96 S. 94—98.

unbebrüteten Eier der dritten Sendung verwendet, die übrigens, wie S. 628 ersichtlich, mit der ersten Sendung identisch zusammengesetzt waren.) Wir konnten also auch nicht mit der besten Methode Glykogen nachweisen. (Immerhin ist es erwünscht den Nachweis noch einmal mit einer grösseren Menge Eier — etwa 100 g — zu versuchen, um selbst Spuren von Glykogen ganz sicher ausschliessen zu können.)

Bedenkt man nun, dass wir relativ nicht wenig Fett als neugebildet nachweisen konnten, so müssen wir bei dieser Sachlage an die Bildung dieses Fettes aus Eiweiss beziehungsweise, mit Rücksicht auf die von Pflüger erhobenen Einwände, aus Glykoproteiden denken. Letztere sind ja gerade in Eiern in relativ reichlicher Menge nachgewiesen. Speziell in den Eiern der Fische (Karpfen) fand Walter¹⁾ das Ichthulin, ein P-haltiges Glykoproteid. Das Fett würde sich also aus dem Kohlenhydratcomplexe dieser Eiweisskörper bilden können.

Nachdem nicht nur kein Fettverbrauch, sondern sogar eine Fettbildung während der Bebrütung stattfindet, nachdem weiterhin freie Kohlenhydrate nicht nachgewiesen werden konnten, so kann die chemische Energie, die in ganz sicher nachweisbarer Menge verbraucht wurde, nur aus den Eiweisskörpern stammen. Sind es die Glykoproteide, welche das Material zur Fettbildung lieferten, so können auch diese complicierter gebauten Eiweisskörper die Quelle der Entwicklungsarbeit sein. Wenigstens lassen sich die beobachteten Beziehungen zwischen Stoff- und Energieumsatz gut mit der Annahme vereinigen, dass der N-freie Rest von Eiweisskörpern sowohl die Entwicklungsarbeit als auch das Material zur Fettbildung lieferte, ja dass es auch das Material zu dem in jedem embryonalen Organismus sich bildenden Glykogen abgibt. Die folgende Überlegung soll kein Beweis für diese Annahme sein, sondern nur zeigen, dass sie möglich ist.

Während der Embryogenese in 518 Eiern wurde 0,41 g Trockensubstanz verbraucht, während 3,5 Cal. chemische Energie verloren gingen; gleichzeitig wurden 0,38 g Fett gebildet. Wir müssen aber auch eine Glykogenbildung annehmen, die in embryonalen Geweben stets stattfindet. Diese Glykogenmenge ist unbekannt; setzen wir sie willkürlich gleich 0,3 g. Unserer Voraussetzung gemäss stammt die verbrauchte Trockensubstanz und das neugebildete Fett und Glykogen aus dem N-freien Rest eines Eiweisskörpers, z. B. eines Glykoproteides, also $0,41 + 0,38 + 0,3 = 1,1$ g N-freier Rest von

1) O. Cohnheim, Chemie der Eiweisskörper, 2. Aufl., S. 199. 1904.

Eiweiss, dessen N-haltiger Teil z. B. ganz zu Harnstoff verwandelt wurde. Da aus 100 g Eiweiss bei einem N-Gehalt von 16 % 34,29 g Harnstoff entstehen können, wobei ein N-freier Rest von 65,71 g bleibt, so entsprechen 1,1 g N-freier Rest 1,67 g Eiweiss. Aus dieser Eiweissmenge soll sich also das Fett und das Glykogen gebildet haben, während der Rest zu Harnstoff, CO_2 und H_2O umgewandelt wurde. Nimmt man den spezifischen Energiegehalt des Eiweisses mit 5,8 Cal. an, so enthalten 1,67 g 9,7 Cal. Energie. In den 0,38 g Fett sind 3,5 Cal Energie enthalten (da nach unseren Bestimmungen 1 g Fett [Ätherextract] der Forelleneier 9346 cal Energie enthält), in 0,3 g Glykogen 1,3 Cal (specif. Energiegehalt 4,2 Cal). Ausserdem ist ja auch Harnstoff gebildet, und zwar, wie wir annehmen, ist der ganze N aus dem 1,67 g Eiweiss zu diesem Process verwendet, das gibt 0,57 g Harnstoff, der mit $0,57 \times 2,5 = 1,4$ Cal Energie auch in den bebrüteten Eiern noch enthalten ist. $3,5 + 1,3 + 1,4 = 6,2$ Cal Energie, die also aus 1,67 g Eiweiss stammen, sind demnach noch in den bebrüteten Eiern vorhanden: es sind also aus den 9,7 Cal dieser Eiweissmenge 3,5 Cal verloren gegangen. Der von uns tatsächlich constatierte Energieverbrauch während der Bebrütung beträgt 3,46 Cal.

Übrigens, wenn wir ohne Rücksicht auf die Fett und Glykogenbildung einfach den spezifischen Energiegehalt der tatsächlich verbrauchten Trockensubstanz berechnen, also die Menge der verbrauchten Energie, die auf 1 g verbrauchter Trockensubstanz fällt, so erhält man 8,4 Cal. Dieser Wert stimmt gut mit dem spezifischen Energiegehalt des N-freien Restes des Eiweisses, wenn der N-haltige Teil des letzteren zu Harnstoff (oder auch zu Harnsäure) zerfällt. Dem gegenüber müssen wir aber zugeben, dass mit dieser Annahme der C-Gehalt der verbrauchten Trockensubstanz nicht übereinstimmt, da er in unserem Versuch bloss 46,3 % beträgt statt der zu erwartenden 68 %. Möglicher Weise ist ein Teil des C nicht zu CO_2 verbraucht worden, sondern in Form von anderen Verbindungen zurückgeblieben. Jedenfalls sind die Verhältnisse, die durch die verschiedenen synthetischen Vorgänge compliciert werden, nicht so einfach, dass sie ohne eingehende und detaillierte Erforschung der Stoffwechselvorgänge aufgeklärt werden können.