Über Bastardierungsversuche bei Echinodermen.

Von

Alfred Fischel.

(Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft,
Kunst und Literatur in Böhmen.)

Mit 22 Figuren im Text.

—
Eingegangen am 23. Juli 1906.

Die besondere Art des Befruchtungsvorganges hat bekanntlich in erster Linie die Annahme veranlaßt, daß die Kerne der Geschlechtszellen die »Vererbungsträger« darstellen.

Diese Annahme muß naturgemäß auch durch entsprechende Versuche auf ihre Richtigkeit hin geprüft werden. Von wesentlicher Bedeutung sind in dieser Hinsicht Untersuchungen an Bastardbildungen; wobei es freilich nicht mehr — wie früher — genügt, einfach die fertigen Bastardformen zu untersuchen, um festzustellen, ob und in welcher besonderen Weise väterliche und mütterliche Eigenschaften bei ihnen zutage treten, wobei es vielmehr notwendig ist, die Entwicklung der Bastarde zu beobachten, um festzustellen, wann und wie die Art-Unterschiede der beiden Elterindividuen in dem Produkte der Bastardbefruchtung wieder auftreten.

TH. BOVERI hat bekanntlich derartige Versuche zuerst zielbewußt an Echinodermen ausgeführt und aus ihnen wichtige Schlüsse für die Befruchtungs- und Vererbungslehre gezogen.

Diese Schlußfolgerungen BOVERIS sind nicht unangefochten geblieben. Während BOVERI behauptete, daß die Bastardlarven stets Mittelformen zwischen den Elterindividuen darstellen, folgerte SEELIGER aus seinen sorgfältigen Untersuchungen, daß dies nur zum Teil der Fall ist; daß sich nicht mit Sicherheit bestimmen lasse, wieviel von den Eigenschaften der Bastardlarve auf Rechnung des

einen oder des andern Elters zu setzen ist; auch sei es endlich durchaus nicht erwiesen, ja es erscheine von vornherein unwahrscheinlich, daß auf Bastardlarven von väterlichem Typus gar nichts vom mütterlichen Organismus vererbt worden sei. SEELIGER sowohl, wie auch T. H. MORGAN und STEINBRÜCK haben auf die große Variabilität der Bastardlarven hingewiesen, welche es schwer, ja oft unmöglich mache, sichere Schlüsse über die Vererbungsart väterlicher und mütterlicher Eigenschaften zu ziehen.

Abweichend von diesen Angaben lauten diejenigen von DRIESCH (7). Nach ihm wird die Entwicklung der Bastarde wesentlich nur vom Eiplasma beeinflusst; denn die Furchungsgeschwindigkeit, die Gesamtform der Larven, die Zahl der primären Mesenchymzellen und die Färbungsverhältnisse der Bastarde sollen vollkommen mütterlichen Charakters sein und nur im Skelet soll eine Mischung der Elterncharaktere zum Vorschein kommen. Diese Angaben hat DRIESCH (8) gegenüber einer Kritik derselben von Seite BOVERI (5) aufrecht erhalten und nur zugegeben, daß auch die Färbungsintensität der Bastardlarven von väterlicher Seite her beeinflussbar sei, wofür auch GARBOWSKI eintritt.

Erscheint es bei diesem Widerstreit der Meinungen nicht überflüssig, neue Untersuchungen — besonders an wenig oder gar nicht bekannten Bastardformen — anzustellen, so lag für mich noch ein besonderer Grund hierfür vor.

Die Resultate der Bastardierungsversuche nämlich sind naturgemäß auch für unsre Anschauungen über das Wesen der die normale Ontogenese bestimmenden Momente von Wichtigkeit. BOVERI (5, S. 361) hat ihre Bedeutung nach dieser Richtung dahin zusammengefaßt, daß er dem Eiplasma, neben seiner Wichtigkeit als Baumaterial für den neu entstehenden Organismus, in der Hauptsache nur die Bestimmung über gewisse embryonale Vorgänge zuerkennt, die aber »für die definitive Gestaltung des neuen Individuums so indifferent sind, daß ihre durch die spezifischen Eigenschaften des Eiprotoplasma bedingte Spezifität, wie sie z. B. im Furchungstypus vorliegt, später wirkungslos untergeht« ¹⁾. Ein determinierendes Moment

¹⁾ Es ist ein Übelstand der Versuche mit Echinodermen, daß es bekanntlich nicht möglich ist, Seeigellarven über ein gewisses Stadium hinaus weiter zu züchten. Wir wissen daher auch nicht, ob die an der Larve sich zeigenden, experimentell erzeugten besonderen Eigenschaften sich, bei weiterer Entwicklung, auch auf den fertigen Organismus übertragen würden. Indessen halte ich diesen Umstand nicht für prinzipiell so wichtig, um die Beweiskraft derartiger

soll dem Eiplasma nur für Qualitäten allgemeinsten Natur (Achsenverhältnisse z. B.) zukommen und es sei noch fraglich, ob die präformierte Eiplasmaqualität über das Larvenstadium hinausgeht. Die essentiellen Merkmale des Individuums und der Species dagegen sollen ihre Determinierung durch den Kern erhalten.

Mich (13) hatten nun frühere Untersuchungen zu der Annahme geführt, daß die Bedeutung, welche dem Eiplasma bei der Entwicklung zukommt, denn doch eine größere ist, als sie ihm bisher beigelegt wurde. Dies veranlaßte mich, die Entwicklungsvorgänge nach der Bastardbefruchtung, die zugunsten der Bedeutung des Kernes als »Vererbungsträgers« verwertet wurden, selbst zu prüfen.

Diese Untersuchungen wurden zu Ostern 1906 in der zoologischen Station in Villefranche s. m. ausgeführt; drei Seeigelarten: *Arbacia pustul.*, *Echinus brevispinosus* (s. *Sphaerechinus*, s. *Echinus granularis*) und *Strongylocentrotus lividus* wurden hierbei benutzt. Das Material erwies sich zur Zeit der Untersuchung als zur Befruchtung vorzüglich geeignet, also »reif« — ein Umstand, dessen Betonung mit Rücksicht auf die Angabe VERNONS, derzufolge der Erfolg von Bastardierungen sehr wesentlich von dem verschiedenen »Reife«-zustande der Geschlechtszellen abhängen soll, wichtig ist. — Die Temperatur war in der ersten Hälfte meines Aufenthaltes in Villefranche eine für diese Jahreszeit ungewöhnlich niedrige und auch später keine sehr hohe¹⁾. Dem entsprechend war auch die Geschwindigkeit der Entwicklung anfangs geringer als später.

Von den mit den drei erwähnten Seeigelarten möglichen Kombinationen blieb die Kreuzung $\frac{Arbacia \text{ } \text{♀}}{Strongylocentrotus \text{ } \text{♂}}$ ohne Erfolg, bei den Kombinationen $\frac{Echinus \text{ brevisp. } \text{♀}}{Arbacia \text{ } \text{♂}}$ und $\frac{Arbacia \text{ } \text{♀}}{Echinus \text{ brevisp. } \text{♂}}$ gelang es nicht in allen Fällen Befruchtung und Weiterentwicklung zu erzielen, während dies bei den übrigen Kombinationen stets möglich war. Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens läßt sich nicht angeben. Sie lag sicher nicht in irgend welchen abnormen Zuständen

Versuche zu mindern. Wenn sich eine Beeinflussung einer so weit differenzierten Larvenform, wie es eine Pluteuslarve ist, erzielen läßt, so ist hieraus schon der Schluß erlaubt, daß hier ein entscheidender Einfluß auf die »Vererbung« vorliegt.

¹⁾ Nach Niederschrift dieser Zeilen erschien eine sehr interessante Arbeit von C. HERBST, in welcher der Einfluß der Temperatur speziell auf die Bastardentwicklung sehr genau untersucht wird. — Den Geschwindigkeitskoeffizienten für die normale Entwicklung hat bereits PRIER mit etwa 2.5 für 10° bestimmt.

der Geschlechtszellen, denn gleichzeitig mit den Bastardierungsversuchen angestellte normale Befruchtungen hatten stets Erfolg. Bei Bastardbefruchtungen spielen sicherlich zahlreiche, vom Experimentator nicht beherrschbare und auch nicht erkannte Momente eine wesentliche Rolle. Es ist in dieser Hinsicht sehr interessant, daß mir in Villefranche die Bastardierung von *Arbacia*-Eiern mit *Strongylocentrotus*-Samen trotz wiederholter Versuche zu verschiedenen Zeiten nicht gelang, während die Brüder HERTWIG mit ihr in Sorrent und DRIESCH in Neapel Erfolg hatten, insofern wenigstens, als die ersteren die Entwicklung eines Teiles der Eier auszulösen vermochten, und der letztere normale Blastulae (aber keine Gastrulae) erzielen konnte. Anderseits erhielten die Brüder HERTWIG bei der Kreuzung *Strongylocentrotus* ♀ *Arbacia* ♂ in Sorrent kein Resultat, während sie in Villefranche stets von Erfolg begleitet war.

Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens liegt vielleicht in kleinen Differenzen des Materials oder der Gestalt der Geschlechtszellen an verschiedenen Orten.

So bezeichnen die Brüder HERTWIG die Farbe der *Arbacia*-Eier (in Sorrent) als »violett«; in Villefranche waren die Eier rotbraun, mit mehr oder weniger hervortretendem Rot, doch keinesfalls violett, und, meiner Erinnerung nach, sicher heller als in Neapel. Was *Strongylocentrotus* betrifft, so hat BOVERI (6) an dessen Eiern einen Pigmentring näher beschrieben, der gerade in Villefranche ganz besonders deutlich ausgebildet zu sein oder häufiger als anderwärts vorzukommen scheint¹⁾. Auch der Farbenton der später in den Pluteis auftretenden Chromatophoren ist anscheinend in Villefranche ein anderer als z. B. in Neapel. DRIESCH (7) bezeichnet ihn für Neapler Plutei als rotbraun, in Villefranche ist er eher gelbrötlich; auch bezeichnet DRIESCH die Färbungsqualität der (Neapler) *Strongylocentrotus*-, *Echinus microtuberculatus*- und *Sphaerechinus*-Larven als identisch, was für das Material in Villefranche nicht zutrifft.

Wenn auch wenig wahrscheinlich, ist es immerhin auch möglich, daß Gestaltunterschiede, und zwar der Samenzellen, eine Rolle spielen. Auf die Wichtigkeit der Form dieser Zellen haben schon BORN und PFLÜGER Gewicht gelegt und hervorgehoben, daß selbst kleine

¹⁾ GARBOWSKI unterscheidet direkt zwei »Rassen« von *Paracentrotus* (wie man nach ihm statt *Strongylocentrotus* schreiben sollte) *lividus*: die allgemein verbreitete »diffusa« und die südfranzösische »rufocincta«.

Gestaltunterschiede des Kopfes der Spermien von entscheidender Bedeutung für die Bastardierung sein können¹⁾.

Einer ferneren Untersuchung zugänglich bleibt endlich die Frage, ob die Geschlechtszellen eine mit dem Orte und mit der Zeit wechselnde Disposition zur Bastardierung besitzen.

Von Interesse ist es nun, daß zwischen dem Verhalten der Samenzellen zum Ei und der Schwierigkeit, bzw. Leichtigkeit der Bastardierung eine bestimmte Beziehung besteht. In allen Fällen nämlich, in welchen die Kreuzbefruchtung ohne Schwierigkeit gelingt, sammeln sich kurz nach dem Zusatze des Samens außerordentlich viele Spermien um die Eier an, eine breite Ringzone um dieselben bildend; in jenen Fällen hingegen, in welchen die Bastardierung nur schwer oder überhaupt nicht gelingt, finden sich nur vereinzelt größere Spermienmengen um die Eier angesammelt vor; bei der Kombination $\frac{\text{Arbacia } \text{♀}}{\text{Strongylocentrotus } \text{♂}}$ besaß kein Ei eine derartige Spermienzone. — Nur jene Eier also, welche anziehend auf die Spermien der fremden Art wirken, werden leicht befruchtet. Da die Seeigeleier Stoffe enthalten, welche die Bewegungsrichtung der Spermien beeinflussen (DUNGERN), hängt dieses verschiedene Verhalten der Spermien wohl hauptsächlich von der verschiedengradigen Wirkung dieser Stoffe ab.

Es ist ferner wohl zu beachten, daß sich bei den ersterwähnten Fällen sehr viel mehr Samenzellen um die Eier angesammelt vorfinden als bei Befruchtung mit dem gleichartigen Samen. Dies rührt vielleicht davon her, daß die fremdartigen Samenzellen nicht so rasch in die Eizelle eindringen als die der eignen Art; solange aber die Befruchtung nicht erfolgt ist, strömen die Spermien an die Eier heran und erst nach dem Eindringen der Samenzelle in das Ei hört dieses Zuströmen der Spermien auf oder wird es vermindert. — Die einmal um das Ei gebildete Spermienzone erhält sich noch lange Zeit nach der Befruchtung; erst während der späteren Furchungsstadien verschwindet sie. Sie liegt in keinem Falle der nach der Befruchtung abgehobenen Eihülle direkt an, ist vielmehr von ihr durch eine schmale, spermienfreie Zone getrennt.

¹⁾ Andererseits sind, wie aus den interessanten Untersuchungen DUNGERN hervorgeht, in den Eiern Stoffe enthalten, welche die Bewegungsart der Samenzellen beeinflussen. — Gewisse Änderungen des Mediums, in dem man die Befruchtung der Eier ausführt, können die Bastardierung begünstigen. Näheres hierüber bei GODLEWSKI und HERBST.

Daß nun auch individuelle Unterschiede der Eier bei der Bastardierung eine Rolle spielen, erhellt daraus, daß sich oft mitten unter Eiern mit breiter Spermienzone solche vorfinden, an die keine Samenzelle herangetreten ist.

Außer der nach erfolgter Befruchtung sich abhebenden Eihülle läßt sich bekanntlich an den Seeigeleiern noch eine weitere, ihnen unmittelbar anliegende »Hülle« erkennen, die von einigen Autoren als Membran (zweite oder innere Dotterhaut), von HAMMAR dagegen als Grenzschiebt im Hisschen Sinne, also als lebendes Protoplasma, angesehen wird. Diese beiden Hüllen¹⁾ werden bei den verschiedenen Bastardarten verschieden stark vom Ei abgehoben. Bei der

Kombination $\frac{Echinus \text{ } \text{♀}}{Arbacia \text{ } \text{♂}}$, bei welcher die Eier oft von einer sehr breiten Spermienringzone umgeben sind, wird die äußere Hülle nur sehr wenig vom Ei abgehoben; sehr weit dagegen bei der Kombination

$\frac{Echinus \text{ } \text{♀}}{Strongylocentrotus \text{ } \text{♂}}$, bei der wiederum die innere Hülle nur sehr wenig von der Eiperipherie absteht. In vielen Fällen tritt die Abhebung ein, es ist also Befruchtung erfolgt, ohne daß sich die betreffenden Eier weiter entwickeln.

Auch in jenen Fällen, in welchen die Bastardierung leicht gelang, war übrigens das Prozentverhältnis der zur Weiterentwicklung gelangten Eier an verschiedenen Tagen und in den von denselben Tieren stammenden Kulturen ein verschiedenes.

Die Entwicklung der bastardierten Eier selbst vollzog sich nun nahezu in allen Fällen langsamer als bei ihrer Befruchtung mit gleichartigem Samen. Da dieses Ergebnis in Gegensatz zu den bestimmten Angaben von DRIESCH (7) stand, wurden bei allen angestellten Versuchsreihen — und deren waren an 100 — Kontrollkulturen mit normal befruchteten Eiern angelegt und ihre Entwicklung mit jener der Bastardkulturen verglichen. Trotz der großen Zahl und Verschiedenheit der hierfür verwendeten Muttertiere und trotz des Unterschiedes der äußeren (besonders der Temperatur-) Verhältnisse, blieb es, bis auf wenige Ausnahmen²⁾, ein gemeinsames

1) Für die Schilderung dessen, worauf es hier ankommt, ist es am vorteilhaftesten, einfach von »Hüllen« zu sprechen, ohne daß hiermit die HAMMARsche Anschauung bezweifelt werden soll.

2) Diese fielen sämtlich in das Ende meines Aufenthaltes in Villefranche, also in die Periode höherer Temperatur. Vielleicht spielt bei diesen Verhältnissen die Jahreszeit eine wesentliche Rolle.

Merkmal der Bastardkulturen, hinter den andern in ihrer Weiterentwicklung zurückzubleiben. Dies zeigte sich schon beim Auftritte der ersten Furchung; der Zeitunterschied gegenüber den mit Spermien derselben Art befruchteten Eiern war ein wechselnder, von 5 Minuten bis zu einer Stunde schwankender. Dem entsprechend vollzogen sich auch die späteren Furchungsteilungen später; der Rückstand in der Entwicklung der Bastarde wurde im weiteren Verlaufe der Entwicklung immer deutlicher, so daß dann im Pluteusstadium der Ausbildungsgrad der Kalkstäbe in den Bastardkulturen dem der reinen Larven oft um einen Tag zurückstand.

An Neapler Material konnte DRIESCH diesen langsameren Entwicklungsgang nicht konstatieren, hier furchten sich normal befruchtete und bastardierte Eier gleich rasch. Daß dies aber nicht allgemein gültig ist, beweisen nicht allein meine Befunde; auch SEELIGER gibt ausdrücklich an (25, S. 208), daß sich bei Befruchtung von *Sphaerechinus*-Eiern mit Samen von *Echinus microtuberculatus* »die ersten Entwicklungsvorgänge . . . langsamer als an den mit Samen der eignen Art befruchteten Eiern« vollziehen, so daß dann das Kalkgerüst bei den Bastardlarven erst am 4. Tage auf jener Ausbildungsstufe angetroffen wird, die es bei den reinen *Sphaerechinus*- oder *Echinus*-Larven schon am Ende des 2., oder Anfang des 3. Tages erreicht. Daß übrigens der Entwicklungsgang der Bastardkulturen nach Ablauf der Furchung gegenüber den reinen Kulturen im Rückstande bleibt, gibt auch DRIESCH an.

So erhält man den Eindruck, als ob sich die Entwicklung der Bastarde unter einem gewissen Widerstande vollzöge. Vielleicht aus dem Grunde, weil das mit der Samenzelle in das Ei eingeführte Centrosom in der ihm artfremden Plasmamasse des Eies seine Tätigkeit als kinetisches Centralorgan der Zelle nicht mit derselben Leichtigkeit zu vollziehen vermag wie in einer ihm artgleichen Eizelle. Dieser Widerstand scheint dann in den Descendenten der befruchteten Eizelle noch zu wachsen, um so die spätere Entwicklung erheblich zu verlangsamen.

Hinsichtlich der Gesamtform der Larven soll, nach DRIESCH, eine Mischung der väterlichen und mütterlichen Charaktere nur bei den mit *Echinus microtubercul.*- und *Strongylocentrotus*-Samen aus *Sphaerechinus*-Eiern entstandenen Bastarden auftreten; aber auch da soll die Annäherung an den väterlichen Typus nur auf die besondere Ausbildungsart des Kalkgerüsts zurückzuführen sein. Alle andern Bastarde sollen rein mütterlicher Art sein.

Die von mir zur Bastardierung verwendeten Eiarten unterscheiden sich sehr wesentlich voneinander, so daß auch ihre frühen Entwick-

Fig. 1—4.

Larven von *Strongylocentrotus lividus*, 2, 2½, 3 und 5 Tage alt¹⁾. Fig. 1, 2 und 3 bei 180 facher, Fig. 4 bei 120 facher Vergrößerung²⁾.

Gemeinsame Bezeichnungen:
a.A. Analarm, o.A. Oralarm, o.St. Analstab,
o.St. Oralstab, M.St. Mittelstab, S.St. Scheitelstab.

1) Alter und Ausbildungsgrad der verschiedenen Larven gehen einander nicht parallel; die gezeichneten Larven entstammen verschiedenen Kulturen, die sich naturgemäß auch ungleich rasch entwickelten.

2) Sämtliche Figuren wurden mit der Zeichencamera angefertigt. Die Larven wurden durch Zusatz von Formol bewegungslos gemacht und sofort nachdem ihre Bewegungen aufhörten gezeichnet. Man darf nicht länger warten, weil dann Schrumpfungen auftreten und unnatürliche Verhältnisse entstehen. Wird aber sofort im Momente des Eintretens der Ruhe der Larven gezeichnet, so erhält man Bilder, die den Verhältnissen im Leben vollkommen entsprechen.

lungsstadien erhebliche Unterschiede aufweisen. Schon ihre Größe ist different: Das *Arbacia*-Ei ist erheblich kleiner als das von *Strongylocentrotus*, dieses wiederum etwas kleiner als das von *Echinus brevispinosus*, Unterschiede, die auch später, im Blastula- und Gastrula-stadium, deutlich ausgeprägt sind. Was die Form betrifft, so erscheint in diesen Stadien der *Echinus*-Keim kuglicher als die beiden andern. Dieser Unterschied, der übrigens durch auftretende Varietäten verwischt sein kann, ist aber nicht so bedeutend, um als sicheres Mittel

Fig. 5—8.

Larven von *Arbacia punctulosa*, 3, 4, 6 und 5 Tage alt. Vergrößerung 180/1.

der Differenzierung zu dienen. Deutlich werden die Gestaltunterschiede erst in noch späteren Entwicklungsstadien.

Die weitaus vorherrschenden Formen reiner *Strongylocentrotus*- und *Arbacia*-Larven sind in den Figuren 1—4, bzw. 5—8 dargestellt. Zwar fanden sich in den Kulturen natürlich auch Varietäten dieser Larvenform, doch war ihre Zahl keine bedeutende. Ich bemerke gleich hier, daß ich auch bei meinen Bastardkulturen keine auffällig große Zahl von Varietäten nachweisen konnte, jedenfalls nicht jene Menge und jenen Grad derselben, der an andern Orte von andern Autoren beobachtet wurde. Traten viele und hochgradige Varietäten

auf, so verfiel die betreffende Kultur sehr bald der Degeneration und ich habe daher Anstand genommen, diese Kulturen mit zu berücksichtigen. Lebensfähige Kulturen weisen ziemlich Übereinstimmung des Entwicklungsgrades und der Gesamtform der Larven auf.

Sehen wir zunächst von dem Verhalten der in die Figuren mit eingezeichneten Kalknadeln ab, und berücksichtigen wir nur die Gesamtform der Keime, so erkennen wir, daß sich die *Arbacia*-Larven

Fig. 9—12.

Vier Entwicklungsstadien von mit *Arbacia*-Samen befruchteten *Strongylocentrotus*-Eiern, 2, 2½, 5 und 7 Tage alt. Fig. 9 und 10 bei 180-facher, Fig. 11 und 12 bei 120-facher Vergrößerung.

nicht bloß der Größe, sondern auch der Gestalt nach, von den *Strongylocentrotus*-Larven unterscheiden. Speziell der *Arbacia*-Pluteus (Fig. 7, 8)

erscheint gedrungener, plumper, seine Analarme sind relativ länger und breiter, sein Orallappen relativ massiger als bei *Strongylocentrotus* (Fig. 3, 4).

Die Figuren 9—12 stellen vier Entwicklungsstadien von mit *Arbacia*-Samen befruchteten *Strongylocentrotus*-Eiern dar.

Die bei dieser Bastardierung entstehenden Keime entsprechen nicht durchaus denen von rein mütterlichem Charakter¹⁾. Besonders

¹⁾ In jeder Bastardkultur finden sich Larven vor, die sich von rein mütterlichen Larven (oder von deren Varietäten) nicht unterscheiden. Diese Larvenformen werden hier, weil ihr Vorkommen bereits bekannt ist, nicht weiter besprochen.

auffällig erscheint die Kleinheit von vielen der Bastardplutei; denn die in Figur 4 dargestellte 5 Tage alte Larve von *Strongylocentrotus* ist erheblich größer als die (bei gleicher Vergrößerung gezeichnete) 5, bzw. 7 Tage alten Bastardplutei der Figuren 11 und 12.

Diesen Größenunterschied auf den Einfluß der verwendeten Samenart zurückzuführen bin ich um so mehr geneigt, als auch BOVERI bei einer andern Kombination (und zwar: $\frac{\textit{Echinus microtubercul.} \text{ } \text{♀}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ } \text{♂}}$) eine analoge Beeinflussung nachweisen konnte. Allerdings wird man

Fig. 13 und 14.

5 Tage alter Pluteus von *Echinus brevispinosus*,
bei 180facher Vergrößerung.
Das Kalkskelet hier und auch in andern Figuren nicht
vollständig, nur soweit als hier wichtig, gezeichnet.

5 Tage alter Pluteus aus der Kombination
 $\frac{\textit{Strongylocentrotus} \text{ } \text{♀}}{\textit{Echinus brevispin.} \text{ } \text{♂}}$, bei 180facher Ver-
größerung.

sich diese Art der Beeinflussung der Eientwicklung als in einer andern Weise erfolgend vorstellen müssen, wie die übrigen formativen Einflüsse von Seite der Samenzelle. Am einfachsten vielleicht, nach BOVERI (5, S. 350), in der Art, »daß das Spermatozoon auf den Grad der Wasserimbibition einen Einfluß ausübt«.

Ihrer Form nach sind diese Bastardlarven gedrungener, ihre oralen Lappen sind relativ breiter, ihre Analarme relativ länger als jene der *Strongylocentrotus*-Plutei. Alle diese Momente weisen auf eine Beeinflussung der Entwicklung von väterlicher Seite hin.

Von der mütterlichen Form verschieden sind auch viele aus der Kombination $\frac{\textit{Strongylocentrotus} \text{ } \text{♀}}{\textit{Echinus brevispin.} \text{ } \text{♂}}$ hervorgegangenen Bastarde, wie

aus einem Vergleiche der Figuren 4, 13 und 14 hervorgeht. Die Bastardlarve der Figur 14 besitzt nicht die den *Strongylocentrotus*-Pluteus kennzeichnende schlanke Gestalt, ihre oralen und analen Arme sind breiter und kürzer — Charaktere, welche diese Larve dem *Echinus*-Pluteus ähnlich erscheinen lassen, also eine Beeinflussung von väterlicher Seite her beweisen. — Allerdings ließ sich diese Form des Pluteus nicht in allen Fällen nachweisen, oft entsprach vielmehr der Bastard seiner Gesamtform nach einem *Strongylocentrotus*-Pluteus. Doch genügt es ja prinzipiell, daß überhaupt Bastarde mit Annäherung an den väterlichen Typus vorkommen.

Fig. 15 und 16.

Bastardlarven $\frac{Arbacia \text{ } \text{♀}}{Echinus \text{ brevisp. } \text{♂}}$, 3 und 4 Tage alt, bei 150facher Vergrößerung.

Von der Kombination $\frac{Arbacia \text{ } \text{♀}}{Echinus \text{ brevisp. } \text{♂}}$ sind in Figur 15 und 16 zwei Entwicklungsstadien dargestellt. Wie ein Vergleich mit den reinen *Arbacia*-Keimen (Fig. 6—8) ergibt, unterscheiden sie sich nicht unwesentlich von ihnen, und zwar, wie ein Blick auf Figur 13 lehrt, gerade durch Merkmale — Breite und Kürze der Arme, flacherer Scheitel —, welche sie der *Echinus*-Larve in gewisser Hinsicht ähnlich erscheinen lassen. Natürlich sind sie, entsprechend der geringeren Größe des *Arbacia*-Eies gegenüber dem *Echinus*-Ei, auch erheblich kleiner als gleich alte *Echinus*-Keime.

Bei der Entwicklung der Bastarde von der Kombination $\frac{Echinus \text{ brevisp. } \text{♀}}{Strongylocentrotus \text{ } \text{♂}}$ wichen die entstandenen Keime oft erheblich von den rein mütterlichen Formen ab. Die *Echinus*-Larve erscheint in jüngeren Stadien mehr gerundet (Fig. 17), während die Bastardlarve zumeist die in Figur 19 wiedergegebene Gestalt aufweist; *Strongylocentrotus*-Larven gleichen Alters sind ähnlich geformt.

Während nun die *Echinus*-Keime zu wohlgebildeten Pluteis herangezogen werden konnten (Fig. 18), vermochte ich die Bastarde nicht über das in Figur 20 wiedergegebene Stadium hinaus weiter zu züchten, das von dem entsprechenden *Echinus*-Stadium sehr different

Fig. 17 und 18.

Larven von *Echinus brevispinosus*, 4 und 6 Tage alt,
bei 180 facher Vergrößerung.

ist. — Liegt nun auch bei diesen Bastarden keine so deutliche Hinneigung zu den rein väterlichen Formen vor, wie in den erwähnten andern Fällen, so besitzen sie doch oft eine von den rein mütterlichen Larven verschiedene Gestalt. Solche Gestaltanomalien, d. h. also Abweichungen vom rein mütterlichen Typus ohne bestimmte Annäherung an den väterlichen, lassen sich überhaupt auch in andern Bastardkulturen oft ausfindig machen¹⁾.

Von besonderem Interesse bei der Beurteilung der Seeigelbastarde ist das Verhalten des Kalkskeletes.

Dieses Kalkgerüst wird bei *Strongylocentrotus lividus* in Form spitzer Nadeln (Fig. 1, 2) angelegt; die an ihm später unterscheidbaren oralen, analen und Mittelstäbe (Fig. 3, 4 *o St*, *a St* und

M St) behalten diese Form bei, die Enden der Scheitelstäbe (*S St*) dagegen

¹⁾ Dies gilt auch, wie gleich hier erwähnt sein mag, für das Verhalten der Kalknadeln. Gewisse Varietäten derselben lassen die Bastardlarven zwar als von rein mütterlichen verschieden, aber doch nicht den väterlichen analog erscheinen. Hier hat die Mischung der Elterncharaktere einen neuen Typus hervorgebracht.

verdicken sich, erhalten zahlreiche spitzige Zacken und Nadeln und endigen oft mit einer solchen langen und spitzen Nadel (Fig. 3) oder aber mehr keulenförmig (Fig. 4). Kurze, spitze Dorne finden sich auch an den tiefer gelegenen Stellen des Scheitelstabes und an den Basen der übrigen Stäbe. Je nach der Gestaltung des Scheitels der Larven liegen die Scheitelstabenden entweder sehr nahe aneinander (Fig. 4), oder voneinander ziemlich weit entfernt (Fig. 3).

Anders sind die Kalkstäbe bei *Arbacia pustulosa* beschaffen. In Form kurzer, dicker, stumpf endigender Dreistäbe angelegt (Fig 5), differenzieren sie sich bald zu der in Figur 6 wiedergegebenen

Fig. 19 und 20.

Bastardlarven *Echinus berrisp.* ♀
Strongylocentrotus ♂, 4 und 6 Tage alt, bei 180facher Vergrößerung.

Gestalt, bei welcher die Enden der Scheitelstäbe verdickt und unregelmäßig zerplittert erscheinen. Später lassen sich auch hier dieselben Bestandteile wie bei *Strongylocentrotus* unterscheiden; die Analstäbe bilden aber ein zierliches, durch die Zeichnung nicht in allen Details wiedergegbares Gitterwerk; der Scheitelstab endet mit einem Kolben, der mit kurzen, plumpen Stacheln besetzt ist; die Scheitelstäbe liegen einander dicht an, oder sie sind, besonders bei älteren Larven, miteinander verwachsen.

Das Skelet der Bastardlarven *Strongylocentrotus* ♀
Arbacia ♂ besitzt in
 Hinsicht auf seine Oral-, Anal- und Mittelstäbe zumeist ganz den mütterlichen Charakter. Die Enden der Scheitelstäbe aber weisen zahlreiche Varietäten auf, von denen viele eine Annäherung an den

väterlichen Typus darstellen, indem das kolbige Ende mit kurzen Stacheln, wie bei *Arbacia*, besetzt oder unregelmäßig zersplittert (vgl. Fig. 11 und 12 mit Fig. 6) ist. Eine dem reinen mütterlichen Typus vollkommen entsprechende Form des Kalkgerüsts läßt sich nur selten bei den Bastarden nachweisen, kleinere Abweichungen von ihm sind fast stets vorhanden.

Ähnliches gilt von der Kombination $\frac{\textit{Arbacia pust.} \text{♀}}{\textit{Echinus brevisp.} \text{♂}}$. Das

Skelet der reinen *Echinus*-Larven (Fig. 13, 18) besitzt Gitterstäbe in den Analarmen und Scheitelstäbe mit krückenförmig gebogenen Enden, die einander entweder dicht anliegen (Fig. 13) oder miteinander verschmelzen (Fig. 18); sie sind mit zahlreichen, kurzen, kräftigen Höckern besetzt, die sich übrigens auch an den Außenflächen des Scheitelstabes vorfinden. Während der Entwicklung der Larven ändert sich — infolge des mächtigen Längenwachstums der Analarme — das gegenseitige Längenverhältnis zwischen Anal- und Scheitelstäben in sehr erheblichem Grade (vgl. Fig. 13 und 18). — Bei den mit *Echinus*-Samen aus *Arbacia*-Eiern erhaltenen Bastarden zeichnen sich die Kalkstäbe oft durch ihre Dicke aus (Fig. 15, 16); sie sind ferner in späteren Stadien am Scheitel der Larven durch eine mit kräftigen Höckern besetzte Querbrücke miteinander verbunden, wie sie in dieser Form nur bei *Echinus*-Larven vorkommt; denn wenn auch bei *Arbacia*-Larven die Enden der Scheitelstäbe miteinander verbunden sein können, so sind hier doch Länge und Dicke dieser Querbrücke, sowie der Charakter der von ihr ausgehenden Fortsätze anders beschaffen. Wie in diesem Verhalten der Scheitelstäbe eine Beeinflussung von väterlicher Seite vorliegt, so ist auch die Art der Gitterung der Analstäbe dem *Arbacia*-Typus mit seinen unregelmäßigen Lücken zwischen den Hauptstäben verwandt.

DRIESCH hat *Arbacia*-Eier mit Sperma von *Echinus microtuberculatus* befruchtet; die Skeletverhältnisse bei dieser *Echinus*-Art sind von der von mir benutzten wesentlich verschieden; doch findet auch DRIESCH (7, S. 88), daß bei der Bastardlarve väterliche Charaktere im Skelet auftreten, daß »gleichsam ein Kompromiß . . . zwischen dem Skelet der *Arbacia* und dem des *Echinus*« geschlossen wird. Entsprechend dem von *Echinus brevispinosus* verschiedenen Verhalten des Skelets von *Echinus microtuberculatus* ist auch das Skelet dieser Bastarde von den meinen wesentlich verschieden.

Bei den mit *Echinus brevispinosus*-Samen befruchteten *Strongylocentrotus*-Eiern entwickelten sich Scheitelstäbe (Fig. 14) mit zahl-

reicheren und längeren seitlichen Dornen als bei reinen *Strongylocentrotus*-Larven; soweit das Skelet bei den mit *Strongylocentrotus*-Samen befruchteten *Echinus*-Larven studiert werden konnte (Fig. 20), wich es gleichfalls von der gewöhnlichen mütterlichen Form ab. Eine unzweifelhafte Beeinflussung der Skeletbildung von Seite der väterlichen Art konnte jedoch in keiner dieser beiden Bastardarten nachgewiesen werden.

Zusammenfassend läßt sich über das Verhalten des Kalkgerüsts der Bastardlarven aussagen, daß bei ihm zwar die mütterlichen Charaktere überwiegen oder häufiger auftreten, daß es aber auch in einzelnen Fällen zweifellos von väterlicher Seite her beeinflussbar ist. Bastardlarven mit einem Skelet von rein väterlichem Typus konnten nicht gefunden werden; wohl aber ist es zweifellos, daß in manchen Fällen die mütterlichen Charaktere des Skelets mit den väterlichen vermischt, bzw. die ersteren zum Teil — durch den Einfluß des artfremden Samens — verwischt werden.

Die sichere Feststellung der Unterschiede in der Pigmentierungsart der reinen und der Bastardlarven stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Sie wäre in vollem Umfange nur dann möglich, wenn man bei dem Vergleiche der Larven die Zahl, den Pigmentgehalt und die Anordnung der Chromatophoren genau festzustellen im stande wäre. Dies ist aber bei den geringen — wenn überhaupt stets vorhandenen — Unterschieden einer-, und der Variabilität der Pigmentierung anderseits nicht möglich. Dennoch lassen sich einige Unterschiede ermitteln.

Bei *Strongylocentrotus* treten Chromatophoren mit gelbrötlichen Pigmentkörnchen erst im Stadium der Figur 2 und auch da nur vereinzelt am Scheitel und in den Armen auf; im übrigen erscheint der Keim — von einer leichten Gelbfärbung der Innenpartie des Darmrohres abgesehen — farblos. Die Zahl der Farbzellen wächst später erheblich an, bis dieselben im Pluteusstadium die in Figur 4 (in Form von schwarzen Punkten) wiedergegebene Zahl und Verteilung erreichen; am Scheitel der Plutei findet sich — allerdings nicht immer und nur in jenen Fällen, in welchen der Scheitel die der Figur 3 entsprechende Form besitzt — das Pigment in kleineren Massen, aber dichter gehäuft vor, so daß dann diese Larvenregion wie mit Pigmentkörnchen dicht bestäubt aussieht.

Arbacia-Keime der Figur 5 enthalten in den äußeren Zellpartien ihres Ectoderms rötliche Pigmentkörnchen, außerdem große Chromatophoren am Scheitel; später (Fig. 6--8) nimmt die Zahl der Pigment-

körnchen in den einzelnen Ectodermzellen ab, während sich zu den großen Chromatophoren am Scheitel kleinere in den Armen hinzugesellen.

Die Bastardplutei $\frac{\textit{Strongylocentrotus} \text{♀}}{\textit{Arbacia} \text{♂}}$ nun besitzen Pigmentzellen, deren Zahl und Anordnung nicht in ersichtlicher Weise von jener der *Strongylocentrotus*-Plutei abweicht, deren Pigmentkörner aber oft oder stellenweise dunkler, *Arbacia*-Larven entsprechend, gefärbt erscheinen; die in manchen Fällen vorkommende eigenartige diffuse Pigmentierung des Scheitels von *Strongylocentrotus*-Larven konnte bei den Bastarden niemals konstatiert werden. Wenn dieses negative Merkmal, gleich dem früher erwähnten, dem Einflusse des fremdartigen Samens zugeschrieben werden kann, so kann darauf hingewiesen werden, daß für die Pigmentierungsart der gleichen Region (allerdings bei einer andern Art von Bastardlarven) auch eine Beeinflussung in positivem Sinne ermittelt wurde. DRIESCH (8, S. 722) berichtet nämlich, daß sich bei Pluteis der Kombinationen $\frac{\textit{Sphaerechinus} \text{♀}}{\textit{Echinus microtubere.} \text{♂}}$ und $\frac{\textit{Sphaerechinus} \text{♀}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{♂}}$, wenn auch nicht an allen, so doch bei vielen Individuen, die für die rein väterlichen Larven charakteristische Pigmentanhäufung am Scheitel nachweisen lasse. Allerdings sei es möglich, daß sie rein mechanisch dadurch entstanden sei, daß die bei echten *Sphaerechinus*-Pluteis (wegen ihrer besonderen Skeletverhältnisse) eintretende Ectodermdehnung hier unterblieben ist.

Relativ spät treten die Chromatophoren bei *Echinus brevispinosus*-Larven auf; im Stadium der Figur 17 können sie noch ganz fehlen; auch in den späteren Stadien (Fig. 13, 18) sind sie spärlicher als z. B. bei *Strongylocentrotus* über dem Larvenkörper verstreut, bilden keine Anhäufung am Scheitel und ihre Pigmentkörnchen besitzen eine hellere Farbennuance als bei den andern Larven.

Bastarde der Kombination $\frac{\textit{Echinus brevispin.} \text{♀}}{\textit{Arbacia} \text{♂}}$ besaßen noch in späten Stadien keine Pigmentzellen; da von ihnen keine älteren Pluteuslarven herangezüchtet werden konnten, läßt sich auch kein definitives Urteil über ihre Pigmentierungsart fällen, und das gleiche gilt von der Kombination $\frac{\textit{Echinus brevispin.} \text{♀}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{♂}}$. In beiden Fällen entsprach die Pigmentierung in jungen Stadien dem mütterlichen Typus.

Bei der Kombination $\frac{Arbacia \text{ ♀}}{Echinus brevispin. \text{ ♂}}$ fanden sich viele

Larven, deren Pigmentkörnchen heller und deren Pigmentzellen nicht so zahlreich waren als bei reinen *Arbacia*-Zuchten. Die bei *Arbacia* fast stets vorhandene starke Pigmentierung des Scheitels fehlte zu meist. — Bei der Entscheidung der Frage, ob diese Eigentümlichkeiten einem Einflusse von väterlicher Seite her zuzuschreiben sind, hat man aber zu berücksichtigen, daß die Pigmentierung normaler *Arbacia*-Larven eine verschieden starke ist, ja daß sich sogar völlig farblose, albinotische *Arbacia*-Larven vorfinden. Da sich aber diese Albinos sowie die schwach pigmentierten *Arbacia*-Larven ungleich seltener in den Kulturen vorfinden, als jene weniger stark pigmentierten Bastardlarven, so sind diese letzteren nicht auf an und für sich schon schwach pigmentiert gewesene oder pigmentlose *Arbacia*-Eier zurückzuführen, ihre besondere Pigmentierungsart ist vielmehr dem Einflusse des fremdartigen Samens zuzuschreiben.

Bei der großen Ähnlichkeit der Pigmentierung der Larven von *Strongylocentrotus* und von *Echinus brevispinosus* ist es schwer, bei ihren Bastardlarven $\left(\frac{Strongylocentrotus \text{ ♀}}{Echinus brevispin. \text{ ♂}} \right)$ die Elterncharaktere in dieser Hinsicht differenzieren zu wollen. Doch ist es auffällig, daß bei ihnen in dem der Figur 2 entsprechenden Stadium, wenn überhaupt, noch weniger und spärlich pigmentierte Chromatophoren nachzuweisen sind als bei reinen *Strongylocentrotus*-Keimen; die großen, meist runden, gelb-rötlichen Pigmentschollen in Figur 14 entsprechen gleichfalls einem nicht völlig mit *Strongylocentrotus* übereinstimmenden Verhalten; dagegen besaß gerade diese Larve die sonst den Bastarden zumeist fehlende, bei *Strongylocentrotus* aber häufig vorkommende Pigmentanhäufung am Scheitel.

Die geschilderten Verhältnisse lassen sich dahin zusammenfassen, daß die Pigmentierung der Bastarde zwar vorwiegend mütterlichen Charakter trägt, daß sie aber zweifellos von väterlicher Seite her beeinflussbar ist, und auch tatsächlich oft beeinflusst wird.

Gerade bei der Entwicklung der zuletzt erwähnten Bastarde konnte dieser Einfluß an dem eigenartigen Verhalten eines wichtigen Bestandteiles des Eies erkannt werden. Es ist bereits des für das *Strongylocentrotus*-Ei charakteristischen, zur Organogenese in fester Beziehung stehenden Pigmentringes gedacht worden. Während nun das Pigment bei der normalen Entwicklung des Eies in bestimmter Weise gelagert ist, wird die Regelmäßigkeit seiner Verteilung bei

der Entwicklung des bastardierteu Eies sehr häufig gestört. In den älteren Furchungsstadien nämlich findet sich da statt des regelmäßigen Pigmentringes ein unregelmäßig begrenztes Band vor, oder es ist gar das Pigment herdweise über die sonst dem Ringe zugewiesene Zone, und auch darüber hinaus, verteilt¹⁾. Die natürliche Folge davon ist, daß die Lagerung der Pigmentzone an der Blastula von der von BOVERI ermittelten Norm abweicht. Die Isolierung dieser Eier und die Verfolgung ihrer weiteren Entwicklung ergab, daß sie nur in dem Falle zu Pluteis sich entwickelten, wenn die Anordnung der Pigmentmasse am Keime nicht allzusehr von der Norm verschieden war. — Dieses Verhalten des Eipigmentes bei der Bastardentwicklung beweist uns, daß es infolge des Einführens einer artfremden Samenzelle in das Ei zu Störungen in der Verteilung des Eiplasmas auf die einzelnen Furchungszellen, oder zu Störungen im Ablaufe der späteren Furchungsteilungen (die ersten verlaufen normal), mit dem Endresultate einer abnormen Lagerung der verschiedenen Plasmaqualitäten im Keime, kommen kann.

Als genetisch mit dieser Tatsache verwandt ist das bei Bastardierungen so häufige Auftreten von Mißbildungen aufzufassen. Diese werden oft erst in späteren Stadien, als Fehler der Gesamtform oder einzelner Teile der Larven, kenntlich. Manches von dem, was als »Varietät« von normalen Seeigelkeimen oder von Bastarden (im Pluteusstadium) beschrieben wurde, gehört offenbar in diese Kategorie. Die ersten Entwicklungsvorgänge brauchen in diesen Fällen nicht abnorme zu sein, soweit sich dies wenigstens bei der bloßen mikroskopischen Betrachtung feststellen läßt. In andern Fällen aber verlaufen schon die frühen Entwicklungsvorgänge in abnormaler Weise, schon der Furchungsprozeß ist anormal und daher auch die Blastula ungewöhnlich gestaltet. Drei Beispiele solcher abnorm gestalteten Keime führt die Figur 21 vor.

In *a* besitzt die Blastula eine nur gering ausgebildete Ausstülpung, in *b* und *c* relativ sehr große, von dem zumeist normal gestalteten Hauptkörper ausgehende Aussackungen. Diese Bildungen erinnern an die Extraovate, welche J. LOEB dadurch erzeugen konnte, daß er die befruchteten Eier für einige Zeit in verdünntes Seewasser brachte; und wie hierbei die Eimembran platzte, und so dem Extraovat den

¹⁾ Bei der Kombination $\frac{\textit{Strongylocentrotus } \Omega}{\textit{Arbacia } \textit{pust. } \sigma}$ waren derartige Störungen nicht zu beobachten. Es handelt sich also um eine spezifische Einwirkung des *Echinus*-Samens auf das *Strongylocentrotus*-Ei.

Austritt ermöglichte, so läßt sich auch hier nachweisen, daß die Eimembran (*E. M.*) an jener Stelle gerissen ist, an welcher das Extraovot von dem übrigen Blastulakörper abgeht. Wenn in LOEBS Versuchen durch die Änderung der äußeren Verhältnisse eine Veränderung der osmotischen Druckdifferenz zwischen Eiiinhalt und Seewasser gesetzt, und hierdurch die Bildung der Extraovate veranlaßt wurde, so ist es hier wahrscheinlich eine Änderung der inneren Verhältnisse, welche die gleichen Folgen auslöst. Die Einführung der artfremden Samenzelle in das Ei beeinflußt offenbar die Art der Wasserimbibition des

Fig. 21.

Drei abnorm gestaltete, 21 Stunden alte
Keime von *Echinus brevis* sp. ♀;
Strongylocentrotus ♂;
Vergrößerung 150/1. *E. M.* Eimembran.

letzteren — eine Annahme, die, wie erwähnt wurde, auch BOVERI zur Erklärung der Größendifferenz zwischen normal befruchteten und bastardierte Eiern heranzog.

Für die übrigen Formen der Mißbildungen reicht naturgemäß dieser Erklärungsversuch nicht aus. Man kann sich hier nur, mit SEELIGER (26, S. 504), vorstellen, »daß sich die Gattungsscharaktere der Eltern im kindlichen Bastard nicht immer zu einem harmonischen Gesamtbild mischen«, so daß Mißbildungen entstehen müssen.

Die Frage, ob hierbei das Ei oder die fremde Samenzelle die größere Rolle spielt, bleibt dabei offen. Sie ist aber der Prüfung zugänglich. Zu diesem Zwecke habe ich an demselben Tage — also bei gleichen äußeren Verhältnissen — zwei Versuchsreihen angestellt. Bei der einen wurden vier, von vier verschiedenen *Echinus*-Weibchen

stammende Ei-Portionen mit von einem *Strongylocentrotus*-Männchen stammendem Sperma befruchtet. In allen vier Kulturen traten Mißbildungen auf, ohne daß sich jedoch ihre Anzahl in ersichtlichem Grade unterschied. Bei der zweiten Versuchsreihe wurden die Eier eines *Echinus*-Weibchens in fünf Portionen geteilt und jede von ihnen mit Sperma von *Strongylocentrotus* befruchtet — jedoch so, daß zu jeder der fünf Ei-Portionen von je einem andern Männchen stammendes Sperma hinzugesetzt wurde. In dieser Versuchsreihe, bei welcher also die Qualität der Eier dieselbe, die des Samens aber eine differente war, variierte die Zahl der Mißbildungen, und auch ihre Art, in den fünf verschiedenen Kulturen ganz deutlich. Diese beiden Versuchsreihen erlauben wohl den Schluß, daß das Auftreten von Mißbildungen bei Bastardierungsversuchen, was die Zahl und Art dieser Mißbildungen betrifft, weniger, wenn überhaupt, vom Ei, sondern wesentlich von den besonderen individuellen Eigenschaften der in das Ei eingeführten artfremden Samenzelle abhängt¹⁾. Da zum Zustandekommen einer normal gestalteten Bastardlarve offenbar eine harmonische Mischung der Elterneigenschaften notwendig ist, so läßt sich diese Rolle der Samenzelle vielleicht so auffassen, daß gewisse Spermien die Bedingungen zu einer leichten Mischung der Elterneigenschaften in sich tragen, während sie andern fehlen.

Erinnern wir uns an bereits früher Gesagtes, so zeigt es sich, daß mit der Einführung einer artfremden Samenzelle in ein Ei eine ganze Reihe entwicklungsstörender Momente gesetzt werden: Abgesehen von Störungen, die zu einer Verbildung der Formen führen, kann die normale Pigmentverteilung gestört, die Größe der Keime beeinflußt und die Geschwindigkeit der Entwicklung verlangsamt werden. Gewisse Formen der Mißbildungen (Fig. 21), sowie die Beeinflussung der Keimgröße sind vielleicht einer mehr mechanischen Funktion der Samenzelle — einer Änderung der normalen Wasserimbibition des Eies —, andre einer mehr formativen Wirkung derselben zuzuschreiben.

Hinsichtlich der Zahl der primären Mesenchymzellen liegen einander widersprechende Angaben von DRIESCH und BOVERI vor. Von meinen Objekten läßt sich diese Zahl an dem pigmentreichen Ei von *Arbacia pustul.* überhaupt nicht bestimmen; die Zählungen, die ich an den Bastarden der beiden andern Eiarten vornahm, sind nicht zahlreich genug, um mir ein bestimmtes Urteil in dieser Frage zu gestatten.

¹⁾ BOVERI (5, S. 348) wies nach, daß auch der Pigmentgehalt der Larven von der Eigenart der Samenzellen abhängig ist.

Dagegen habe ich einem bisher noch nicht beachteten Punkte mein Augenmerk zugewendet, der Frage nämlich, ob die Bastardierung zu Veränderungen der sichtbaren Zellstruktur führt. Als Vergleichsobjekt hierbei wurden die sehr charakteristischen Zellen am vegetativen Pole der Blastulae gewählt; sie wurden am lebenden Objekte untersucht. Außer der einfachen mikroskopischen Untersuchung derselben am unveränderten Objekte bediente ich mich auch der Methode der vitalen Färbung der Keime mit Neutralrot¹⁾.

Bei *Arbacia pustul.* ist die hellgelbe Grundsubstanz der erwähnten Zellen so sehr mit Pigmentkörnchen durchsetzt, daß sich feinere Details der Struktur nicht wahrnehmen lassen. Die Zellen selbst sind zwar nicht rein kubisch, doch ist die Differenz zwischen ihren Höhen- und Breitendurchmessern keine so bedeutende wie bei den Zellen der zwei andern Seeigelarten, die, schematisch, in Figur 22 dargestellt sind. Die *Strongylocentrotus*-Zelle (a) stellt einen schmalen, hohen Cylinder dar; die sehr regelmäßig, kreisrund erscheinende helle Kernzone liegt unterhalb der Mitte der Zellhöhe, näher der äußeren Zellperipherie; dieser äußere Zellabschnitt enthält zahlreiche, sehr kleine Granula, die bis etwa zur Mitte der Kernzone heraufreichen; der darüber liegende, innere Zellabschnitt besitzt keine Granula, ist stärker lichtbrechend als der äußere, und erscheint hellweiß, glänzend. — Weniger schmal erscheint die *Echinus*-Zelle (b); die große, mehr ovale Kernzone liegt hier etwa in der Mitte der Zellhöhe; auch hier ist der äußere Zellabschnitt, bis in die Region der Kernzone, von Granulis erfüllt, die aber größer als bei *Strongylocentrotus* sind; sehr charakteristisch ist der innere, der Blastulahöhle zugekehrte Zellabschnitt beschaffen: Er erscheint hell und wie aufgebläht, ganz so wie der innere Zellabschnitt einer Darm-Becherzelle.

Bei mit Neutralrot gefärbten Blastulis erscheinen die Kernzonen stets ungefärbt, da es ja ein Charakteristikon der vitalen Färbung ist, daß der Kern von ihr nicht beeinflusst wird. Der übrige Zellleib besitzt bei *Arbacia* eine zarte Rotfärbung; bei Anwendung starker Vergrößerungen erkennt man, daß diese Färbung an die erst mit

Fig. 22.

Schematische Darstellung der Zellart am vegetativen Pol der Blastula von *Strongylocentrotus* (a) und *Echinus brevispinosus* (b).

¹⁾ Betreffs der Methode verweise ich auf meine Arbeiten über vitale Färbung (11, 12).

Neutralrot deutlich sichtbar werdenden Granula gebunden ist, welche in großer Zahl und dicht nebeneinander liegend den äußeren Zellabschnitt (der innere ist bei *Arbacia* nicht genau erkennbar) erfüllen. Diese Granula sind verschieden stark gefärbt — einzelne gar nicht — und verschieden groß. — Die Pigmentkörnehen erscheinen in den gefärbten Zellen dunkler tingiert; dies dürfte aber nur die Folge davon sein, daß man sie jetzt durch ein gefärbtes Medium hindurch betrachtet. — Für uns besonders wichtig ist das Verhalten der *Echinus*-Zellen. Die schon erwähnten Granula ihres äußeren Zellabschnittes ziehen den Farbstoff begierig an, weshalb sie viel deutlicher zu erkennen sind; es zeigt sich jetzt, daß sie ziemlich regelmäßig in Reihen angeordnet sind; sie unterscheiden sich durch ihre Größe von erst durch die Vitalfärbung sichtbar werdenden feinsten Körnchen, welche, als dünne Schicht, die Kernzone umgeben; der innere Zellabschnitt ist granulafrei, diffus, aber sehr gut gefärbt. Hierin liegt ein wesentlicher Unterschied gegenüber den *Strongylocentrotus*-Zellen, bei welchen dieser innere Zellabschnitt entweder ganz farblos bleibt, oder, bei starker Färbung der ganzen Larve, nur einen ganz zarten Farbenton annimmt. Auch die feinen Granula der äußeren Zellpartie sind hier weniger intensiv gefärbt als bei *Echinus*.

Die Zellen der Bastarde weisen nun oft anscheinend rein mütterlichen Typus auf. In jeder Bastardkultur aber lassen sich Keime auffinden, deren Zellen von diesem Typus nach mancher Richtung hin abweichen, so daß man, bei entsprechender Übung, Keime mit derartigen Zellen sicher als Bastardlarven zu diagnostizieren vermag.

Während es bei reinen *Arbacia*-Larven, hauptsächlich infolge ihres reichen Pigmentgehaltes, nicht möglich ist, ein klares Bild jener Zellart zu gewinnen, tritt sie bei der Kombination $\frac{\text{Arbacia } \text{♀}}{\text{Echinus brevispin. } \text{♂}}$ viel deutlicher in die Erscheinung. Die Zellen scheinen höher und schmaler zu sein als bei *Arbacia*; sie besitzen eine hellglänzende Innenzone, die sich aber, im Gegensatze zu jener von *Echinus*, mit Neutralrot nicht färbt.

Dagegen wird bei der Kombination $\frac{\text{Echinus brevispin. } \text{♀}}{\text{Arbacia } \text{♂}}$ das klare Zellbild der reinen *Echinus*-Larve oft ganz erheblich verwischt; die Zellen scheinen niedriger zu sein, mit relativ großer Kernzone; bei Neutralrotfärbung tritt der Gegensatz zwischen Innen- und Außenzone der Zelle weniger deutlich hervor als bei den reinen *Echinus*-Larven.

Ganz ähnlich sind die Differenzen bei den Bastarden $\frac{\textit{Strongyloc.} \text{♀}}{\textit{Arbacia} \text{♂}}$; gegenüber reinen *Strongylocentrotus*-Larven ist das Zellbild hier verschwommen; da die innere Zellpartie weniger hell ist, besteht zwischen ihr und der Außenzone kein so großer Unterschied; die Kernzone scheint kleiner zu sein und tritt weniger deutlich hervor; alles Umstände, die auch die Zellen der Bastarde von der Kombination $\frac{\textit{Strongylocentrotus} \text{♀}}{\textit{Echinus brevispin.} \text{♂}}$ kennzeichnen. — Am deutlichsten waren die Unterschiede bei den Bastarden $\frac{\textit{Echinus brevispin.} \text{♀}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{♂}}$ ausgeprägt; zwar besaßen die Zellen den *Echinus*-Charakter, allein ihre innere, sie bei *Echinus* so sehr den Becherzellen ähnlich machende Zone war schmaler, weniger hell und schleimartig aussehend; dagegen schien die granuliert Zone etwas höher zu sein; mit Neutralrot ließ sich — was besonders auffällig war — die innere Zone nicht in jener Weise färben wie bei reinen *Echinus*-Larven.

Als übereinstimmendes Merkmal dieser Abweichungen vom Typus läßt sich also bei allen Bastard-Kombinationen das feststellen, daß die Zellen viel weniger klar erscheinen, und daß einzelne für die Zellen des mütterlichen Typus charakteristische Merkmale verwischt sind¹⁾. Bei der Subtilität dieser Verhältnisse geht es nicht an, gewisse von diesen Veränderungen direkt als Annäherungen an den Typus der väterlichen Zellart hinzustellen, obzwar manches dafür zu sprechen scheint. Im Prinzip genügt es, festzustellen, daß durch die Bastardierung auch die Morphologie der Zellen des Keimes eine Veränderung erfahren kann.

Die voranstehend mitgeteilten Tatsachen zeigen, daß der Entwicklungsgang bastardierter Eier durchaus nicht als ein dem mütterlichen Typus völlig analoger aufgefaßt werden kann. Es ist die Vorstellung, daß das Ei für die Entwicklung alles Baumaterial liefert und den Typus des neuen Organismus allein bestimmt, während die Samenzelle nur den Anstoß zur Teilung und Differenzierung dieses Materials beistellt, nicht gestattet. Die Samenzelle übt vielmehr von allem Anfange der Entwicklung an einen wesentlichen Einfluß auf die Art

¹⁾ Inwieweit sich diese an der lebenden Zelle festgestellten Veränderungen auch am fixierten und gefärbten Objekte ausprägen, muß noch durch besondere Untersuchungen festgestellt werden.

der Entwicklung aus. Dieser Einfluß kann sich auf die Geschwindigkeit des Entwicklungsganges, auf die Form und Größe des Keimes, auf seinen Pigmentgehalt, sein Kalkgerüst und auch auf die Struktur seiner Zellen erstrecken. Dies ist freilich nicht in jedem Falle und nicht nach jeder dieser Richtungen hin deutlich nachzuweisen; ja es kommen in Bastardkulturen zweifellos Larven vor, deren Aussehen in keinem wesentlichen Punkte vom rein mütterlichen Typus abweicht. Der für andre Fälle sicher erwiesene Einfluß der Samenzelle auf die Entwicklung zwingt uns jedoch, diese anscheinend rein mütterlichen Keime als solche aufzufassen, bei denen die väterlichen Charaktere zwar larviert, aber jedenfalls vorhanden sind. Mit Recht führt WEISMANN diese Erscheinung auf »scheinbar« elterliche (»pseudo-monogene«) Vererbung zurück, und weist anderseits SEELIGER (25, S. 219) darauf hin, daß Larven von rein väterlichem Typus schon deshalb auch mütterliche Charaktere, wenn auch larviert, in sich bergen müssen, weil ja das Ei die Grundlage für ihre gesamte protoplasmatische Substanz darstellt.

Die Verteilung und Mischung der einzelnen elterlichen Charaktere ist eine nach ihrer Art und Zahl (oder vielleicht genauer: nach der Art ihres sichtbaren Hervortretens) außerordentlich verschiedene, und, wie HERBSTS soeben erschienene wertvolle Untersuchungen lehren, auch durch äußere Einflüsse (Temperatur) beeinflussbare.

Die hier erörterten Wirkungen der männlichen Geschlechtszelle lassen sich, so lange man sie nicht genauer analysieren kann, vielleicht am besten als formative und einfach mechanische unterscheiden. Zu den letzteren wäre die Verlangsamung der Entwicklung, die Beeinflussung der Größe der Keime, die Störung in der normalen Pigment-Verteilung (bei *Strongylocentrotus* ♀ - Bastarden) und die Entstehung der speziell geschilderten Mißbildungen (Fig. 21) zu zählen; Änderungen der Wasserimbibition des Eies, Widerstände bei der Tätigkeit des Centrosoms sind vielleicht ihre speziellen Ursachen. Auch die geschilderte Beeinflussung der Blastulazellen beruht vielleicht auf einer Störung in der normalen Wasserimbibition, da auch durch sie jenes Undeutlichwerden des normalen Zellbildes verursacht werden könnte. — Alle übrigen Wirkungen können als direkt formative angesehen werden, deren Resultat auf viel komplizierterem Wege erreicht wird, als jenes der ersterwähnten Wirkungsweisen.

Da eine formative Wirkung der männlichen Geschlechtszelle feststeht, und, da die letztere wesentlich als Kernmasse in die Be-

fruchtung eingeht, so liegt es nahe, verallgemeinernd zu sagen, daß der Kern instande sei, die seiner Struktur eigentümlichen Charaktere dem sich entwickelnden Organismus aufzuprägen, während das Ei-plasma nur »das Material für die formende Tätigkeit der sich gleichwertig gegenüberstehenden männlichen und weiblichen Kernanteile« darstelle (5, S. 360). Daraus ergäbe sich dann die Folgerung den Kern als den alleinigen Träger der Vererbungssubstanz aufzufassen.

In weiterer Verfolgung dieser Annahme ist man bekanntlich so weit gegangen, auch die einzelnen Chromosomen als mit wichtigen qualitativen Erbverschiedenheiten ausgestattete Individuen hinzustellen. Wie wenig Berechtigung hierzu vorliegt, hat FICK in einer jüngst erschienenen Kritik der einschlägigen Literatur gezeigt und mit Recht betont, daß »die Frage der Mitwirkung des Protoplasmas bei der Vererbung . . . auch heute noch eine offene« ist¹⁾.

Es besteht bei dieser Sachlage kein zureichender Grund, die Vorgänge bei der Befruchtung und die Resultate der Bastardierungsversuche als Tatsachen aufzufassen, welche gegen jene Anschauungen über die Rolle des Protoplasmas bei der Entwicklung sprechen, zu denen uns neuere Versuche hindrängen. Diese Versuche sprechen unzweideutig dafür, daß zum mindesten gewisse Organdifferenzierungen wesentlich vom Protoplasma des Eies abhängig sind. Sicherlich fällt dem Kerne eine sehr wichtige, zum Teil sogar die entscheidende Rolle bei der Vererbung und bei der Differenzierung des Baumaterials für den embryonalen Körper zu. Da die Annahme nicht notwendig erscheint und es auch noch fraglich ist, ob diese Rolle speziell nur an die Chromosomen gebunden ist, so ist es richtiger, diese Funktion dem Kerne zuzuschreiben, weil und insofern er lebendes Protoplasma besitzt. In dem gleichen Sinne aber muß dann auch dem Ei-Protoplasma die Rolle als eines Trägers von Vererbungssubstanzen zugestanden werden, wenn diese Rolle auch, dem Kerne gegenüber, eine beschränkte ist, und ihrem Grade nach bei verschiedenen Arten sehr verschieden stark ausgebildet sein dürfte.

Prag, anatomisches Institut.

¹⁾ Schon die Berücksichtigung der morphologischen Verhältnisse bei den verschiedenen Arten des Befruchtungsvorganges hätte das einseitige Hervorheben der Bedeutung des Kernes für die Vererbung verhindern sollen. Ich selbst habe diese Anschauung nie geteilt und dem auch in einem kleinen Aufsatz über Befruchtung und Vererbung (Prager medizin. Wochenschr. 28. 1903) Ausdruck gegeben.

Literaturverzeichnis.

- 1) BORN, J., Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anurenarten. Arch. f. Phys. 32. 1883.
- 2) ——— Über die inneren Vorgänge bei der Bastardbefruchtung der Froschier. Breslauer ärztl. Zeitschr. 1884.
- 3) BOVERI, TH., Ein geschlechtlich erzeugter Organismus ohne mütterliche Eigenschaften. Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. 1889.
- 4) ——— Über die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigeleier und über die Möglichkeit ihrer Bastardierung. Arch. f. Entw.-Mech. 2. 1895.
- 5) ——— Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech. 16. 1903.
- 6) ——— Die Polarität von Ovocyte, Ei und Larve von *Strongylocentrotus lividus*. Zoolog. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. 14. 1901.
- 7) DRIESCH, H., Über rein mütterliche Charaktere an Bastardlarven von Echinodermen. Arch. f. Entw.-Mech. 7. 1898.
- 8) ——— Über Seeigelbastarde. Ebendas. 16. 1903.
- 9) DUNGERN, E., Neue Versuche zur Physiologie der Befruchtung. Zeitschr. f. allgem. Phys. 1. 1902.
- 10) FICK, R., Betrachtungen über die Chromosomen, ihre Individualität, Reduktion und Vererbung. Arch. f. Anatomie. 1905. Supplem.
- 11) FISCHEL, A., Über vitale Färbung von Echinodermeneiern während ihrer Entwicklung. Anatom. Hefte. H. 37. 1899.
- 12) ——— Untersuchungen über vitale Färbung. Ebendas. H. 52. 1901.
- 13) ——— Entwicklung und Organdifferenzierung. Arch. f. Entwickl.-Mech. 15. 1903.
- 14) GARBOWSKI, T., Über die Polarität des Seeigeleies. Bull. de l'acad. de sc. de Cracovie. 1905.
- 15) GODLEWSKI, E., Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie. Arch. f. Entw.-Mech. 20. 1906.
- 16) HAMMAR, J. A., Über einen primären Zusammenhang zwischen den Furchungszellen eines Seeigeleies. Arch. f. mikrosk. Anat. 47. 1896.
- 17) ——— Über eine allgemein vorkommende primäre Protoplasmaverbindung zwischen den Blastomeren. Ebendas. 49. 1897.
- 18) ——— Ist die Verbindung zwischen den Blastomeren wirklich protoplasmatisch oder primär? Ebendas. 55. 1900.
- 19) HERBST, C., Vererbungsstudien. I—III. Arch. f. Entw.-Mech. 21. 1906.
- 20) HERTWIG, O. und R., Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 19. 1886.
- 21) LOEB, J., Beiträge zur Entwicklungsmechanik der aus einem Ei entstandenen Doppelbildungen. Arch. f. Entw.-Mech. 1. 1895.
- 22) MORGAN, T. H., The fertilization of non-nucleated fragments of Echinoderm eggs. Arch. f. Entw.-Mech. 2. 1895.
- 23) PETER, K., Der Grad der Beschleunigung tierischer Entwicklung durch erhöhte Temperatur. Arch. f. Entw.-Mech. 20. 1905.
- 24) PFLÜGER, C. W., Die Bastarderzeugung bei den Batrachiern. Arch. f. Phys. 29. 1882.

- 25) PFLÜGER, C. W., Untersuchungen über Bastardierung der anuren Batrachier und die Prinzipien der Zeugung. Ebendas. 32. 1883.
- 26) SEELIGER, O., Gibt es geschlechtlich erzeugte Organismen ohne mütterliche Eigenschaften? Arch. f. Entw.-Mech. 1. 1894.
- 27) ——— Bemerkungen über Bastardlarven der Seeigel. Ebendas. 3. 1896.
- 28) STEINBRÜCK, H., Über die Bastardbildung bei *Strongylocentrotus lividus* ♂ und *Sphaerechinus granularis* ♀. Arch. f. Entw.-Mech. 14. 1902.
- 29) VERNON, H. M., Cross fertilization among Echinoids. Arch. f. Entw.-Mech. 9. 1900.