ÜBER

VITALE FÄRBUNG VON ECHINODERMENEIERN

WÄHREND

IHRER ENTWICKELUNG.

VON

PRIVATDOZENT ALFRED FISCHEL,
PROSEKTOR AM DEUTSCHEN ANATOMISCHEN INSTITUTE IN PRAG.

MIT UNTERSTÜTZUNG DER GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DEUTSCHER
WISSENSCHAFT, KUNST UND LITTERATUR IN BÖHMEN.

Mit 18 Abbildungen auf Tafel XXXIV/XXXV.

Während meines letzten Aufenthaltes in der zoologischen Station in Neapel (Februar—April 1898) habe ich einen Teil der mir zur Verfügung stehenden Zeit dazu benützt, befruchtete Eier verschiedener Seetiere mit einer Reihe von Farbstoffen „vital“ zu färben und dann während ihrer weiteren Entwicklung zu beobachten. Die Fragestellung, die mich zu diesen Versuchen veranlasste, war folgende: Gelingt es mit Hülfe von Farbstoffen in der lebenden, befruchteten Eizelle distinkte Elemente des Zellleibes oder vielleicht auch — nach anderweitig bekannten Versuchen war dies letztere allerdings unwahrscheinlich — des Zellkernes, ohne Schädigung der Fortentwicklung zu färben? Und wenn dies der Fall ist, wie verhalten sich diese distinkt gefärbten Elemente bei der Furchung und weiteren Differenzierung des Eies — werden sie auf alle aus der befruchteten Eizelle hervorgehenden Zellen gleichmässig verteilt oder aber während der Furchung nur auf ganz bestimmte Zellen und in ganz bestimmter Weise hin dirigiert?

Hinsichtlich des letzteren Punktes galt es mir, im Besonderen, als erwünschtes Ziel, vielleicht ermitteln zu können, dass während der Furchung eine Verteilung bestimmter Elemente des Eies auf ganz bestimmte Zellen, also gewissermassen eine Teilauslese der Plasmaarten der Eizelle statthat. Ich brauche wohl nicht erst näher auszuführen, wie wichtig ein solcher Nachweis für das Verständnis des ganzen Entwicklungs geschehens wäre — wenn er gelänge.

Die Zeit, die ich diesen Versuchen widmen konnte, war weit kürzer als notwendig ist, um die gestellten Fragen erschöpfend zu behandeln. Was mir bisher auf diesem Wege zu ermitteln gelang, will ich im Nachfolgenden mitteilen, indem ich vorher einiges aus der hierher gehörigen Litteratur anführe.

Versuche, die Zelle während ihrer Lebensthätigkeit, oder, wie man sich ausdrückt, „vital“ zu färben, reichen weit zurück; ähnliche Experimente, die von Belchier und Duhamel, sind eigentlich der Ausgangspunkt der histologischen Färbetechnik überhaupt. Durch die von reichen Erfolgen begleitete Ausbildung der Färbemethoden fixierter und gehärteter Gewebe eine Zeitlang in den Hintergrund gedrängt, hat die Methode der vitalen Färbung später wieder von Seite der Physiologen erspriessliche Anwendung gefunden: Heidenhain, Chrzonschtzewsky-Wittich und zahlreiche Andere haben mit ihrer Hülfe wichtige physiologische Thatsachen ermittelt. — Auch die Histologen hat die Erkenntnis, dass man mit Hülfe der Färbung gehärteter Gewebe allein nicht werde die feineren strukturellen Eigentümlichkeiten und den Bau der Zelle ermitteln können, zu wiederholten Versuchen mit vitaler Färbung veranlasst und insbesondere Ehrlich hat diese Methode in zielbewusster Weise vervollkommenet. Von der Besprechung der zahlreichen hierher gehörigen Arbeiten sehe ich unter Hinweis auf die Litteraturangaben bei S. Mayer, Galeotti und Przesmycki ab, indem ich nur die allgemein wichtigen Resultate derselben hervorhebe.

Fast alle Autoren stimmen darin überein, dass vitale Färbung nur an gewissen, meist als Granula bezeichneten Elementen des Zellleibes zu erzielen sei; der Kern dagegen färbe sich im Leben niemals, sondern nur nach (oder beim) Absterben der Zelle. Selbst die Färbung der Elemente des Zellleibes wird durchaus nicht übereinstimmend als, dem Wortsinne nach, „vitale“ d. h. lebenden Teilen der Zelle zukommende angesehen; ja, Galeotti meint sogar, dass lebende Zellelemente

sich gegen die Aufnahme von Farbstoffen wehren und nur tote oder wenig widerstandsfähige die Farbe annehmen.

In völligem Gegensatze zu diesen Angaben stehen die von Brandt und Przesmycki. Ersterer erzielte bei lebenden Protozoen mit Hämatoxylin eine Färbung von Kernelementen und letzterer will bei zahlreichen Proto- und Metazoen vitale Färbung des Kernes sogar während seiner Teilung, also in einer seiner wichtigsten Funktionen, erhalten haben. Auch Bethe giebt an, dass sich mit Methylenblau die Kerne in den lebenden Zellen der Ruderplättchen der Ctenophoren färben.

Vitale Färbungen sind jedoch nicht allein an tierischen Zellen versucht worden. Pfeffer verdanken wir eine grosse und sorgfältige Untersuchung über vitale Färbung der Pflanzenzelle. Seine Resultate stimmen mit den zuerst erwähnten überein: Auch er spricht sich gegen eine (vitale) Färbung des Zellkernes aus. Pfeffer erörtert ferner auch in gründlicher Weise die physikalischen und chemischen Ursachen — soweit sie uns bis jetzt ergründbar — des Zustandekommens der Färbung überhaupt.

So zahlreich nun auch die Versuche mit vitaler Färbung an den Zellen völlig entwickelter Tiere und Pflanzen sind, so wenige Angaben liegen hinsichtlich der Organismen während ihrer Entwicklung vor. Ich habe nur folgende ausfindig machen können:

In seiner bekannten Zusammenfassung der gebräuchlichen histologischen Färbemethoden giebt Gierke an, dass Lord S. G. Osborne Weizen in Karminlösung wachsen liess und dann die Gewebe gefärbt fand. Er stellte sich damit im Gegensatz zu Hartig, einem der Ersten, die Färbemethoden überhaupt anwendeten. Denn dieser behauptete, dass Karminfärbung nur dann eintrete, wenn das zu tingierende Gewebe abgestorben sei; und in einer späteren Arbeit behauptet Hartig niemals Färbung erhalten zu haben, wenn er Wasseralgen, Charen u. a. wochenlang in Karminlösung wachsen liess, während die Färbung sofort nach ihrem Tode eintrat.

O. Schultze setzte Larven von Fröschen und Tritonen in schwache Methylenblaulösung und beobachtete gefärbte Granula in den verschiedensten Zellen¹⁾.

S. Mayer. hat ähnliche mit Methylenblau und Neutralrot erzielte Beobachtungen mitgeteilt.

P. Ehrlich setzte keimende Pflanzen und Kaulquappen in Neutralrot und erhielt gleichfalls Granulafärbung.

Mitrophanows Angaben sind die für unser Thema wichtigsten. Er findet (nach Untersuchungen mit Methylenblau): „In den Ovarien von *Periplaneta* sind alle in Entwicklung begriffenen Eier von blauen Körnchen eingehüllt, die größeren derselben sind an den Grenzen der Eikammern angesammelt. Ähnliche Körner finden sich auch in entwickelten Eiern zwischen den Dotterelementen bei *Periplaneta*, einer Spinne und beim Frosche. Diese Wahrnehmung wird bestätigt durch A. Kowalewsky an den in Entstehung begriffenen Geschlechtsorganen von Raupen“. Mitrophanow vindiziert solchen Beobachtungen eine grosse Bedeutung. Systematische Versuche mit vitaler Färbung der Eizelle während ihrer weiteren Entwicklung hat jedoch auch er nicht angestellt, ihre Wichtigkeit aber, gleichwie auch Kowalewsky, hervorgehoben.²⁾

Eigene Untersuchungen.

Für meine Versuche verwendete ich zuerst Eier von *Echinus microtuberculatus*, *Sphaerechinus granularis*, *Cione intestinalis*, *Phallusia mammillata*, einige Male auch von

1) Bezüglich der Versuche O. Hertwigs, Drieschs und Herbsts mit Methylenblau, bzw. Fuchsin verweise ich auf die spätere Besprechung dieser Farbstoffe.

2) Auf der 69. Vers. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte im Jahre 1897, deren Verhandlungen vor kurzem erschienen sind, hat B. Solger (vorläufig) über vitale Farbstoffimprägnationen mit Methylenblau und Neutralrot (an wirbellosen Tieren) berichtet, nähere Angaben über die Einwirkung auf sich entwickelnde Eier jedoch nicht gemacht.

Cestus Veneris. Es zeigte sich bald, dass die besten Resultate die Eier der ersterwähnten Art lieferten und auf sie beziehen sich auch alle nachfolgenden Angaben.

Die Eier wurden stets erst in dem gefärbten Meerwasser befruchtet. Zur Färbung verwandte ich mineralische und Pflanzenfarbstoffe, sowie einige Farblösungen. Es waren insgesamt 26 und zwar folgende:

I.¹⁾ Anilinderivate.

Oxydationsprodukte: Indulin, Nigrosin, Methylenblau, Thionin.

Toluidinoxydationsprodukte: Safranin, Neutralrot.

Rosaniline: Fuchsin, Magentarot, Rubin S.

Rosanilinderivate: Dahlia, Gentianaviolett, Methylviolett, Methylgrün, Toluidinblau.

Azofarben: Bismarckbraun.

Oxyazofarben: Bordeaux-Rot.

Phtaleine: Eosin, Cyanin.

II. Anthrazene.

Alizarin.

III. Pflanzliche Farbstoffe.

Orcein. Orseille.

IV. Farblösungen.

Karmalaun, Hämatoxylin(Böhmer), Häkalaun, Hämacalcium, Biondisches Gemisch.

Diese Farben wurden entweder direkt in Meerwasser gelöst oder, wenn dies nicht möglich war, als (anderweitig bereitete) Lösung in Meerwasser filtriert. Der Konzentrationsgrad der angewandten Lösungen im Meerwasser war stets ein äusserst geringer, oft wohl kaum $\frac{1}{100000}$ betragender. Genauere, pro-

¹⁾ Geordnet nach *Traité des methodes techniques* p. Bolles Lee et F. Henneguy.

zentische Angaben unterlasse ich: Die Konzentrationen wechseln bei der vitalen Färbung nicht nur nach dem verschiedenen Farbstoffe sondern auch nach dem zu färbenden Objekte ausserordentlich und müssen daher von Fall zu Fall bestimmt werden. In der Regel verwendete ich mindestens zwei verschiedene Lösungen eines und desselben Farbstoffes, eine schwächere, bei welcher der Ton der betreffenden Farbe eben noch erkennbar war und eine stärkere, bei welcher die Farbe klar und deutlich hervortrat.

Die zahlreichsten Versuche stellte ich mit dem Neutralrot an, von dem ich überhaupt ausging und das auch die besten Resultate lieferte. Mit diesen will ich auch die Beschreibung beginnen und dann erst die anderen Farbstoffe in der oben angegebenen Reihenfolge besprechen.

Versuche mit Neutralrot.

Das Neutralrot ist von Ehrlich in die histologische Technik eingeführt worden. Es ist das salzsaure Salz einer Farbbase, das sich in reinem Wasser mit fuchsinroter Farbe löst, welche aber in schwach alkalischer Lösung gelbborane wird. Ehrlich brachte Kaulquappen in Lösungen von 1:10 bis 100 000 — nach kurzer Zeit schon nahmen sie soviel von dem Farbstoffe auf, dass alle Gewebe dunkelrot waren. Der Farbstoff zeigte sich in den Zellen an Körnchen gebunden, welche zum grossen Teile vorgebildet sind, zum Teile aber auch Farbstoffniederschläge sein können — je nach der Art, Form und Lagerung der Körnchen soll sich dies entscheiden lassen. Auch an keimenden Pflanzen erhielt Ehrlich typische Granulafärbung.

Seitdem haben S. Mayer, Galeotti, Przesmycki, Prowasek, Solger u. a. sowohl an Zellen von Metazoen als auch an Protozoen mit Neutralrot Granulafärbung erzielt. S. Mayer fand ausserdem, dass sich mit diesem Farbstoffe degenerierende Nervenfasern sehr leicht nachweisen lassen;

dass bei Atrophie der Fettzellen die durch chemische Umwandlung des Fettes hierbei erzeugten Produkte sich intensiv färben und dass endlich — bei Säugetieren — nach dem Tode an vielen Organen eine Umwandlung der roten in eine gelbe Farbe stattfindet.

Eine Hetachromasie der Granula verschiedener Zellenstrata bei Wirbellosen hat Solger beobachtet.

Sehr auffällig sind die Angaben Przesmyckis, der mit Neutralrot Kernfärbung an lebenden Tieren erhalten haben will. —

Alle Autoren, die mit Neutralrot gearbeitet haben, stimmen mit Ehrlich darin überein, dass es eine geradezu maximale Verwandtschaft zu der Mehrzahl der Granula besitze. Diese Thatsache, die auch für die Färbung der Eizellen gilt, ist für die nachfolgenden Angaben von Wichtigkeit. Nur bei Anwendung entsprechend stark verdünnter Lösungen kann man die zu schildernden Bilder in klarer Form erhalten; bei zu starken Lösungen aber erhält man nur unreine Färbungen. Die Lösungen von Neutralrot, die ich benützte, waren dementsprechend sehr schwach; die schwächere unterschied sich kaum merklich von ungefärbtem Meerwasser, die stärkere hatte nur einen schwach rötlichen Ton.

Befruchtet man nun Eier von *Echinus microtuberculatus* in diesen Lösungen, so zeigt sich folgendes:

In der schwächeren Lösung bleiben die Eier in der Regel während der Befruchtung und zumeist auch während der ersten beiden Furchungen ganz ungefärbt und erst dann tritt Körnchenfärbung und -bewegung in der weiter unten zu schildern Form auf. Nur diejenigen Eier, welche — gefurcht oder ungefurcht — bald in der Lösung abstarben, wiesen eine und zwar ganz diffuse Färbung des Plasmas auf.

In der stärkeren Lösung dagegen beobachtet man an den völlig normal erscheinenden und sich weiter entwickelnden Eiern sehr bald einen schwach rötlich gefärbten, zarten Hof in einiger

Entfernung um den als hellen Kreis im Ei sichtbaren Kern. Allmählich treten in diesem Hofe ganz feine, schwach rötlich gefärbte, runde oder stäbchenförmige Körnchen auf; sie werden immer deutlicher und bilden dann einen Körnchenring innerhalb der Eizelle. An dieser letzteren können wir nunmehr drei Zonen unterscheiden (Figur 1): Eine periphere, hellgelbe, in der keine Körnchen liegen; dann eine mittlere, welche die rot gefärbten Körnchen enthält und eine centrale, um den Kern befindliche, gleich der peripherischen, helle Zone. Die Körnchen in der mittleren Zone liegen zwischen den Strahlen des Protoplasma anscheinend in ziemlich regelmässiger Anordnung. Nach einiger Zeit schwindet — wie bekannt — die Strahlung; nunmehr beginnen die Körnchen auch in der centralen, hellen Zone zu erscheinen, sodass die Farbendifferenz zwischen ihr und der mittleren schwindet. Dann treten die Körnchen auch in der peripherischen Zone auf. Es erscheint daher nach einiger Zeit die ganze Eizelle — mit Ausnahme ihres dem Kerne entsprechenden Bezirkes — völlig mit Körnchen erfüllt. Diese Durchsetzung der ganzen Zelle mit Körnchen ist übrigens in diesem Stadium nicht immer so deutlich entwickelt, wie in späteren gleichartigen Stadien (Figur 6 und 11) — Ruhestadium der Zelle — oder sie geht sehr bald in das nächstfolgende Bild über.

Die befruchtete Eizelle tritt jetzt in das erste Furchungsstadium. Die Vorgänge, die sich hierbei, sowie während der späteren Teilungen der einzelnen Furchungszellen, am lebenden Objekte beobachten lassen, sind, wie bekannt, folgende: Es bildet sich wiederum ein deutliches Strahlensystem aus; die Strahlen laufen radiär gegen einen hellen, dem Kerne entsprechenden Fleck in der Mitte der Zelle hin. Dieser helle Fleck wird später durch Streckung in der einen Achse mehr elliptisch. Gleichzeitig bilden sich jetzt zwei Strahlensysteme, welche je gegen die beiden Endpunkte der langen Achse des elliptischen hellen Hofes hin-

strahlen. Diese Endpunkte treten später als helle Kreise deutlicher hervor, sodass sie samt dem sie verbindenden Zwischenstücke die bekannte hantelförmige Figur bilden. Hierauf kommt es zur Einschnürung und Teilung in die beiden Tochterzellen.

Mit allen diesen Vorgängen sind nun parallel einhergehende Veränderungen in der Art der Anordnung der gefärbten Körnchen verbunden. Sobald die Zelle zur Teilung sich anschickt und ein Strahlensystem deutlich wird, schwinden die bis dahin, wie oben ausgeführt wurde, in der ganzen Eizelle unregelmässig verstreuten Körnchen, in der Peripherie. Sie rücken zwischen den Strahlen gegen das Centrum vor, bis sie endlich rings um den dem Kerne entsprechendem hellen centralen Fleck einen schönen roten Ring bilden. Eine, im Gegensatze zu der früheren regellosen Anordnung, mehr geordnete Stellung der Körnchen innerhalb dieses Ringes ist schon durch ihre Lage zwischen den, in fast gleichen Abständen von einander zum Kerne hinzielenden Strahlen gegeben. Innerhalb dieser Räume zwischen den Strahlen aber scheinen sie, soweit sich dies überhaupt bei so minutiösen Verhältnissen feststellen lässt, ebenfalls ziemlich geordnet in Reihen neben einander zu stehen — wenigstens bei Einstellung des Mikroskopes auf eine und dieselbe Ebene. Jedenfalls gewähren — wenn die Färbung gelungen ist — die Eier in diesen (und auch in den nächsten gleichartigen) Stadien ein ausserordentlich schönes Bild: Der helle Kernkreis in der Mitte der Zelle ist von einem schönen, regelmässigen, aus Körnchen bestehenden roten Kreise umgeben, dessen Farbe sich scharf von dem centralen hellen Kreise und der hellgelben peripherischen Zone des Zelleibes abhebt (vgl. Figg. 2, 7, 12 und 14), welche in diesem, wie auch in den folgenden Stadien, zwar auch einige, aber gegenüber den um den Kern angehäuften, verschwindend wenige Körnchen aufweist.

Aus diesem regelmässigen Körnchenkreise bildet sich nun allmählich, gleichwie aus dem Kernfleck, eine elliptische Figur

(Figur 3), deren Achsen völlig mit denen der elliptischen Kernfigur zusammenfallen: Es ist also die Körnchenmasse der Formänderung des Kernes ganz symmetrisch gefolgt. Dieser Parallelismus in der Gesamtform der Körnchen — und der Kernfigur lässt sich nun auch weiterhin während aller Stadien der Kernteilung klar nachweisen: Die elliptische Körnchenmasse streckt sich immer mehr in die Länge; an den Endpunkten der langen Achse der Ellipse sammeln sich nach einiger Zeit mehr Körnchen an und bilden je eine regelmässige Kreisfigur — auch die Körnchenmasse bildet also jetzt, wie der Kern, eine hantelförmige Figur (Fig. 4), wenn auch die Einschnitte zwischen dem Hantelstiele und den Hantelkugeln, infolge der im Verhältnisse zur Länge bedeutenden Breite der Körnchenmasse, weniger scharf hervortreten, wie an der Hantelfigur des Kernes.

Sehr interessant sind die Bewegungen der Körnchen bei der nun erfolgenden Durchschnürung der Zelle. Sowie die Teilungsfurche an der Peripherie der Mutterzelle erscheint, rücken sie von der Mitte des Hantelstieles gegen die beiden Kugeln der Hantelfigur hin ab (Figur 5); so wird allmählich der mittlere Abschnitt des Hantelstiels frei von dem ihn früher umhüllenden Körnchenmantel; und die Furche, die gegen ihn hin die Zelle durchschneidet, durchsetzt daher eine von Körnchen freie Zone — d. h. also, die Körnchen rücken von der Teilungsebene der Zellen ab. Für die Erklärung der Körnchenbewegung überhaupt ist es, wie ich gleich hier betonen möchte, von Wichtigkeit, dass dieses Abrücken der Körnchen durchaus nicht immer zuerst auf jener Seite bemerkbar wird, auf der die Teilungsfurche auch zuerst erscheint oder tiefer einschneidet. Wiederholt habe ich beobachtet, dass die Körnchen zuerst auf jener Seite von der Teilungsebene abrückten, auf der die Durchschnürungsfurche entweder noch nicht sichtbar war oder noch nicht so tief einschneitt, wie auf der anderen Seite der Zelle.

Die geschilderte Anordnung der Körnchen (Fig. 5) erhält sich noch einige Zeit nach erfolgter Teilung in den entstandenen beiden Tochterzellen. Solange noch in jeder von beiden die Reste des hellen Hantelstiels sichtbar bleiben, solange bleibt auch der gegen die Teilungsebene gerichtete Teil der Zelle körnchenfrei und es hat daher in beiden Tochterzellen die Körnchenmasse die Form eines gegen die Trennungsebene offenen Halb- (oder richtiger Dreiviertel-) kreises, wie dies (allerdings nicht von diesem, sondern vom nächstfolgenden Furchungsstadium) Figur 10 wiedergibt.

Dieses Stadium geht rasch vorüber; die Körnchen rücken auch in das bisher von ihnen freie Zellgebiet, die Körnchenfigur wird daher zu einem Kreise geschlossen und es resultiert somit wiederum das Bild, das den Beginn der Zellteilung einleitete und das Figur 2 wiedergibt.

Gleich darauf tritt jede der entstandenen Tochterzellen in das Ruhestadium, die Pause vor der nächsten Furchung, ein; die Strahlung des Plasma verschwindet, gleichzeitig damit geben die Körnchen ihre kreisförmige Anordnung um den Kern auf-rücken in alle Teile der Zelle und erfüllen sie nunmehr völlig und in regelloser Anordnung (Fig. 6). Diese Anordnung der Körnchen ist charakteristisch für das Ruhestadium der Zelle.

Sobald aber die neue Teilung einsetzt, wiederholt sich das ganze Spiel der Körnchenbewegung von neuem: Die in der ganzen Blastomere regellos zerstreuten Körnchen strömen gegen den Kern und bilden um ihn einen roten Ring (Figg. 7, 12 u. 14); dieser wird später zu einer Ellipse (Figg. 8 und 13), zur Hantelfigur (Fig. 9); bei beginnender Durchschnürung strömen die Körnchen wiederum von der Teilungsebene weg und bilden in den neuen Blastomeren zunächst einen offenen Ring (Fig. 10), der sich rasch schliesst. Sobald die neuentstandenen Blastomeren in das Ruhestadium treten, verschwindet die centrale,

regelmässige Anordnung, sie erfüllen jetzt wieder die ruhenden Tochterzellen ebenso vollständig und regellos, wie sie die ruhenden Mutterzellen erfüllten (Fig. 11).

Solange die Blastomeren eine gewisse Grösse besitzen, kann man die geschilderten Bewegungen der Körnchen deutlich nachweisen. Sobald aber in späteren Stadien die Furchungszellen klein geworden sind, werden auch die Körnchenfiguren kleiner und sind daher weniger in die Augen fallend. Es scheint, dass dann die Körnchen auch weit näher um den Kern gelagert sind als in den früheren Stadien. Abgesehen von der Kleinheit der Figuren tritt aber auch ihr Bild deshalb weniger scharf hervor, weil jetzt weit weniger Körnchen in den einzelnen Zellen vorhanden sind als zu Anfang des Furchungsprozesses, eine Thatsache, deren Bedeutung gleich näher erörtert werden soll.

Wir haben uns bei Beginn unserer Betrachtung zunächst die Frage vorgelegt, ob es überhaupt gelingt mit Farbstoffen granuläre Färbung in der Eizelle und ihren Abkömmlingen zu erhalten. Es gelingt dies, wie wir sahen, sehr gut mit Neutralrot. Die weitere Frage war nun die, ob diese gefärbten Elemente in bestimmter Weise auf die einzelnen während der Furchung entstandenen Zellen verteilt werden. Hier lässt sich zunächst konstatieren, dass die gefärbten Elemente der Eizelle nicht vielleicht nur auf ganz bestimmte Zellen verteilt werden. Sie lassen sich vielmehr später in allen, sowohl den grossen wie den kleinen (Fig. 15) Furchungszellen¹⁾ deutlich nachweisen. Wir müssen demnach folgern, dass während der Furchung keine Auslese der Körnchen für nur gewisse Furchungszellen stattfindet, dass sie vielmehr gleichmässig auf alle Blastomeren ver-

¹⁾ Ich vermeide absichtlich die von Selenka (Studien über die Entwicklungsgeschichte der Tiere II.) diesen Zellen als Kennzeichner des sogen. animalen Poles beigelegte Bezeichnung „Scheitelzellen“. Denn Driesch (Entwicklung mechanische Studien IX, Mittlg. der zool. Station in Neapel XI, S. 232) kann die Sicherheit einer solchen Beziehung zwischen diesen Zellen und einem animalen Pole nicht bestätigen.

teilt werden — vorausgesetzt, dass alle in späteren Stadien in den einzelnen Zellen gefundenen Körnchen auch, ihrer Herkunft nach, auf die Eizelle zurückzuführen sind. Denn es wäre ja denkbar, dass die Menge der in der Eizelle enthaltenen Körnchen schon durch die Verteilung auf die erstentstandenen Furchungszellen erschöpft wird und die in den später entstandenen Blastomeren vorgefundenen Körnchen in diesen selbst durch nachträgliche Färbung besonderer, in ihnen erst zur Ausbildung gelangter Gebilde entstanden sind.

Gegen den letzteren Umstand spricht zunächst allerdings, dass es bei aufmerksamer Beobachtung nicht gelang, ein lokales Entstehen und Auftreten von Körnchen in den später entstandenen Blastomeren nachzuweisen. Aber, bei der Schwierigkeit einer solchen Beobachtung wäre dies kein hinreichender Gegengrund. Doch spricht noch ein anderer Umstand gegen die erwähnte Möglichkeit und das ist die Zahl der Körnchen in den erst- und in den später entstandenen Furchungszellen. Würden in jeder Blastomere neue Körnchen entstehen und sich zu den von der Eizelle überkommenen hinzugesellen, müsste ihre Zahl auch in den kleineren, später entstandenen Blastomeren eine ziemlich bedeutende sein. Dem ist aber nicht so. Fortschreitend mit der Furchung nimmt die Zahl der Körnchen in den einzelnen immer kleiner werdenden Blastomeren auch stetig ab und zwar nicht nur, wie natürlich, absolut, sondern auch relativ. Während in den ersten Blastomeren die Körnchen bei Beginn der Teilung, wie erwähnt, einen breiten Ring um den Kern bildeten, ist später ihre Zahl so zusammengeschrumpft, dass sie in diesem Stadium nur noch in einer oder zwei Reihen als ganz unverhältnismässig schmaler Ring den Kern umgreifen. Es spricht dies, wie mir scheint, gegen eine oder zum mindesten gegen eine merkliche Neubildung von Körnchen in den während der Furchung entstehenden Zellen. Es ist deshalb in hohem Grade wahrschein-

lich, dass, wenn nicht alle, so doch die überwiegende Mehrzahl der Körnchen in den Furchungszellen von den in der Eizelle dargestellten abstammt. Das heisst also mit anderen Worten: Die durch Neutralrot in der Eizelle gefärbten Elemente werden während der Furchung auf alle Zellen gleichmässig verteilt.

Auch nach abgelaufenem Furchungsprozess lassen sich die Körnchen nachweisen.

In der Blastula und Gastrula (Figg. 16 u. 17) sind sie un-
gemein fein und dicht gedrängt. Sie weisen stets eine ganz bestimmte Lagerung auf: In den Zellen der Blastula bilden sie einen feinen roten Saum an der nach aussen gekehrten, d. h. freien Seite der Zellen. Niemals kann man Körnchen an der gegenüberliegenden, basalen Seite der Zellen finden. Auch in diesem Punkte drückt sich also eine gewisse Polarität der Zellen aus.

In den sich einstülpenden Zellen der Gastrula stehen die Körnchen der Mitte der Zellen ein wenig genähert (Fig. 16). Auch in den Mesenchymzellen lassen sie sich nachweisen (Fig. 16). Gewöhnlich sind in diesen zwei grössere, stark gefärbte und in annähernd gleichem Abstände von einander befindliche und ausserdem noch mehrere kleinere Körnchen nachzuweisen. Es scheint ferner, dass der Farbenton dieser Körnchen der Mesenchymzellen ein anderer, dunklerer ist als der der übrigen.

Sehr eigenartig ist das Bild der in Neutralrotlösungen gezüchteten Pluteuslarven (Fig. 17). Das Erste, was hier deutlich auffällt, ist die lebhaftere Färbung der Mesenchymzellen, insbesondere der pigmentierten. Sie zeigen einen von ihrer gewöhnlichen Färbung ziemlich abweichenden, auffälligen grauroten Ton. Zwischen ihnen liegen die gleichfalls, aber viel heller und in feinsten Körnchenform gefärbten übrigen Mesenchymzellen. (Beide Zellarten sind neben Figur 17 bei stärkerer Vergrösserung wiedergegeben.) Wie an den Blastulazellen kann man auch an

den Ektodermzellen, insbesondere an den Armen der Plutei, äusserst feine Körnchen am freien Ende der Zellen nachweisen; noch viel feiner ist der Saum, den sie an der dem Lumen zugekehrten, also wiederum der freien Seite der Entodermzellen bilden. —

Einige physiologisch interessante Thatsachen möchte ich hier noch erwähnen. Die Echinodermenlarven zeigen vom Blastulastadium ab bestimmte, gesetzmässig verlaufende Bewegungen im Wasser, die an den gefärbten Tieren sehr schön zu beobachten und zu verfolgen sind. Die Art dieser Bewegungen hat H. E. Ziegler näher beschrieben. Die Larven schwimmen nämlich unter stetiger Rotation nach aufwärts an die Oberfläche des Wassers, schwimmen hier kurze Zeit in horizontaler Richtung und fallen dann plötzlich wieder nach abwärts, um gleich wieder nach aufwärts zu rotieren. Das Abfallen geschieht nun nicht wie das Aufsteigen einzelwise, sondern in Klumpen; in den Glasdosen, in denen ich die gefärbten Larven hielt, sah man daher stets von der Oberfläche des Wassers vertikale (rote) Säulen in die Tiefe herabreichen, welche den gruppenweise nach abwärts sinkenden Larven entsprachen.

Es ist mir nun sehr bald zweierlei aufgefallen. Einmal standen die roten Säulen nicht regellos in der ganzen Glasdose zerstreut, erfolgte also das Absinken der Larven nicht regellos von den verschiedensten Punkten der Oberfläche aus. Die Säulen waren vielmehr in Linien angeordnet, welche wiederum einander parallel liefen. In runden Glasdosen standen die Linien quer, in rechteckigen liefen sie meist der längeren Achse des Gefässes parallel, bildeten also lange Reihen.

Die die Larven enthaltenden Glasdosen bedeckte ich, um das Hineinfallen von Staub zu verhüten, mit Glasscheiben; diese waren aus mattem Glase gefertigt oder so bedeckt, dass das Licht nur von den Seiten her in die Glasdose einfallen konnte. Wiederholt konnte man nun, besonders am Morgen, bemerken,

dass alle oder die überwiegende Mehrzahl der roten Larvensäulen an der dem Fenster abgewendeten Seite der Glasdosen standen, das Abfallen der Larven also an der dem Lichteinfalle ungünstigsten Stelle erfolgte. Es lag nahe, an jene interessanten biologischen Vorgänge zu denken, die man als *Phototaxis* bezeichnet hat und die an zahlreichen Organismen beschrieben wurden. Vorerst aber waren andere möglicherweise in Betracht kommende Einflüsse auszuschalten: Es konnten zwischen der dem Fenster zu- und abgewendeten Seite Temperaturunterschiede und daher verschiedene Strömungsrichtungen des Wassers bestehen. Ziegler, dem Ähnliches auffiel, leugnet den Lichteinfluss und nimmt an, dass die Larven sich stets in dem kühleren, absteigenden Wasserstrom ansammeln. Die Entfernung der Dosen aus der Nähe des Fensters in eine gewiss gleichmässig temperierte Umgebung zeigte jedoch keine Veränderung der Reihenanordnung; es waren also keine Temperatur- und Strömungsunterschiede mit im Spiele. Ich bin aber trotzdem, da meine entsprechenden Versuche zu gering an Zahl sind, nicht berechtigt, der ablehnenden Haltung Zieglers gegenüber einem Einflusse des Lichtes auf die Bewegung der Larven irgendwie entgegenzutreten; erwähnen möchte ich aber doch, dass sich vielleicht folgendes auf Lichteinfluss zurückführen lassen könnte. Während, wie erwähnt, die Larvenreihen am Tage solange es hell war, sehr oft an der dem Fenster abgekehrten Seite standen, fanden sie sich in der Nacht stets im ganzen Gefässe vor. Ja, in einigen Fällen gelang es mir die letztere Anordnung künstlich zu erzeugen, wenn ich den Zutritt des Lichtes zur Glasdose für einige Stunden hinderte. Da dies aber nicht konstant eintrat, vermag ich auch keine bestimmten Schlüsse zu ziehen. Es scheint mir aber, dass eine nähere, mir nicht möglich gewesene, Untersuchung dieser an gefärbten Larven sehr deutlich verfolgbaren, physiologisch wichtigen Bewegungen noch immer lohnend wäre.

In wie feiner Weise die Larven auf äussere Reize reagieren, zeigt ein anderer Versuch. Um das Verhalten der Larvenreihen zu Wärmeeinflüssen zu ermitteln, brachte ich eine Bunsenbrennerflamme (um Lichtwirkung auszuschalten) in die Nähe der Glasdosen, jedoch in solcher Entfernung, dass keine bedeutendere Erwärmung eintreten konnte, da sonst die Larven, wie dies Ziegler beschrieben, von dieser erwärmten Seite sich entfernen. Stand nun die Flamme an der vom Beobachter abgekehrten Seite, so zogen die Reihen, einander parallel, sämtlich in der Richtung von der Flamme zum Beobachter. Stellte ich die Flamme auf die eine z. B. rechte Seite, so bildete sich alsbald eine andere Anordnung der Reihen aus: Sie zogen jetzt von rechts nach links, d. h. senkrecht zur früheren Richtung. Die Verschiebung der Flamme hatte also genügt, um eine entsprechende Verschiebung der Verlaufsrichtung der Reihen um 90° zu bewirken. Ob hier eine Reaktion auf Wärmestrahlen vorliegt, vermag ich nicht anzugeben, so wahrscheinlich dies auf den ersten Blick zu sein scheint. — Die Reaktion der Larven auf stärkere Erwärmung und Abkühlung der Flüssigkeit hat Ziegler durch Versuche nachgewiesen und erklärt. Hinsichtlich der dem absteigenden, kühleren Wasserstrome entgegengesetzten Aufwärtsbewegung der Larven weist er auf den hierbei sich ergebenden biologischen Nutzen hin, „dass die Larve sich hinsichtlich ihrer Atmung am besten befindet, wenn sie der Strömung entgegenschwimmt oder in der Strömung stillsteht.“ —

Aus den früher mitgeteilten Thatsachen, an die wir nach dieser Abschweifung von unserem eigentlichen Thema wieder anknüpfen wollen, geht hervor, dass wir im stande sind Echinodermeneier ohne jegliche Schädigung der weiteren Entwicklung mit Neutralrot in spezifischer Weise vital zu färben und Pluteuslarven mit gefärbten Körperzellen zu erhalten. Ich habe solche Larven durch volle zwei Wochen

in gefärbtem Zustande lebend erhalten können. Es ist bekannt, dass man auf künstlichem Wege die Entwicklung der Echinodermen nur bis zu diesem Stadium verfolgen kann. Ich habe daher die weiteren Metamorphosen nicht beobachten können und muss demnach die Frage offen lassen, ob nicht vielleicht die aus solchen gefärbten Pluteuslarven hervorgehenden Tiere sich doch irgendwie von normal entwickelten unterscheiden.

Es ist erwähnt worden, dass zur Färbung stärkere und schwächere Lösungen verwendet wurden. Das endgültige Resultat ist aber bei beiden das gleiche, nur dass bei Lösungen der ersten Art die geschilderten Erscheinungen etwas später, dann aber um so reiner zu Tage treten. Es zeigt sich hierbei, dass in schwächeren Lösungen durchaus nicht vielleicht weniger Körnchen gefärbt werden als in stärkeren. Die Zahl ist vielmehr allem Anscheine nach dieselbe, nur dass bei stärkeren Lösungen die Färbung der Körnchen, insbesondere in den späteren Stadien, weit intensiver ist, sie daher massiger aussehen. Selbst bei diesen Larven erstreckt sich aber die Färbung stets nur auf die Körnchen allein und der übrige Teil der Zellen bleibt bei Anwendung auch sehr starker Lösungen völlig ungefärbt. Zeigt sich auf diese Weise eine rein elektive Färbung gewisser Bestandteile des embryonalen Zelleibes, so geht andererseits aus den Versuchen eine absorbierende, den Farbstoff speichernde Fähigkeit der Körnchen hervor: Setzen wir die befruchteten Eier in schwache Neutralrotlösungen, so nehmen sie nach kurzer Zeit allen in der Lösung enthaltenen Farbstoff an sich und die Lösung wird daher bald völlig farblos, die gefärbten Larven heben sich bei ihren Bewegungen scharf von ihr ab; starke Lösungen werden ferner merklich durch sie entfärbt.

In den letzteren vermag man aber noch eine andere Erscheinung zu konstatieren. Vergleicht man die Zahl und den Färbungsgrad der Körnchen von späten Furchungsstadien mit denen in Blastulis und älteren Larven, so hat es ganz den

Anschein, als ob sie in den letzteren Entwicklungsstadien erheblich gesteigert wären. Dieser Umstand legt den Gedanken nahe, dass vom Stadium der Blastula an, von dem ab die Larve selbständiger Bewegung fähig wird und offenbar funktionell höher steht, durch neu auftretende oder gesteigerte chemische Lebensprozesse eine Vermehrung und ein gesteigertes Speicherungsvermögen der Körnchen eintritt.

Während wir bis zu diesem Stadium alle Körnchen als von der Eizelle allein durch gleichmässige Verteilung abstammend ansehen können, scheinen von da ab in den in regeren Stoffwechsel tretenden Zellen neue farbstoffspeichernde Elemente zu entstehen.

Die allmählich während der Entwicklung eintretende Differenzierung der Zellen legt uns die Frage nahe, ob nicht auch gleichzeitig an den verschiedenen Larvenzellen eine verschiedene Färbung eintrete, der Farbstoff in den verschiedenen Zellen seine Nuance ändere (Metachromasie). S. Mayer hat, wie erwähnt, eine solche Metachromasie an mit Neutralrot gefärbten Zellen von Säugetieren beobachtet, allerdings erst nach dem Tode. Eine solche Metachromasie lässt sich jedoch nicht mit Deutlichkeit nachweisen. Zwar ist die Färbung der Körnchen der Mesenchymzellen eine lebhaftere, die der Entodermzellen vielleicht eine zartere als die Ektodermzellen, aber rot bleiben sie stets.

Mit Sicherheit lässt sich ferner angeben, dass unter keinen Umständen eine Färbung des Kernes selbst eintritt, wie sie Przesmycki an Proto- und Metazoen beschrieben hat. Dagegen tritt eine völlige diffuse Färbung des ganzen Zelleibes ein, wenn die Zellen in der Lösung absterben; es bilden sich jedoch hierbei niemals, wie bei mit anderen Farbstoffen (siehe unten) gefärbten und abgestorbenen Zellen, farbige Klumpen im toten Plasma. —

Im Einklange mit der geschilderten maximalen Absorptionskraft der Granula zum Neutralrot steht ferner die Thatsache, dass der Farbstoff aus den einmal gefärbten Zellen nicht mehr abgegeben wird. Man mag die Lösung, sobald die Zellen gefärbt sind, noch so sehr verdünnen oder die Eier direkt in ungefärbtes Meerwasser setzen, sie geben den einmal gebundenen Farbstoff nicht wieder an ihre Umgebung ab. Dieser Umstand beweist, dass der Farbstoff nicht einfach als Lösung, sondern in Form einer chemischen Verbindung in der Zelle abgelagert ist.

Trotzdem ist es mir nicht gelungen die gefärbten Granula in mit den verschiedenen gebräuchlichen Fixierungsmitteln getöteten Eiern zu erhalten oder den Farbstoff in vital gefärbten Eiern auch nach der Fixierung zu konservieren. Wenn dies noch überhaupt notwendig ist, so kann man auch diese Thatsache als Beweis dafür ansehen, dass die Färbung der Körnchen nur in der lebenden Zelle selbst möglich, also in diesem Sinne wirklich „vital“ ist.

Fassen wir nunmehr die wichtigsten mit dem Neutralrot erzielten Resultate zusammen, so können wir sagen: Wir sind imstande mit diesem Farbstoffe eigentümliche Körnchen in den Zellen zu färben, ohne die Entwicklung irgendwie zu stören. Die Absorptionskraft der Körnchen zu diesem Farbstoffe ist eine maximale, sie reißen ihn aus schwachen Lösungen völlig an sich und geben ihn nicht wieder ab. Diese Körnchen zeigen ferner den Stadien der Zellteilung parallel einhergehende Ortsveränderungen.

Wir stehen nunmehr, um zu einem näheren Verständnisse der geschilderten Thatsachen zu gelangen vor der Frage: Welcher Natur sind diese Körnchen und was ist die Ursache ihrer allem Anscheine nach streng gesetzmässigen Bewegungen?

Es wird sich empfehlen, diesen Punkten erst nach Besprechung der mit anderen Farbstoffen erzielten Resultate zusammenfassend näher zu treten. Zu Versuchen mit anderen Farbstoffen mussten die mit Neutralrot beobachteten Erscheinungen deshalb veranlassen, weil sich jetzt die Frage aufdrängte, ob man nicht mit Hülfe verschiedener Farben auch verschiedene Körnchen, also verschiedene Zellelemente nachweisen und in ihrem Verhalten während der Zellteilung beobachten könne. Eine auf diesem Wege erzielte Ausbeute möglichst vieler und verschiedenartiger Thatsachen müsste zu einem näheren Einblicke in diese molekularen Phänomene führen. — Indem ich zu dieser Besprechung übergehe, muss ich im Vorhinein gestehen, dass es mir hierbei nicht möglich war in ähnlichem und wünschenswertem Grade wie bei Neutralrot Versuche mit jedem einzelnen Farbstoffe anzustellen. Eine ausgedehntere Untersuchung dürfte deshalb von mehr Erfolg begleitet sein als aus nachfolgenden, kurz gehaltenen Angaben hervorgeht, welche sich mit den übrigen Farbstoffen, geordnet nach der eingangs gegebenen Übersicht, befassen.

I. Anilinderivate.

1. Indulin.

Die Entwicklung geht in diesem Farbstoffe in verdünnter Lösung vollkommen normal und ungestört vor sich — es tritt aber keine Färbung auf. Nur abgestorbene Zellen färben sich und zwar diffus. Die lebenden Zellen vermögen sich also gegen die Aufnahme des Farbstoffes zu „wehren“. Die Färbung der toten Zellen ist wie bei diesem, so auch bei allen anderen Farbstoffen wohl einfach auf Imbibition und Diffusion zurückzuführen.

2. Nigrosin.

Von diesem Farbstoffe gilt das Gleiche wie vom vorigen. Selbst in starken Lösungen entwickeln sich die Eier — ungefärbt — weiter.

3. Methylenblau.

Die Versuche mit Methylenblau ergaben in mancher Hinsicht andere Resultate als die mit Neutralrot. Verwendet man schwache Lösungen (die aber noch immer einen sehr ausgesprochenen blauen Farbenton zeigen müssen), so erfolgt die Entwicklung ungestört, aber es tritt keinerlei Färbung auf, die Lösung bleibt unverändert blau. In starken Lösungen tritt eine Körnchenfärbung auf, jedoch später als bei Neutralrot, oft erst im Achtzellenstadium. Die Körnchen scheinen kleiner und zahlreicher zu sein als bei Neutralrot; sie verändern ihren Ort nicht wesentlich. — Das Methylenblau ist aber kein so unschädlicher Farbstoff wie Neutralrot.

Nur diejenigen Eier, die sich schwach gefärbt haben, entwickeln sich bis in späte Stadien. Die übrigen sterben und zwar um so früher, je stärker sie sich mit Farbstoff beladen haben. Es ist daher nicht so leicht wie bei Neutralrot gefärbte Gastrulae und Plutei zu erhalten, wiewohl das auch gelingt. Am sichersten erfolgt die Entwicklung bis zu diesen Stadien bei Eiern, die in frühen Furchungsstadien überhaupt noch keine Körnchenfärbung aufweisen, sondern sich von ungefärbten, nur durch einen diffusen, blaugrauen Ton unterscheiden. Die Blastulae zeigen dann entweder überhaupt keine gefärbten Körnchen oder aber nur einen Körnchensaum, wiederum wie bei Neutralrot, lediglich an der freien Zellseite. Dagegen pflegen die Mesenchymzellen stets ganz ähnliche Körnchen von derselben Anordnung wie bei Neutralrot zu besitzen, nur dass sie tiefblau sind.

Die Plutei gewähren kein so schönes Bild wie die roten Neutralrotlarven. Nur vereinzelt zeigen die Ektoderm- und Mesenchymzellen Körnchen, die Pigmentzellen sind oft unverändert. Sehr fein gekörnt scheint manchmal auch das Entoderm zu sein. — Sehr bald aber treten in den Pluteis tiefblaue Kugeln von verschiedener Grösse auf; ihre Menge nimmt rasch zu: Ein sicheres Zeichen des Absterbens. Ausserdem finden sich hierbei oft zahlreiche farblose Vakuolen, wie überhaupt die Plutei nach Methylenblaufärbung bald nicht mehr klar und rein aussehen wie in der Norm und nach Neutralrot. Diese Veränderungen treten auch beim Absterben in früheren Stadien auf und deshalb stösst man in solchen Zuchten oft auf lebhaft sich bewegende blaue Kugeln. Es sind absterbende Blastulae oder Gastrulae, welche blasige Zellen einschliessen, zwischen denen unregelmässige blaue Farbkugeln liegen und die sich mit Hülfe des wimpernden Ektoderms lebhaft bewegen. — Das Methylenblau verhält sich demgemäss in manchen Punkten anders als Neutralrot. Es ist nicht so unschädlich wie das letztere, es färbt anscheinend Körnchen anderer Art und wird bei weitem nicht so gierig von den letzteren aufgenommen. Damit hängt es auch zusammen, dass die Lösungen niemals durch die in ihnen sich entwickelnden Larven in irgend merklichem Grade entfärbt werden¹⁾.

¹⁾ Nachträglich finde ich, dass schon O. Hertwig Eier von *Strongylocentrotus lividus* mit Methylenblau gefärbt hat (Experimentelle Studien am tierischen Ei. III. Kap. Färbung der lebenden Zellsubstanz durch Methylenblau. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. 1890, Bd. 24). Meine Resultate stimmen in manchen Punkten mit den seinigen überein und bestätigen sie; so betont auch Hertwig, dass Methylenblau für die Entwicklung durchaus nicht unschädlich ist, der Farbstoff soll sogar schädlicher wirken als Morphinum, Strychnin und Nikotin. Je schwächer daher die Eier gefärbt sind, desto besser entwickeln sie sich.

In einer Hinsicht dagegen befinden sich unsere Angaben zu einander im Gegensatze: Nach Hertwig finden sich die Körnchen nicht am freien sondern am basalen Ende der Zellen angesammelt. Ob dieser Widerspruch lediglich auf die Verschiedenheit des angewandten Materiales oder der geübten Methode

4. Thionin.

Von diesem gilt Ähnliches wie vom Methylenblau. In stärkeren Lösungen erfolgt sehr bald Absterben der Zellen unter diffuser Färbung des Zelleibes. In schwächeren Lösungen entwickeln sich zahlreiche Eier normal, ohne zumeist den Farbstoff anzunehmen. Kommt es zur Färbung, dann erscheinen ganz feine, bläuliche Körnchen. Ihre Menge ist geringer als bei Neutralrot und Methylenblau und daher ihre Stellungsänderung schwer nachweisbar. Meist sterben übrigens die gefärbten Eier sehr bald ab. Die Lösung ändert ihre Farbe nicht, da die Körnchen den Farbstoff nur in geringer Menge speichern.

5. Safranin.

Auch in den stark roten Lösungen dieses Farbstoffes habe ich keine Körnchenfärbung beobachten können. Die meisten Larven entwickelten sich ungefärbt weiter, eventuell wiesen sie eine diffuse, zarte lichtrosa Färbung auf.

6. Fuchsin.

In stärkeren Lösungen entstanden fast durchwegs Missbildungen; in einer schwach rosa gefärbten erhielt ich meist ungefärbte Plutei¹⁾. Während ihrer Entwicklung wurden —

zurückzuführen ist, vermag ich nicht anzugeben. Ich kann nur für meine Versuche meine Angaben aufrecht erhalten.

Eine Mischung von Methylenblau mit Methylviolett verwandte Driesch, um Eier in einer violett gefärbten Lösung sich entwickeln zu lassen (vgl. auch die folgende Anmerkung).

¹⁾ Doch ist es möglich gefärbte Blastulae zu züchten. Driesch berichtet in Abschnitt II seiner entwickelungsmechanischen Studien (*Zeitschr. f. wiss. Zoologie* 53, 1892) dass er, um die Wirkung verschiedener Lichtarten auf die ersten Etappen der tierischen Formbildung zu ermitteln, Eier in Fuchsinlösung setzte. Die meisten starben schon in frühen Stadien. Die überlebenden Blastulae waren und zwar heller gefärbt als die übrigen Eier. C. Herbst (*Experiment. Untersuchg. üb. d. Einfluss d. veränderten chemischen Zusammensetzg. d. umgebenden Mediums auf die Entwickl. d. Tiere. Mittlgn. d. zool. Station Neapel* XI, 1895) erhielt eine Aufnahme des Fuchsin nur von Seite des Entoderms. Ähnlich verhielten sich Methylenblau, Methylviolett.

an anderen Eiern — zahlreiche Anomalien beobachtet, von denen ich nicht weiss, ob sie auf die Wirkung des Farbstoffes allein zu beziehen sind. So zeigte sich während der Furchung oft unvollständige Zell- neben vollständiger Kernteilung; es resultierte ein Konglomerat von Zellen, die in der Mitte zusammenhingen, an den Seiten aber waren die Furchen bereits durchgeschnitten¹⁾. Auch sonst zeigten sich zeitliche Anomalien der Entwicklung gegenüber der Norm.

7. Magentarot.

Selbst in stark roten, von den Larven unverändert gefärbt erhaltenen Lösungen erzielt man normale, sich lebhaft bewegende Plutei. In den ersten Stadien sind einzelne, stark lichtbrechende, aber nicht gefärbte Körnchen in den Zellen sichtbar. Die Larven zeigen nur an der äussersten Oberfläche der Zellen einen kaum wahrnehmbaren Schleier feinsten, stark lichtbrechender, aber wiederum ungefärbter Körnchen. Auch in den Mesenchymzellen sind keinerlei gefärbte Elemente wahrzunehmen. Es scheint also, dass das Magentarot normale Körnchen etwas deutlicher hervortreten lässt, ohne sie jedoch zu färben.

8. Rubin-S.

Die Entwicklung ging in der vom Meerwasser rasch entfärbten Lösung anfangs gut von statten, ohne dass die Zellen sich merklich änderten. Am nächsten Tage jedoch waren stets

¹⁾ Dieses Verhalten erinnert an Resultate, welche Loeb (Investigations in physiological Morphologie III. Journ. of Morph. VII 1892) bei Konzentrations-erhöhung des Seewassers erhielt. Er schliesst hieraus, dass infolge des hierbei stattfindenden Wasserverlustes das Plasma seine Reizbarkeit früher als der Kern verliere und sich daher nicht teile. Allein Driesch (Entwickelungs-mechan. Studien IV und VIII) hat ähnliche Erscheinungen auch bei Konzentrationsverminderung, ferner bei Wärmezufuhr und durch Druck erhalten.

nur noch abgestorbene, blasige Zellgruppen vorhanden. Auf die Dauer wirkt also Rubin-S, wahrscheinlich infolge seines Säuregehaltes, schädlich.

9. Dahlia.

Wirkte ebenfalls tötend. Es kam zu keiner Weiterentwicklung, alles war diffus blau gefärbt oder hatte grobflockige, blaue In-haltsmassen.

10. Gentiana-Violett.

Verhielt sich wie Dahlia, ebenso:

11. Methyl-Violett.

12. Methyl-Grün.

Neben einzelnen ungefärbten, normal entwickelten Eiern fanden sich zahlreiche, in der Art unregelmässig entwickelte, dass Zell- und Kernteilung nicht gleichzeitig erfolgte (ähnlich wie bei Fuchsin).

13. Toluidinblau.

Mit den vorangegangenen Farbstoffen, von Dahlia an, gehört Toluidinblau in eine Gruppe, die der Rosanilinderivate. Wie sie alle wirkt es schädigend auf die Entwicklung ein — aber in weit geringerem Grade — nur in starken Lösungen starben die Larven zumeist, wenn auch viele das Pluteusstadium erreicht haben; in schwachen dagegen blieben die meisten am Leben. Hierbei treten in den Zellen der Form nach ganz ähnliche Körnchen auf wie bei Neutralrot. Sie sind aber dunkelviolett, während die Lösung selbst hellblau ist; nach einiger Zeit wird die letztere immer heller, ja fast ganz farblos — der Farbstoff wird in den Zellen gespeichert. Blastulae und Gastrulae zeigen gleichfalls Körnchenfärbung und zwar an den gleichen

Stellen, wie bei Neutralrot. Die normal gestalteten Plutei enthalten in ihren Mesenchymzellen feine, violette Körnchen in spärlicherer Menge als bei Neutralrot, oft nur 1—3 in jeder Zelle. In den Pigmentzellen sind dicke Körnchen vorhanden. Die Lumenseite der Darmzellen besitzt einen ganz feinen Saum hellblauer Körnchen.

Abgesehen von der Farbe unterscheiden sich die Toluidinblaukörnchen auch in anderer Hinsicht von denen bei Neutralrot. Sie sind grösser, stehen in grösseren Zwischenräumen und finden sich in den Mesenchymzellen in anderer Art und Anordnung. Da das Toluidinblau nicht ganz unschädlich ist, sterben die Plutei früher und öfter als bei Neutralrot. Das Absterben erfolgt unter ähnlichen Vorgängen — Vakuolisierung, Bildung grosser violetter Flecke — wie bei Methylenblau.

14. Bismarckbraun.

Mit Bismarckbraun hat bereits Brandt eine Färbung von Fettkörnchen in lebenden Protozoen erhalten und Pfeffer (der es als fraglich bezeichnet, ob die von Brandt gefärbten Elemente auch wirklich Fettkörnchen sind) Aufnahme von Seite der Pflanzenzelle erzielt. Martinotti erhielt dasselbe bei Kaulquappen und P. Mayer bei Caprelliden und Selachiern. Echinuseier zeigen gegenüber Bismarckbraun ein im Vergleiche mit den früheren Farbstoffen verschiedenes Verhalten. Sie nehmen den Farbstoff an, aber nicht mit Hülfe von Körnchen, sondern diffus; die ganze Zelle (mit Ausnahme des Kernes) färbt sich hellgelb. Diese Färbung ist insbesondere während des Ruhestadiums deutlich über die Zelle ausgebreitet. Während der Teilung dagegen ist oft der centrale, um den Kern gelegene Abschnitt stärker gelb gefärbt als der periphere. Die Totalfärbung der Zellen ist auch noch an den Pluteis nachzuweisen. Diese sind, da Bismarckbraun trotz der diffusen Zellfärbung die Entwicklung

nicht schädigt, vollkommen normal und zeigen die typischen Bewegungen.

Die Farblösung selbst wird nach einiger Zeit völlig entfärbt. Da die Speicherung von Seite der Zellen doch eine zu geringe ist, um diese Entfärbung für sich allein zu verursachen, so muss der Farbstoff durch andere Ursachen in eine farblose Verbindung überführt worden sein.

15. Bordeaux-Rot.

Die Aufnahme dieser Farbe war nicht gleich. In einigen Fällen erhielt ich in stark roten Lösungen normal sich entwickelnde, aber ungefärbte Larven. In anderen traten in den Furchungszellen ungemein zahlreiche stäbchen- und kugelförmige, im Gegensatze zur Farbe der Lösung dunkelviolette Körnchen (Metachromasie?) diffus im ganzen Zellleibe auf. Die Plutei dagegen waren ungefärbt. Ob die Körnchen den Farbstoff im Laufe der Entwicklung abgaben oder sich Plutei nur aus den ungefärbten Eiern entwickelten, vermag ich nicht zu entscheiden.

16. Eosin.

Dasselbe wurde von den Zellen nicht aufgenommen, behinderte aber auch die Entwicklung in keiner Weise.

17. Cyanin.

Es erwies sich als giftig für die Echinuseier. Sie starben darin sehr bald unter diffuser Blaufärbung ab. Auch Pfeffer fand, dass Cyanin die Pflanzenzelle schädigt.

II. Anthrazene.

18. Alizarin.

Die Entwicklung ging darin ungestört, aber auch ohne Färbung, vor sich. Die Lösung selbst rötete sich bei längerem Stehen.

III. Pflanzliche Farbstoffe.

19. Orcein.

Weder in diesem, noch in

20. Orseille

trat Färbung ein (bei normaler Entwicklung).

IV. Farblösungen.

Mit keiner der angewandten fünf Farblösungen (Karmalaun, Böhmers Hämatoxylin, Häkalaun, Hämacalcium, Biondis Gemisch) erhielt ich vitale Färbung. In Karm- und Häkalaun starben die Eier, in den drei anderen Lösungen entwickelten sie sich ohne Färbung weiter.

Überblicken wir jetzt die aus den geschilderten Versuchen erlangten Resultate, so sind sie gerade in Hinsicht auf das gewünschte Ziel — Nachweis verschiedenartiger Körnchen mit Hilfe verschiedener Farbstoffe — zweifelhaft; es ist fraglich, ob die mit Methylenblau, Thionin und Toluidinblau gefärbten Körnchen vollständig anderer Art sind als die mit Neutralrot dargestellten. Am wahrscheinlichsten scheint mir noch eine Differenz zwischen Toluidinblau- und Neutralrotkörnchen.

Die Einwirkung der Farblösungen war eine verschiedene. Während die Farbstoffe der einen Art Körnchen färbten und die Entwicklung nicht beeinträchtigten, erwiesen sich andere als direkte Gifte, in denen die Zellen entweder sofort oder nach wenigen und meist anormalen Teilungen (gegenüber der Kern- verzögerte Zellteilung) abstarben, wobei meist nach dem Tode diffuse Färbung des Zellleibes auftrat. Welchem Bestandteile des jeweiligen Farbstoffes die schädigende Wirkung

zukommt, ist schwer zu sagen. Bei den Rosanilinderivaten z. B. könnte man daran denken, dass von der Darstellung her noch Arsen und Jod dem Farbstoff, in bedeutenderer Menge beige-mischt sei. Aber anderseits erwiesen sich auch Farbstoffe, die zur selben chemischen Gruppe gehörten, verschieden in ihrer Wirkungsweise.

Eine dritte Reihe von Farben endlich zeigte sich zwar als für die Entwicklung unschädlich, verursachte aber keinerlei Körnchenfärbung. Da die angewandten Lösungen oft sehr leb-hafte Färbungen aufwiesen, also ziemlich konzentriert waren, ohne dass sich die Eier oder Larven färbten, so zeigt dies deut-lich die starken elektiven Eigenschaften der in den Zellen vorhandenen Granula. Während sie Neutralrot in maximaler Weise auch aus schwächsten Lösungen an sich ziehen, weisen sie andere Farbstoffe auch aus starken Lösungen zurück.

Innerhalb der letzteren Gruppe nimmt übrigens das Bismarck-braun noch eine besondere Stellung ein, insofern es zwar keine Granula, wohl aber den ganzen Zellleib diffus tingiert, ohne die Entwicklung zu schädigen.

In Übereinstimmung mit früher referierten Beobachtungen steht endlich der Umstand, dass die eventuell erzielten Fär-bungen sich stets auf Elemente des Zelleibes, dagegen niemals auf die des Kernes beziehen.

Nach Aufzählung der ermittelten Thatsachen bleibt uns nun-mehr noch die Erörterung der am Schlusse der Schilderung der Neutralrotversuche aufgeworfenen beiden Hauptfragen. Die erste, für die Auffassung und Erklärung der Granulafärbung wichtigere ist die, welcher Natur die sich färbenden Elemente

sind. Eine nähere Überlegung stellt uns vor die Wahl, diese Elemente aufzufassen entweder als besondere Bestandteile lebenden Protoplasmas oder als tote Inhaltseinschlüsse desselben. Diese letzteren aber könnten wiederum sein: Produkte einer sekretorischen Thätigkeit des Protoplasmas; zu weiterer Verwendung im Zelleben nicht mehr brauchbare Produkte des Stoffwechsels; oder endlich, was bei Eiern besonders in Betracht kommt, aufgespeicherte Nahrungsstoffe. — Für die Auffassung der Granula in Eiern gelten wohl dieselben Grundsätze, wie für die Granula anderer Zellen und wir können daher die über diese von Anderen ausgesprochenen Anschauungen für unsere Entscheidung verwerten.

P. Ehrlich hat zuerst auf die Granula als höchst bedeutungsvolle Elemente der Zellen hingewiesen, die vor ihm zwar schon beobachtet aber nur „als Spezialitäten und vereinzelte Erscheinungen“ aufgefasst worden sind. Ehrlich hat zuerst die Granula als die „eigentlichen Träger der Zellfunktionen“ bezeichnet. Es ist bekannt, dass diese Ansicht von Altmann weiter ausgebildet wurde. Altmann will die Zelle nicht mehr als physiologische Einheit gelten lassen; als solche gelten ihm die Granula, die „Bioblasten“; sie sind die eigentlichen Träger der vitalen Funktionen und die Zelle selbst ist kein einheitliches physiologisches Element, sondern gleichsam ein Bioblastenstaat. Diese Anschauungen Altmanns haben, wohl mit Recht, wenig Anklang gefunden. Ehrlich selbst hat seit langem die Granula in anderem Sinne aufgefasst. Beobachtungen der normalen und pathologischen Histologie veranlassten ihn zu seiner ursprünglichen, noch vor der oben erwähnten, ausgesprochenen Ansicht zurückzukehren, es seien die Granula als Sekretionsprodukte der Zellen anzusehen. Freilich sind nicht alle Gründe, die Ehrlich für seine Ansicht ins Feld führt, unbedingt unanfechtbar. Wenn er als besonders beweiskräftig für seine Anschauung hervorhebt, dass die Granula verschiedener Zellen sich

durch ihre chemischen Eigenschaften, ihre Grösse, Form und Löslichkeit von einander unterscheiden, so könnte man dem entgegenhalten, dass eben die Granula verschiedener Zellen auch Gebilde verschiedenen Charakters seien. Immerhin lassen zahlreiche andere von ihm erwähnte Thatsachen die Entkleidung der Granula ihrer Bedeutung im Sinne Altmanns zu. Wenn aber auch Ehrlich die Körnchen nicht im Sinne Altmanns als „lebende funktionelle Centren“ sondern als „unbelebte Sekretionsprodukte“ auffasst, so weist er doch darauf hin, dass Granula und chemische Funktion der Zellen im engsten Konnex stehen und jede Körnung ein eigenartiges Plasma voraussetze und es bestimme.

Dagegen haben sich andere Autoren dem Standpunkte Altmanns hinsichtlich der Auffassung vital gefärbter Granula genähert. O. Schultze sieht in ihnen vorgebildete Elemente des Zellkörpers und die Färbung ist ihm eine vitale Reaktion von Bioblasten. Mitrophanow betrachtet sie als „elementare Bestandteile, aus welchen die Zellen geformt werden und deren Lebensthätigkeit den Lebensprozess der Zelle herstellt.“

Wesentlich skeptischer verhält sich Galeotti. Er findet, dass die lebenden Zellelemente sich gegen die Aufnahme von Farbstoffen wehren und nur diejenigen die Farbe annehmen, die geringe oder keine Widerstandskraft mehr besitzen. Deshalb sieht er auch in den gefärbten Körnchen keine lebenden Elemente, sondern nur aufgespeicherte Nahrungsteilchen oder Stoffwechselprodukte. Auch Przesmycki hat keinerlei Wahrnehmungen hinsichtlich der Lebensthätigkeit von Granulis machen können und Prowazek scheinen sie „zur Verdauung und Assimilation in Beziehung zu stehen; nicht unberechtigt wäre vielleicht die Annahme, sie als Träger von „Fermenten“ aufzufassen.“

Am treffendsten erscheinen mir — auch der Form nach — Lee und P. Mayer die jetzt wohl allgemein herrschende An-

schauung charakterisiert zu haben. Die diffuse Färbung der Zelle nach ihrem Tode beruht nach ihnen, wie auch Galeotti hervorhob, auf einfacher Absorption oder Imbibition der Farblösung (durch die Zelle), nicht auf einer chemischen Verbindung. „Die stärkere Färbung der Granula oder anderer Bestandteile der Zelle mag hingegen doch eine echte Färbung im Sinne einer chemischen Verbindung sein; jedenfalls sind aber diese Färbungen unweigerlich an Körper gebunden, die keinen integrierenden Teil der lebenden Zelle ausmachen: Die Zelle selbst mag am Leben sein, sie sind es nicht. Es sind wohl Nahrungsteilchen, die von aussen aufgenommen worden sind oder Produkte des Stoffwechsels, die bald ausgestossen werden sollen; oder wenn sie wirklich einen integrierenden Teil des lebenden Gewebes ausmachen sollten, so haben sie wohl von der eindringenden Farblösung gelitten und sind deswegen oder aus anderen Gründen in ihrer Vitalität geschwächt, nie aber bestehen sie aus ganz lebenskräftiger Materie.“ Der Hauptwert der sogenannten Färbung *intra vitam* könne daher nur darin liegen, lebende Bestandteile der Zelle von den toten unterscheiden zu können. —

Der Wert unserer Beobachtungen am Echinus-Ei wird wesentlich davon abhängen, welche von diesen Erklärungsweisen wir auf die von uns gefärbten Granula anwenden können. Sind wir berechtigt, sie als lebende Zellteile aufzufassen, dann resultiert, dass man imstande ist, eine bestimmte Plasmaart der Eizelle färberisch sichtbar zu machen, welche anscheinend für den Ablauf des Zellteilungsprozesses von grosser Bedeutung ist und welche gleichmässig auf alle aus der Eizelle stammenden Zellen verteilt wird. Diese Anschauung wird auch dann zu Recht bestehen, wenn die gefärbten Elemente, im Sinne der obigen Ausführungen, zwar in ihrer Vitalität geschwächte, aber jedenfalls doch lebende Materie darstellen.

Entsprechen aber die Granula keiner Plasmaart, stellen sie gefärbte Sekretions- oder Stoffwechselprodukte, oder, bei Eiern das Wahrscheinlichste, aufgespeicherte Nahrungsstoffe dar, dann haben wir nur tote Inhaltmassen der Eizelle gefärbt, ihre Annäherung an den Kern während seiner Teilung ist, wenn sie vielleicht auch den Zweck hat, chemische Vorgänge in ihm zu unterstützen, eine durch Veränderungen im lebenden Plasma verursachte, vollkommen passive Bewegung und die gleichmässige Verteilung bei der Furchung ist nur Verteilung von Nahrungsstoff oder unbrauchbarer Massen auf die einzelnen Zellen.

Es ist schwierig, hier eine sichere Entscheidung zu fällen. Diese Fragen rühren an allgemeine Probleme des Wesens von lebendem Plasma und seiner Färbung und hier fehlen uns, wie bekannt, fast alle notwendigen chemischen Grundlagen; daher auch die einander diametral entgegengesetzten verschiedenen Ansichten über die Granulafärbung. In unserem Falle lässt sich jedoch Einiges zur Abgrenzung der möglichen Deutungsarten anführen.

Würden wir die Granula in der Eizelle als Sekretions- oder Stoffwechselprodukte ansehen, dann müssten wir annehmen, dass nur in der Eizelle, nicht in den Furchungszellen, solche Produkte vorhanden sind oder während der Befruchtung und ersten Teilung des Eies entstehen. Denn es wurde hervorgehoben, dass in den aus der Eizelle entstandenen Zellen während des Furchungsprozesses aller Wahrscheinlichkeit nach keine, oder wenn doch, sicherlich nur äusserst wenige solcher Elemente entstehen. Eine solche Annahme wäre nun kaum haltbar: Während der Teilung einer Furchungszelle spielen sich in ihr wohl im wesentlichen die gleichen Prozesse ab, wie in der Eizelle und sie müssten daher auch zur Entstehung ähnlicher Sekretions- oder Stoffwechselprodukte Anlass geben.

Weit wahrscheinlicher scheint mir dagegen die Annahme, dass die in der Eizelle sich färbenden Elemente Nahrungsteilchen darstellen. Solche bekommt das Ei zweifellos vom Ovarium her mit und ihre gleichmässige Verteilung auf die Furchungszellen, verursacht durch ihr Verhalten bei den Zellteilungen, ist in hohem Grade von biologischem Nutzen. Denn wir können wohl annehmen, dass bis zur Erreichung des Stadiums der sich bewegenden Blastula, die Stoffwechselenergie der einzelnen Zellen geringer, daher die Einlage von aus der Eizelle stammendem Nahrungsmateriale notwendiger ist als später, wo die einzelnen Zellen wahrscheinlich mehr auf selbständige Thätigkeit angewiesen sind und auch leichter Gelegenheit haben, die zu ihrer Entwicklung notwendigen Stoffe, die uns Herbst¹⁾ durch seine schönen Untersuchungen kennen lehrte, aus ihrer Umgebung zu entnehmen.

Wenn wir aber allgemein und so auch in diesem Falle die Auffassung der Granula als gefärbte lebende Plasmateile aufgeben, so muss doch konstatiert werden, dass dies einerseits eigentlich nur einem Vorurteile entspringt, das wir gegenüber der Färbungsmöglichkeit lebender Materie überhaupt hegen, trotzdem sie, wie mir scheint, theoretisch ganz wohl denkbar ist; anderseits allerdings auch dem Umstande, das Leben — charakterisierende Vorgänge an den gefärbten Granulis nicht nachgewiesen werden können und tote Elemente in der Zelle fast stets Farbstoffe begierig annehmen. —

Es erübrigt nunmehr noch, eine Erklärung der Bewegungserscheinungen der Körnchen zu versuchen. Wir sahen, dass die letzteren in unzweifelhafter Beziehung zu den karyokinetischen Formänderungen des Kernes stehen. Die Orts-

1) Herbst, C., Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. I. Teil. Die zur Entwicklung notwendigen anorganischen Stoffe. Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen. Bd. V, 1897.

veränderungen der Körnchen, welche nach Beginn der Karyokinese, sobald sie sich einmal um den Kern in Form eines Ringes angesammelt haben, erfolgen, könnte man, wenn auch mit Unrecht, immerhin gänzlich als einfach passiv erfolgende Mitbewegungen auffassen: Sind einmal die Körnchen um den Kern angesammelt, dann müssen sie, nach dieser Auffassung, notwendigerweise den Formänderungen des Kernes parallele Änderungen ihrer Stellung erleiden. Aber, selbst dies zugegeben, bliebe immer noch zu erklären, warum eben die Körnchen bei Beginn der Zellteilung dem Kerne zuströmen. Und innerhalb des Komplexes der während der Kernteilung erfolgenden Bewegungen der Körnchen selbst bliebe dann noch eine Thatsache unerklärt und zwar diejenige, dass die Granula im Momente der Zelldurchtrennung die Trennungsebene verlassen. Wir könnten versucht sein, diese Thatsache einfach auf den Druck durch die die Mutterzelle durchschneidende Furche zurückzuführen. Dann aber müsste die Bewegung der Körnchen auch stets auf jener Seite zuerst erfolgen, auf der die Furche zuerst erscheint oder tiefer einschneidet, und das ist, wie erwähnt wurde, eben nicht immer der Fall.

Am einfachsten freilich liessen sich die beschriebenen Thatsachen aus einer aktiven Fähigkeit der Granula, den Ort zu wechseln, erklären. Aber die sichtbare Ortsveränderung allein giebt uns noch kein Recht, eine solche Eigenschaft den Granulis zuzuschreiben.

Nun besitzen wir in der Pigmentzelle ein Objekt, das natürlich gefärbte Granula enthält und es fragt sich, ob wir nicht aus deren Verhalten während der Zellteilung Rückschlüsse für unser Objekt gewinnen können. Folge ich den Angaben Zimmermanns, der das Verhalten der Pigmentkörnchen während der Zellteilung durch klare Bilder dargestellt hat, so zeigt sich, dass die Körnchen im Stadium des Knäuels sich an der Peripherie der Zelle ansammeln, später aber

(während des Mutterstern-Stadiums) zwischen die Chromatinschleifen des Kernes rücken; sobald jedoch die Tochtersterne sich ausbilden, „ändert sich mit einem Male das Bild: Die Polfelder und die Umbiegungsstellen der Schleifen werden völlig frei von Pigment; die ganze Masse desselben sammelt sich im Äquator und noch zwischen den äussersten Enden der Schleifen an. Jetzt fängt die Zelle am Äquator an, sich einzuschnüren. Die Einschnürung geht bald durch die Pigmentmassen hindurch und teilt die Zelle in die beiden Tochterzellen und zwar so, dass die Pigmentmasse genau halbiert wird“ (Fig. 18). Wir sehen also, dass zwischen der Bewegung der Pigment- und der Neutralrotkörnchen ein wesentlicher Unterschied besteht: Nur während eines Teiles der Karyokinese rücken die Pigmentkörnchen in die Nähe des Kernes, ja sogar zwischen seine Chromatinschleifen. Aber im Momente der Zelldurchschnürung strömen sie, ganz im Gegensatze zu unseren Körnchen, vom Kerne weg zu der Einschnürungsebene.

Jeder, der die Furchung pigmentierter Amphibieneier beobachtet, kann das gleiche Verhalten des Pigmentes der Furchungszellen leicht nachweisen.

Auch die Vorstellungen, die man sich, zum Teil allerdings mit Hülfe gewagter Hypothesen, über die mechanischen Vorgänge des Ablaufes der Karyokinese gebildet hat, geben uns keine Handhabe, die Bewegung der Körnchen zum Kerne zu erklären. Sie sind weit eher einer gegenteiligen Bewegung günstig. Ich brauche hier nur folgende Sätze M. Heidenhains zu citieren: „Geradeso wie der Kern infolge des Spannungsgesetzes nach der Peripherie hin ausweichen muss, so weichen auch andere, interflar gelegene körperliche Elemente vor dem Mikrocentrum in einer Richtung centrifugal aus. So finde ich mitunter in den Phagocyten die in den Zelleib aufgenommenen groben Ballen eiweissartiger oder pigmentartiger Substanz in

ausgesprochener, vorwiegend peripherischer Stellung vor. Ebenso, denke ich, weichen die Dotterkörnchen in tierischen Eiern in der Richtung des geringsten Druckes und der grössten interfilaren Räume aus, sodass sich im Umkreise des Mikrocentrums ein plasmatischer Hof bildet, der frei von Dotterbestandteilen ist.“

Denkbar wäre es endlich, dass während der Kernteilung eine sonst in der ganzen Eizelle oder in ihrer Peripherie ausgebreitete Plasmaart gegen den Kern hin rückt und, passiv, die in ihr suspendierten Körnchen in die Nähe des Kernes bringt. Aber auch für eine solche, physikalisch übrigens schwer vorstellbare Erklärungsart, fehlt uns jede Stütze.

Vielleicht trifft der nachfolgende Erklärungsversuch, der an physikalisch bekannte Thatsachen anknüpft, das Richtige.

Gehen wir vom Ruhestadium der Zelle aus. Hierbei sind die Körnchen in der ganzen Zelle gleichmässig verstreut. Wir haben uns sie in dem zähflüssigen Plasma suspendiert vorzustellen und dieses letztere zeigt wohl im Ruhestadium in allen Teilen der Zelle ein vollkommen gleiches physikalisches Verhalten, wirkt daher überall gleich auf die Körnchen ein; es ist daher in diesem Stadium ganz gleichgültig, wo in der Zelle ein Körnchen liegt, ob mehr central oder mehr peripherisch, überall sind seine Beziehungen zur Umgebung die gleichen. Wir brauchen nun, um die Bewegung der Körnchen aus der Peripherie zum Centrum physikalisch vorstellbar zu erklären, nur die aller Wahrscheinlichkeit nach nicht unberechtigte Annahme zu machen, dass sofort bei Beginn des Kernteilungsprozesses und während seines Verlaufes, das Plasma zunächst in der unmittelbaren Umgebung des Kernes physikalisch, besonders hinsichtlich seiner Viskosität in einer für die Ansammlung der Körnchen günstigeren Weise als an der Peripherie verändert wird. Dass überhaupt eine Veränderung des Plasmas um den Kern statthat, ist an

sich schon ungemein wahrscheinlich und wird durch die Körnchenbewegung direkt sichtbar gemacht; nehmen wir nun an, dass diese Veränderung in dem soeben erwähnten Sinne erfolgt, dann erklärt sich die Bewegung der Körnchen zum Kerne bei Beginn der Zellteilung nach physikalischen Analogien sehr einfach. Da im Centrum der Zelle für die Ansammlung der Körnchen günstigere Verhältnisse bestehen als an der Peripherie, so rücken sie — als mikroskopisch kleine im Plasma suspendierte Elemente kommt ihnen an sich schon eine stetige Bewegung zu — von der letzteren stetig ab. Eine solche Einstellung kleinster, beweglicher Elemente entsprechend den Bahnen geringsten Widerstandes ist, ohne Zuhülfenahme besonderer Kräfte, sehr wohl möglich und würde die geschilderten auffälligen Phänomene hinreichend erklären. Denn für die übrigen Veränderungen der Kernfigur parallelen Formvariationen der Körnchenfigur kommen dann wohl zwei Momente in Betracht: Einmal der Umstand, dass diese Formveränderungen nur den Abguss der innerhalb der Körnchenmasse sich vollziehenden Gestaltsveränderungen des Kernes bilden, und dann die sehr wahrscheinliche Thatsache, dass die Veränderung des Plasma fortdauernd am mächtigsten in der Nähe des Kernes bleibt und sich demgemäss stets auf eine seiner Form entsprechende Zone erstreckt. — Wird nach Beendigung des Teilungsvorganges wiederum ein Zustand der gleichmässigen Beschaffenheit der ganzen Plasmamasse erreicht, dann geraten die Körnchen wiederum allmählich in alle Bezirke des Zelleibes.

Dass aber, abgesehen von dieser angenommenen physikalischen Änderung des Plasma um den Zellkern auch noch die in der Zelle durch die Teilungsfiguren selbst gesetzten Veränderungen bei diesen Bewegungen eine Rolle spielen, ist sehr wahrscheinlich. So erscheint und verschwindet z. B. die centrale Anordnung der Körnchen gleich-

zeitig mit der Plasmastrahlung. Welcher Art dieser Einfluss ist, kann wohl bei dem heutigen Stande unserer Kenntnisse der cytomechanischen Vorgänge, nicht angegeben werden.

Wenn wir nunmehr, am Schlusse, die erlangten Resultate mit den bei Beginn der Untersuchung uns gesteckten Zielen vergleichen, so ist wohl klar, dass die ermittelten Thatsachen wesentlich andere sind als die erwarteten. Eine Färbung von Zellelementen ist uns zwar gelungen; aber wir mussten Bedenken tragen, sie lebendem Protoplasma zuzuschreiben. Das Phänomen der Körnchenbewegung war auffallend genug und schien beim ersten Blicke eine komplizierte vitale Erscheinung darzustellen -- eine objektive Kritik hat es auf einfache physikalische Vorgänge zurückzuführen gesucht.

Ob die Auffassung der Körnchen, ob insbesondere die versuchte Erklärung ihrer Bewegungen die richtige ist, wird sich auf histologischem Wege allein kaum entscheiden lassen. Wir bedürfen hierzu näherer Kenntnisse von chemischen und molekularphysikalischen Vorgängen innerhalb der Zelle bei ihrer Teilung. Abgesehen von den ermittelten Thatsachen selbst, lässt sich aber noch (aus ihnen) der nicht unwichtige Schluss ableiten, dass im Verlaufe der Zellteilung sehr wesentliche Veränderungen im Protoplasma — vielleicht in dem ange deuteten Sinne — stattfinden, die zwar stets vorauszusetzen waren, für die aber hier unzweideutige, sichtbare Beweise vorliegen. — Auch die Art der Verteilung der gefärbten Elemente während der Furchung, ihre Zahl und ihr Verhalten in den späteren Entwicklungsstadien ist von einiger Bedeutung.

Untersuchungen dieser Art, vorausgesetzt, dass sie auf eine breitere Basis gestellt werden, als es bei den vorliegenden möglich war, werden wohl noch weitere neue Aufschlüsse über das Leben der Zelle zu Tage fördern.

Litteratur.

1. Bethe, A., Der subepitheliale Nervenplexus des Ctenophoren. Biol. Centralblatt. 15, 1895.
2. Brandt, K., Färbung lebender einzelliger Organismen. Biolog. Centralblatt I, 1881.
3. — Die koloniebildenden Radiolarien des Golfes von Neapel. Fauna und Flora d. Golf. v. Neapel, XIII, 1885.
4. Ehrlich, P., Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes I. Berlin 1891.
5. — und Lazarus, A., Normale u. path. Histologie des Blutes. Spezielle Pathologie u. Therapie, herausgeg. v. Nothnagel, VIII, 1. Teil, 1. Heft.
6. Galeotti, G., Ricerche sulla colorabilità della cellule vivanti. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, 1884, Bd. 11.
7. Heidenhain, M., Cytomechanische Studien. Archiv f. Entwicklungsmechanik, Bd. I, 1895.
8. Kowalewsky, A., Ein Beitrag zur Kenntnis der Exkretionsorgane. Biol. Centralbl. IX, 1889.
9. — Zum Verhalten des Rückengefäßes und des guirlandenförmigen Zellstranges der Musciden während der Metamorphose. Biolog. Centralbl. VI, 1886.
10. Lee, A. B., und P. Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik. Berlin 1898.
11. Martinotti, G., Sopra l'assorbimento dei colori di anilina per parte delle cellule animali vivanti. Zeitschr. f. wiss. Mikroskop., V, 1888.
12. Mayer, P., Die Caprelliden des Golfes von Neapel. Fauna u. Flora d. Golf. v. Neapel, VI, 1882.
13. Mayer, S., Die Methode der Methylenblaufärbung. Zeitschr. f. wissensch. Mikrosk., VI, 1887.
14. — Bemerkungen über die Wirkungen der Farbstoffe Violett B und Neutralrot. Sitzber. d. naturwiss. med. Vereins „Lotos“ 1896, Nr. 2.
15. Mitrophanow, P. J., Über Zellgranulationen. Sitzber. d. biolog. Sektion d. Warschauer naturforsch. Gesellsch. Biolog. Centralbl., IX, 1890.

16. Pfeffer, W., Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen, II, 2, 1886.
17. Prowazek, S., Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 83, 1897.
18. Przesmycki, A. M., Über die Zellkörnchen bei den Protozoen. Biolog. Centralbl., XIV, 1894.
19. — Über die intravitale Färbung des Kernes und des Protoplasmas. Biolog. Centralbl., XVII, 1897.
20. Schultze, O., Die vitale Metylenblaureaktion der Zellgranula. Anat. Anz., II, 1887.
21. Solger, B., Zur Physiologie der sogen. Venenanhänge der Cephalopoden. Zool. Anz., IV, 1881.
22. Ziegler, H. E., Einige Beobachtungen zur Entwicklungsgeschichte der Echinodermen. Verhandl. d. deutsch. zool. Gesellsch. auf der 6. Jahresversammlung 1896.
23. Zimmermann, K. W., Über die Teilung der Pigmentzellen, speziell der verästelten intraepithelialen. Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. 36, 1890.

Einige Arbeiten konnten erst nachträglich (in Anmerkungen im Texte) berücksichtigt werden.

Tafelerklärung.

Die Figuren sind nach von mir in Neapel nach dem lebenden Objekte ausgeführten Skizzen (Vergrößerung zumeist nach Reichert, Okular 3, Objektiv 7a — Vergr. 400) angefertigt. Fig. 18 ist Zimmermann entlehnt.

Fig. 1. Befruchtetes, mit Neutralrot gefärbtes Ei von *Echinus microtuberculatus*.

Fig. 2. Dasselbe bei Beginn der ersten Furchungsteilung.

Fig. 3 und 4. Weitere Stadien derselben.

Fig. 5. Beginn der Zelldurchschnürung.

Fig. 6. Ruhestadium der ersten 2 Furchungszellen.

Fig. 7 und 8. Weitere Stadien ihrer Furchung.

Fig. 9. Beginn des Durchschneidens der 2. Furche.

Fig. 10. Stadium der Tochtersterne der ersten 4 Furchungskugeln.

Fig. 11. Ruhestadium derselben.

Fig. 12 und 13. Stadien der Teilung der ersten Furchungszellen.

Fig. 14. Stadium mit 8 Blastomeren.

Fig. 15. 8 Zellen des sog. animalen Poles vom 16. Zellenstadium. Die vier kleineren: Die von Selenka „Scheidelzellen“ genannten (vgl. die Anmerkung auf S. 474.)

Fig. 16. Stadium mit beginnender Gastrulation und Mesenchymbildung. m = Mesenchymzellen.

Fig. 17. Pluteuslarve von *Echinus microtuberculatus* mit Neutralrot gefärbt. m = Mesenchymzelle; p = pigmentierte Mesenchymzellen; K = Kalkstäbe; A = Analarme; O = Oralarme. Vergröss. ca. 100.

Fig. 18. Intraepitheliale Pigmentzelle einer Salamanderlarve. Dyaster. Das Pigment ist an der Teilungsstelle und zwischen den äussersten Chromatinschleifenenden angehäuft. Kopie von Fig. 8, Tafel XV aus Zimmermanns Arbeit. Vergrößerung Zeiss, homog. Immers. $\frac{1}{12}$.