Entwicklungsmechanische Studien.

Von

Prof. Dr. Ermanno Giglio-Tos,

Direktor der biologischen Station der Königl. Universität Cagliari.

I.

Die ersten Furchungsebenen bei den Eiern der Seeigel.

Mit 22 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. November 1921.)

Nessuna humana investigazione si può dimandare vera
scientia s'essa non passa per le matematiche dimostrazioni.
Leonardo da Vinci.

Ich behaupte, daß in jeder Naturlehre nur soviel wahre
Wissenschaft ist, als Mathematik im weiteren Sinne darin
enthalten ist. *Kant.*

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	80
Untersuchungsmaterial	81
Die Gallerthülle der Eier	82
Der Gallertkanal und die Mikropyle	84
Der Gallertkanal und die Befruchtung	85
Der Gallertkanal und die Hybridation	87
Die Befruchtungsmembran	89
Der Spermakern, seine Wanderung und der Anfang des Amphiasters . .	91
Wanderung des Eikerns nach dem Spermakern	94
Wanderung des ganzen Systems: Furchungskern und Amphiaster am Zentrum des Eies	95
Die erste Furchungsebene	96
Die charakteristischen Erscheinungen der Befruchtung und der ersten Fur- chung	100
Die Zellteilung in unserer Erklärung	101
Das Wesen der Zellteilung der Blastomeren und ihrer Figuren	103
Warum der Spermakern gegen das Innere des Eies wandert	107
Warum der Spermakern eine Pause in seiner Wanderung gegen den Mittel- punkt erleidet	109
Warum der Eikern gegen den Spermakern wandert	110
Warum Amphiaster und Furchungskern bis zum Mittelpunkt des Eies wandern	111
Warum die Spindel vollständig beweglich ist	112
Warum die erste Furchungsspindel immer horizontal liegt	113
Warum sich die Teile der Zelle in der Richtung der Spindelachse ver- längern	114
Warum die Tochterzellen die sphärische Form annehmen, oder warum be- streben sie sich dies zu tun?	115
Warum sich die Teilungsfurche bildet	117
Warum die Furche zuerst am Eindringungspunkte des Samenfadens erscheint	118
Warum die erste Furchungsebene vertikal ist und warum sie durch den Eingangspunkt des Samenfadens geht	118
Die zweite Furchungsebene	120

	Seite
Die zwei Blastomeren und der Asynchronismus ihrer Furchung	120
Die Ungleichheit der beiden Blastomeren	121
Ursachen des Asynchronismus	123
Warum die zweite Ebene vertikal ist	124
Warum die zweite Ebene rechtwinklig zur ersten steht	124
Wirkung des Druckes auf die Spindelrichtung	125
Der Wert des Druckes für die Richtungsabweichung der Spindel und der Teilungsebene	126
Tabelle zur Bestimmung der Abweichung der Spindel und der Teilungs- ebene der Zelle unter Druckwirkung	129
Wirkung der Adhäsion	130
Bestimmung der Adhäsion	131
Tabelle der Druckflächen- und Berührungsoberflächendurchmesser im Ver- hältnisse mit dem Diameter D der Zelle	135
Tabelle für die Bestimmung des Teilungsspindelwinkels und desjenigen Winkels, welchen die Teilungsebene mit der Berührungsoberfläche bildet im Verhältnisse zu dem Werte xz und dem Diameter D	136
Warum die beiden zweiten Furchungsebenen zusammenfallen	137
Wirkungen des Teilungsasynchronismus	137
Die dritte Furchungsebene. Warum sie auf den beiden ersten rechtwinklig ist	145
Zusammenfassung	145
Schlußfolgerung	147
Literatur	149

Einleitung.

Es sind schon mehr als 20 Jahre vergangen, daß ich auf theoretischem Wege beweisen wollte, welchen Gesetzen die Zellen während ihrer Teilung folgen und wie hierauf die Furchungsebenen des Eies nachfolgen müssen, entsprechend ihrer Form, Struktur und äußeren mechanischen Wirkungen, denen sie unterworfen sind. Schon damals habe ich bemerkt, wieso meine theoretischen Resultate den schon bekannten Tatsachen genau entsprechen. Trotzdem wollte ich selbst die Untersuchungen wiederholen, eine Serie von Forschungen beginnen, um mich zu überzeugen, ob das beobachtete Zusammenfallen tatsächlich konstant wäre. Ich glaube, es sei geeignet, den ersten Teil der Ergebnisse dieser Forschungen hier zu veröffentlichen in der Hoffnung, daß auch die folgenden nach und nach mitgeteilt werden können.

Jetzt wollte ich nichts in Betracht ziehen, außer der normalen Furchung, mir vorbehaltend später die durch äußere künstliche Wirkung hervorgerufene anormale Furchung zu behandeln. Die Resultate, die ich erlangte, sind hinreichend, mich zu überzeugen, daß nicht nur meine damals dargelegten rationellen Gesetze ganz und gar exakt sind, sondern daß auch meine Erörterungen über die Zellteilung, welche so abweichend von allen bisherigen Ansichten sind, eine rationelle und natürliche Erklärung über sämtliche Tatsachen ergeben, die auch unerklärlich mit den anderen Theorien der Zellteilung sind.

Untersuchungsmaterial.

Die Möglichkeit und Bequemlichkeit der Lösung eines jeglichen Problems hängt natürlich von der Einfachheit desselben ab; und zwar ist sie um so leichter, je geringer die Zahl der Faktoren, aus denen das Problem besteht und je genauer die Beurteilung derselben gelingt. Es gibt endlich auch eine Unterordnung der Probleme, das heißt, es sind manche Lösungen unmöglich, wenn nicht vorher andere Probleme gelöst worden sind, wenn deren Faktoren mit den ersten im Zusammenhange stehen.

In der Prüfung und Untersuchung der Prinzipien, die die ontogenetische Entwicklungsmechanik regieren, ist es daher wie immer nötig, vom Einfachsten zum Komplizierten fortzuschreiten, indem man die mögliche Elimination der sekundären Faktoren versucht, um das Problem zur höchsten Einfachheit zu reduzieren. Wie wir in diesem Studium und auch in den anderen, die ich zu veröffentlichen hoffe, sehen werden, wirken sowohl die Form des Eies, die relative Quantität des Deutoplasmas, die Hülle oder Membran, in welcher es eingeschlossen ist, wie auch die Gravität, Pression, Adhäsion, die mechanisch-physiologischen Verhältnisse bei der Entstehung der Furchungsebene ein und beeinflussen deren Richtung. Zieht man nicht alle diese Wirkungen in Betracht, ermittelt man ihren bestimmten Wert nicht genau, so kann die Richtung, die die Furchungsebene der Zellteilung einschlägt, den Anschein haben, als verlief sie die allgemeinen Gesetze der Mechanik, um speziellen, rätselhaften Regeln zu folgen, die von irgendeiner inneren Kraft abhängen, wie es *Driesch* annahm.

Es würde also ideal sein, für das Studium dieser Probleme Versuche über Eizellen von sphärischer Form — die vollständig frei sind, nicht adhäreren, nicht in einer Hülle oder Membran eingeschlossen sind, kein Deutoplasma haben — anzustellen. Da aber diesen Forderungen in der Natur nicht entsprochen wird, müssen wir uns zu jenen Eizellen wenden, die jenen Forderungen wenigstens am meisten Genüge leisten.

Solche sind die Eier der Seeigel, die eine sphärische Form haben, verhältnismäßig arm in Deutoplasma sind und deswegen eine holoblastische und beinahe äquale Furchung haben. Es ist wahr, daß sie mit einer Membran ausgerüstet sind, die zwar an der Furchung keinen Teil nimmt, deren Einfluß wir aber erkennen werden. Daher sind sie in hohem Grade zu unserem Zwecke geeignet, weil die Faktoren des Problems auf eine geringe Zahl reduziert sind. Unter den verschiedenen Spezien gab ich den Vorzug den Eiern des *Paracentrotus lividus* Lm. und des *Parechinus microtuberculatus* Bln. um so eher,

weil sie leicht in größerer Quantität zu haben sind. Für gewisse Untersuchungen sind die Eier der zweiten Spezies noch mehr geeignet, weil sie durchsichtig sind.

Die Gallerthülle der Eier.

Sowohl die Oozyten (»Vorei«) wie die Eier (»Reifei«) der beiden obengenannten Arten der Seeigel sind mit einer Hülle von besonderer gallertartiger Natur umgeben, die der mikroskopischen Untersuchung, falls diese ohne besonderen Mitteln ihrer Sichtbarmachung vorgenommen wird, im allgemeinen entgeht; jedoch können wir ihrer Gegenwart bei der Beobachtung des Befruchtungsprozesses vermuten, da die Spermatozoen in einer bestimmten Distanz von der Dottermembran angelangt, von einem unsichtbaren Hindernis aufgehalten werden.

Wie es sich herausstellt, brachte bisher niemand diese Hülle durch Färbung ihrer Substanz zur klaren Beobachtung.

Es ist wahr, daß *Boveri* ihre Gegenwart mit chinesischer Tusche erwiesen hat; es gelang ihm aber nicht, sie zu färben. Von der chinesischen Tusche wird das Gesichtsfeld des Präparates wegen der zahlreichen, winzigen, schwarzen Körnchen, die dort zerstreut sind, bräunlich; da aber sie nicht in die Substanz der Hülle eindringen können, erscheint letztere als eine farblose, durchsichtige Zone, welche das Ei inmitten des braungefärbten Feldes umgibt. Kurz und gut, auf diese Weise erhielt man eine Art negative Figur der Hülle. Mir gelang jedoch eine augenfällige Färbung der Hülle, welche so ein wirklich positives Bild zeigt, das mir das Studium ihrer Struktur, wie einfach sie auch immerhin sei, und auch das gegenseitige Verhältnis zur Eizelle und ihrer Produkte erlaubt hat.

Das Toluidinblau und Pyronin sind die am meisten zu diesem Zwecke geeigneten Farbstoffe, weil sie im Meerwasser löslich sind. Ich gab dem ersten den Vorzug, weil ich sofort bemerkt habe, daß es keine unmittelbaren nachteiligen Wirkungen weder auf die Eizellen, noch auf die Spermatozoen hat, was ich von Pyronin nicht zu sagen wage.

Das Verfahren ist sehr einfach und das Resultat unmittelbar und augenblicklich.

Man löst im Meerwasser ein wenig Toluidinblau auf. Die Quantität hat, wie ich beobachten konnte, keinen großen Einfluß auf das unmittelbare Resultat; mir scheint aber, sie sei jedoch nicht ohne Wirkung auf die besonderen Eigenschaften. Man dürfte sagen, daß das Toluidinblau auf die Hülle zusammenziehend und reduzierend wirke; die Schrumpfung kann bis zu dem Punkte gelangen, daß die Hülle sich spaltet, und die Eizelle samt den Furchungsprodukten herausschlüpft. Dies konnte ich mehrmals durch direkte mikroskopische Beobachtung feststellen.

Deswegen fand ich es viel vorteilhafter, eine sehr verdünnte Lösung anzuwenden, welche die Hülle in ihrer wirklichen Dimension darstellt und das Ei in einem möglichst unveränderten Zustande hinterläßt.

Die beste Lösung ist die folgende:

Meerwasser 100 g

Toluidinblau 0,01 g.

Die Lösung hält sich lange, und ihre Anwendung besteht in folgendem:

Man legt einen Tropfen auf den Objektträger und setzt das Ei hinein.

Sofort erscheint um das Ei und um die Oozyten, gegen den äußeren Umriß eine breite, in Violett gefärbte Zone; das Ei hingegen bleibt gänzlich ungefärbt. Bezüglich der violetten Färbung glaube ich, was *Hoyer* über die Mucine berichtet, nämlich, daß diese Hülle aus Mucinen oder anderen analogen Substanzen aufgebaut sei.

Die innere Struktur dieser Hülle scheint fast homogen. Man hat jedoch den Eindruck, daß sie eine außerordentlich feine konzentrische

Abb. 1. Ei von *Parechinus microtuberculatus* mit Gallerthülle und Mikropyle.

Streifung aufweise. Die innere Oberfläche ist mit der Dottermembran des Eies im innersten Zusammenhang, und es ist unmöglich, in ihr irgendeine Struktur aufzufinden. Daß sie homogen sei, schließt man auch aus der Tatsache, daß beim Zerplatzen der Hülle und dem Herausschlüpfen der Blastula auch die innere Wand der Hülle sichtbar wird und keine besondere Struktur zeigt.

Von der äußeren Oberfläche kann man dies nicht sagen. Sei eine Veränderung infolge des Farbstoffes, oder aber eine besondere Eigenschaft der Hüllsubstanz vorhanden: es ist Tatsache, daß sie eine feinste, netzförmige Struktur mit kleineren und größeren unregelmäßigen Maschen darstellt, die von dünnsten, miteinander unregelmäßig verknüpften Fasern begrenzt werden, welche von winzigsten Körnchen aufgebaut und in Reihen angeordnet sind und nicht violette, sondern blaue Färbung zeigen (Abb. 1). Dieses feine Netz erinnert an die Oberfläche eines feinsten Schaumes und ist an sämt-

lichen Eiern ersichtlich, was aber nicht ausschließt, daß es ein künstliches Produkt der Wirkung des Toluidinblaus sei. Diese Gallerthülle verschwindet nach der Befruchtung überhaupt nicht, wie es einige behaupteten, sondern sie konserviert sich und ist mit Toluidinblau in jedem Stadium der Furchung bis zur Bildung der beweglichen Blastula

nachweisbar, wie es auch Théel (13) bei dem *Echinocyamus pusillus* bemerkte. Später aber, wenn die Blastula schon beweglich ist und sich in der Befruchtungsmembran dreht, beginnt die Hüllensubstanz langsam fließend zu werden, streckt sich leicht in Fasern und Schaum aus und zerplatzt endlich, um die Blastula frei zu lassen (Abbild. 2).

Wie man sieht, benimmt sich diese Hülle ganz und gar analog den Gallertmassen, in welchen die Eier der Würmer, Weichtiere, Amphibien und Fische liegen, die früher widerstandsfähig sind, später aber, wenn die ontogenetische Entwicklung fortschreitet, sich umwandeln, bis sie zergehen, zerplatzen, um die reife Larve ausschlüpfen zu lassen.

Abb. 2. *Porechinus microtuberculatus*.
a Gallerthülle, b Blastula.

Der Gallertkanal und die Mikropyle.

Durch diese Gallerthülle führt ein winziger Kanal, von Boveri (1) Gallertkanal genannt, der innen gegen die Dottermembran endigt, er hat außen eine trichterförmige Ausbreitung und öffnet sich mit einem kleinen Loche, der Mikropyle.

Es ist ziemlich schwer, den Gallertkanal und die Mikropyle aufzufinden, nicht so sehr ihrer Winzigkeit halber, sondern wegen ihrer zufälligen Stellung im Gesichtsfelde. Es ist nötig, daß sie im Gesichtsfelde in geeigneter Ebene liegt, was jedoch Zufall ist; jedenfalls muß man viele Eier mit Ausdauer prüfen, bis eines diesen Bedingungen entspricht. Einige Male glückte es mir jedoch, die Mikropyle auf der Oberfläche der Gallerthülle in deutlicher Weise zu sehen, das versuchte ich wiederzugeben, wie es die Abb. 1 zeigt.

Um sie sichtbar zu machen, gebrauchte *Boveri* (1) für alle beide die Tusche. Diese Methode wurde ebenfalls für die *Arbacieneier* von *Morgan* und *Spooner* (10) verwendet. Die winzigen Körnchen der Tusche dringen in den Gallertkanal ein und so wird ihre Gegenwart verraten. Nachdem aber diese *passive* Eindringung nicht immer bestätigt werden kann, gab ich einer viel evidenten *aktiven* Eindringung den Vorzug.

Deshalb setzte ich Spermatozoen in das gefärbte Wasser, wo die Eier sich befanden. Das Toluidinblau, wie ich schon erwähnte, schadet den Spermatozoen überhaupt nicht; sie bewahren ihre vollständige Vitalität und ihre lebhaften Bewegungen. Man sieht dann, daß sämtliche Gallerthüllen von Spermatozoen umgeben werden, die aber erfolglos die Eindringung versuchen. Der Eintritt wird ihnen von der undurchdringlichen Gallerthülle verschlossen, und diejenigen Spermatozoen, die nicht gegenüber der Mikropyle sich befinden, werden von der Gallerthülle aufgehalten, und mit der Zeit gehen sie dort zugrunde. Diejenigen Spermatozoen hingegen, die zufällig neben der Mikropyle sind, dringen mit ihren Bewegungen in den engen Gallertkanal ein und dadurch machen sie diese recht sichtbar. Ich konstatierte öfters diese Erscheinung und stellte sie in der Abb. 3 dar.

Abb. 3. Ei von *P. microtuberculatus* befruchtet mit Spermatozoen von *Paracentrotus lividus*, im Gallertkanal vier Spermatozoen.

Der Gallertkanal und die Befruchtung.

Die Färbung der Gallerthülle läßt diejenigen Erscheinungen besser beobachten, die der Befruchtung vorausgehen. Von allen den zahlreichen Spermatozoen, die das Ei umgeben und seine Befruchtung versuchen, können bloß diejenigen in den Gallertkanal eintreten, die in unmittelbarer Nachbarschaft der Mikropyle sind. Der Gallertkanal aber ist so eng, daß er auf einmal nur einen Samenfaden durchlassen kann, wie ich mehrmals sehen konnte. Hingegen ist er so lang, daß er mehrere — von 4—6 — Spermatozoen zugleich aufnehmen kann, die aber immer in einer Reihe nacheinander folgen, so, daß nur derjenige zur Dottermembran anlangen und das Ei befruchten kann, welchem zuerst das Eindringen gelungen ist (Abb. 3). Die anderen

behalten eine Zeitlang ihre lebhaften Bewegungen, können aber nicht zurück, weil sie keine regressiven Bewegungen zu leisten imstande sind. Das Vorwärtskommen ist ihnen aber auch unmöglich, indem der Kanal von den Vorangegangenen verstellt ist. So wird ihre Vitalität immer schwächer und die Bewegungen langsamer, bis sie in dem Kanale sterben.

Nach dem Eindringen des ersten Samenfadens müßte die Bildung einer Befruchtungsmembran folgen, um das Eindringen eines zweiten zu verhindern. Trotzdem geschieht diese Bildung nicht so augenblicklich, daß ein zweiter Samenfaden, welcher dem ersten folgt, nicht noch Zeit hätte einzudringen, ehe die Befruchtungsmembran erzeugt ist. Das ist in der Tat möglich. Es kommt auch in Wirklichkeit vor, wie es die unzweifelhaften Dyspermiefälle beweisen, die auch *Boveri* erwähnte. Mir ist nicht gelungen, diese Erscheinung hervorzurufen, obwohl ich es wiederholt versuchte. In jedem der Fälle, die ich untersuchte, blieb der zweite Samenfaden, welcher mit seinen kräftigen Bewegungen gleich nach dem ersten das Eindringen versuchte, ausgeschlossen und starb außerhalb der Dottermembran in direktem Kontakte mit derselben.

Man könnte die Frage stellen, da wir die Mikropyle und den Gallertkanal haben, ob das Eindringen der Spermatozoen und also auch die Befruchtung nur durch den Gallertkanal, oder auch durch einen beliebigen Teil der Gallerthülle erfolgen kann. *Wilson* und *Mathews* (14) und mit ihnen der größere Teil der Biologen äußern die Meinung, daß die Spermatozoen durch einen jeden beliebigen Punkt in die Eizelle eindringen können. *Boveri* (1) wagt gegen diese allgemeine Auffassung nicht aufzutreten, läßt aber glauben, daß vorzugsweise durch den Gallertkanal das Eindringen der Samenfäden geschehe. »Wir können also sagen« — schreibt er — »daß am animalen Pol wenigstens eine gewisse Prädilektionsstelle für das Eindringen des Samenfadens vorhanden ist« (S. 638). Animalen Pol nennt *Boveri* jenen Punkt der Eizelle, welcher der inneren Mündung des Gallertkanals entspricht.

Daß die überwiegende Meinung noch immer das Eindringen des Samenfadens an einem jedweden Punkte der Eizelle für möglich hält, läßt sich verstehen, wenn wir bedenken, daß man keine genügende Aufmerksamkeit auf die Gegenwart der Gallerthülle lenkte, teils, weil man sie nicht kannte, teils auch, obwohl sie gekannt, nicht die Mittel hatte, sie sichtbar zu machen und damit das Verhältnis zwischen der Gallerthülle und Spermatozoen zu erforschen. Mit *Boveris* Methode, mit der Tusche kann man auch diese Untersuchung nicht der nötigen Sicherheit entsprechend vollführen, indem die Gallerthülle nicht gefärbt und so nicht klar sichtbar wird. Diese Umstände schließen die

Möglichkeit der Feststellung der tatsächlichen Lage der Spermatozoen aus. Die Unsicherheit wird noch vergrößert, daß die Samenfäden die Gallerthülle rings umgeben; und die auf der Peripherie des oberen Teiles zwischen unseren Augen und dem Ei gelagerten scheinen im direkten Kontakte mit der Dottermembran zu sein; dies muß jedoch ausgeschlossen sein, weil zwischen den beiden noch die Gallerthülle liegt.

Dies müssen die Ursachen sein, welche dem skrupulösen *Boveri* nicht erlaubten, entschieden auszusagen, daß nur durch die Mikropyle die Spermatozoen eintreten könnten, obgleich seine zitierten Worte darauf hindeuten, daß er diese Überzeugung gehabt habe.

Es ist wahrscheinlich, daß alle seine Zweifel diesbezüglich verschwunden wären, wenn er die Gallerthülle mit Toluidinblau gefärbt hätte, wie ich es tat. Diese Färbung stellt die Umrisse der Gallerthülle so genau dar, daß nach einer sorgfältigen Untersuchung jeder Zweifel aufhört. Man sieht alle die Samenfäden, trotz ihrer wiederholten Anstrengungen, in die Eizelle einzudringen, an der Peripherie der Gallerthülle aufgehalten und wenn einem das Hineindringen jedoch gelingt, wird er gleich an der Peripherie der Gallerthülle aufgehalten; bald verliert er die Bewegungsfähigkeit und stirbt ab. Ich bin überzeugt, daß, wenn andere mit meiner Methode die Untersuchungen wiederholen, sie zu demselben Schluß gelangen müssen, daß das Eindringen der Spermatozoen nur durch die Mikropyle und den Gallertkanal geschehen kann und daß der Eindringungspunkt des befruchtenden Samenfadens in die Eizelle dem von *Boveri* festgestellten animalen Pole entspricht.

Der Gallertkanal und die Hybridation.

Wenn dies alles richtig ist, wie ich es glaube, gewinnt die Gegenwart der Gallerthülle mit dem Gallertkanale für gewisse, mit der Polyspermie und Hybridation im Zusammenhang stehenden Probleme eine große Wichtigkeit und sie erlaubt uns, in ihr einen neuen Faktor zu erkennen, der die Lösung erleichtert.

Es ist bekannt, sagt man, daß die Befruchtungsmembran, welche sofort nach dem Eintritt des ersten Samenfadens entsteht, ein unüberwindliches Hindernis gegen das Eindringen noch anderer Spermatozoen in den Weg setzt und so die Polyspermie verhindert.

Wenn wir aber von der Gallerthülle und dem Gallertkanale absehen und uns die Eizelle für sich denken, oder wenn man auch die Gallerthülle annimmt, aber zugesteht, daß diese gleichmäßig an einem jeden Punkt für die Spermatozoen durchlässig sei, so wird jedenfalls die Erklärung schwer fallen, wieso die Entstehung der Befruchtungsmembran, welche ebenfalls nicht augenblicklich geschieht, zureichend

sei, dieses Ergebnis zu bewerkstelligen. Es wäre nicht unmöglich, ja sogar sehr wahrscheinlich, daß von den zahlreichen Samenfäden, die das Ei umgeben, zwei oder mehrere in demselben Augenblicke eindringen, bevor noch die Befruchtungsmembran entstehen würde. Es müßten also Polyspermiefälle viel häufiger vorkommen, als es in der Wirklichkeit geschieht, hauptsächlich bei unseren künstlichen Befruchtungen in den Laboratorien, wo die Spermatozoen fast immer verhältnismäßig viel zahlreicher sind, als bei der natürlichen Befruchtung. Daß diese Erscheinung doch nicht zustandekommt, liegt in der Gegenwart des Gallertkanals begründet, der, wie ich schon sagte, auf einmal nur einen einzigen Samenfaden durchläßt.

In ähnlicher Weise können wir Schlüsse bezüglich der Hybridation ziehen.

Wie *Hertwig* seit mehreren Jahren experimentiert, wollte ich meinerseits auch die gekreuzte Befruchtung des *P. lividus* mit dem *P. microtuberculatus* und umgekehrt versuchen. Die erhaltenen Resultate entsprachen denen *Hertwigs*, nämlich die Spermatozoen des *P. lividus* befruchteten die Eizellen des *P. microtuberculatus*, nicht aber die Spermatozoen des zweiten, die Eizellen des ersten.

Man kann hier überhaupt nicht den Chemotropismus als Ursache erwähnen. Im Gegensatz zu dem, was *Stassano* (12) sagt, bemerkte ich keinen Unterschied im Verhalten der Spermatozoen der einen Art, in Gegenwart der Eizellen der anderen. Sie häuften sich um die Eizellen so zahlreich an, mit solchen lebhaften Bewegungen, als ob sie ihre eigenen Eizellen umschwärmt hätten. Ich beobachtete dieselbe Entscheidung, sowohl bei den Spermatozoen des *P. lividus* mit den Eizellen des *P. microtuberculatus*, wie auch umgekehrt bei den anderen, von denen ich erwähnte, daß sie kein Resultat hatten.

Die Ursache der Unmöglichkeit dieser Kreuzung könnte man hingegen leicht mit dem Verhältnis erklären, das zwischen der Breite des Gallertkanals und der Größe der Spermatozoen vorhanden ist.

Wir sahen schon, daß die Breite des Gallertkanals den Durchgang nur einem einzigen Samenfaden auf einmal erlaubt. Die Breite des Gallertkanals hat also einen, dem Kopfe des Samenfadens derselben Art entsprechenden Diameter. So ist es klar, daß, wenn wir die Befruchtung mit den Spermatozoen anderer Arten versuchen, so können jene leicht den Gallertkanal durchschreiten, wenn sie kleiner sind, und die Befruchtung kann auf diese Weise zustandekommen; wenn aber die Befruchtung mit größeren Spermatozoen versucht wird, so ist das Experiment fruchtlos, indem sie keinen Durchgang durch den für sie engen Gallertkanal finden.

Ich glaube, daß etwas ähnliches zwischen den beiden früher erwähnten Seeigelarten geschieht.

Obgleich ich bei meinen Untersuchungen diesbezüglich keine Messungen ausübte, weil dies nicht dem Ziel dieser Arbeit entspricht, scheint mir doch die Bemerkung richtig, daß die Spermatozoen des *P. microtuberculatus* offenbar dicker, als jene des *P. lividus* seien, und so auch die Breite des Gallertkanals des ersten größer sein muß, als des zweiten. Unter solchen Verhältnissen ist es offenbar, daß die Spermatozoen des *P. lividus*, die kleiner sind, den Gallertkanal der Eizellen des *P. microtuberculatus* durchschreiten und sie befruchten können, wie es tatsächlich geschieht (Abb. 3); das Entgegengesetzte kann aber nicht erfolgen, weil der Durchtritt des Gallertkanals wegen ihrer Enge unmöglich ist; welche Erscheinung ich öfters beobachtet habe.

Die Gegenwart der Gallerthülle und des Gallertkanals erlaubt auch eine annehmbare Erklärung der bisher rätselhaften Wirkungen gewisser chemischer Substanzen auf die Befruchtbarkeit und Hybridation. Es ist klar, wenn wir eine Möglichkeit zur Zerstörung der Gallerthülle oder wenigstens zur Ausbreitung des Gallertkanals finden, so kann auch die Polyspermie und die Hybridation möglich werden.

Loeb gelang die Befruchtung der Eizellen des *P. lividus* mit Sperma eines Weichtieres im Meerwasser, zu welchem er früher *Natriumhydratlösung* zugab.

Auch ich fand, daß die Eier des *P. lividus* von den Spermatozoen des *P. microtuberculatus* befruchtet werden können, wenn wir die Eier in mit Lithiumkarbonat gesättigtes Meerwasser legen.

Das Natriumhydrat und Lithiumkarbonat ermöglichen die Befruchtung, die im normalen Verhältnisse nicht zustandekommt. Wieso geschieht nun diese Erscheinung?

Da ich beobachten konnte, daß Natriumhydrat zu 5% die Gallert-hülle zerstört, daß Lithiumkarbonat in gesättigter Lösung im Meerwasser sie bedeutend aufquillt, ist es wahrscheinlich, daß in beiden Fällen der Gallertkanal erweitert ist und daher den Durchtritt der Spermatozoen ermöglicht.

Ich beschränke mich einstweilen, mich mit diesem Gegenstand hier nicht mehr zu befassen; später aber werde ich bei meinen eigenen Untersuchungen darauf zurückkommen.

Die Befruchtungsmembran.

Nachdem ein Samenfaden in die Eizelle gedungen ist, beginnt die Bildung der Befruchtungsmembran.

Loeb (8) schildert diese Bildung folgenderweise: »On voit tout d'abord la surface lisse de l'oeuf devenir rugueuse: les aspérités sont formées par d'innombrables petites vesicules, qui apparaissent à la périphérie. Elles augmentent rapidement de volume (par l'absorption