

# Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie<sup>1)</sup>.

Von

Emil Godlewski jun.

Aus dem anatomischen Institut der Jagellonischen Universität in Krakau.

Mit Tafel XXII, XXIII und 7 Figuren im Text.

Eingegangen am 20. November 1905.

## Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung . . . . .	580
Material und Untersuchungsmethoden . . . . .	581
I. Teil. Die physiologischen Bedingungen, welche den Prozentsatz der heterogen befruchteten Eier beeinflussen . . . . .	583
1. Die individuelle Beschaffenheit der Elternindividuen . . . . .	583
2. Die Quantität der zum Experiment verwendeten Geschlechtszellen . . . . .	584
3. Die Konzentration der OH-Ionen in dem umgebenden Medium . . . . .	585
4. Verschiedene Beschaffenheit der einzelnen Eier und Spermatozoenindividuen in bezug auf heterogene Kreuzung. Methode der Erreichung des höchsten Prozentsatzes der heterogen befruchteten Eier . . . . .	589
5. Vergleich der Bedingungen der heterogenen Befruchtung mit denjenigen der reinen Kultur . . . . .	595
6. Zusammenfassung der Ergebnisse über die physiologischen Bedingungen der heterogenen Befruchtung . . . . .	599
II. Teil. Die morphologische Entwicklung der Bastarde . . . . .	600
1. Befruchtung und erste Furchungsmitose . . . . .	600
2. Die Geschwindigkeit der Entwicklung und Lebensdauer der heterogenen Bastarde . . . . .	607
3. Die Furchung, Blastula- und Mesenchymbildung . . . . .	614
4. Das Gastrulastadium . . . . .	620
5. Die Skelettbildung . . . . .	620
III. Teil. Befruchtung der Eifragmente von <i>Echinus</i> mit den Samenfäden von <i>Antedon</i> . . . . .	628
Zusammenfassung und Bemerkungen über die Ergebnisse . . . . .	636
Literaturverzeichnis . . . . .	640
Erklärung der Abbildungen . . . . .	644

<sup>1)</sup> Vorgetragen in der Sitzung der Akad. d. Wissenschaften in Krakau am 10. Juli 1905. Vorl. Mitteil. in Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie. Juillet 1905.

### Einleitung.

Auf dem Gebiete der Bastardierungslehre haben die Arbeiten von JACQUES LOEB (03) eine epochemachende Bedeutung. In seiner vorläufigen Mitteilung, welche im Jahre 1903 in den »University of California Publications« erschienen ist, hat LOEB die höchst wichtige Tatsache festgestellt, daß die Hybridisation von zwei Familien, namentlich der Asteriden und Echiniden, unter gewissen Bedingungen möglich ist. Mehrere sodann veröffentlichte Arbeiten enthalten die ausführliche Beschreibung der betreffenden Experimente.

Obschon dem amerikanischen Forscher das Verdienst der genauen Feststellung der Bedingungen, unter denen die heterogene Befruchtung erfolgt, gebührt, so muß hier auf eine noch frühere Arbeit hingewiesen werden, welche das gleiche Problem betrifft. Im Jahre 1900 hat nämlich A. GIARD in einer Notiz angegeben, daß es ihm gelungen ist, die Eier von *Psammechinus miliaris* durch Spermatozoen von *Asterias rubens* zur Entwicklung zu bringen. Unter welchen äußeren Bedingungen das geschehen ist, ist schwer aus der kurzen Notiz von GIARD zu ersehen. Der genannte Autor hat auch nicht angegeben, ob Kontrollversuche behufs Ausschließung der künstlichen Parthenogenese gleichzeitig ausgeführt wurden oder nicht.

Die Arbeiten von LOEB sind unabhängig von der Notiz GIARDS entstanden und wir verdanken ihnen eine gründliche Bearbeitung und Deutung der heterogenen Hybridisationsversuche. Daß für verschiedene Entwicklungsetappen und auch für die Befruchtung der Eier mit den Spermatozoen der gleichen Art im umgebenden Medium gewisse Stoffe unerläßlich sind, war schon aus den Arbeiten von C. HERBST (02) hinlänglich bekannt. Die Experimente von J. LOEB haben den Beweis erbracht, daß durch Änderung in der Konzentration und Konstitution der umgebenden Lösung die *Strongylocentrotus*-Eier durch Spermatozoen von *Asterias* zur Entwicklung angeregt werden können. In den weiteren Versuchen hat LOEB durch die Besamung mit den Spermatozoen der Schlangensterne die Entwicklung der Echinideneier hervorgerufen. Die Entwicklung ging gewöhnlich bis zum Blastulastadium vor sich, in einigen Fällen hat LOEB sogar späte Gastrulastadien bekommen und die morphologische Untersuchung dieser Bastarde hat die ersten Anfänge der Skeletstruktur erwiesen.

Den Resultaten der LOEBschen Arbeiten verdanke ich die Anregung zur weiteren Erforschung der von diesem Gelehrten erörterten Probleme. Es schien mir namentlich von prinzipieller Bedeutung

besonders bezüglich der Vererbungsfrage, weitere Stadien dieser heterogenen Entwicklung zu erhalten und diese sodann und die ganze Entwicklung genau cyto- und histologisch zu untersuchen.

Die Entdeckung der LOEBschen Methode, welche die Bastardierung zwischen zwei Familien ermöglicht, scheint mir von großer biologischer Wichtigkeit zu sein, da die durch heterogene Kreuzung entstandenen Mischlinge in Anbetracht der großen Verschiedenheit der Charaktere beider Eltern keinen Zweifel mehr lassen dürften, ob sie nach dem Vater oder nach der Mutter schlagen.

### Material und Untersuchungsmethoden.

Beim Beginn meiner Untersuchungen habe ich die Absicht gehabt, zu meinen Versuchen dasselbe Material zu benutzen, welches schon von J. LOEB gebraucht wurde. Es hat sich aber herausgestellt, daß in der gewählten Versuchszeit (November bis Februar) die heterogene Kreuzung zwischen der Echiniden- und der Asteridenfamilie mit der von J. LOEB angegebenen Methode in Neapel nicht gelingt. Ich bin fern davon, auf Grund dieser Beobachtung gegen die von LOEB festgestellten Tatsachen irgendeinen Einwand zu machen. Jeder, der sich mit Bastardierungsversuchen wie auch mit der künstlichen Parthenogenese beschäftigt hat, weiß, wie sehr die Resultate solcher Experimente von der Individualität des Materials abhängig sind. Dieselben Experimente, welche ganz gut mit dem amerikanischen Material gelungen und deren Ergebnisse von mehreren amerikanischen Forschern bestätigt worden sind, gelingen oft sehr schwer oder überhaupt nicht mit dem Material der europäischen Stationen. Aus diesen Gründen war ich gezwungen, andres Material zu wählen. Nach verschiedenen mißlungenen Bemühungen, die Echinideneier mit Sperma von Holothuriern und Schlangensterne zur Entwicklung zu bringen, ist es mir gelungen, die Entwicklung der Echinideneier durch die Wirkung des Spermas von Crinoiden, namentlich des Samens von *Antedon rosacea*, anzuregen. Mit diesem Sperma wurden die Eier von drei leicht in Neapel zugänglichen Echinidenarten: *Sphaerechinus granularis*, *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus microtuberculatus* in alkalischem Seewasser nach der von JACQUES LOEB angegebenen Methode besamt und zwar nach folgendem Verfahren:

In kleine Glasschalen wurden die vorher bereiteten Lösungen, nämlich Seewasser mit Zusatz von 0,25, 0,50, 0,75, 1, 1,25, 1,50,

1,75, 2,0  $\frac{n}{10}$  NaOH hineingebracht. Dieses Seewasser wurde vorher bis 70 Grad erwärmt. Dadurch hatte man die Sicherheit, daß die möglicherweise im Seewasser vorhandenen Echinidenspermatozoen getötet wurden, daß man also mit sterilem Wasser arbeitet. In diese Lösungen brachte ich die von *Antedon*-Armen abgerissenen Pinnulen; vorher wurden die *Antedon*-Arme sorgfältig im Leitungswasserstrom ausgespült behufs Entfernung etwa anhaftender Echinidenspermatozoen.

Die Pinnulen wurden in jeder Glasschale einzeln zerzupft, wobei das Sperma ausströmte. Es muß hervorgehoben werden, daß *Antedon* zwar das ganze Jahr hindurch in Neapel geschlechtsreif ist, daß aber doch monatliche Schwankungen dabei vorkommen. Schon SEELIGER (93) hat darauf hingewiesen, daß das Entleeren des Spermas von dem Erscheinen der Eier auf den Pinnulen der Weibchen abhängig ist; einige Tage vorher werden die männlichen Pinnulen mit Sperma vollgefüllt angetroffen: diese Zeit eignet sich auch am besten zu unsern Experimenten. Jedes Tier kann einige Tage zu den Versuchen dienen, indem man einen Arm nach dem andern abnimmt und als Material verwendet. Die Zahl der Pinnulen, welche in jede Glasschale gebracht werden, hängt selbstverständlich von der Quantität des Spermas ab, welche jede Pinnule enthält. 5—10 Pinnulen reichen gewöhnlich aus, um der Flüssigkeit (etwa 10 ccm) ein leicht milchiges Aussehen zu verleihen.

Nachher wurden die Eier vorbereitet, wobei alle möglichen Vorsichtsmaßregeln peinlichst beobachtet wurden. Die Instrumente wurden ausgeglüht, die Tiere vor dem Aufschneiden äußerlich sorgfältig mit dem Leitungswasserstrom ausgewaschen und nach der Eröffnung auch innerlich mit Leitungswasser ausgespült.

Die Eierstücke von solchen Tieren wurden in steriles (vorher bis 70° erwärmtes) Seewasser gebracht, und nachdem die Eier aus den Gonaden ausgeströmt sind, wurden sie in die Flüssigkeiten mit dem Sperma herübergebracht. Die Zahl der zum Experiment verwendeten Eier darf nicht zu groß sein. Die nur in einer Schicht liegenden Eier dürfen nicht zusammengedrängt, sondern müssen mehr zerstreut auf dem Boden der Glasschale gruppiert sein.

Nach 5—6 Stunden muß das mit Sperma und Natronlauge versetzte Wasser abgegossen und durch gewöhnliches steriles Seewasser ohne NaOH ersetzt werden. Man tut das nicht wegen der erhöhten Alkalinität der ursprünglichen Flüssigkeit, da dieselbe bekanntlich

(LOEB, HERBST) keine irgendwie schädigende Wirkung auf die weitere Entwicklung ausübt, sondern aus dem Grunde, weil die absterbenden und nachher faulenden Spermatozoen auf die Entwicklung in hohem Grade nachteilig wirken. In allen meinen Versuchen war ich stets behufs unzweideutiger Auslegung meiner Resultate darauf bedacht, die Möglichkeit der künstlichen Parthenogenese auszuschließen, die insofern denkbar wäre, als, wie aus den vorstehenden Versuchsschilderungen ersichtlich ist, die Entwicklung in künstlich verändertem Seewasser beginnt. Nach meiner Erfahrung muß man darauf bestehen, daß bei jedem Experiment Kontrollversuche angestellt werden. Bekanntlich hängen die Resultate der Experimente über künstliche Parthenogenese im hohen Grade von der individuellen Beschaffenheit des Materials ab; wiewohl man mehrfach feststellen kann, daß die betreffende Alkalinitätskonzentration der Flüssigkeit keine Entwicklung hervorzurufen imstande ist, so kann man doch nicht von vornherein sicher sein, daß dies für alle Fälle gelten wird. Experimentiert man mit den Seeigeleiern, so hat man auch in der Abhebung der Dottermembran ein entscheidendes Kriterium, ob in dem betreffenden Fall nicht eine Parthenogenese vorliegt. Es ist nämlich bekannt, daß bei den üblichen Methoden der Hervorrufung der künstlichen Parthenogenese bei den Seeigeleiern die Dotterhaut sich nicht abhebt.

# **I. Teil. Die physiologischen Bedingungen, welche den Prozentsatz der heterogen befruchteten Eier beeinflussen,**

wurden für die Kombination  $\frac{\text{Asterias } \text{♂}}{\text{Strongylocentrotus } \text{♀}}$  schon von J. LOEB in ausgezeichneter Weise untersucht. Meine diesbezüglichen Experimente haben in den Hauptpunkten die von LOEB festgestellten Tatsachen auch für die Kombination  $\frac{\text{Antedon } \text{♂}}{\text{Echiniden } \text{♀}}$  bestätigt. Dabei haben sich aber auch manche ergänzende Tatsachen ergeben.

## 1. Die individuelle Beschaffenheit der Elternindividuen.

Die Experimente haben zuerst bewiesen, daß die Zahl der heterogen befruchteten Eier sehr von der individuellen Beschaffenheit des Materials abhängig ist. Im Laufe meiner Experimente habe ich oft Gelegenheit gehabt festzustellen, daß, wenn man die Eier von verschiedenen Individuen mit derselben Quantität des von demselben

*Antedon*-Männchen herstammenden Spermas in einer chemisch identischen Flüssigkeit besamt, die Zahl der befruchteten Eier in jeder Kultur sicher verschieden groß ist. Diese Schwankungen sieht man bei allen möglichen Kombinationen, also sowohl bei  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$ ,  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$ , wie auch  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ . Da bei verschiedenen Kulturen dieser Kombinationen, bei welchen die Eier verschiedener Weibchen und das Sperma desselben Männchens benutzt wurden, die Zahl der befruchteten Eier erhebliche Schwankungen aufweist, kann man daraus den Schluß ziehen, daß durch die individuelle Beschaffenheit der Eier das Resultat der heterogenen Befruchtung bedingt ist.

Aber die individuelle Beschaffenheit der Spermatozoen spielt hier ebenfalls eine Rolle. Die einzelnen Eierportionen, welche von denselben Echinidenindividuen herkommen, und jede mit derselben Spermaquantität (z. B. mit dem Sperma von 10 Pinnulen) von verschiedenen *Antedon*-Individuen besamt wurde, zeigten ebenfalls verschiedenen Prozentsatz der befruchteten Eier.

Man kann die Sache in der Weise verallgemeinern, daß die Zahl der heterogen befruchteten Eier von der individuellen Beschaffenheit der beiden Arten der Geschlechtsprodukte abhängig ist.

## 2. Die Quantität der zum Experiment verwendeten Geschlechtszellen.

Außer von dieser nicht näher analysierbaren individuellen Beschaffenheit der Eier und Spermatozoen sind die Resultate der heterogenen Kreuzung von der Menge des Spermas in erheblichem Maße abhängig. Schon LOEB hat das durch die Protokolle seiner Experimente für die Kombination  $\frac{\textit{Asterias} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$  nachgewiesen. Dieselbe Tatsache hat auch für die von mir angestellten Kombinationen Geltung. Die Quantität des Spermas habe ich nach der Zahl der Pinnulen bestimmt. Ich habe mich bei diesen Versuchen bemüht, solche Pinnulen (von demselben Individuum) zu nehmen, welche beinahe von derselben Größe waren. Trotzdem diese Methode keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit haben kann, sind doch mit ihr Resultate erreicht worden, welche die Sache positiv entscheiden:

Am 11. XI. 04 wurden die *Sphaerechinus*-Eier, welche von einem Individuum herstammen, in derselben Quantität in drei Glasschalen in alkalisches Seewasser<sup>1)</sup> gebracht.

Die nachstehende Tabelle zeigt sowohl die Zahl der behufs Befruchtung in jeder Schale zerpupften *Antedon*-Pinnulen, wie auch die Zahl der befruchteten Eier:

Die Zahl der Pinnulen	Die Zahl der nach 5 Stunden in Entwicklung stehenden Eier
1	20 %
3	22 %
15	60 %

War die Spermaquantität zu groß, so wurde der Prozentsatz der befruchteten Eier herabgesetzt.

Dasselbe konnte man beobachten, wenn zum Experiment eine zu große Eierzahl benutzt wurde. Wer mit den Echinideneiern gearbeitet hat, weiß, daß diese Tatsache quantitativ zu beweisen zu langwierig wäre im Vergleich zu ihrer sowieso nicht allzu großen Bedeutung. Bringt man in eine Glasschale eine so beträchtliche Eierquantität hinein, daß diese Elemente in mehreren Schichten auf dem Gefäßboden liegen, so gelingt das Experiment entweder überhaupt nicht, oder man erhält kaum einige befruchtete Eier.

Daraus ergibt sich, daß die Zahl der befruchteten Eier von der Quantität der zum Experiment gebrauchten Geschlechtsprodukte abhängig ist.

### 3. Die Konzentration der OH-Ionen in dem umgebenden Medium.

Die Experimente von J. LOEB über heterogene Befruchtung ergaben, daß der Alkalinitätsgrad des umgebenden Mediums für die Bastardierung von prinzipieller Bedeutung ist. Die Echinideneier, welche im normalen Seewasser überhaupt nicht oder nur äußerst selten mit den Asteriden- oder Ophiuridenspermatozoen copulieren, können in einer künstlichen Flüssigkeit mit erhöhtem Hydroxylionengehalt oder im Seewasser, dessen OH-Ionenkonzentration erhöht wurde, unter dem Einfluß dieser Spermatozoen zur Entwicklung gebracht werden.

Es drängt sich hier sofort die Frage auf, ob die Erhöhung des OH-Ionengehaltes auf die Eier selbst, oder auf die Spermatozoen,

<sup>1)</sup> Die Alkalinitätshöhe wird noch unten näher besprochen werden.

oder auf alle beide so einwirkt, daß diese von zwei verschiedenen Tierfamilien herstammenden Geschlechtsprodukte miteinander copulieren können. Diese Frage ist nach LOEB in der Richtung entschieden worden, daß die erhöhte OH-Ionenkonzentration des umgebenden Mediums hauptsächlich auf die Spermatozoen einwirkt. LOEB hat weiter aus seinen Experimenten den Schluß gezogen, daß bezüglich des Alkalinitätsgrades »die Lösungen, welche die maximalen Werte für die Befruchtung der Seeigeleier durch Samen der eignen Art geben, minimale Werte für die Befruchtung derselben Eier durch Seesternsamen ergeben und vice versa«. — Diese von LOEB angegebenen Thesen habe ich der Prüfung mit dem von mir gebrauchten Material unterzogen.

a) Um zuerst die Frage zu entscheiden, ob die Konzentrationserhöhung des Hydroxylionengehaltes im umgebenden Meerwasser auf die Eier der Echiniden, oder auf die Spermatozoen der Crinoiden, oder endlich auf alle beide einwirkt, wurden zwei Versuchsreihen angestellt. Die *Echinus*-Eier wurden verschieden lange Zeit vor der Besamung in der alkalischen Flüssigkeit (100 ccm des sterilen Seewassers mit Zusatz von 1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH) gehalten, nachher mehr als eine halbe Stunde in mehrmals gewechseltem Seewasser ohne Zusatz von NaOH ausgewaschen und in diesem Seewasser (ohne NaOH) mit *Antedon*-Sperma besamt. Die andre Portion der Eier von demselben Individuum wurde von Anfang an mit den *Antedon*-Spermatozoen in Seewasser mit Zusatz von NaOH (1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH auf 100 ccm des Seewassers) gebracht. Die dritte Portion blieb wie immer zur Kontrolle bezüglich des Eintritts der künstlichen Parthenogenese.

Würde sich herausstellen, daß die Befruchtung mit *Antedon*-Sperma auch im Seewasser ohne Zusatz von NaOH möglich ist, wenn nur die Eier einige Zeit lang vorher im alkalischen Seewasser lagen, so wäre damit der Beweis erbracht, daß die Wirkung der Alkalinität sich auf die Eier bezieht. Damit ist aber noch nicht in Abrede gestellt, daß die erhöhte Hydroxylionenkonzentration auch auf die Spermatozoen einwirkt.

b) Um die Frage genau zu entscheiden, ob dieser Einfluß auf die männlichen Geschlechtsprodukte besteht, wurde eine andre Versuchsreihe angestellt. Die Vornahme derselben ist bedeutend schwieriger, da das Auswaschen der Spermatozoen in NaOH-freiem Seewasser selbstverständlich unmöglich ist.



Das Prinzip dieser Versuchsreihe war, die *Antedon*-Spermatozoen im Seewasser von erhöhter OH-Ionenkonzentration durch verschieden lange Zeit zu halten, nachher die Lösung sehr stark zu verdünnen und in dieser Flüssigkeit, welche nur wenig von der Konzentration des Seewassers sich unterscheidet, mit den Eiern von *Echinus* in Kontakt zu bringen. Würde sich herausstellen, daß die Befruchtung trotz der schwachen OH-Ionenkonzentration zustande kommt, so ist damit der Beweis erbracht, daß durch vorhergehendes Verweilen im alkalischen Seewasser die Spermatozoen in gewisser Weise beeinflußt wurden.

Die Ausführung dieses Prinzips war folgende: Durch die Probeexperimente habe ich zuerst festgestellt, daß die heterogene Befruchtung unter 0,25 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH-Zusatz auf 100 ccm Seewasser in der Kombination  $\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Echinus } \varnothing}$  nie gelingt. Nachdem diese Tatsache festgestellt wurde, habe ich einzelne Portionen der *Antedon*-Spermatozoen, jede von 10 Pinnulen, in 1 ccm der alkalischen Lösung (Zusammensetzung: 100 ccm des sterilisierten Seewassers + 1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH) gebracht und nach 5 Stunden mit 10 ccm reinen Seewassers verdünnt. Die Konzentration der Natronlauge war dadurch nach 6 Stunden bis auf 0,1  $\frac{n}{10}$  NaOH : 100 ccm Seewasser herabgesetzt und nachher wurden die *Echinus*-Eier zu diesem *Antedon*-Sperma hinzugesetzt. In einem andern Gefäß wurden die *Echinus*-Eier mit *Antedon*-Sperma gleich von Anfang an in die Flüssigkeit, 100 ccm des Seewassers mit 1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH, hineingebracht und in dem nächsten Gefäß wieder dieselben nichtbefruchteten Geschlechtsprodukte in der Lösung: 100 ccm + 0,1  $\frac{n}{10}$  NaOH als Kontrollversuch beobachtet.

Das Ergebnis der ersten und der zweiten Versuchsreihe ist dem folgenden Protokoll zu entnehmen:

Versuch vom 12. Januar 1905.

ad a)	
Die <i>Echinus</i> -Eier lagen im alkalischen Seewasser vor der Besamung mit <i>Antedon</i> -Sperma:	Befruchtung im reinen Seewasser ohne NaOH-Zusatz. Die Zahl der befruchteten Eier:
a) 2 Stunden	6 0/0
b) 4 -	2 0/0
c) 6 -	5 0/0

Waren sowohl die *Echinus*-Eier wie auch *Antedon*-Sperma von Anfang an unter dem Einfluß des alkalischen Seewassers, so wurden 25 0/0 befruchtet. Die Kontrollversuche haben die Eventualität der künstlichen Parthenogenese ausgeschlossen.

Wurden die Eier desselben Weibchens nach demselben Aufenthalt im alkalischen Seewasser nicht ausgewaschen und in demselben alkalischen Seewasser mit *Antedon*-Sperma befruchtet, so erhielt man folgendes Resultat:

Die <i>Echinus</i> -Eier lagen im alkalischen Seewasser vor der Besamung mit <i>Antedon</i> -Sperma:	Befruchtung im alkalischen Seewasser. Zahl der befruchteten Eier:
a) 2 Stunden	11 0/0
b) 4 -	25 0/0
c) 6 -	31 0/0

Wenn die Eier von demselben Weibchen (*Echinus*) und Sperma von demselben Männchen (*Antedon*) gleichzeitig von Anfang an in alkalisches Seewasser zusammengebracht wurden, so wurden 45 0/0 der Eier befruchtet.

ad b) Das Sperma von *Antedon*, welches vorher in der alkalischen (1 cem  $\frac{n}{10}$  NaOH : 100 cem Seewasser) Flüssigkeit 4 Stunden lag und nachher mit den *Echinus*-Eiern im Seewasser von herabgesetzter NaOH-Konzentration (0,2 : 100) zusammengebracht wurde, war doch imstande, bei einer kleinen Anzahl der Eier (etwa 1 : 200) die Entwicklung zu veranlassen.

#### Versuch vom 11. IV. 05.

ad a) Die *Echinus*-Eier lagen 3 1/2 Stunden im Seewasser mit Zusatz von  $\frac{n}{10}$  NaOH (1 : 100). Nachher wurden die Eier gut ausgewaschen und im reinen Seewasser mit *Antedon*-Sperma besamt. Von diesen Eiern wurden 8 0/0 befruchtet.

ad b) Das Sperma von demselben *Antedon*-Männchen lag in 1 cem des alkalischen Seewassers (Konzentration 1  $\frac{n}{10}$  NaOH : 100 Seewasser) und die andre Spermaportion in 1 cem des stärker alkalischen Seewassers (Konzentration 2  $\frac{n}{10}$  NaOH : 100 Seewasser). Diese 2 cem der Spermasuspension wurden nach 3 1/2 Stunden mit den 15 cem des reinen Seewassers verdünnt und nachher dazu die *Echinus*-Eier hinzugefügt. 2 0/0 dieser Eier wurden befruchtet. Wurden die *Antedon*-Spermatozoen und *Echinus*-Eier von Anfang an zusammen in alkalisches Wasser gebracht, so wurden 11 0/0 der Eier befruchtet. Kein einziges Ei wurde aber befruchtet, wenn die Spermatozoen und Eier von Anfang an im Seewasser mit Zusatz von 0,2 0/0  $\frac{n}{10}$  NaOH lagen.

Aus den vorstehenden Experimenten folgt:

1) Durch die erhöhte Hydroxylionenkonzentration im umgebenden Medium wird die physiologische Beschaffenheit sowohl der weiblichen Geschlechtsprodukte (der Echiniden), als auch der männlichen Geschlechtsprodukte (des *Antedon*) in verschieden langer Zeit in dem Sinne verändert, daß die Copulation derselben zulässig ist.

2) Die alkalische Reaktion des umgebenden Mediums wirkt hauptsächlich auf die Eier ein, jedoch läßt sich auch ein Einfluß derselben auf die Spermatozoen in geringem Maße nachweisen.

3) Würde die physiologische Natur der Geschlechtsprodukte durch die betreffende alkalische Reaktion der Flüssigkeit verändert, so ist die heterogene Befruchtung der Geschlechtsprodukte auch im gewöhnlichen Seewasser möglich.

4) Der Prozentsatz der befruchteten Eier ist jedoch größer, wenn die Copulation der Geschlechtsprodukte im alkalischen Seewasser stattfindet.

#### 4. Verschiedene Beschaffenheit der einzelnen Eier und Spermatozoenindividuen in bezug auf heterogene Kreuzung. Methode der Erreichung des höchsten Prozentsatzes der heterogen befruchteten Eier.

Die heterogene Befruchtung ist durch die OH-Ionenkonzentration bedingt. Die dem Seewasser eigentümliche OH-Ionenkonzentration genügt nicht, um die heterogene Befruchtung zu erwirken. Nur ausnahmsweise gelingt nach den Angaben von J. LOEB die heterogene Befruchtung  $\frac{\textit{Asterias} \text{ ♂}}{\textit{Strongyloc.} \text{ ♀}}$  im gewöhnlichen Seewasser. Unter den von mir versuchten Kombinationen hat nur die Kreuzung  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$  ein positives Resultat, aber ebenfalls nur ausnahmsweise ergeben. Verschiedene Eierportionen, welche von demselben Weibchen herkommen und mit Sperma von einem und demselben Männchen besamt wurden, ergaben in bezug auf den Prozentsatz der befruchteten Eier verschiedene Resultate.

Den Verlauf der Versuche sollen folgende Versuchsprotokolle zeigen:

Am 2. XI. 04 wurden die von einem und demselben *Sphaerechinus*-Weibchen herstammenden Eier mit *Antedon*-Sperma besamt.

Die Besamung geschah im				Der Prozentsatz der befruchteten Eier
Nr. 0	sterilisierten Seewasser			0
Nr. 1	-	-	+ 0,25 $\frac{n}{10}$ NaOH	15 %
Nr. 2	-	-	+ 0,50 - -	30 %
Nr. 3	-	-	+ 0,75 - -	35 %
Nr. 4	-	-	+ 1,0 - -	34 %
Nr. 5	-	-	+ 1,25 - -	20 %
Nr. 6	-	-	+ 1,50 - -	24 %

Am 5. XI. 04 wurden die von ein und demselben *Strongylocentrotus*-Weibchen herstammenden Eier mit *Antedon*-Sperma besamt.

Die Besamung geschah im				Der Prozentsatz der befruchteten Eier
Nr. 0	sterilisierten Seewasser			0
Nr. 1	-	-	+ 0,5 $\frac{n}{10}$ NaOH	0
Nr. 2	-	-	+ 0,75 - -	15 %
Nr. 3	-	-	+ 1,0 - -	10 %
Nr. 4	-	-	+ 1,25 - -	einige Eier im ganzen Gefäß
Nr. 5	-	-	+ 1,5 - -	einige Eier im ganzen Gefäß
Nr. 6	-	-	+ 1,75 - -	0

Am 30. XII. 04 wurden von ein und demselben *Echinus*-Weibchen her-stammende Eier mit *Antedon*-Sperma befruchtet.

Die Besamung geschah im				Der Prozentsatz der befruchteten Eier
Nr. 0	sterilisierten Seewasser			0
Nr. 1	-	-	+ 0,5 $\frac{n}{10}$ NaOH	0
Nr. 2	-	-	+ 0,75 - -	2,5 %
Nr. 3	-	-	+ 1,0 - -	3 %
Nr. 4	-	-	+ 1,25 - -	7 %

Die Resultate dieser drei angeführten Experimente, wie auch vieler andrer, deren Beschreibung ich nicht mehr ausführlich wieder-gebe, beweisen, daß die heterogene Befruchtung bei verschiedenen OH-Ionenkonzentrationen gelingen kann. Diese Erscheinung könnte man entweder dadurch erklären, daß dieselben Individuen der Echiniden-eier mit *Antedon*sperma in der Flüssigkeit befruchtet werden können, deren OH-Ionenkonzentration innerhalb gewisser Grenzen schwankt, oder daß für verschiedene Eierindividuen desselben Weibchens andre Erfordernisse bezüglich der OH-Ionenkonzentration vorliegen, welche als eine Vorbedingung der heterogenen Befruchtung aufzufassen sind. Im Anschluß an die vorhergehenden Erörterungen, aus welchen ich geschlossen habe, daß gewisse OH-Ionenkonzentration auch für die Spermatozoen nötig ist — kann man die beiden Eventualitäten auch auf die Samenfäden erweitern. Die Vermutung, daß die physiolo-gischen Bedingungen, welche die Copulationsfähigkeit der heterogenen Elemente bewirken, innerhalb so ausgiebiger Grenzen schwankt, wie es die oben angeführten Versuche beweisen — mußte ich nach einer weiteren Experimentenreihe fallen lassen. Der Gedankengang beim Anstellen dieser Versuche war folgender: Haben verschiedene Eier und Spermatozoenindividuen andre Bedingungen bezüglich der OH-Ionenkonzentration nötig, so könnte man in demselben Gefäß durch successive Steigerung der Konzentration der OH-Ionen des umgeben-den Mediums immer neue Eierportionen durch die Spermatozoen der fremden Familie zur Entwicklung bringen. In der Flüssigkeit z. B. welche aus 100 ccm Seewasser + 0,5 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH besteht, würden nur diejenigen Exemplare der Echinideneier und *Antedon*-Spermatozoen miteinander copulieren, welche bei dieser Alkalinität zu der Copulation erforderliche Bedingungen fänden. Erhöht man die Konzentration z. B. auf 1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH : 100 ccm, so dürften wieder die Eier mit den Spermatozoen copulieren, deren Erfordernissen diese Hydroxylionen-konzentration entspricht. Ist also die Vermutung richtig, daß die

heterogene Befruchtung nur bei gewissem für verschiedene Eier und verschiedene Spermatozoen, aber für diese beinahe konstantem Alkalitätsgrad möglich ist — so müßte die Zahl der heterogen befruchteten Eier in den Versuchen, in denen die Eier in gewissen Zeitabständen in die Flüssigkeit von zunehmender OH-Ionenkonzentration übertragen wurden, — größer sein, als wenn die Besamung nur bei einer und derselben, nachher nicht mehr veränderten Alkalinität stattgefunden hat.

Diesbezügliche Experimente wurden folgendermaßen angestellt:

Versuch vom 9. III. 05.

a) Die *Sphaerechinus*-Eier von zwei Weibchen wurden in je einem Gefäß in der Flüssigkeit  $0,75 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH} : 100 \text{ ccm}$  Seewasser mit *Antedon*-Sperma besamt. Nach 2 Stunden wurde diese Flüssigkeit mit Sperma abgegossen und mit der Flüssigkeit ersetzt, welche aus  $100 \text{ ccm}$  Seewasser mit  $1 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH}$ -Zusatz bestand und welche mit neuem Sperma, aber von demselben Männchen versetzt wurde. Nach 2 Stunden wurde wieder neues Sperma in der Flüssigkeit  $1,75 \text{ ccm} : 100 \text{ ccm}$  des Seewassers gewechselt. Nach 2 weiteren Stunden wurden die Eier in reines Seewasser hinübergebracht.

b) Die Eier von zwei *Sphaerechinus*-Weibchen wurden in zwei Glasschalen in der Flüssigkeit  $1 \text{ ccm } \frac{n}{10} \text{ NaOH} : 100 \text{ ccm}$  des sterilisierten Seewassers mit *Antedon*-Sperma besamt. Diese zwei befruchteten Eierportionen blieben 6 Stunden lang in dieser Flüssigkeit, nachher wurden sie in reines Seewasser gebracht. Diese Serie b hat zum Vergleich gedient.

Die Zahl der befruchteten Eier, welche bei unveränderter Alkalinität mit einer unveränderten Spermaportion besamt wurden

9 %

7 %

Die Zahl der befruchteten Eier, welche in Seewasser von zunehmender OH-Ionenkonzentration mit immer neuer Spermaportion besamt wurden

66 %

80 %

Da die künstliche Parthenogenese durch besondere Kontrollversuche ausgeschlossen wurde, könnte aus dem Ergebnis dieser Experimente der Schluß gezogen werden, daß durch successive Steigerung der OH-Ionenkonzentration die Zahl der befruchteten Eier vergrößert wird. Aber dieser Deutung des Experimentenergebnisses kann ein schwerwiegender Einwand gemacht werden, daß beim Wechseln der Flüssigkeit, welche das umgebende Medium bildet, die neue Flüssigkeit mit anderm Sperma gebracht wird. Zwar stammen diese Spermatozoen von denselben Männchen her, es kann aber dadurch, daß die Eier mit einer größeren Anzahl der verschieden beschaffenen und frischer Samenfäden in Kontakt gebracht werden, auch darin die

Ursache der Erhöhung der Prozentzahl der befruchteten Eier liegen. Dieser Umstand wurde in einer andern Serie von Experimenten auf die Weise berücksichtigt, daß eine bestimmte Eierportion in solcher Flüssigkeit besamt wurde, welche aus 1 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH auf 100 ccm des sterilisierten Seewassers bestand, das Sperma war viermal je 2 Stunden abgegossen und mit einer andern Spermaportion, aber stets in der Flüssigkeit von derselben Zusammensetzung ersetzt worden. Auf diese Weise wurde den Eiern die Gelegenheit geboten, jedesmal mit andern Spermatozoen in Kontakt zu treten, es ist aber die Hydroxylionenkonzentration die ganze Zeit hindurch unverändert geblieben.

Das Ergebnis dieses Experimentes, welches gleichzeitig an fünf Versuchskulturen geführt wurde, stellt die nachstehende Tabelle dar:  
Versuch vom 6. III. 1905.

Als Weibchen wurden fünf *Echinus*, als Männchen fünf *Antedon* benutzt.

Serie A.

Befruchtung im sterilisierten Seewasser mit Zusatz von 1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm des Seewassers und diese Flüssigkeit blieb 10 Stunden lang unverändert mit dem- selben Sperma . . . . .	Die Zahl der befruchteten Eier				
	Nr. 1	2	3	4	5
	24 0/0	9 0/0	8 0/0	1,5 0/0	4 0/0

Serie B.

Befruchtung im sterilisierten Seewasser mit Zusatz von 1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm des Seewassers. Die Flüssigkeit wurde viermal nach je 2 Stunden abgegossen, jedesmal mit neuem Sperma in der Flüssigkeit von der- selben Zusammensetzung ersetzt . . . . .					
	—	16 0/0	58 0/0	6 0/0	30 0/0

Serie C.

Befruchtung im sterilisierten Seewasser mit Zusatz von 0,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm des Seewassers. Die Flüssigkeit wurde viermal nach je 2 Stunden abgegossen, jedesmal mit dem neuen Sperma im See- wasser von immer mehr zunehmender Al- kalinität (0,75, 1, 1,25, 1,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm des Seewassers) ersetzt . . . . .					
	74 0/0	66 0/0	84 0/0	16 0/0	50 0/0

Aus dem vorstehenden Protokoll, namentlich aus dem Vergleich der untereinander stehenden Ziffern ist ersichtlich, daß der höchste

Prozentsatz der heterogen befruchteten Eier da erreicht wurde, wo sowohl die Konzentration der OH-Ionen successiv erhöht wurde, als auch die Eier mit immer neuen Spermatozoen in Kontakt kamen. Waren nur die Spermatozoen gewechselt, aber die Alkalinität des umgebenden Mediums unverändert geblieben, so war die Zahl der befruchteten Eier bedeutend kleiner, jedoch sie übertraf die Prozentzahl der in unverändertem Medium und durch unverändertes Sperma befruchteten Eier. Aus diesen Beobachtungen sind meiner Ansicht nach folgende Schlüsse zu ziehen:

1) Die Copulation der an der heterogenen Befruchtung teilnehmenden Geschlechtsprodukte ist nur bei einem gewissen Alkalinitätsgrad des umgebenden Mediums möglich. Diese Hydroxylionenkonzentration, bei welcher die heterogene Befruchtung möglich ist, ist für verschiedene Geschlechtsprodukte sogar derselben Eltern verschieden und schwankt nur innerhalb enger Grenzen. Bei der successiven Erhöhung der Hydroxylionenkonzentration werden bei jedem Wechseln der Alkalinität des umgebenden Mediums immer diejenigen Geschlechtsprodukte miteinander copulieren, deren individueller Beschaffenheit die betreffende Konzentration entspricht. Damit ist also die Tatsache zu erklären, daß bei successiver Alkalinitäts-erhöhung die Zahl der heterogen befruchteten Eier zunimmt.

2) Aus diesen Versuchen (Serie B) geht aber noch hervor, daß, wenn in den Kulturen die Lösung von derselben Zusammensetzung gewechselt und mit immer neuem Sperma ersetzt wird, die heterogene Befruchtung öfters gelingt. Man könnte diese Erscheinung dadurch zu erklären geneigt sein, daß beim längeren Aufenthalt der Geschlechtsprodukte in derselben Seewasserportion sich dorthin die von den Eiern produzierten und für die Spermatozoen der fremden Familien toxischen Substanzen in solchen Mengen gesammelt haben, daß sie das weitere Befruchten verhindern; wird jedoch diese Flüssigkeit durch frisches Wasser von derselben Alkalinität ersetzt, so können wieder die Befruchtungsvorgänge vor sich gehen. Die verhältnismäßig große Flüssigkeitsmenge bei sehr geringer Eierzahl macht jedoch diese Vermutung meiner Ansicht nach unwahrscheinlich. Mit größerer Wahrscheinlichkeit kann die Vermutung ausgesprochen werden, daß, wenn die Eier mit einer größeren Zahl der Samenfäden in Kontakt treten, sich mehr solcher Spermatozoen unter ihnen finden werden, die sich auf Grund ihrer individuellen Beschaffenheit zu der heterogenen Befruchtung besser eignen.

Die von J. LOEB zuerst beobachtete und auch mit meinem

Material bestätigte Tatsache, daß man auf unfehlbares Gelingen der heterogenen Befruchtung nur rechnen kann, wenn die Eier mit einer größeren Spermamenge besamt wurden, spricht ebenfalls für meine Vermutung.

Auch die aus oben beschriebenen Experimenten hervorgehende große Bedeutung der Individualität der Geschlechtsprodukte weist darauf hin, daß verschiedene Elemente verschiedene Fähigkeit besitzen, an der heterogenen Befruchtung teilzunehmen. Das bekräftigt auch die Hypothese, daß bei mehrmaligem Wechseln des Spermas sich mehrere Individuen finden werden, die sich zum Befruchtungsprozeß eignen werden. Der Einfluß der Wirkung der OH-Ionenhaltigen Flüssigkeit auf die heterogenen Geschlechtsprodukte macht sich erst nach gewisser Zeit geltend. Die Länge der dazu erforderlichen Zeit schwankt ebenfalls nach der Individualität der einzelnen Eier und Spermatozoen. In dieser Tatsache liegt auch der Grund der Erscheinung, daß in einem und demselben Gefäß, dessen gesamte Eier gleichzeitig besamt wurden, die Befruchtung und eo ipso die Abhebung der Dotterhaut nicht gleichzeitig hervortritt. Selbstverständlich werden sich auch bei späterer Untersuchung verschiedene Eier auf verschiedenen Entwicklungsstadien befinden.

---

Der Entdecker der heterogenen Befruchtung, J. LOEB, hat in seinen Publikationen darauf mit vollem Recht hingewiesen, daß in gewissen Lösungen die heterogene Befruchtung besser gelingt, als in andern. Er hat in diesem Sinne von den »optimalen Lösungen« gesprochen. Aus praktischen Rücksichten kann selbstverständlich dieser Ausdruck gebraucht werden. Es wird diejenige Lösung darunter verstanden, in welcher die größte Zahl der Eier heterogen befruchtet wird. Man muß sich aber dabei vergegenwärtigen, daß für heterogene Befruchtung der gesamten Elemente der betreffenden Kultur keine gemeinsame »optimale Lösung« »sensu stricto« existiert, weil einzelne Eier und einzelne Spermatozoen andre Bedürfnisse des OH-Ionengehaltes im umgebenden Medium zur Ermöglichung der Copulation aufweisen.

Bei solcher Auffassung der Sache wird es uns nicht wundernehmen, daß die Lösung von derselben OH-Ionenkonzentration für zwei Portionen von Geschlechtsprodukten, welche von denselben Eltern herkommen, ceteris paribus verschiedene Resultate in bezug auf den Prozentsatz der heterogenen befruchteten Eier ergeben kann. In



einer Portion solcher Geschlechtsprodukte können namentlich solche Elemente zufälligerweise zusammenkommen, für deren Mehrzahl die betreffende Alkalinität zum Zustandekommen der heterogenen Befruchtung am günstigsten ist. In einer andern Portion können sich aber solche Geschlechtsprodukte finden, von denen nur ein kleiner Teil unter dem Einfluß dieser OH-Ionenkonzentration der Befruchtung anheimfallen wird.

Um also bestimmt den möglichst höchsten Prozentsatz der befruchteten Eier zu erreichen, muß durch successive Erhöhung der Konzentration der OH-Ionen im umgebenden Medium die Befruchtung einer Gruppe nach der andern dadurch veranlaßt werden, daß man der einen nach der andern die der individuellen Beschaffenheit entsprechende Bedingungen verschafft.

##### 5. Vergleich der Bedingungen der heterogenen Befruchtung mit denjenigen der reinen Kultur.

Wie oben bereits betont, bemerkt LOEB, »daß die Lösungen, welche die maximalen Werte für die Befruchtung der Seeigelleier durch Samen der eignen Art geben, minimale Werte für die Befruchtung derselben Eier durch Seesternsamen ergeben und vice versa«. Ich muß bemerken, daß diese Angaben von LOEB keinen Anspruch auf allgemeine Gültigkeit haben können. Bei dem Material, welches mir in Neapel zur Verfügung stand, gelingt die reine Kultur in denselben Flüssigkeiten, in welchen auch die heterogene Befruchtung möglich ist. Ja, die Hydroxylionenkonzentration kann so stark erhöht werden, daß die heterogene Kreuzung in ihr nicht mehr gelingt, trotzdem findet in solcher Lösung die Befruchtung mit den Spermatozoen der eignen Art doch noch statt. Die Species *Strongylocentrotus purpuratus*, mit welcher LOEB experimentierte, stand mir in Neapel nicht zur Verfügung; bei *Strongylocentrotus lividus* konnte ich aber feststellen, daß man bis 2 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH auf 100 ccm des Seewassers zusetzen konnte, ohne den Prozentsatz der befruchteten Eier herabzusetzen oder die weitere Entwicklung in irgendeiner Weise schädlich zu beeinflussen.

Eine weitere Erhöhung der Alkalinität der Lösung hatte schon die Verminderung des Prozentsatzes der befruchteten Eier zur Folge; ich habe aber noch bei der Konzentration von 2,5 ccm  $\frac{n}{10}$  NaOH auf 100 ccm des Seewassers die Befruchtung der *Strongylocentrotus*-Eier, obschon im geringen Prozentsatz sehen können. Dem gegenüber

muß die Angabe von LOEB angeführt werden, der schon beim Zusatz von  $1,25 \frac{n}{10}$  NaOH auf 100 ccm Seewasser keine Befruchtung von *Strongylocentrotus purpuratus* gehabt hat. Der Widerspruch dürfte sich aus der Verschiedenheit des Materials erklären, oder auch aus der verschiedenen absoluten Quantität der Hydroxylionen im Seewasser des Mittelmeeres und des Stillen Ozeans. Es ist dabei nur befremdend, daß die von LOEB als optimale Lösung für die heterogene Kreuzung zwischen Asteriden und Echiniden bezeichnete Hydroxylionenkonzentration auch für mein Material sich bewährt.

Es liegt außer dem Plane dieser Arbeit, weiter auf die Bedingungen der normalen Befruchtung einzugehen — es muß hier nur ein Punkt festgestellt werden. Da die maximale Grenze der Alkalinität, bei welcher die *Antedon*-Spermatozoen die *Strongylocentrotus*-Eier zur Entwicklung brachten, nie 1,75 auf 100 ccm Wasser übertraf, kann man schließen, daß die OH-Ionenkonzentration, welche die Befruchtung mit den Spermatozoen der eignen Art ermöglichen, innerhalb umfangreicherer Grenzen schwanken kann, als diejenigen, welche für die heterogene Befruchtung derselben Eier mit *Antedon*-Sperma erforderlich ist.

Die Analyse der Erscheinung, daß die *Antedon*-Spermatozoen im alkalischen Medium die Eier fremder Familien zur Entwicklung bringen, ist dadurch erschwert, daß die Faktoren, welche das Eindringen der Spermatozoen in die Eier der gleichen Art veranlassen und in die Eier der fremden Familie verhindern, bisher sehr wenig bekannt sind. Will man der Rolle der Hydroxylionen bei der Ermöglichung der heterogenen Befruchtung näher treten, so muß man davon ausgehen, was uns über die Bedeutung der OH-Ionen bei der Befruchtung der Eier mit den gleichartigen Spermatozoen bekannt ist. Es wurde von J. LOEB und C. HERBST die Anteilnahme der Hydroxylionen an dem Befruchtungsvorgang hervorgehoben. Die genauen Experimente von C. HERBST haben nicht nur die Unentbehrlichkeit eines gewissen Grades der Alkalinität des umgebenden Mediums nachgewiesen, sondern auch den Beweis erbracht, daß die anscheinende Unmöglichkeit (LOEBs Angabe) der Befruchtung im Ca-freien Seewasser nicht auf das Fehlen von Kalk, sondern auf die zu geringe Alkaleszenz zurückzuführen ist.

Es steht demnach fest, daß, was den Hydroxylionengehalt im umgebenden Medium anbetrifft, nur ein quantitativer Unterschied zwischen den Bedingungen der reinen Kulturen und der heterogenen Kreuzung besteht.

Aus dem Vorhergehenden ist bekannt, daß der Alkalitätsgrad des umgebenden Mediums, welcher zu der heterogenen Befruchtung erforderlich ist, für verschiedene Individuen verschieden ist. Bisweilen können Eier und Spermatozoen von Tieren verschiedener Familien bei ganz schwacher Hydroxylionenkonzentration des umgebenden Mediums miteinander copulieren. LOEB hat bei der Kombination

$\frac{\text{Asterias } \sigma}{\text{Strongylocentrotus } \varphi}$  und ich bei der Kombination  $\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Sphaerechinus } \varphi}$  beobachtet, daß, wenn auch nur ausnahmsweise, man im gewöhnlichen Seewasser miteinander copulierende Geschlechtsprodukte trifft.

Diese Beobachtungen samt den Angaben von C. HERBST über Unentbehrlichkeit der Hydroxylionen zu der reinen Kultur bestätigen also die oben ausgesprochene Behauptung, daß zwischen den Bedingungen der Befruchtung mit gleichartigen Spermatozoen und den Bedingungen der heterogenen Kreuzung kein wesentlicher qualitativer Unterschied besteht, sondern daß nur quantitative Veränderung nötig ist.

Obschon die Anteilnahme der Hydroxylionen an den Befruchtungsprozessen festgestellt ist, sind doch unsre Kenntnisse über die Art und Weise der Wirkung der Hydroxylionen an diesem Prozeß bisher sehr mangelhaft. Das, was wir darüber wissen, verdanken wir den Untersuchungen von HERBST. Durch eine Reihe von Experimenten hat HERBST (04) nachgewiesen, daß die Rolle der Hydroxylionen in dem Unschädlichmachen der Kohlensäure, welche sich in jedem Seewasser in kleinerer oder größerer Menge befindet, besteht. Sodann wurde von C. HERBST bewiesen, daß damit die Rolle der Hydroxylionen nicht erschöpft ist, die andern Faktoren jedoch, welche hier außerdem im Spiele sind, ließen sich bisher nicht analysieren.

Die Unentbehrlichkeit der OH-Ionen im umgebenden Medium für das Zustandekommen der heterogenen Befruchtung unterliegt keinem Zweifel. Nur ausnahmsweise genügt die im gewöhnlichen Seewasser vorhandene Quantität der OH-Ionen. In der Regel ist der Zusatz der alkalischen Substanzen durchaus notwendig. In den vorher geschilderten Experimenten glaube ich nachgewiesen zu haben, daß die Alkaleszenz zwar auch auf die Spermatozoen, aber hauptsächlich auf die Eier der an der heterogenen Befruchtung teilnehmenden Elemente einen Einfluß ausübt.

Daß die Spermatozoen wirklich beeinflußt werden, kann man sich auf Grund der direkten Beobachtung überzeugen. Die *Antedon*-Samenfäden, welche in alkalisches Seewasser gebracht werden, zeigen

regere Bewegungen, als diejenigen, welche bei denselben Spermatozoen im Seewasser von gewöhnlichem Alkalinitätsgrad wahrnehmbar sind. Diese verhältnismäßig schwache Aktivität der Spermatozoen reicht aus, um die Eier derselben Species zu befruchten, genügt aber nicht, um die Befruchtung der Echinideneier zu veranlassen.

Die hauptsächliche Wirkung der Hydroxylionen bezieht sich aber auf die Eier. Über das »Wie« dieser Wirkung etwas Bestimmtes auszusprechen, wäre auf Grund der jetzigen Kenntnisse zu kühn. In der bisherigen Literatur liegen, meines Wissens nach, nur die Experimente von DUNGERN vor, auf welche man sich gewissermaßen stützen könnte. Die Experimente von DUNGERN sprechen dafür, daß in den Seeigeleiern sich die Substanzen finden, bzw. von den Eiern die Substanzen produziert werden, welche die Agglutination der fremdartigen Spermatozoen veranlassen. Als eine »Grundbedingung« des Gelingens der Befruchtung faßt DUNGERN die Radialstellung auf, welche die Samenfäden an der Oberfläche der Eier annehmen müssen. Diese Aufrechtstellung soll nach DUNGERN durch die Funktion des gleichartigen Protoplasmas bedingt werden. Die Unmöglichkeit der heterogenen Kreuzung im gewöhnlichen Seewasser soll also darin bestehen, daß durch die im Protoplasma vorhandenen Substanzen die fremdartigen Spermatozoen zu der Annahme der Aufrechtstellung nicht veranlaßt werden, daß sie dagegen einer Agglutination unter dem Einfluß dieser Substanzen anheimfallen.

Wenn man sowohl die DUNGERNschen Experimente über die heterogenen Kreuzungsversuche als auch die von HERBST nachgewiesene Aufgabe der OH-Ionen bei der homogenen Befruchtung berücksichtigt, so könnte die OH-Ionenrolle bei der Ermöglichung der heterogenen Befruchtung auf folgende Momente zurückgeführt werden. Da die Bedingungen der homogenen und heterogenen Befruchtung nur quantitativ verschieden sind, muß die erste Aufgabe der OH-Ionen den Experimenten von HERBST gemäß auf der Neutralisation der im umgebenden Medium vorhandenen Kohlensäure beruhen. — Weiter muß das Vorhandensein der OH-Ionen dem schädlichen Einfluß entgegenwirken, welchen die im Ei vorhandenen Substanzen auf die Spermatozoen der fremden Familien ausüben, bzw. das Eiprotoplasma zur Produktion solcher Substanzen anregen, welche die Copulation dieser Geschlechtsprodukte begünstigen. Dieser physiologische Zustand, diese Umwandlung der physiologischen Natur der Eier zeichnet sich durch eine gewisse Dauerhaftigkeit aus. Das geht aus den Experimenten hervor, welche den Beweis erbringen, daß die heterogene

Befruchtung auch im gewöhnlichen Seewasser möglich ist, vorausgesetzt, daß die daran teilnehmenden Geschlechtsprodukte einige Zeit lang vorher dem Einfluß der alkalischen Flüssigkeit ausgesetzt waren.

#### 6. Zusammenfassung der Ergebnisse über die physiologischen Bedingungen der heterogenen Befruchtung.

Die Hauptergebnisse bezüglich der physiologischen Bedingungen der heterogenen Befruchtung der Echinideneier mit dem *Antedon*-Sperma, welche mit der LOEBschen Methode der Erhöhung der OH-Ionenkonzentration im umgebenden Medium gelingt, lassen sich dahin zusammenfassen:

1) Der Prozentsatz der heterogen-befruchteten Eier ist von der individuellen Beschaffenheit der zum Experiment benutzten Tiere, von der individuellen Beschaffenheit der einzelnen Geschlechtszellen derselben Tiere, von der Quantität der zum Experiment gebrauchten Geschlechtsprodukte, von der Höhe der Konzentration der Hydroxylionen des umgebenden Mediums abhängig.

2) Die Hydroxylionenkonzentration, welche für das Zustandekommen der heterogenen Befruchtung zwischen Echinideneiern und Crinoidenspermatozoen erforderlich ist — kann nur innerhalb enger Grenzen schwanken, ist aber für verschiedene Eier und Spermatozoen verschieden.

3) Die Anteilnahme der OH-Ionen an dem heterogenen Befruchtungsprozeß macht sich dadurch geltend, daß in diesem Medium hauptsächlich Eier von Echiniden, aber auch die *Antedon*-Spermatozoen beeinflußt werden.

4) Der höchste Prozentsatz der heterogen befruchteten Eier kann durch successive Erhöhung der OH-Ionenkonzentration des umgebenden Mediums und durch Erleichtern des Kontakts mit möglichst vielen und immer neuen Spermatozoen der fremden Familie erreicht werden.

5) Die Bedingungen, welche die heterogene Befruchtung zwischen den Echinideneiern und Crinoidenspermatozoen ermöglichen, schließen die Möglichkeit der reinen Kultur (d. h. der Kultur, welche durch Befruchtung der Eier mit dem Sperma der gleichnamigen Species entsteht) nicht aus.

## II. Teil. Die morphologische Entwicklung der Bastarde.

Nach der Besamung der Echinideneier mit dem *Antedon*-Sperma tritt bei einem Teil der Eier die Dotterhaut hervor, und nach Ablauf einiger Zeit beginnt die Furchung und weitere Entwicklung. Der Verlauf dieser morphologischen Vorgänge sowohl des Befruchtungsprozesses wie der weiteren Entwicklungsstadien wurde auf der Hand der mikroskopischen Schnittpräparate untersucht und die Resultate dieser Untersuchung sind in den nächsten Kapiteln beschrieben. Hier soll nur erwähnt werden, daß die Beobachtung des lebenden Materials je nach der zur Bastardierung verwendeten Echinidenart verschiedene Entwicklungsstadien erreicht haben. Die *Sphaerechinus-Antedon*-Embryonen haben nie das Gastrulastadium überschritten, die *Strongylocentrotus*- und *Echinus*-Eier, welche mit dem *Antedon*-Sperma besamt werden, haben sich in einzelnen Fällen bis Pluteus entwickelt. Der ganze Entwicklungstypus hat rein mütterlichen Charakter in den gesamten Entwicklungsvorgängen getragen. Würden wir uns der Terminologie bedienen, welche von den Botanikern in die Biologie eingeführt wurde, so sollen diese Bastarde als »falsche Bastarde« (MILLIARDET) oder »einseitige Bastarde« (DE VRIES) bezeichnet werden. Meine morphologischen Studien beginne ich mit der Schilderung der ersten Entwicklungsphasen.

### 1. Befruchtung und erste Furchungsmitose.

Die Entwicklung der Echinideneier unter dem Einfluß der Spermatozoen der fremden Familie wurde der cyto- und histologischen Untersuchung bisher nicht unterzogen. Da die Entwicklung der Hybride nach dem mütterlichen Typus verläuft, so erhebt sich die Frage, ob wir bei diesen Kulturen nicht mit der parthenogenetischen Entwicklung zu tun haben. Die Eventualität, daß die künstliche Parthenogenese durch die Wirkung der alkalischen Flüssigkeit hervorgerufen wurde, ist durch die immer gleichzeitig geführten Kontrollversuche ausgeschlossen. Es könnte jedoch möglich sein, daß doch eine Art Parthenogenese dadurch hervorgerufen werden könnte, daß das Spermatozoon der fremden Familie zwar in das Ei hineindringt, die Anregung zur Entwicklung gibt, sich aber selbst an den morphogenetischen Vorgängen nicht beteiligt. Diese Möglichkeit ist deshalb kaum a priori auszuschließen, weil in der Literatur Fälle vorliegen, in welchen ein ähnliches Verhalten des Spermatozoons geschildert

wurde. In der von TH. BOVERI beschriebenen partiellen Befruchtung drang das Spermatozoon in das Ei hinein, der Spermakern vereinigte sich aber mit dem Eikern nicht und konnte noch im Vierzellenstadium in einem der vier Blastomeren als ein besonderer Chromatinklumpen gefunden werden.

Eine derartige »Lähmung« des Spermakernes wurde nachher von E. TEICHMANN bei Anwendung des von BOVERI angegebenen Verfahrens<sup>1)</sup> beobachtet und abgebildet. In diesen beiden hier erwähnten Fällen hat aber das Spermatozoon, wie BOVERI und TEICHMANN angeben, sein Centriol in das Eiplasma eingeführt, welches sich an den Eikern anlegte, um hier die Pole der Furchungsspindel zu erzeugen. Die genauere Analyse von TEICHMANN hat uns den Beweis geliefert, daß das Spermatozoon, welches sein Centriol in das Ei hineinführt, das Anregungsmoment für die Entwicklung geben kann, sich aber wenigstens in den ersten Entwicklungsphasen an der Bildung der Tochterkerne nicht beteiligt.

Daß die Samenfäden in die Eier der fremden Familien hineindringen, ist schon durch die Beobachtungen von J. LOEB fast sicher festgestellt. Ich betone das Wort »fast« sicher, da die Abhebung der Dottermembran, welche als Kriterium für das Hineindringen der Spermatozoen von LOEB aufgefaßt wurde, auch von mehreren Autoren beobachtet wurde, obschon das Spermatozoon nicht hineindrang. C. HERBST hat das Abheben der Dotterhaut infolge der Wirkung von Xylol, Chloroform, Benzol, neuerdings vom Silberniederschlag beobachtet. Bei *Maetra* kommt, wie KOSTANECKI bewiesen hat, bei jeder Hervorrufung der Parthenogenese die deutliche Dotterhaut zum Vorschein. LOEB selbst hat in der letzten Zeit bei der künstlichen Parthenogenese durch die kombinierte Methode (Einfluß der Essigsäure und Erhöhung des osmotischen Druckes) das deutliche Hervortreten der Dottermembran nachgewiesen.

Aus allen diesen Gründen schien es mir wünschenswert, an der Hand der modernen mikroskopischen Technik den ganzen heterogenen Befruchtungsprozeß zu untersuchen.

Der Begriff der Befruchtung wird von verschiedenen Autoren verschieden aufgefaßt. Nur einige Ansichten sollen hier angeführt werden. Der wesentlichste Punkt der biologischen Erscheinung,

<sup>1)</sup> Diese Methode ist folgende: Die Eier liegen 14 Stunden in nicht erneutem Seewasser, nachher werden sie mit dem Sperma besamt, welches so lange mit 0,05% KOH behandelt worden war, bis nur noch ein kleiner Teil der Spermatozoen beweglich war.

welche als Befruchtung bezeichnet wird, wird von DELAGE in der Vereinigung des Spermakerns mit einer gewissen Menge Eiprotoplasma, von BOVERI in der »Vereinigung des Spermacentrosoma mit dem Eiprotoplasma bei Anwesenheit irgendeines der beiden Sexualkerne« angegeben. Von OSTWALD und FISCHER wird neuerdings die Entwicklung der Astrosphäre im Eiprotoplasma, als wesentliches morphologisches Phänomen der Befruchtung erklärt. Diejenigen Forscher, welche die Kernsubstanzen als Vererbungsträger auffassen, sehen das Wesentlichste der Befruchtung in der Verschmelzung der beiden Pronuclei zu einem einheitlichen Furchungskern, bzw. das Aufeinanderlegen dieser Kerne (HÄCKER), welche trotz ihrer benachbarten Lage ihre Selbständigkeit bewahren.

Folgt man den Ansichten von FISCHER und OSTWALD oder jenen von BOVERI, HERTWIG, STRASBURGER, HÄCKER u. a., so kommt man auf Grund meiner Präparate doch zu der Überzeugung, daß den Ausgangspunkt der Entwicklung der Echiniden-Crinoiden-Bastarde eine richtige Befruchtung bildet. Zu dieser Überzeugung bin ich auf Grund der Beobachtung am lebenden Material und an Schnittpräparaten gekommen<sup>1)</sup>. Das Spermatozoon von *Antedon* bohrt sich in das Ei des *Echinus* oder *Sphaerechinus* mit dem Kopfe voran hinein. Bekanntlich wird bei der reinen Echinidenkultur der Schwanz des Spermatozoons unmittelbar nach dem Eindringen des Spermatozoonkopfes in das Ooplasma außerhalb des Eikörpers abgeworfen. Bei der heterogenen Befruchtung habe ich bei der Beobachtung der Präparate öfters den Eindruck gehabt, als ob der Schwanz nicht sobald verloren ginge, sondern mit in den Eikörper hineingezogen würde und erst hier einer körnigen Degeneration anheimfiele.

Wie bei der reinen Kultur, so wird auch hier bei der heterogenen Befruchtung unmittelbar nach dem Eindringen des Spermatozoons in das Ei eine Dottermembran gebildet. Auf den Schnittpräparaten kann man wahrnehmen, daß der Spermakopf samt seinem Centriol bald nach dem Eindringen in das Ei eine Drehung durchgemacht hat, so daß das Centriol dem Spermakopf während der

---

<sup>1)</sup> Die mit *Antedon*-Sperma (im alkalischen Seewasser) besamten *Sphaerechinus*- und *Echinus*-Eier wurden in verschiedenen Zeitabständen nach der Besamung in der PERÉNYISCHEN und CARNOY-VAN GEUCHTENSCHEN Flüssigkeit fixiert. Die Eier wurden nach den üblichen Maßregeln durch die Alkohole, Toluol usw. durchgeführt, in Paraffin eingebettet, in 7,5  $\mu$  dicke Schnittserien geschnitten und nach dem HEIDENHAINschen Eisenhämatoxylinverfahren mit Nachfärbung in Bordeaux R behandelt.



ganzen Wanderung durch das Ooplasma vorangeht (Fig. 1). An der Stelle, wo sich das Centriol befindet, tritt eine achromatische Strahlung auf, also ebenso wie bei der reinen Kultur. Der *Antedon*-Spermakern nähert sich mit seinem Centriol und seiner Strahlung immer nach dem *Echinus*-Eikern zu, sodann legen sich die beiden Kerne aneinander (Fig. 2), so daß der Spermakern an dem weiblichen Pronucleus eine Art Erhebung bildet, endlich liegen die Kerne so dicht zusammengedrängt, daß beide Kerne zusammen eine Kugel vorstellen (Fig. 3). Zwischen den beiden Kernen ist jedoch noch eine Grenze wahrnehmbar (Fig. 3), so daß die beiden Pronuclei noch eine Zeitlang ihre Selbständigkeit bewahren. Nachher verschwindet aber der den Spermakern kennzeichnende Kontur — und es kommt zur Bildung eines einheitlichen Furchungskernes, welcher also der Verschmelzung der Kerne der Geschlechtsprodukte zweier fremden Familien ihre Entstehung verdankt. Nach dem Verschwinden der morphologischen Grenze zwischen den beiden Pronuclei sieht man zunächst (Fig. 4) noch gröbere Chromatinbrocken, deren Herkunft aus dem *Antedon*-Kern keinem Zweifel unterliegen kann. Solche Chromatinbrocken als Überreste des Spermakopfes waren auch bei der reinen Kultur von allen Autoren übereinstimmend [vgl. KOSTANECKI, WILSON<sup>1)</sup>, HEIDER und KORSCHOLT] beschrieben; nachdem aber die Kernmembran verschwunden ist und der Furchungskern sich zur ersten Mitose anschickt, kann die Selbständigkeit der beiden Pronuclei nicht mehr unterschieden werden. Das Verhalten des *Antedon*-Centriols im *Echinus*- bzw. *Sphaerechinus*-Ei (Fig. 1, 2, 4) unterscheidet sich nicht von dem Verhalten der Centriolen in der reinen Kultur. Aus der vorhergehenden Schilderung des Befruchtungsprozesses folgt, daß bei der Befruchtung des Echinideneies durch das Spermatozoon von *Antedon* in Anwesenheit des Centriols des *Antedon*-Spermakerns nicht nur eine Astrosphäre zur Entwicklung gelangt, sondern auch eine typische Kernverschmelzung, die Bildung eines typischen Furchungskernes erfolgt.

Mit Hinsicht auf die Entwicklung der Bastarde, was später noch näher erörtert werden soll — ist die Feststellung dieser Tatsache von prinzipieller Wichtigkeit. Abgesehen davon, ob die Copulation der Pronuclei als Wesen der Befruchtung aufzufassen ist, oder nur als Erscheinung, welche den Befruchtungsprozeß unter gewöhnlichen Verhältnissen konstant begleitet — können wir feststellen, daß in

<sup>1)</sup> Vgl. WILSON, The Cell in Development and Inheritance. p. 189. Fig. 95.

morphologischer Hinsicht sich die heterogene und homogene Befruchtung kaum unterscheiden lassen.

In letzter Zeit hat V. HÄCKER darauf hingewiesen, daß »schon frühere Autoren offenbar Bedenken getragen haben, schlechtweg von einer Zell- und Kernverschmelzung zu sprechen«. Nach HÄCKER wird durch die Befruchtung »in erster Linie ein zweikerniger Zellzustand geschaffen und wir würden danach, falls sich wirklich die Ergebnisse bei den Copepoden auf andre Organismen übertragen lassen, als das Wesentlichste des Befruchtungsvorganges die Paarung zweier Kerne zweierlei Abkunft in einer einzigen Zelle zu bezeichnen haben«<sup>1)</sup>.

Der Hypothese über das Getrenntbleiben der beiden Pronuclei während der weiteren Entwicklung hat sich auch mit Berücksichtigung der früheren Angaben von VAN BENEDEN<sup>2)</sup> vor kurzem W. ROUX (03) angeschlossen und auf die Koinzidenz der Copulationsrichtung mit der Richtung der ersten Teilung des Furchungskerns hingewiesen.

Man sollte a priori postulieren, daß bei der heterogenen Kreuzung, in welcher die Pronuclei der Geschlechtsprodukte von zwei Familien miteinander copulieren, das Getrenntbleiben der beiden Geschlechtskerne sehr deutlich hervortreten wird. Ich habe aber in meinen Präparaten keinen Anhaltspunkt zu der Behauptung gefunden, daß beim Befruchtungsvorgang keine Verschmelzung, sondern nur Aufeinanderlegung der Copulationskerne stattfindet. Auch in der weiteren Entwicklung im Vorbereitungsstadium zur Bildung der ersten Furchungsspindel (Fig. 5), sowie im Verlaufe der ersten Mitose, läßt sich das Chromatin des Vaters von demjenigen der Mutter nicht unterscheiden.

In der letzten Zeit hat STRASBURGER<sup>3)</sup> die HÄCKERSche Ansicht auf dem botanischen Material genau geprüft und ist zur Überzeugung gekommen, daß es sich hier um Angaben handelt, »die nicht ohne weiteres eine Verallgemeinerung gestatten«. Mit dieser Ansicht stimmen meine Resultate vollkommen überein.

Beim Furchungskern erscheinen zwei Centriolen, welche offenbar von der Teilung des väterlichen Centriols herkommen und welche die Mittelpunkte von zwei Radiensystemen darstellen (Fig. 5). Die Kernmembran wird immer undeutlicher, das Chromatin tritt in den Äquator der achromatischen Spindel ein. Fig. 6 stellt die erste

<sup>1)</sup> Jen. Zeitschr. Bd. 37. S. 376.

<sup>2)</sup> Arch. de Biologie. T. 4.

<sup>3)</sup> Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. 42. S. 20.

Furchungsspindel mit ihren Chromosomen dar. Bezüglich der Chromosomen muß ihre Gestalt und Zahl Berücksichtigung finden. Im Vorhergehenden glaube ich nachgewiesen zu haben, daß bei der Befruchtung die Kernverschmelzung stattfindet. Es erhebt sich also sofort die Frage, ob die vom *Antedon*-Spermatozoon eingeführten Chromosomen nach der Verschmelzung der beiden Vorkerne im Furchungskern nicht etwa zugrunde gehen, ob sie sich während der nächsten Mitose noch nachweisen lassen. In Anbetracht dessen, daß die Chromosomen als Vererbungsträger aufgefaßt werden, ist diese Frage von großer Wichtigkeit. Ich habe gehofft, die *Antedon*-Chromosomen, falls sie während der nächsten Mitosen vorhanden sind, an ihrer Gestalt von den *Echinus*- bzw. *Sphaerechinus*-Chromosomen unterscheiden zu können. Die auf Fig. 6 dargestellte Furchungsspindel erlaubt zwar keine genaue Bestimmung der Chromosomenzahl: ein Teil derselben kam auf einen andern Schnitt zu liegen. Die an dieser Ebene vorhandenen Chromosomen lassen jedoch erkennen, daß die gesamten Chromosomen vollkommen gleich schleifenförmig sind, so daß von der Entscheidung der Herkunft einzelner Chromosomen vom väterlichen oder mütterlichen Vorkern keine Rede sein kann.

Auch im Diasterstadium ist kein Unterschied in der Gestalt und Anordnung der Chromosomen wahrnehmbar. Fig. 9 stellt unter stärkerer Vergrößerung die Tochterplatte dar, in welcher über 20 Chromosomen deutlich zu zählen sind.

Die Literaturangaben, welche sich auf die Zahl der Chromosomen beim *Echinus microtuberculatus* beziehen, stehen leider bisher nicht im Einklang. Von BOVERI (90) wird deren Zahl im Geschlechtskern auf 9, in der Furchungsspindel 18, von MORGAN (95) 10 bzw. 20, von N. M. STEVENS (02) 18 bzw. 36 angegeben. Von BOVERI und STEVENS waren Ausnahmen festgestellt. BOVERI (04) ist sogar der Meinung, »daß es anzunehmen wäre, daß dieser Seeigel in zwei Varietäten vorkommt, von denen die eine doppelt so viele Chromosomen besitzt, als die andere«. Ich habe ebenfalls in den Tochterplatten der von reiner Kultur stammenden Eier die Chromosomenzahl gezählt und 18 Schleifen gefunden. Da ich bei den von heterogener Bastardierung herstammenden Tochterplatten über 20 Chromosomen gefunden habe, glaube ich daraus schließen zu können, daß die von dem *Antedon*-Spermakern eingeführten Chromosomen in die erste Mitose mit eingetreten sind. Würden namentlich die *Antedon*-Chromosomen einer Degeneration anheimfallen, so sollten nur 18 halbe = 9 Chromosomen vorhanden sein.

Die Tatsache, daß sämtliche Chromosomen in den Mitosen der Bastarde vollkommen gleich aussehen, ist entweder dadurch zu erklären, daß die Chromosomen von *Antedon* und *Echinus* morphologisch so ähnlich sind, daß ihr Unterscheiden kaum möglich ist, oder was mir wahrscheinlicher zu sein scheint, daß die *Antedon*-Chromosomen unter dem Einfluß des sie umgebenden Protoplasma des *Echinus*-Eies sich derart verändern, daß sie die morphologische Gestalt und Beschaffenheit der Chromosomen von *Echinus* annehmen. Da ich leider nicht im Besitze der Präparate bin, an welchen die Chromosomenzahl beim *Antedon* festgestellt und die Gestalt derselben untersucht werden könnte — kann ich diesen Sachen gegenüber keine Stellung nehmen.

Der Rekonstitution der Tochterkerne in den Blastomeren geht die Umwandlung der Chromosomen in bläschenförmige Gebilde, welche als Caryo- oder Idiomeren bezeichnet werden, voran. Diese von FOL zuerst beschriebenen, nachher von BOVERI und HÄCKER (04) von diesem Autor als Idiomeren bezeichneten Gebilde entstehen entweder erst nach der Zelleibsteilung, oder noch im einheitlichen Plasmaterritorium (Fig. 7). Daß der Eintritt der Idiomerenbildung zeitlich großen Schwankungen unterliegt, beweist Fig. 8. Sie stellt namentlich ein späteres Stadium vor, in welchem der Zelleib bereits durchgeschnürt ist, wo aber die Chromosomen noch deutliche schleifenförmige Gestalt zeigen. Den Anschauungen von HÄCKER (04) zufolge beruht der Vorgang der Idiomerenbildung auf einer zunehmenden Alveolisierung oder Vacuolisierung der Chromosomen. Auch auf dem Stadium der Caryomeren sind die einzelnen Chromosomen vollkommen gleich gestaltet, so daß die Diagnose ihrer väterlichen oder mütterlichen Herkunft nicht durchführbar ist.

Bezüglich der Centrosomengestalt im Verlauf der ersten Mitose entsprechen die Bilder meiner Präparate in den ersten caryokinetischen Phasen den Befunden von KOSTANECKI (96). Fig. 4 stellt das Bild dar, auf welchem zwei kleine winzige Körnchen (Centriolen) die Strahlencentra bilden. In späteren caryokinetischen Stadien habe ich öfters die größeren Gebilde an den Spindelpolen gesehen, welche von BOVERI (01) beschrieben und abgebildet wurden. Es liegt nicht im Plane dieser Arbeit, auf diese cytologischen Einzelheiten hier näher einzugehen. Es handelt sich um den Nachweis, daß auch in dieser Beziehung sich das vom *Antedon*-Sperma herstammende Centrosom derart im Echinidenei verhält, wie das Centrosoma, welches mit dem Samenfaden der gleichnamigen Art hineingedrungen ist.

Fassen wir jetzt die Resultate unsrer Betrachtungen, welche in diesem Kapitel geschildert wurden, kurz zusammen, so gipfelt das Hauptergebnis dieser Erörterungen in folgenden Sätzen:

1) Das Spermatozoon von *Antedon* vermag, nachdem die äußeren Bedingungen sein Eindringen in das Echinidenei ermöglicht haben, dieses Ei zur Entwicklung anzuregen.

2) Der Verlauf des Befruchtungsvorganges und der ersten Mitose unterscheidet sich nicht von demjenigen der reinen Kultur: das Hervortreten der Astrosphäre um das Spermacentriol, die Verschmelzung der Vorkerne, welche von den beiden fremden Familien stammen, verläuft wie bei der reinen Kultur.

3) Die vom *Antedon*-Spermatozoon eingeführten Chromosomen treten in die erste Furchungsspindel ein und werden dadurch in die beiden Tochterkerne der ersten Blastomeren befördert.

## 2. Die Geschwindigkeit der Entwicklung und Lebensdauer der heterogenen Bastarde.

Nach der Befruchtung, deren Morphologie im vorhergehenden geschildert wurde, beginnt die weitere Entwicklung. Um die Geschwindigkeit der Furchung der bastardierten Eier zu beurteilen, wurden gleichzeitig Kontrollversuche mit reiner Kultur geführt, indem gleichzeitig Eier von *Echinus* bzw. *Sphaerechinus* mit dem Sperma der gleichnamigen Species besamt wurden. Im folgenden gebe ich den Auszug aus dem Protokolle über einige diesbezügliche Versuche:

Versuch angesetzt am 31. Oktober 1904. Besamung um 3 Uhr nachmittags.

Das Experiment bezieht sich auf die Kombination  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$ .

	$\frac{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$	$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$	Anmerkung
31. X. 3.5 nachm.	alle Eier mit Dotterhaut	—	—
4.45 -	ebenso	ein Teil mit Dotterhaut	das alkalische Wasser durch gewöhnliches Seewasser ersetzt
6 -	in 2	mit Dotterhaut, ein Teil in 2	
6.30 -	in 4	mit Dotterhaut, die Zahl der in 2 gefurchten hat zugenommen	

	<i>Sphaerechinus</i> ♂ <i>Sphaerechinus</i> ♀	<i>Antedon</i> ♂ <i>Sphaerechinus</i> ♀	Anmerkung
9 nachm.	in 16	mit Dotterhaut in 2, 4, 8	—
11 -	in 32—64	mit Dotterhaut in 2, 4, 8, 16	—
1. XI. 8 früh	Blastulae	Blastulae teilweise schwimmend, aber ohne Mesench.	—
4 nachm.	schwimmende Blastulae	schwimmende Blastulae	—
9 abends	Blastulae mit Mesenchymring	Blastulae teilweise mit Mesenchym	—
2. XI. 9 vorm.	Gastrulae	Blastulae mit Mesenchymring	—
9.45 vorm.	Prismen	Blastulae mit Mesenchymring	von der Bastardkultur wurden etwa 350 Blast. herausgefischt und in ein andres Gefäß herübergebracht, behufs der Vermeidung des schädlichen Einflusses der faulenden, nicht befruchteten Eier. Die weiteren Angaben der Rubrik II beziehen sich also nur auf die herausgefischten Tiere
3. XI. 8.30 vorm.	Prismen	ein Teil noch im Blastulastadium, ein größerer in verschiedensten Gastrulationsstadien	
8.30 abends	Plutei	verschied. Gastrulationsstadien, einige Exogastrul., einzelne Blastulen, keine Skeletentwicklung	
4. XI.	Plutei	Kultur abgestorben	

Selbstredend wurde dieser Versuch mehrmals wiederholt und stets mit dem gleichen Resultat. Es wurden aber auch andre Experimente angestellt, bei welchen die Eier anderer Echiniden mit *Antedon*-Sperma befruchtet und mit der reinen Kultur verglichen wurden.

Versuch angesetzt am 10. I. 05. Besamung 11.45 a. Kreuzung

*Antedon* ♂  
*Echinus* ♀.

	<i>Echinus</i> ♂ <i>Echinus</i> ♀	<i>Antedon</i> ♂ <i>Echinus</i> ♀	Anmerkung
10. I. 12.55 vorm.	in 2	einzelne Eier mit Dotterhaut umgeben	—
1.10 nachm.	- 2	mit Dotterhaut und in 2	—
1.30 -	- 4	- - - 2	—
1.55 -	- 4	- - in 2, in 4	—
2.25 -	- 8	- - - 2, 4, 8	d. alkalische Wasser wurde durch gewöhnliches Seewasser ersetzt
3.05 -	- 16	- - in 2, 4, 8, 16	
3.45 -	- 32	- - in 2, 4, 8, 16, 32	

	$\frac{\text{Echinus } \sigma}{\text{Echinus } \varphi}$	$\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Echinus } \varphi}$	Anmerkung
4.35 nachm.	Morulae	m. Dotterh. in 2, 4, 8, 16, 32	d. Wass. wurde gewechselt
5.5 -	Blastulae mit kleinem Blastocöl	- - - 2, 4, 8, 16, 32 Morulae	—
6.30 -	Blastulae	in 2, 4, 8, 16, 32 Morulae und Blastulae	—
9.30 -	Blastulae mit großem Blastocöl	in 2, 4, 8, 16, 32 Morulae und Blastulaestadium	—
11. I.	schwimmende Blast.	schwimmende Blastulae	von der Bastardkultur wurden etwa 300 Blast. herausgefischt und in ein andres Gefäß herübergebracht behufs der Vermeidung des schädlichen Einflusses der faulenden, nicht befruchteten Eier. Die weiteren Angaben der Rubrik II beziehen sich also nur auf die Entwickl. dieser herausgefischten Blastulae
9.30 vorm.	mit Mesenchymring	mit Mesenchymring	
3 nachm.	Gastrulae mit Bilateralität	schwimmende Blastulae mit Mesenchymring	
11.5	Prisma mit Beginn der Arm bildung	verschiedene Gastrulaestadien, ein Teil noch im Blastulastadium	
12. I.	Plutei	Gastrulae teilweise mit Skeletdreistrahl, ein Teil noch im Blastulastadium	
9 vorm.			
9.30 nachm.	Plutei	Gastrulae teilw. mit Dreistrahlern, einzelne Gastrul. haben die prismatische Gestalt angenommen	
13. I.	Plutei	kein Fortschritt in der Entwicklung	—
9.15 vorm.			
8 nachm.	Plutei	teilweise krank, undurchsichtig	—

Die andern Experimente mit  $\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Echinus } \varphi}$  haben bezüglich des Tempos der Entwicklung vollkommen identische Ergebnisse gegeben, es kam aber oft noch zu weiterer Entwicklung, aus welcher Plutei resultierten. Der Prozentsatz der Eier, welche mit *Antedon*-Sperma befruchtet wurden und sich zum Pluteusstadium entwickelt haben, ist sehr verschieden. Oft entwickelt sich überhaupt kein Individuum über das Gastrulastadium hinaus, in andern Fällen erreichen etwa 2–4% der tatsächlich befruchteten Eier das Pluteusstadium, nur einmal habe ich 6% Plutei bekommen. Die Kombination  $\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Strongylocentrotus } \varphi}$  entwickelt sich bezüglich des Entwicklungstempos wie die  $\frac{\text{Antedon } \sigma}{\text{Echinus } \varphi}$ -Kombination, nur der Prozentsatz der Plutei ist geringer als bei der oben erwähnten Kreuzung. Wegen der Ähnlichkeit des Entwicklungs-

verlaufes halte ich es für überflüssig, ausführlich die betreffenden Protokolle dieser Experimente einzeln anzuführen.

Die Ergebnisse der Experimente, welche aus den oben angegebenen Versuchsprotokollen ersichtlich sind, erlauben uns, gewisse den Entwicklungsvorgang betreffende Fragen zu beleuchten, und zwar: a) den zeitlichen Zusammenhang zwischen der Besamung und der Befruchtung, b) die Geschwindigkeit der Furchung der Bastardorganismen im Vergleich zu derjenigen der reinen Kultur, c) das Tempo der weiteren Entwicklung, d) die Lebensfähigkeit der Bastardorganismen im Vergleich zu ihrer Entwicklungsfähigkeit.

Ad a) Aus den Protokollen ist zuerst zu ersehen, daß die Entwicklung der heterogen befruchteten Eier nicht gleichzeitig mit derjenigen der Eier der reinen Kultur beginnt, obschon die Besamung der Eier von *Echinus* oder *Sphaerechinus* mit dem *Antedon*-Sperma und der Kontrolleier mit dem Sperma der gleichnamigen Species gleichzeitig stattgefunden hat. Bei der reinen Kultur werden die Eier sofort nach der Besamung befruchtet, was an dem Auftreten der Membran an denselben zu erkennen ist; die mit *Antedon*-Sperma besamten Echinideneier werden erst einige Zeit nach der Besamung befruchtet.

Die Zeit, welche zwischen der Besamung und Befruchtung verfließt, ist individuell verschieden<sup>1)</sup>. Daraus folgt, daß wenn bei reiner Kultur in einem Gefäß die gesamten oder fast gesamten Eier gleichzeitig auf demselben Entwicklungsstadium sich befinden, in der heterogenen Bastardkultur in einem Gefäß die verschiedensten Entwicklungsetappen zu sehen sind. In der Bastardkultur sind neben den verschiedensten Furchungsstadien oder selbst Eiern, welche zwar befruchtet (umhüllt), aber noch nicht gefurcht sind, oft Morulae, ja sogar Blastulae zu sehen.

Ad b) Was die Furchungsgeschwindigkeit betrifft, so läßt sich zwischen dem Tempo der Furchung eines aus reiner Kultur herstammenden Eies und der Furchung des gleichzeitig heterogen befruchteten (wenn wir den Moment der wirklich eingetretenen Befruchtung und nicht den der Besamung ins Auge fassen) kein Unterschied im Entwicklungstempo feststellen. Isoliert man z. B. die Eier, welche eben ins Zweizellenstadium übergegangen sind, und vergleicht man sie bezüglich ihrer Furchungsgeschwindigkeit mit Eiern, welche aus reiner

<sup>1)</sup> Im physiologischen Teil wurde schon hervorgehoben, daß eine verschiedene individuelle Beschaffenheit der Eier auch darin ihren Ausdruck findet, daß verschiedene Eier verschieden lange Zeit unter der Einwirkung der alkalischen Flüssigkeit bleiben müssen, um heterogen befruchtet zu werden.



Kultur stammen und welche auf dem Zweizellenstadium sich befinden, so ergibt sich, daß beide Kulturen völlig gleichen Schritt halten.

Das dauert bis zum Blastulastadium an. Bezüglich der Furchungsgeschwindigkeit verhalten sich die heterogenen Bastarde ähnlich denjenigen, welche der Kreuzung zwischen zwei Arten derselben Familie ihre Entstehung verdanken: das Tempo der Furchung ist durch den mütterlichen Organismus bestimmt.

STASSANO (83) ist meines Wissens der einzige, welcher bei den Kreuzungsversuchen zwischen den Echinidenarten die Geschwindigkeit der Furchung der väterlichen Art folgen läßt. DRIESCH hat mit seinen Experimenten bewiesen, daß das Tempo des Ablaufs der Furchung nach dem Typus des mütterlichen Organismus verläuft.

Vergleicht man die Furchungsgeschwindigkeit der reinen *Echinus*-Kultur (vgl. Tabelle auf S. 608 u. 609, Kolonne I) mit der Furchungsgeschwindigkeit der reinen *Antedon*-Kultur, wie sie genau in der gründlichen Entwicklungsmonographie von SEELIGER (S. 167) angegeben wurde, so ersieht man, daß die letztere langsamer ist. Aus meinen Ver-

suchen ergibt sich, daß auch bei der heterogenen Kreuzung  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$  die Entwicklungsgeschwindigkeit mit der reinen *Echinus*-Kultur gleichen Schritt hält, also nur vom Ei abhängig ist.

Ad c) Das gleiche Tempo der Entwicklung der heterogenen Bastarde mit der Entwicklung der reinen Kultur dehnt sich nur auf die Furchungsperiode aus. Vom Blastulastadium an verändert sich der Sachverhalt. Auf diesem Stadium bildet sich in der reinen Kultur bekanntlich bald das Mesenchymgewebe aus, welches sich zu dem bekannten Mesenchymring anordnet. Bei den heterogenen Bastarden ist gewöhnlich eine kleinere oder größere Verspätung in der Entstehung der Mesenchymzellen wahrnehmbar. Oft geht diesem Prozeß ein längerer Stillstand in der Entwicklung voran. Eine noch längere, fast regelmäßig vorkommende Entwicklungsunterbrechung tritt bei den

Bastarden  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$  vor der Gastrulation ein. Im Blastulastadium schwimmen die Embryonen nach der Ausbildung des Mesenchyms und dessen ringförmiger Anordnung längere Zeit munter herum, ohne daß man den Fortschritt in den morphogenen Vorgängen wahrnehmen kann. Aus dem oben angegebenen Protokoll ist zu ersehen, daß die von reiner Kultur herstammenden Embryonen schon eine prismatische Gestalt angenommen haben, während die Bastarde teilweise noch auf dem Blastulastadium verharren. Was die weitere

Entwicklungsfähigkeit der Bastarde anbetrifft, so geht in der

$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$ -Kombination die Entwicklung über das Gastrulastadium nie hinaus. Langsam verläuft hier schon der Gastrulationsprozeß, oft erreicht der Urdarm seine normale Länge überhaupt nicht. In andern Fällen aber bildet er sich vollkommen aus, neigt sich gegen die Wand der Gastrula und scheint sogar hier und da mit dem Ectoderm in Verbindung zu treten. Auf diesem Stadium habe ich öfters die Embryonen einige Tage lang herumschwimmen sehen, die weitere Beobachtung ergab aber, daß solche Embryonen ihre Entwicklungsfähigkeit vollkommen eingebüßt haben. Die Protokolle über die Entwicklungsgeschwindigkeit der  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Mischlinge vom Blastulastadium an beweisen, daß bei dieser Kombination der Stillstand in der Entwicklung auf verschiedenen Stadien vorkommen kann: im Blastulastadium, während der Gastrulation, oder vor dem Beginn der Skelettbildung. Auch auf verschiedenen Stadien der Pluteusbildung kann oft die Entwicklung definitiv aufhören. Ich habe einmal Gelegenheit gehabt, einen Bastardembryo auf dem Prismastadium mit dem Beginn der Armbildung 3 Tage lang herumschwimmen zu sehen, ohne daß sich ein Fortschritt in der Entwicklung geltend machte.

Dasselbe läßt sich auch für die Kombination  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$  feststellen. Auf was diese Entwicklungsunterbrechungen zurückzuführen sind, läßt sich vorläufig nicht entscheiden.

Man könnte hier nur vielleicht einen charakteristischen Umstand hervorheben, daß der Stillstand in den morphogenen Vorgängen sehr oft gerade auf jenen Entwicklungsstadien sich zeigt, auf welchen das Hervortreten der väterlichen Merkmale zu erwarten wäre. Die Bildung des mesenchymatischen Gewebes, die Gastrulation, die Bildung der Skeletanlage und die weitere Skeletentwicklung — das sind alles morphogene Vorgänge, in welchen die Wege der Entwicklung der beiden an der Kreuzung teilnehmenden Familien auseinander gehen. Wenn also eben vor diesen Prozessen die Entwicklungsunterbrechungen oft wahrzunehmen sind, so ist dies vielleicht der Ausdruck des Einflusses des männlichen Elements, welchem es aber im Ei der fremden Familie an Mitteln fehlt, um seine Potenz zur Geltung zu bringen.

Ad d) Im vorhergehenden wurde darauf hingewiesen, daß die Entwicklung der Bastarde oft zeitweise unterbrochen wird. Es ist aber in jeder Kultur eine sehr häufige Erscheinung, daß die morpho-

genen Prozesse, welche auf einmal stillstehen, ihren Verlauf nicht weiter fortsetzen, die Entwicklung vielmehr definitiv sistiert wird.

Damit ist aber noch nicht gesagt, daß mit dem Einbüßen der Entwicklungsfähigkeit auch die Lebensfähigkeit vernichtet ist. Im Gegenteil habe ich öfters die Bastardembryonen am Leben bleiben sehen, welche in der Entwicklung keinen weiteren Fortschritt mehr zeigten. LOEB hat bei der Kreuzung der *Strongylocentrotus*-Eier mit *Asterias*-Samen »das plötzliche massenhafte Absterben« der Bastarde beobachtet. »Man gewinnt den Eindruck« — sagt dieser Forscher — »als ob die Kulturen dieser Larven plötzlich vergiftet worden seien, und vielleicht handelt es sich auch um eine langsam sich entwickelnde Giftwirkung, welche gewisse Stoffe des Seestern- oder Schlangenstermsamens auf die *Strongylocentrotus*-Eier ausüben.«

Wäre diese Vermutung von LOEB richtig, daß innerhalb einer bestimmten Zeit die Vergiftung der Bastarde erfolgt, so könnte man erwarten, daß innerhalb derselben Zeit, falls es gelänge, das Entwicklungstempo zu beschleunigen, es möglich wäre, ein späteres Entwicklungsstadium zu erreichen. Um die Beschleunigung zu erreichen, wurden die Gläser mit den  $\frac{\text{Antedon } \text{♂}}{\text{Sphaerechinus } \text{♀}}$ -Bastardkulturen in den Brutofen bei 18° C. gehalten. Die Entwicklung ging wirklich rascher vor sich, früher wurde das Gastrulastadium erreicht, früher ist aber auch der Stillstand in der Entwicklung eingetreten. In meinen derartigen zahlreichen Experimenten mit den Bastarden der  $\frac{\text{Antedon } \text{♂}}{\text{Sphaerechinus } \text{♀}}$ -Kombination ist es mir nie gelungen, die Skeletanlage zu bemerken. Die Zeit, wo die Skeletteile angelegt werden sollten, war schon längst vorbei, der Urdarm hat auch schon manche Umänderungen durchgemacht, deren Vorhandensein in gewöhnlichen Verhältnissen bei reinen Kulturen auf die Entwicklung der Skeletanlage schließen läßt, die Mesenchymzellen, welche Skeletbildner sind, waren schon vorher aufgetreten und hatten sich typisch angeordnet — vom Skelet war keine Spur!

Für die Beurteilung dieser ganzen Erscheinung der Entwicklungssistierung scheint mir die Beobachtung von Bedeutung zu sein, daß die Bastardembryonen oft ebenso lange am Leben bleiben, wie die der reinen Kultur. Das spricht, meiner Ansicht nach, gegen die Vermutung von LOEB, daß das Spermatozoon der fremden Familie toxische Substanzen hineinführt oder produziert, welche den Tod der Embryonen veranlassen. Die Lebensfähigkeit der heterogenen

Bastarde scheint nicht so stark beeinträchtigt zu sein, wie ihre Entwicklungsfähigkeit. Alle diese Umstände scheinen mir mehr dafür zu sprechen, daß es den Embryonen an den Mitteln zur Bildung mancher Organe fehlt, oder daß durch die Spermatozoen der fremden Familien bestimmte, die Entwicklung gewisser Organe, z. B. des Skelets, hemmende Faktoren hineingebracht wurden. Obwohl das Auftreten solcher Hemmungserscheinungen durch die Befruchtung mit dem Spermatozoon der fremden Familie bedingt ist, so hängt doch die Intensität nicht nur vom Spermatozoon, sondern auch von der Eiespecies ab. Mit dem gleichartigen (*Antedon*) Sperma befruchtete Eier von verschiedenen Echinidenarten (*Sphaerechinus*, *Strongylocentrotus*, *Echinus*) zeigen eine verschiedene Stufe der Entwicklungsfähigkeit. Am größten ist sie bei *Echinus*-, geringer bei *Strongylocentrotus*-, am geringsten bei *Sphaerechinus*-Eiern.

Die Entwicklungsfähigkeit scheint also das Resultat der Wechselbeziehung zwischen beiden an der Befruchtung teilnehmenden Geschlechtsprodukten zu sein.

### 3. Die Furchung, Blastula- und Mesenchymbildung.

Es wurde schon in den vorigen Kapiteln darauf hingewiesen, daß die Befruchtungsvorgänge bei der Bastardierung ebenso verlaufen, wie bei der reinen Kultur. Dasselbe konnten wir für die Furchungsspindel und das Diasterstadium feststellen. Schon im Verlauf dieses ersten Vorbereitungsstadiums zur Furchung tritt der Unterschied zwischen der parthenogenetischen und der durch das Eindringen des Spermatozoons hervorgerufenen Entwicklung deutlich zutage. Es wurde bereits im vorhergehenden hervorgehoben, daß bei den gewöhnlichen Methoden der künstlichen Parthenogenese sich niemals eine Dottermembran abhebt.

Sodann unterscheidet sich das heterogen befruchtete Ei durch eine völlig regelmäßige typische Furchung mit der für die Echinidenfamilie charakteristischen Micro- und Macromerenbildung, wie sie bei den parthenogenetischen Seeigeleiern nicht wahrzunehmen ist<sup>1)</sup>. Aus diesbezüglichen Angaben von LOEB, WILSON und der genauen Beschrei-

---

<sup>1)</sup> Die Ausnahme bildet hier die soeben von LOEB (05) beschriebene, von ihm entdeckte kombinierte Methode der Hervorbringung der künstlichen Parthenogenese, bei welcher sich auch das Micromerenfeld bildet.

bung des parthenogenetischen Furchungsprozesses bei *Strongylocentrotus* von PETRUNKEWITSCH (04) geht hervor, daß bei der parthenogenetischen Furchung: 1) die Teilung der Kerne in den einzelnen Blastomeren nicht gleichzeitig erfolgt, 2) daß die Kernteilung ohne Zellteilung stattfindet und daß später simultan die Teilung in mehrere Blastomeren eintritt, 3) daß die Zellen, welche aus der Eifurchung resultieren, unregelmäßig groß sind. Von allen diesen für die Parthenogenese charakteristischen Merkmalen tritt kein einziges bei den heterogenen Bastarden auf. Die Beobachtung des lebenden Materials ergibt auch in den weiteren Furchungsphasen keinen Unterschied im Vergleich mit der reinen Kultur. Das Micro- und Macromerenfeld, welches vom Achtzellenstadium deutlich erkennbar ist, kann auch bei den Bastardkulturen beobachtet werden. Ich habe die Furchung auch an Schnittpräparaten cytologisch untersucht. Die erste Mitose wurde im vorigen Kapitel einer Analyse unterzogen. Die folgenden caryokinetischen Teilungen wie auch der Vorgang der Morulaebildung unterscheiden sich ebenfalls in keiner Weise von den analogen Prozessen der reinen Kultur. Als Beispiel ist auf der Fig. 10 das Vierzellenstadium abgebildet, in welchem die Kerne schon in Mitose begriffen sind.

Das Blastulastadium der  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Bastarde stellt ein Bläschen vor, welches von der Blastula der reinen Kultur nicht zu unterscheiden ist. An einem Pol sind die Cylinderzellen, aus welchen die Wand besteht, bedeutend höher als am andern. Diese stark verlängerten Zellen des vegetativen Pols bilden den Bereich, welcher, wie es bei reiner Kultur SCHMIDT nachgewiesen hat, »von der übrigen Keimwand sich etwas abgrenzt« und eine besondere Zellplatte des primären Mesenchyms bildet. In diesen Elementen zeigen sich reichliche Mitosen, durch welche die Zellvermehrung zustande kommt. Diese neuproduzierten Elemente bilden den Zellhaufen, welcher sich in das Blastocöl hineindrängt. Fig. 11 stellt das Bild dar, in welchem die Zellvermehrung in der Platte des primären Mesenchyms zu sehen ist.

Die Bildung des primären Mesenchyms findet nur bei den Echiniden statt. Als primäres Mesenchym werden hier jene Zellen bezeichnet, welche in das Blastocöl von der Keimwand aus wandern. Diese primären mesenchymatischen Zellen beteiligen sich nachher an der Skelettbildung. Die Crinoidenfamilie bildet vor der Gastrulation überhaupt kein Mesenchym. Sämtliche Autoren, welche die Crinoiden-

entwicklung untersucht haben (BARROIS, BURY, SEELIGER), stimmen darin überein, daß die Mesenchymbildung erst nach der Invagination der Keimwand stattfindet. SEELIGER (93) schreibt (S. 197): »Bei den Echiniden und Ophiuriden wandern schon im Blastulastadium Zellen vom vegetativen Pol, an welchem später die Invagination erfolgt, aus, um als amöboide Wanderzellen die primäre Leibeshöhle zu durchsetzen.« Für *Synapta* und *Astropecten* gibt SEELIGER an, daß das Auswandern der Mesodermzellen »erst dann erfolgt, wenn die Entodermeinstülpung eine bedeutendere Tiefe erlangt hat«. »Bei den Crinoiden tritt das Mesenchym ebenfalls nach Beginn des Gastrulationsvorganges auf, aber früher als bei Asteriden, da die Entodermzellen noch einen mehr indifferenten Charakter haben, noch dotterreich sind und prismatische Gestalt besitzen. Allerdings währt die Mesenchymbildung aus dem Entoderm bei *Comatula* beträchtlich längere Zeit und findet später noch statt, wenn der Blastoporus sich längst geschlossen hat.«

Bei den Echiniden also bildet sich das primäre Mesenchymgewebe aus den nichtdifferenzierten Keimwanderzellen vor der Invagination, bei den Comatuliden aber wandern die mesenchymatischen Elemente nach der Einstülpung aus dem Entoderm aus. Nimmt man also die Zeit der Auswanderung der Elemente und die Quelle der Produktion derselben zum Kriterium, so kommt man zum Schluß, daß bei den Comatuliden kein primäres Mesenchym vorhanden ist.

Wenn wir aber die prospektive Bedeutung dieser Gebilde zum Ausgangspunkt unsrer Betrachtungen nehmen und der Tatsache Rechnung tragen, daß die primären Mesenchymzellen die »Skeletbildner« (DRIESCH, SCHMIDT [04] u. a.) sind, so kommt dieselbe prospektive Potenz den Mesenchymzellen zu, welche bei den Comatuliden nach der Gastrulation produziert werden. Es ist unmöglich, die Zahl dieser Elemente, welche also ihrer prospektiven Potenz nach den primären Mesenchymzellen der Echiniden gleichwertig wären, genau zu bestimmen. Sie beträgt jedenfalls mehrere Hundert.

Es ist notwendig, sich über diese Verhältnisse genau Rechenschaft zu geben, wenn man die Zahl der Mesenchymzellen bei Bastarden kritisch erörtert. Die Zahl der primären Mesenchymzellen ist, wie DRIESCH zuerst festgestellt und wie BOVERI (03) und SCHMIDT (04) bestätigt haben, bei den einzelnen Seeigelarten verschieden, ist aber bei einer und derselben Art ziemlich konstant. Abweichungen wurden allerdings sowohl von DRIESCH als auch von BOVERI beobachtet;

nimmt man aber die Eier von demselben Weibchen, so sind die Unterschiede in der Zahl der Mesenchymelemente nur ganz unbedeutend. Es wurde von DRIESCH (98) zuerst angegeben, daß bei den Bastardenkulturen, in welchen man zwei Arten derselben Familie gekreuzt hat, »die Zahl der primären Mesenchymzellen der Bastardlarven von Echiniden ein Merkmal ist, das nur von der verwendeten Eiart abhängt, gleichgültig mit welcher Art Sperma sie befruchtet ist. Damit ist auch eben diese Mesenchymzellanzahl mit hoher Wahrscheinlichkeit als vom Protoplasma abhängig nachgewiesen«. Diese von DRIESCH angegebene Tatsache wurde von BOVERI (03) nachuntersucht. BOVERI hat für die reinen Echinidenkulturen dieselbe Zahl der primären Mesenchymzellen, welche von DRIESCH angegeben wurde, gefunden, bei den Kreuzungskulturen ist er auf Grund von Zählungen zu dem Schluß gekommen, daß die Zahl der Mesenchymzellen Mittelstellung zwischen den Zahlen einnimmt, welche für die zur Bastardzucht verwendeten Species charakteristisch sind. Er kommt also zu dem Schluß, »daß das Spermatozoon auf die Zahl der primären Mesenchymzellen unzweifelhaft einen wesentlichen Einfluß ausüben kann«.

DRIESCH (03) hat eine Nachprüfung seiner früheren Resultate vorgenommen und bei den Bastardlarven wieder die Zahlen gefunden, welche »genau mit den entsprechenden Reinkulturen harmonieren«. Da BOVERI (03, 05) in seinen zwei nächsten Arbeiten seine früheren Angaben aufrecht erhält, hebt DRIESCH (05) in seiner soeben erschienenen Publikation hervor, daß mit beiden Angaben, obschon sie sich widersprechen, gerechnet werden muß.

Die Sache ist also bisher nicht definitiv entschieden. Es scheint mir, daß die Schwierigkeit der definitiven Entscheidung dieser Kontroverse teilweise auch in dem Material ihren Grund hat. Die zur Bastardierung verwendeten Arten unterscheiden sich zwar bezüglich der Zahl der mesenchymatischen Elemente, die Differenzen sind aber ziemlich klein, die individuellen Schwankungen dagegen oft beträchtlich. Bei der Kreuzung zwischen *Echinus* und *Antedon* steht die Sache anders, da die Differenzen, wie aus obigen Auseinandersetzungen hervorgeht, bedeutend sind.

*Echinus* hat bekanntlich 50—60 Mesenchymzellen, *Antedon* 0 (vorausgesetzt, daß die Zeit und der Ort des Auswanderns der Zellen als Kriterium der Beurteilung genommen wird), oder mehrere Hunderte, wenn man, wie oben angeführt, die prospektive Potenz der Zellen berücksichtigt.

Diese Verhältnisse stellen sich bei den Bastarden  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$  einerseits, der reinen *Echinus*-Kultur anderseits folgendermaßen dar <sup>1)</sup>:

Versuch angesetzt am 10. IV. 05.

$\frac{\textit{Echinus} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	51, 54, 50, 55, 57, 52, 49, 52, 56, 62	Mittelzahl 53,
$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	57, 54, 78, 50, 53, 71, 50, 51	Mittelzahl 58.

Versuch vom 3. IV. 05.

$\frac{\textit{Echinus} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	51, 55, 54, 49, 49, 56, 63, 54, 60, 53, 52, 51	Mittelzahl 54,
$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	62, 68, 53, 50, 51, 59, 55, 60, 60, 61, 70, 72, 62	Mittelzahl 60.

Versuch vom 4. IV. 05.

$\frac{\textit{Echinus} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	61, 55, 54, 57, 55, 52, 53, 55	Mittelzahl 55,
$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$	57, 79, 65, 60, 59, 68	Mittelzahl 64.

Aus den oben angeführten Zahlen ist ersichtlich, daß bei den Bastardblastulen nur eine geringe Erhöhung der Zahl der primären Mesenchymzellen zu sehen ist, welche dem Einfluß des Spermatozoons nicht entsprechen kann.

Die reine Kultur von *Antedon* hat, wie früher hervorgehoben, entweder kein primäres Mesenchym (1. Auffassung), oder mehrere Hunderte Zellen (2. Auffassung). Man könnte demgemäß bei den Bastarden entweder die Herabsetzung der Zahl der Mesenchymzellen auf die Hälfte oder eine sehr beträchtliche Erhöhung erwarten. Bei der Mehrzahl der Embryonen ist aber die Zahl der Mesenchymzellen derjenigen der reinen Kultur fast gleich. Eine geringe Erhöhung der Mesenchymzellenzahl bei den Bastarden glaube ich auf einen andern Umstand zurückführen zu müssen. In der heterogenen Kultur geht ein großer Teil der Embryonen während der Entwicklung zugrunde. Der Beginn des krankhaften Zustandes in der Periode der Mesenchymbildung äußert sich oft durch Anwesenheit zerfallender zelliger Elemente. Trotzdem daß ich auf gesundes Aussehen der Objekte geachtet habe, konnte beim Mangel von andern Degenera-

<sup>1)</sup> Zur Herstellung der reinen Zucht waren die *Echinus*-Eier von demselben Weibchen verwendet worden.



tionssymptomen hier und da ein Individuum zu der Zählung verwendet worden sein, bei welchem schon diese erste Degenerationserscheinung hervortrat. In Anbetracht dieses, daß sonst bei meinen Zählungen bei der Mehrzahl der geprüften Objekte die Zahl der Mesenchymzellen mit derjenigen der reinen Kultur harmoniert, glaube ich schließen zu dürfen, daß bei der Bastardierung in der Kombination  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ , bezüglich der primären Mesenchymelemente sich der Einfluß des männlichen Individuums nicht geltend macht.

Die Anordnung des primären Mesenchymgewebes ist bei der reinen *Echinus*-Kultur ganz typisch. Zuerst wurde sie von DRIESCH (96), nachher von SCHMIDT genau geschildert, und ich kann mich darauf beschränken auf diese Schilderung hinzuweisen. Meine Beobachtungen haben bei den heterogenen Mischlingen in jenen Fällen, in welchen man sicher mit einem gesunden Objekte zu tun gehabt hat, die typische ringförmige Anordnung mit zwei lateralen größeren Gruppen der Mesenchymzellen ergeben. In jenen Objekten aber, welche sich nicht weiter entwickelt und keine Skeletanlage gebildet haben, obschon sie öfters ziemlich lange noch am Leben blieben, war die ringförmige Anordnung zwar auch nachzuweisen, die Zellen lagen aber nicht so regelmäßig gruppiert, es waren auch keine lateralen Mesenchymzellengruppen wahrzunehmen. Diese zwei Arten der Mesenchymgruppierung zeigen die unter der Kamera abgezeichneten Skizzen (Fig. 12 und 13).

Aus allen diesen Erörterungen bezüglich der Mesenchymzellen geht also hervor: daß die Mesenchymzellen sich bei den Bastarden  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$  auf dieselbe Weise bilden, in derselben Zahl hervortreten und auf dieselbe Weise gruppieren können, wie es in der reinen Kultur  $\frac{\textit{Echinus} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$  in der Regel geschieht. Da nur ein Teil der Embryonen sich weiter entwickelt, so läßt sich vermuten, daß dies eben diese Embryonen sind, bei welchen für *Echinus* charakteristische Mesenchymmerkmale in voller Klarheit hervortreten. Leider war es mir nicht mehr möglich, durch genaue Beobachtung nach beiden Richtungen hin (Zahl, Gruppierung der Zellen) die Richtigkeit dieser Vermutung zu prüfen. Zu diesem Zwecke sollte man die Embryonen, bei welchen die Mesenchymzellenzahl bestimmt und die Anordnung derselben festgestellt wurde, isolieren und weiter züchten. Bekanntlich ist aber die genaue Zählung bei lebenden

Objekten kaum durchzuführen; was aber die Gruppierung dieser Elemente betrifft, so ist dieselbe in vivo leicht zu konstatieren, und ich kann auf Grund der Beobachtung wirklich feststellen, daß nur die Objekte mit charakteristischer Gruppierung der Mesenchymzellen sich weiter entwickeln und eine Skeletanlage ausgebildet haben.

#### 4. Das Gastrulastadium

habe ich bei allen meinen heterogenen Kombinationen beobachtet.

Sowohl bei  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Sphaerechinus} \text{ ♀}}$ , als auch bei  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$ ,

$\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$  verläuft die Invagination wie bei der reinen Kultur der erwähnten Echinidenarten. Die von SCHMIDT beschriebene charakteristische Darmwindung nach der Vorderwand der Larve habe ich nie bei den  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Bastarden vermißt.

Das sekundäre Mesenchym begann sich nach vollendeter Gastrulation in typischer Weise zu bilden.

#### 5. Die Skelettbildung

sah ich, wie oben schon hervorgehoben wurde, nie bei der Kreuzung zwischen *Antedon* ♂ und *Sphaerechinus* ♀, trotzdem daß das primäre und sekundäre Mesenchym sich normal entwickelt hat. Am vierten oder fünften Tage schwammen in der reinen Kontrollkultur die Plutei herum, die Bastarde waren im Gastrulastadium ohne Skeletanlage. Die aus der Kreuzung zwischen *Antedon* ♂ und *Strongylocentrotus* ♀ stammenden Bastarde ergaben die Skeletanlage in ziemlich reichlicher Menge, obschon eine Hemmung in der Selbstbildung in dieser Kombination sehr oft vorkam. Hatte sich das Skelet gebildet, so trat die erste Anlage immer in der Form des Dreistrahlers auf, wie sie eben für die Echinidenfamilie charakteristisch ist. Ich habe allerdings selten auch definitiv ausgebildete Plutei der Bastardkultur gewonnen. Ein Blick auf Fig. 14 (reine *Strongylocentrotus*-Kultur) und Fig. 15 (Bastardkultur) genügt, um sich über die Entwicklung nach dem rein mütterlichen Typus klar zu werden. Von väterlichen Merkmalen ist in der Struktur dieses Pluteus absolut nichts zu finden. Die dornartigen Fortsätze an den Skeletstäben sind als fluktuierende Varietäten zu betrachten, wie sie auch in der reinen Kultur gewöhnlich vorkommen. STEINBRÜCK hat zahlreiche solche Abweichungen auf seinen Fig. 4—14 abgebildet.

Die dritte Kombination: die Kreuzung zwischen *Antedon* ♂ und *Echinus* ♀ ergab dieselben Resultate. Die Skeletanlage tritt gleichfalls in Dreistrahlerform auf (Fig. 12). Die weitere Entwicklung zeigt ebenfalls den rein mütterlichen Typus. Fig. 16, 17 und 18 stellen die Bilder der Plutei der reinen (Fig. 16) und der Kreuzungskultur (Fig. 17, 18) dar. Wir ersehen, daß hier überhaupt kaum ein Unterschied zu finden ist.

Hier und da trifft man in der Ausbildung der Bastardlarven Abweichungen von dem normalen mütterlichen Entwicklungstypus. Trotz des sorgfältigsten Durchmusterens der zahlreichen Kreuzungskulturen, ist es mir jedoch nie gelungen ein Objekt zu finden, an welchem diese Abweichungen als ein Umschlag zum väterlichen Typus gedeutet werden konnten. Eine Art der Abweichung verdient meiner Ansicht nach spezielle Berücksichtigung, da sie besonders oft vorkommt, nämlich die Hemmung in der Skeletbildung. Es ist charakteristisch, daß auch LOEB bei seinen Experimenten die Verkümmerng der Skeletanlage beobachtete. In seinen Experimenten werden die Echinideneier mit *Asterias*-Samen befruchtet. Da die Embryonen der reinen *Asterias*-Kultur kein Skelet besitzen, konnte das Feststellen der Skeletverkümmerng sehr leicht irreleiten, da es sehr nahe liegt, die Verkümmerng des Skeletes auf den Vererbungseinfluß des Spermatozoons zurückzuführen. LOEB ließ aber die Frage offen, »ob diese Verzögerung resp. Unvollständigkeit der Skeletbildung darauf beruht, daß das Seesternspermatozoon Stoffe in das Ei trägt, welche die Skeletbildung erschweren, oder ob es sich nur darum handelt, daß die Entwicklung im Ganzen verzögert ist«.

Das Skelet der Larven der von mir zur Bastardierung verwendeten Echinidenarten unterscheidet sich wesentlich von demselben der Crinoidenfamilie. Wie JOH. MÜLLER<sup>1)</sup> angibt, »ist die Echinidenlarve immer leicht an ihrem hohen pyramidalen Scheitel, an den keulenförmigen, oft gekreuzten Enden der Kalkstäbe im Scheitel und an dem Mangel des Gitterwerkes der Kalkstäbe erkennbar«. Das Crinoidenlarvenskelet hat die Gestalt der gegitterten Platten und ist bedeutend stärker entwickelt. Sollte sich also der Einfluß des Spermatozoons bei den heterogenen Bastarden in der Weise geltend machen, daß es die betreffenden väterlichen Charaktere übertrage, so sollte man hier keineswegs die Verkümmerng des Skelets erwarten. Da wir aber bei den Bastarden entweder die typischen mütterlichen

<sup>1)</sup> Zitiert nach STEINBRÜCK 1902, S. 2—3.

Charaktere konstatieren konnten, oder aber die sehr beträchtliche Verzögerung in der Skelettbildung, bzw. nur die ersten Skeletanlagen, so glaube ich zu dem Schluß berechtigt zu sein, daß das Spermatozoon keinen formativen Einfluß auf den Prozeß der Skelettbildung bei den heterogenen Bastarden ausübt.

Die Umschau in der bisherigen Literatur<sup>1)</sup> über Bastardierungsvorgänge bei Echinodermen belehrt, daß nach Angabe der Autoren die Bastarde bezüglich der morphologischen Gestalt die morphologischen Charaktere beider Eltern gemischt aufweisen. Von Angaben, welche mit meinen Ergebnissen in gewissem Einklang stehen und eine gewisse Analogie bilden konnten, lassen sich nur wenige anführen.

DRIESCH hat mehrere Bastardversuche mit den in Neapel zugänglichen Echinidenarten angestellt und gefunden, daß in zahlreichen Merkmalen der rein mütterliche Entwicklungstypus zu sehen ist; was aber die Skelettbildung betrifft, so treten hier zuerst die Charaktere der väterlichen Species mit auf, indem sich dieselbe als eine Mischung je nach der Kombination mehr zum Vater oder mehr nach der Mutter hinneigend darstellt.

Die Beobachtungen von SEELIGER und seinem Schüler STEINBRÜCK haben darauf hingewiesen, daß »die verschiedenen Individuen derselben Zuchten zum Teil ganz den väterlichen oder mütterlichen Larven ähnlich sind, zum Teil alle möglichen Übergangsglieder zwischen jenen Extremen und also auch ‚reine Mittelformen‘ darstellen können«<sup>2)</sup>.

Von großer Wichtigkeit sind für die Beurteilung meiner Befunde die Ergebnisse, zu welchen H. M. VERNON gelangt ist. Dieser Forscher hat zahlreiche Bastardierungsversuche zwischen verschiedenen Echinidenarten angestellt. Er hat bei einem großen Teil der daraus herstammenden Bastarde einige Mittelformen mit Präponderanz der Charaktere des einen der Eltern beobachtet. Bei der Bastardierungskombination aber, an welcher die *Strongylocentrotus*-Eier teilnahmen, hat VERNON die rein mütterliche Struktur bei den Bastarden

<sup>1)</sup> Vgl. die sehr übersichtliche Zusammenstellung der diesbezüglichen bisherigen Ergebnisse in PRZIBRAMS: »Experimentelle Biologie der Seeigel«. BRONNS Klassen u. Ordnungen des Tierreichs. 1902.

<sup>2)</sup> An anderer Stelle schreibt SEELIGER in dieser Beziehung: »Aus diesen Befunden ergibt sich, daß die einfachere Skeletform der Larven der väterlichen Art bei den Bastardlarven (*Echinus*, *Sphaerechinus*) in typischer Reinheit sehr häufig auftritt, daß dagegen niemals das weit kompliziertere Gerüstwerk der älteren mütterlichen Larven in allen seinen Teilen zur Entwicklung gelangt.«

nachgewiesen. Die Bastarde, welche der Kreuzung zwischen *Strongylocentrotus* ♀ und *Sphaerechinus* ♂ ihre Entstehung verdanken: »it was found, that in majority of cases they showed no trace of their mixed ancestry. They were of the pure *Strongylocentrotus* or maternal type« <sup>1)</sup>. Aber schon bei der Kombination *Strongylocentrotus* ♀ - *Echinus* ♂ hat VERNON den Einfluß des Spermatozoons sehen können, obschon: »In structure the hybrids were, as a rule, distinctly inclined to the maternal or *Strongylocentrotus* type.« Die von VERNON angegebene Tatsache, daß die Bastarde *Sphaerechinus* ♂ und *Strongylocentrotus* ♀ immer den rein mütterlichen Typus zeigen, ist in der ganzen Literatur über die Bastarde der Seeigel ganz vereinzelt. Alle andern Autoren (SEELIGER, STEINBRÜCK, MORGAN) haben den reinen Typus eines der Eltern zwar öfters beobachtet, aber in derselben Kultur gleichzeitig auch andre Individuen von Mischcharakteren gefunden. So drückt dies z. B. SEELIGER ganz deutlich aus, indem er angibt: »daß die verschiedenen Individuen derselben Zuchten zum Teil ganz den väterlichen oder mütterlichen Larven ähnlich sind, zum Teil alle möglichen Übergangsglieder zwischen jenen Extremen und also auch reine ‚Mittelformen‘ darstellen können.« Anders ist es mit der von VERNON festgestellten Erscheinung. Hier sollen die gesamten Bastardembryonen, welche das Pluteusstadium erreicht haben, die rein mütterlichen Charaktere zur Schau tragen.

Auf dem botanischen Gebiete sind für mich die Resultate, zu welchen MILLIARDET (94) gelangt ist, von großer Wichtigkeit. Die Kreuzungen, welche mit wildwachsenden Arten und kultivierten Sorten von Erdbeeren ausgeführt wurden, haben fast ausnahmslos Bastarde vom mütterlichen Typus ergeben.

Diesen Beobachtungen können meiner Ansicht nach auch die Resultate meiner Bastardierungsversuche angeschlossen werden. In meinen Kreuzungen ging namentlich immer die ganze Entwicklung bei allen Embryonen, welche nicht abgestorben sind, und bei allen Kreuzungskombinationen vollkommen nach dem mütterlichen Typus.

In Anbetracht dessen, daß 1) durch das Vorhandensein der Dotterhaut, 2) durch die parallelgeführten Kontrollversuche, 3) durch die histologischen Präparate der Copulation der Vorkerne — der Einwand der künstlichen Parthenogenese ausgeschlossen ist, könnte man vielleicht noch vorwerfen, daß die männliche durch das *Antedon-*

<sup>1)</sup> Philosoph. Trans. Vol. 190 B. p. 475.

Spermatozoon hineingeführte Chromatinsubstanz, welche bekanntlich als Vererbungsträger aufgefaßt wird, im Laufe der Entwicklung einer Degeneration anheimgefallen ist. — In den ersten Entwicklungsstadien (während der Furchung) habe ich die Chromosomenzahl durch direkte Zählung bestimmt (vgl. S. 605), und daraus geht es zur Genüge hervor, daß während der Furchung das Chromatin von *Antedon* noch vorhanden ist. Man könnte aber weiter einwenden, daß vielleicht in der späteren Entwicklung eine Degeneration der männlichen Chromosomen eintritt. Die Zahl der Chromosomen in vorgeschrittenen Stadien zu bestimmen, war ich nicht imstande. Ich glaube sogar kaum, daß bei so kleinen Elementen, wie Zellen der Echinidenembryonen in späteren Stadien es sind, eine genaue Zählung der Chromosomen überhaupt möglich wäre<sup>1)</sup>.

Als meine Arbeit noch im Gange war, ist die grundlegende und für mich sehr wichtige Arbeit von TH. BOVERI (05) erschienen. Auf Grund von genau analysierten Experimenten und auf Grund von Abbildungen seiner Präparate hat BOVERI nachgewiesen, daß zwischen der Chromosomenzahl und der Oberflächengröße der Kerne ein konstantes Verhältnis besteht. »Es sind also die Oberflächen der Kerne ihrer Chromosomenzahl und damit auch der in ihnen enthaltenen Chromatinmenge direkt proportional.«

BOVERI (05) hat weiter festgestellt, daß die Zahl der Zellenelemente des embryonalen Körpers von der Protoplasamenge und Chromatinguantität abhängig ist<sup>2)</sup>. Unter der Voraussetzung gleicher Protoplasamenge der Ausgangszelle des Embryo ist »die Zahl der Larvenzellen der in ihnen enthaltenen Chromatinmenge (Chromosomenzahl) umgekehrt proportional«.

Diese zwei Gesetze sind für die Beurteilung der Chromatinmenge

---

<sup>1)</sup> Bisher liegt in dieser Beziehung nur die einzige Angabe von DELAGE vor, welcher in späteren Entwicklungsstadien von *Strongylocentrotus* die Chromosomenzahl bestimmte. BOVERI (02) und PETRUNKEWITSCH (04) haben aber diese Bestimmung mit den von DELAGE angegebenen Deutungen nicht im Einklang gefunden.

<sup>2)</sup> Durch die Erörterungen des Einflusses der Protoplasamenge auf die Zellenzahl ist BOVERI bezüglich eines »Zellteilung bewirkenden Momentes« zu dem Schluß gelangt, daß (S. 56) »das Mißverhältnis zwischen Kern und Protoplasamenge« als solches anzufassen ist. Dieser Schluß bildet die Bestätigung des von R. HERTWIG schon früher (03) ausgesprochenen Gedankens, (S. 16) »daß jede Zellteilung eine Kernplasmastraffung voraussetzt, d. h. ein Mißverhältnis zwischen Kernmasse und Plasmamasse zugunsten der letzteren, ein Mißverhältnis, welches bei der Teilung ausgeglichen wird . . .«. Die Arbeit von R. HERTWIG mußte BOVERI offenbar übersehen haben.

bei den Bastarden in Anbetracht der Unmöglichkeit der genauen Chromosomenbestimmung von prinzipieller Wichtigkeit. Würde das *Antedon*-Chromatin im *Echinus*-Ei einer Degeneration anheimgefallen

Fig. A.

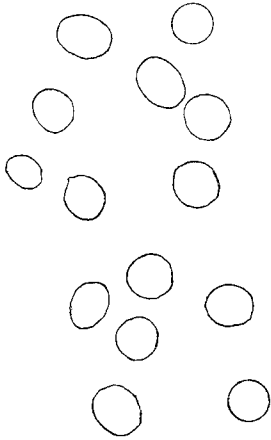


Fig. B.

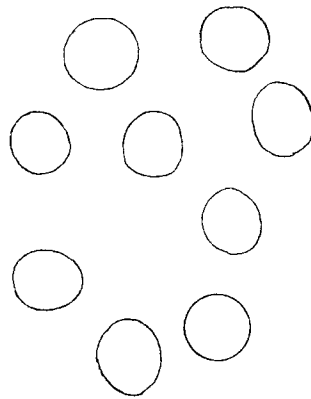
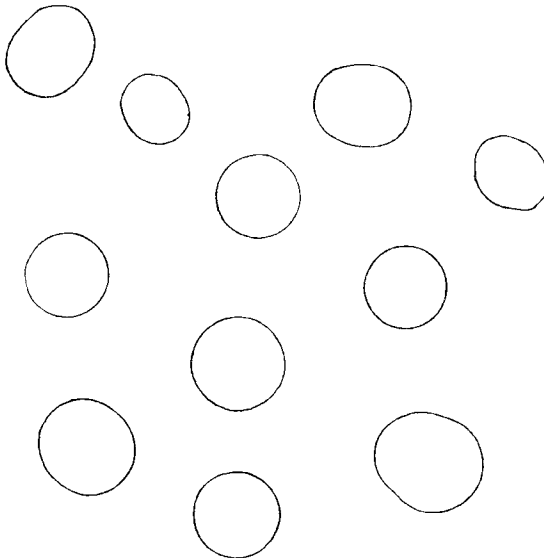


Fig. C.



sein, so würden dadurch diese mit *Antedon*-Sperma befruchteten Eier zu hemicaryotischen<sup>1)</sup> (thelycaryotischen) Embryonen. Den beiden

---

<sup>1)</sup> Ich bediene mich der Nomenklatur, welche von BOVERI (05) eingeführt wurde.

von BOVERI entdeckten oben zitierten Gesetzen zufolge müßten die hemicaryotischen Embryonen (in unserm Falle wären es die Bastardembryonen) um die Hälfte kleinere aber zahlreichere Kerne besitzen, als die amphicaryotischen (in unserm Falle die Embryonen der reinen Kultur). Schon ein flüchtiger Blick auf die Fig. A, welche die Kerngröße der Gastrulae der reinen *Echinus*-Kultur darstellt, und Fig. B, auf welcher die Kerngröße der Bastardgastrulae unter derselben Vergrößerung abgezeichnet ist, lehrt, daß die Bastardlarve sogar etwas größere (nicht um die Hälfte kleinere!) Kerne besitzt, als die der reinen Kultur. Da ich die Richtigkeit der BOVERISCHEN Gesetze nicht bezweifle, muß ich aus diesen Beobachtungen den Schluß ziehen, daß bei den Bastarden in wenigen Versuchen im Gastrulastadium das von *Antedon* hineingeführte Chromatin noch vorhanden ist. Dasselbe habe ich für die Larven festgestellt — die *Echinus* ♀-*Antedon* ♂-Bastardlarven haben etwas größere, aber minder zahlreiche Kerne, als die der reinen Kultur.

Aus den BOVERISCHEN Gesetzen ergibt sich mit unabweisbarer Notwendigkeit noch ein anderer Schluß: da die Kerne der Bastardlarven eine etwas größere Oberfläche zeigen, als die der reinen Kultur, und der weibliche Ausgangskern bei beiden Kulturen der gleiche war, so muß der Unterschied in der Größe der Kerne der Bastardlarven auf der Teilnahme des männlichen Kerns an der Bildung der Kerne des Bastardorganismus zurückgeführt werden, vorausgesetzt, daß der *Antedon*-Kern größer ist, als der von *Echinus*. Daß dies wirklich der Fall ist, beweist die direkte Beobachtung. Fig. A stellt die Oberflächengröße der reinen *Echinus*-Kultur, Fig. C die Oberflächengröße der reinen *Antedon*-Kultur dar. Der schlagende Unterschied fällt auf den ersten Blick auf. Da die reine *Echinus*-Kultur kleine, die *Antedon*-Kultur große Kerne besitzt, so ist im Sinne der BOVERISCHEN Regel leicht verständlich, warum die Kerngröße der Hybriden (B) die Mittelstellung einnimmt. — Aus allen diesen Auseinandersetzungen geht zur Genüge hervor, daß das Chromatin von *Antedon* an der Bildung der embryonalen Kerne teilnimmt, daß trotzdem aber die *Antedon*-Charaktere auf den Bastarden dieser Generation nicht wahrnehmbar werden.

---

In der biologischen Literatur der letzten Jahre wird in bezug auf die Bastardierungs- und Vererbungslehre eine prinzipielle Bedeutung den MENDELSCHEN Gesetzen zugeschrieben. Wenn die zur



Kreuzung verwendeten Tiere sich durch ein Merkmal unterscheiden, so sollen die daraus herstammenden Bastarde (Monohybriden nach DE VRIES) dem MENDELSchen Gesetz zufolge den reinen väterlichen oder den reinen mütterlichen Charakter aufweisen. Das Merkmal, welches schon in der ersten Generation sichtbar ist — wird von MENDEL als dominierendes, das andre, welches latent bleibt, als recessives bezeichnet. Kreuzt man die Hybriden dieser Generation miteinander, so tritt bei den Nachkommen nebst dem dominierenden Merkmal auch das recessive in seiner vollen Eigentümlichkeit wieder auf und zwar in dem entschieden ausgesprochenen Durchschnittsverhältnis 3 : 1, so daß unter je vier Bastarden dieser Generation drei den dominierenden und einer den recessiven Charakter erhalten. Die umfangreiche Literatur auf zoologischem und botanischem Gebiete hat sehr wichtiges Beobachtungsmaterial geliefert, welches die MENDELsche Regel bestätigt.

Es drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ob nicht in dem von mir beschriebenen Falle die Entstehung der rein mütterlichen, also einscitigen Bastarde vielleicht nur als Ausdruck der MENDELschen Regeln zu betrachten ist. Bei solcher Deutung der Ergebnisse müßte man alle mütterlichen Merkmale, welche die Bastarde dieser Generation kennzeichnen, als Komplex der dominierenden Merkmale betrachten. Die gesamten väterlichen Charaktere müßten als Komplex der recessiven Merkmale aufgefaßt werden. Ob das wirklich der Fall ist, konnte man erst auf Grund der Beobachtungen der Individuen der nächsten Generation positiv entscheiden. Bei den jetzigen Züchtungsmethoden indessen, vermittels deren es bisher niemandem gelungen ist, einen Echiniden, auch wenn er aus reiner Kultur herstammte, bis zum geschlechtsreifen Tiere zu züchten — kann man nicht erwarten, daß die heterogenen Bastarde dieses Entwicklungsstadium erreichen, es besteht also fast keine Aussicht, daß das Problem experimentell in nächster Zukunft wird gelöst werden können. Das MENDELsche Gesetz, wie wichtig es auch für gewisse Merkmale ist, kann keinen Anspruch auf die allgemeine Gültigkeit beanspruchen. Die gründlichen Untersuchungen von DE VRIES (03) auf dem botanischen Gebiete, die von DAVENPORT (04) auf dem zoologischen Material erzielten Resultate haben schon große Einschränkungen in der Tragweite dieses Gesetzes ergeben. In solchen Fällen, wo die Eltern sich durch mehrere Merkmale unterscheiden (wo wir also gemäß der Terminologie von DE VRIES mit Polyhybriden zu tun haben), sollen nach dem MENDELSchen Gesetz die Nachkommen der Hybride, in welchen

mehrere wesentlich verschiedene Merkmale vereinigt sind, die Glieder einer Kombinationsreihe vorstellen, in welchen die Entwicklungsreihen für je zwei differierende Merkmale verbunden sind.

Übersieht man die Ergebnisse der Bastardierungsversuche bei den Echiniden, so fällt es sofort auf, daß die Polyhybriden (DE VRIES) dieser Kreuzungen den MENDELSchen Regeln nicht folgen. Es treten bei ihnen nur selten die sämtlichen mütterlichen Charaktere als dominierend bei den Bastarden hervor, es kommen vielmehr sowohl die Charaktere des Vaters als auch die der Mutter gleich in der ersten Generation sich gegenseitig beeinflussend (verstärkend oder abschwächend) zum Vorschein. Ich glaube, daß schon auf Grund der Beobachtungen anderer Autoren man vollkommen zu der Behauptung berechtigt ist, daß die MENDELSchen Regeln sich auf die Species-Charaktere dieser Tiere nicht beziehen. Die Ergebnisse der Untersuchung der heterogenen Hybride, wo es sich um Familiencharaktere handelt, auf die MENDELSchen Regeln schon jetzt zurückführen zu wollen, scheint mir um so mehr verfrüht und, wenn man a priori ein Urteil abgeben kann — unzutreffend.

### III. Teil. Befruchtung der Eifragmente von *Echinus* mit den Samenfäden von *Antedon*.

Die in den vorhergehenden Kapiteln geschilderten Resultate der Bastardierung zwischen Echinideneiern und *Antedon*-Sperma haben mir den Gedanken nahe gelegt, die Kreuzung zwischen Fragmenten von Echinideneiern und *Antedon*-Sperma vorzunehmen. Daß die Befruchtung von Eifragmenten überhaupt möglich ist, ist hinlänglich bekannt. Zuerst bei den Pflanzen wurde diese Möglichkeit von ROSTAŃSKI<sup>1)</sup> (1877) nachgewiesen, von O. und R. HERTWIG (87) wurde sie zum erstenmal bei den Echinodermen festgestellt, nachher hat solche Experimente über Befruchtung kernloser Fragmente BOVERI (89, 96) ausgeführt. Diesem Verfasser, welcher seine Experimente an isolierten Fragmenten gemacht hat, gebührt auch die Priorität des positiven Nachweises, daß nicht nur die kernhaltigen, sondern auch die kernlosen Fragmente befruchtet werden können, und daß »das Fragment des Seeigels bis herab zu einer Größe von  $\frac{1}{20}$  des ursprünglichen Eivolumens die formative Wichtigkeit des ganzen Eies besitzt«. DELAGE

---

<sup>1)</sup> O podzielności jaja. Rozpr. Akad. Umiej. u Krakowie. 1877. Diese polnisch publizierte Arbeit ist unbekannt geblieben.

(98, 99) hat nach BOVERI die durch Zerschneiden der Eier gewonnenen Fragmente befruchtet, dadurch die Resultate von BOVERI bestätigt, diese Experimente auf Anneliden und Mollusken ausgedehnt und dieser Erscheinung den Namen der Merogonie gegeben. Nachher haben mehrere Autoren (MORGAN, WINKLER, WILSON, DRIESCH, M. BOVERI, KRAHELSKA) den Prozeß der Merogonie studiert.

TH. BOVERI hat weiterhin die Möglichkeit der Befruchtung der kernlosen Fragmente noch dazu verwendet, um der Frage nach den Vererbungsträgern näher zu treten. Bekanntlich hat dieser Forscher durch Schütteln im Reagenzglas die *Sphaerechinus*-Eier fragmentiert und die geschüttelte Flüssigkeit mit *Echinus*-Sperma besamt. In solchen Kulturen traten neben größeren und kleineren Bastardformen Zwerglarven auf, welche die sämtlichen väterlichen (*Echinus*) Charaktere — bis auf die Größe — zur Schau tragen. Diese Zwerglarven hat BOVERI von den bastardierte kernlosen (arrheno-caryotischen) *Sphaerechinus*-Eifragmenten abgeleitet, wobei er sich hauptsächlich auf die Tatsache stützte, daß diese Larven kleinere Kerne besaßen, als die übrigen Larven derselben Zucht<sup>1)</sup>. Von der Tatsache ausgehend, daß alle Individuen der Bastardkultur eine Mittelform zwischen den elterlichen Formen darstellen und daß nur an den arrheno-caryotischen rein väterliche Charaktere zur Ausprägung gelangt sind, glaubte BOVERI seinen Versuchen die Beweiskraft zuschreiben zu dürfen, daß »nur die Kernsubstanz elterliche Eigenschaften auf das Kind überträgt«.

Die Beweiskraft der BOVERISCHEN Experimente sowohl als auch die Analyse der Ergebnisse und ihre Deutung wurde von mehreren Autoren in Zweifel gezogen. SEELIGER (95, 96) hat bewiesen, daß die Bastardkultur nicht immer eine Mittelform zwischen beiden elterlichen Formen darstellt, daß z. B. die Skeletstruktur der väterlichen Art bei den Bastardlarven in typischer Reinheit sehr häufig auftritt. Dasselbe hat auch MORGAN (95) in seinen Experimenten festgestellt: »In the most successful experiments I have found from ten to twenty percent of the crossed larvae with the pure *Echinus* type of Skeleton.«

Schon aus diesen Literaturangaben geht hervor, daß die zur Kreuzung verwendeten Arten sich nicht besonders gut zu solchen Experimenten geeignet haben.

Noch ein Umstand ist aber hier hervorzuheben: um die Behauptung von BOVERI über die Rolle des Kerns im Vererbungsprozeß

<sup>1)</sup> Dieser Anhaltspunkt gewinnt an Beweiskraft nach den Ergebnissen der letzten BOVERISCHEN Arbeit (Zellenstudien V).

aufrecht zu erhalten, müßte man noch den Beweis erbringen, daß alle kernlosen bastardierte Fragmente stets ausschließlich väterliche Charaktere aufweisen. Ein solcher Beweis wurde bisher nicht geliefert und das wäre nur entscheidend: es liegt auf der Hand, daß ein einziger Fall, in welchem ein aus solcher Kultur hervorgegangener Embryo rein mütterliche Charaktere zeigt, oder eine Mittelstellung zwischen beiden Eltern einnimmt, aufs deutlichste beweisen würde, daß dem Protoplasma, oder wenigstens, daß auch dem Protoplasma eine Rolle beim Vererbungsmechanismus zukommt.

BOVERI hat in seiner Arbeit darauf hingewiesen, »daß die Entscheidung über diesen Punkt nur bei Bastardierung zwischen zwei scharf unterschiedenen Seeigelarten möglich ist und zwar kommt es darauf an, daß die Larven der beiden Species sich in erheblicher Weise voneinander unterscheiden«. Nachdem von LOEB die Möglichkeit der heterogenen Kreuzung entdeckt wurde und mir die Züchtung von heterogenen Bastardlarven gelungen ist, habe ich Versuche behufs Bastardierung von Eifragmenten mit *Antedon*-Sperma angestellt. Ich habe als Material die *Echinus*-Eier gewählt. Dies geschah aus zwei Rücksichten: Die *Sphaerechinus*-Eier sterben nach der Bastardierung, auch wenn sie nicht fragmentiert wurden, gewöhnlich im Blastulastadium ab, die Eier von *Strongylocentrotus* lassen sich nur in ganz kleinem Prozentsatz mit *Antedon*-Sperma befruchten. Das günstigste Material zu Bastardierungsversuchen auch ganzer Eier bildeten die *Echinus*-Eier. Dazu kommt noch ein zweiter Umstand, nämlich die Durchsichtigkeit des Eiprotoplasmas der *Echinus*-Eier. Es kommt sehr darauf an, möglichst volle Garantie zu haben, daß man den Kern nicht übersehen hat, wenn man mit kernlosen Fragmenten arbeiten will. BOVERI<sup>1)</sup> schreibt in dieser Beziehung: »Wer lebende *Echinus*-Eier kennt und die Unmöglichkeit, in einem solchen Ei den Kern zu übersehen, der wird zugeben, daß hier vollständig einwurfsfreie Versuchsbedingungen vorliegen.« Ich muß aber hinzufügen, daß man auch auf die Individualität des Weibchens, von welchem die Eier herkommen, achten muß. Es kommen namentlich Weibchen mit gelblichen Gonaden vor, deren Eier durch ein minder durchsichtiges Protoplasma sich auszeichnen. Solche Eier habe ich zu meinen Versuchen als Material nie gebraucht. Die Fragmentation der Eier geschah entweder nach der HERTWIGSchen (87) Methode durch Schütteln, oder durch Zerschneiden des Eierhaufens, welcher mit einer kleinen

<sup>1)</sup> Archiv f. Entw.-Mech. Bd. II. S. 399.

Wassermenge auf einen Paraffinblock vorher gebracht wurde, mit einem scharfen Skalpell, sodann in ein großes Glas mit reinem Seewasser gebracht, und nachdem sich die Eier und Eifragmente zu Boden gesetzt hatten und das Paraffin sich auf der Wasseroberfläche gesammelt hatte, wurde das Wasser mit dem Paraffin abgegossen, dann noch einige Male gewechselt, bis es vollkommen klar blieb. Zur ersten Isolation habe ich mich der binoculären Lupe bedient. Die herausgefischten Fragmente wurden nachher einzeln unter dem ZEISSschen Mikroskop aufs genaueste auf das Vorhandensein des Kerns geprüft und in ein Kulturglas mit Seewasser herübergebracht. Sobald ich mehrere kernlose<sup>1)</sup> Fragmente im Kulturglas beisammen hatte, wurde das gewöhnliche Seewasser durch alkalisches *Antedon*-Spermahaltiges Seewasser ersetzt. Nachher wurde dieses Wasser wieder abgegossen und mit dem Wasser von zunehmender OH-Ionenkonzentration ersetzt (vgl. S. 444). Den Erfahrungen der Autoren, welche über Merogonie gearbeitet haben, zufolge, bieten die größeren Fragmente der Eier bessere Entwicklungschancen dar. Die oft fast centrale Lage des Kerns verhinderte aber gewöhnlich, größere Fragmente zu gewinnen. Herr Dr. DRIESCH war so freundlich, mir mitzuteilen, daß er bei Gelegenheit seiner Versuche bemerkt hat, daß man den Eikern durch Centrifugieren der Eier in eine randständige Lage bringen kann. Da ein solches nicht zu lange dauerndes Centrifugieren den Gang der Entwicklung nicht beeinträchtigt, habe ich mich dieser Methode bei einem Teil meiner Experimente bedient. Vor der Fragmentierung wurden die Eier etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde zentrifugiert, wodurch die Eikerne eine randständige Lage eingenommen haben, wodurch größere kernlose Fragmente gewonnen wurden. Es wurde schon von mehreren Autoren hervorgehoben, daß nur ein Teil der kernlosen Fragmente sich nach Besamung sogar in der reinen Kultur entwickelt. Dasselbe gilt, nur noch in höherem Grade, für die Kreuzung. Ein ganz kleiner Teil entwickelt sich nach der heterogenen Besamung mit *Antedon*-Sperma, aber die Entwicklung zeigte hier überhaupt nicht den üblichen Verlauf. Es lag mir sehr daran, solche Entwicklungsstadien von diesen merogonischen Bastarden zu gewinnen, an welchen die Zugehörigkeit zum väterlichen oder mütterlichen Typus zu erkennen wäre. Es wurde schon in vorigen Kapiteln darauf hingewiesen, daß die Embryonen der reinen *Antedon*- und der reinen

<sup>1)</sup> Die Isolation der Fragmente gehört bekanntlich zu einer der langwierigsten Arbeiten (PETRUNKEWITSCH ist anderer Meinung) auf unserm Gebiet: ich konnte an einem Tage kaum mehr als 20 kernlose Fragmente herausfischen.

*Echinus*-Kultur noch vor der Gastrulation sich wesentlich voneinander unterscheiden. Beim *Echinus* bildet sich das primäre Mesenchym im Blastulastadium, dagegen ist bei *Antedon* kein Mesenchym vor der Invagination zu sehen. Der Verlauf des Gastrulationsprozesses, die Anordnung des mesenchymatischen Gewebes, die Abtrennung des Darms vom Blastoporus (beim *Antedon*), das sind alles die Merkmale, an welchen sich die beiden Familien schon in frühen Entwicklungsstadien essentiell unterscheiden. Das schönste deutlichste Kriterium wäre allerdings die Skeletentwicklung.

Leider war die Sterblichkeit der merogonischen Bastarde ungeheuer groß. Sowohl während der Furchung als auch im Laufe der weiteren Entwicklung ging immer ein Teil der Bastarde zugrunde. Trotzdem, daß die Experimente mehrere Wochen lang geführt wurden, ist mir gelungen, nur vier merogonische Bastarde bis zum Gastrulastadium zu züchten. Acht Objekte haben das Blastulastadium mit Mesenchymbildung erreicht, die übrigen sind während der Furchung der Blastulabildung oder während des Prozesses der Mesenchymbildung abgestorben. Wenn die Degenerationerscheinungen schon einmal aufgetreten sind, schritten sie ganz rapid fort; oft habe ich in meinen Kulturgläschen Bastarde tot gefunden, an denen ich vor 3 oder 4 Stunden die ersten Spuren der Trübung wahrgenommen habe, oder welche ich vor der gleichen Zeit noch vollkommen gesund gesehen habe.

Es ist mir leider nicht gelungen, die Bastarde bis zu dem Stadium, auf welchem das Skelet angelegt wird, zu bringen, so daß sich meine bisherigen Erfahrungen über die Entwicklung dieser Bastarde bis zum Gastrulastadium ausdehnen. Was jetzt die morphologische

Seite der Entwicklung dieser Bastarde	<i>Antedon</i> ♂ <hr style="width: 100%;"/> <i>Echinus</i> -Eifragmente ♀
---------------------------------------	--

anbetrifft, so muß zuerst hervorgehoben werden, daß die Abhebung der Dotterhaut nach der Befruchtung der Eifragmente nicht immer stattfindet. Man trifft wirklich die Fragmente, welche ganz regelmäßig sich mit der abgehobenen Dotterhaut umhüllen, in andern Fällen aber beginnt die Furchung ohne Dotterhaut. Das ist sonst, wie ich mich überzeugt habe, keine Eigentümlichkeit der heterogenen Befruchtung der merogonischen Eier: ich habe bei der reinen merogonischen Kultur, d. i. bei der Befruchtung der Eifragmente mit dem Sperma der gleichnamigen Art dieselbe Erscheinung mehrmals gesehen. Es steht ebenfalls in keinem Zusammenhang mit dem Vorhandensein oder Nichtvorhandensein des Kerns im Eifragment. Ich

habe die Entwicklung der kernlosen und kernhaltigen Eifragmente ohne Dotterhaut beobachtet.

Die Furchung verläuft bei den merogonischen Kreuzungsbastarden in der von DRIESCH (96) charakteristisch geschilderten Weise. Die Blastomeren waren von ungleichem Volumen und unregelmäßiger Gruppierung. Ich habe auch öfters den Furchungsmodus beobachten können, welcher von MARCELLA BOVERI (03) bei der Kreuzung der kernlosen

Fig. D.

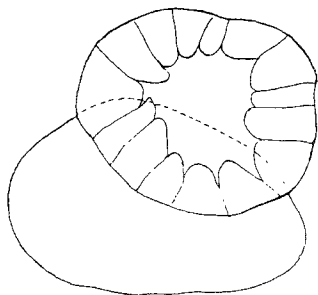


Fig. E.

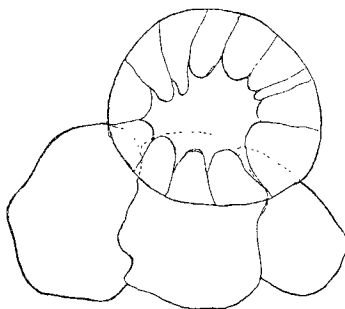


Fig. F.

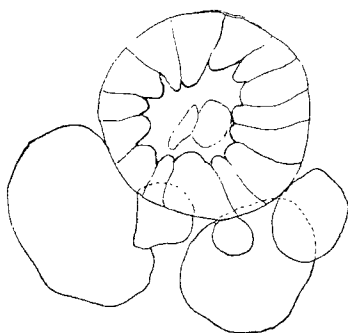
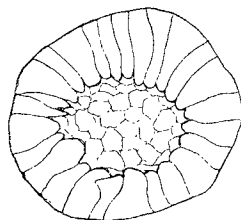


Fig. G.



*Echinus*-Eifragmente mit *Strongylocentrotus*-Sperma genau beschrieben und analysiert wurde. Ich habe nämlich an meinem Material ab und zu die Bildung von zwei Blastomeren, deren nur einer das gesamte Chromatin von *Antedon* besaß (Textfig. D), während in dem andern nur einige Furchungen der Astrosphäre durchgemacht wurden (Textfigur D—F). Fig. G stellt das Bild einer Blastula dar, welche aus einem kernlosen mit *Antedon*-Sperma befruchteten *Echinus*-Eifragment her stammt. Die ganze Blastula leitet sich von einem Blastomer ab, der

andre ist nach kurz dauernder Fragmentation (Fig. *D—F*) zerfallen. Den von M. KRAHELSKA (05) neuerlich beschriebenen Autotomieprozeß des beim Schütteln verletzten Eiteiles habe ich einige Male auf den durch Schütteln gewonnenen Fragmenten ebenfalls gesehen. Der abgetrennte Plasmateil stellte hier einen halbmondförmigen Lappen dar, welcher während der weiteren Entwicklung vollkommen abgetrennt wurde.

Endlich habe ich noch ein sehr interessantes Phänomen beim Verlauf der Furchung solcher bastardierten Fragmente gesehen, nämlich die nachträgliche Verschmelzung der vorher durch Furchung gebildeten Blastomeren. Dieser Verschmelzungsprozeß trat in den verschiedenen Furchungsstadien auf. Ich habe oft ein bastardiertes Eifragment im Zweizellenstadium isoliert und skizziert, nach einer Viertelstunde lag wieder eine ganz runde Kugel vor, an welcher keine Furche mehr wahrzunehmen war. Dasselbe geschah oft im 4, 8, 16 Zellenstadium. Ich habe weiter mehrmals Fälle beobachtet, in welchen nach einer solchen Verschmelzung wieder die Teilung begann, welche sofort die Ausbildung eines späteren Furchungsstadiums ergab. Einmal habe ich sogar den Verschmelzungsprozeß an einem Objekt zweimal nacheinander sehen können, darauf trat wiederum eine Teilung des Zelleibes ein, aus der direkt eine Blastula resultierte.

Cytologisch habe ich auf den Schnittpräparaten diesen Verschmelzungsprozeß nicht untersucht; ich bin deshalb nicht imstande zu beantworten, ob die Verschmelzung sich bloß auf das Protoplasma bezieht, oder ob hier auch die Kerne verschmelzen. Letzteres scheint mir indes aus dem Grunde unwahrscheinlich zu sein, weil bei der sodann wieder eintretenden Teilung simultan mehrere Zellen entstehen; gewöhnlich ist ihre Zahl der Elementenzahl gleich, welche an dem Verschmelzungsprozeß teilgenommen haben.

Der Verschmelzungsprozeß bei Blastomeren wurde bisher von DRIESCH bei ganzen Echinideneiern durch Temperaturveränderung hervorgerufen.

Wodurch bei den merogonischen Bastarden diese Entwicklungsabweichung bedingt ist, ob der Verlust eines Teiles der Ei- oder der Kernsubstanz, ob die mechanische Erschütterung (Fragmentation, mehrmaliges Übertragen mit der Pipette) oder andre Momente die Schuld daran tragen, vermag ich nicht zu beurteilen. Ich muß noch darauf hinweisen, daß der Prozeß der Verschmelzung der Blastomere zweimal bisher bei der künstlichen Parthenogenese beobachtet wurde. LILLIE (02) hat das bei *Chaetopterus*, PETRUNKEWITSCH (04) beim *Strongylocentrotus* beschrieben. Sowohl bei diesen beiden Autoren als auch in meinem



Fall hat man es mit hemicyotischen Embryonen zu tun. Dieser Umstand könnte vielfach auf das causale Moment dieser Erscheinung einiges Licht werfen.

So interessant diese Erscheinung auch sein mag, hat sie mich doch in der Ausführung des Planes meiner Arbeit, d. i. in der Erreichung möglichst später Entwicklungsstadien, sehr gestört. Sind die merogonischen Embryonen in der Furchungsperiode nicht abgestorben, und ist der Entwicklungsgang durch Blastomerenverschmelzung nicht zurückgegangen, so bildet sich eine normale Blastula. Auf diesem Stadium war wieder die Sterblichkeit bedeutend, gewöhnlich haben die Tiere auch längere Zeit gebraucht, bevor die Mesenchymbildung begann. Das Mesenchym hat sich aber bei den Individuen, welche das betreffende Stadium erreicht haben, vor der Invagination ins Blastocöl hinein, also nach dem mütterlichen Typus ausgebildet. Bei der reinen *Echinus*-Kultur gruppieren sich die Mesenchymzellen in späten Blastulastadien in Form eines charakteristischen Ringes. Diese typische ringförmige Anordnung der Mesenchymelemente habe ich nur bei wenigen Exemplaren, welche das betreffende Stadium erreicht haben, gesehen; es waren dies schon schwimmende, aus den Bruchstücken herstammende Blastulae. Wie oben erwähnt, haben vier merogonische Bastarde das Gastrulastadium erreicht. Der ganze Habitus dieser Embryonen entsprach genau dem mütterlichen Typus. Das Mesenchym war hier schon deutlich in zwei Gruppen angeordnet, der Urdarm hat die für *Echinus* charakteristische Wanderung nach der Vorderwand durchgemacht, überhaupt waren die Tiere bis auf die Größe von denen der reinen *Echinus*-Kultur nicht zu unterscheiden.

Leider habe ich die Tiere nicht fixiert und abgezeichnet: sie sahen so hell und so gesund aus, daß ich die Hoffnung gehegt habe, das Stadium mit der Skeletanlage zu erreichen, was meiner Ansicht nach die Frage nach der Bedeutung des Kerns in den Vererbungserscheinungen definitiv entschieden hätte. Aber die Verzögerung der Skeletbildung, auf welche ich schon in dem vorigen Kapitel hingewiesen habe, macht sich auch bei den  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Eibruchstücksbastarden geltend. Eine von den von mir beobachteten Gastrulae verblieb zwei Tage lang auf einem Stadium, in welchem bei den reinen Kulturen Skeletanlagen immer vorgefunden werden; der Embryo schwamm die ganze Zeit hindurch munter herum, ohne jedoch ein Skelet ausgebildet zu haben.

Gastrula ohne Skeletanlage war das späteste Stadium, welches ich gewonnen habe. Aus äußeren Gründen mußte ich meine Versuche abbrechen, möchte sie aber bei nächster Gelegenheit weiter fortsetzen, um möglichst späte Stadien der Entwicklung zu gewinnen.

### Zusammenfassung und Ergebnisse.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Morphologie der *Antedon* ♂  
Echiniden ♀  
Bastarde lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Der Entwicklung der Echinideneier unter dem Einfluß des Crinoidensperma liegt der echte Befruchtungsprozeß mit der Verschmelzung der Geschlechtskerne zugrunde.

2) Das Chromatin, welches durch das *Antedon*-Spermatozoon eingeführt wird, degeneriert im Laufe der Entwicklung nicht, sondern beteiligt sich an der Bildung der embryonalen Kerne.

3) Trotzdem entwickeln sich die Bastarde immer streng nach dem mütterlichen Typus. Daraus ergibt sich, daß

4) Der Einfluß des Spermatozoons, welches der fremden Familie entstammt, keinen formativen Einfluß auf die Struktur der Bastarde der ersten Generation nach der väterlichen Richtung hin ausübt; bis zu dem Stadium, wo die Embryonen sich zu Larven entwickelt haben, macht sich wenigstens der Einfluß nicht geltend. Es ist hiermit ein neuer Beweis dafür erbracht, daß der Befruchtungs- und Vererbungsprozeß zwei voneinander unabhängige Prozesse sind.

5) Das Spermatozoon von *Antedon* kann aber die nach rein mütterlichem Typus verlaufende Entwicklung der Bastarde bei den bisherigen Untersuchungsmethoden in der Weise beeinflussen, daß es:

a) die Entwicklungs-, nicht aber die Lebensfähigkeit des ganzen Bastardorganismus von einem gewissen Entwicklungsstadium an dauernd sistiert oder nur zeitweise beeinträchtigt,

b) die Entwicklung gewisser Organe oder ihrer Anlagen verzögert.

6) Aus der Bastardierung von kernlosen *Echinus*-Eibruchstücken mit *Antedon*-Spermatozoen resultieren Embryonen, welche gleich vom Anfang der Entwicklung an große Sterblichkeit zeigen.

7) Die einzelnen Exemplare dieser arrhenocaryotischen Bastarde, welche das Gastrulastadium erreicht haben, trugen rein mütterliche Charaktere zur Schau.

Die Resultate, welche in dieser Arbeit gewonnen worden sind, sind meiner Ansicht nach für das Vererbungsproblem nicht ohne Bedeutung.

Bekanntlich ist in der Biologie, besonders aber in der Morphologie der letzten Decennien, die Vererbungsträgerhypothese immer mehr in den Vordergrund getreten. Da die Keimzellen die Vermittlung zwischen den Eltern und der Nachkommenschaft bilden, so wird von verschiedenen Autoren behauptet, daß die mannigfaltigen Eigenschaften, welche auf die kindlichen Organismen übertragen werden, materielle Vertreter in der Substanz der Geschlechtszellen haben müssen. Aus diesem Gedankengang hat sich die Theorie der Vererbungsträger ausgesponnen, das ist die Anschauung, daß die erblichen Eigenschaften mit der spezifisch konstruierten Substanz der Keimzellen aufs innigste vereint sind.

Man suchte diese Probleme von zwei verschiedenen Seiten, namentlich an der Hand der morphologischen und der experimentellen Untersuchungen zu lösen.

Das Studium des caryokinetischen Prozesses, der zuerst von W. ROUX (83) ausgesprochene Gedanke, daß die Bedeutung der exakten Chromosomenteilung in der Verteilung der Kernqualitäten zu suchen ist, die genauere Kenntnis der Reifungs- und Befruchtungsercheinungen haben die Rolle des Kerns als Vererbungsträgers immer mehr in den Vordergrund gerückt, und diese aus der morphologischen Untersuchung deduzierte Vorstellung, daß dieses Zellorgan das Monopol für die Übertragung der Charaktere besitzt, hat wirklich die ganze Morphologie beherrscht und die Grundlage zahlreicher Vererbungstheorien gebildet.

In den morphologischen Untersuchungsergebnissen liegt in der Tat der Anlaß vor, um die Aufmerksamkeit vor allem auf den Kern zu lenken, meiner Ansicht nach liegt darin aber kein Grund vor, um dem Protoplasma in dieser Hinsicht jede Bedeutung abzuspreehen. Der Anteil des Protoplasmas an dem Mechanismus der Vererbung der Speciescharaktere wird von den Forschern in Abrede gestellt. Nur solche Vererbungsleistungen, wie »Achsenverhältnisse des neuen Individuums«, sollen ausschließlich vom Eiprotoplasma bestimmt und also durch dasselbe vererbt werden (BOVERI 04). Bezüglich der Rolle des Kerns beim Vererbungsmechanismus schreibt BOVERI: »Darum wird es aber auch angezeigt sein, nicht mehr in unbestimmter Weise den Kern als ‚Vererbungsträger‘ oder ‚Erbmasse‘ zu bezeichnen, sondern genau zu formulieren, was man ihm oder einem andern

Teil bei der Vererbung zuschreibt; und diese Formulierung möchte ich nach allen angeführten Tatsachen und Betrachtungen für den Kern vorläufig dahin geben, daß wenigstens alle eventuellen Merkmale des Individuums und der Species ihre Determinierung durch das Chromatin von Ei und Spermakern erhalten.«

Wenn ich in den Ergebnissen der morphologischen Untersuchungen keinen wesentlichen Grund finde, um dem Protoplasma bei der Vererbung aller »essentiellen Merkmale des Individuums und der Species« jede Bedeutung abzusprechen — so ist diese Behauptung auf Grund der bisherigen Resultate der experimentellen, sich auf dieses Problem beziehenden Untersuchungen destoweniger berechtigt.

Hier können nur die Hybridisationsexperimente Licht schaffen. Den Plan zu solchen Experimenten hat auch hier BOVERI angegeben. Aus seinen oben beschriebenen Versuchen über die merogonische Bastardierung schien wirklich der Beweis für die Bedeutung des Kerns als Vererbungsträgers hervorzugehen. Aber die Beweiskraft seiner Versuche wurde durch die von SEELIGER (95, 96) und MORGAN (94, 95) festgestellten Tatsachen erschüttert. In der von J. LOEB entdeckten heterogenen Hybridisation dürfte meiner Ansicht nach eine Methode gegeben sein, vermittle der man die Schwierigkeiten, welche in den individuellen Schwankungen ihren Grund haben, beseitigen kann.

Aus jeder Kreuzung, bei welcher das Ei einer Echinidenart mit dem Sperma einer andern Species derselben Familie befruchtet wurde, stammten, wie aus zahlreichen Literaturangaben bekannt, die goneoklinischen Bastarde her; es waren also die Charaktere beider Eltern bei solchen Bastarden nachweisbar. Anders stellt sich die Sache bei den aus der heterogenen Kreuzung herstammenden Hybriden vor. Aus meinen Experimenten ergibt sich namentlich die Tatsache, daß alle Individuen der  $\frac{\textit{Antedon} \text{♂}}{\textit{Echiniden} \text{♀}}$ -Bastarde in sämtlichen Kulturen aller drei Kreuzungskombinationen rein mütterliche Charaktere zur Schau tragen, obschon das männliche Chromatin in den Kernen des larvalen Bastardorganismus sich befindet. In der ersten Experimentenreihe (Kreuzung zwischen Echinidenarten) drang das Spermatozoon in das Eiprotoplasma derselben Familie und wurde von demselben beeinflusst, in der zweiten Versuchsserie (heterogene Hybridisation) stand es während der Entwicklung unter dem Einfluß<sup>1)</sup> des Proto-

<sup>1)</sup> Vgl. in dieser Beziehung sehr wichtige Angaben von R. HERTWIG (03) und in der soeben erschienenen Publikation von J. LOEB: »Artificial Membrane

plasmas einer fremden Familie. Durch diese Tatsache wird, meiner Ansicht nach, der morphologische Unterschied der Resultate der beiden Kulturserien begründet.

Die Anschauung, daß das Chromatin nicht das Monopol für die Übertragung der elterlichen Charaktere besitzt, und daß es nicht berechtigt ist, dem Protoplasma jede Bedeutung bei dem Mechanismus der Vererbung der Speciescharaktere abzusprechen, gewinnt noch mehr an Stütze in Anbetracht der Beobachtung, daß die arrhenocaryotischen  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Bastarde, so lange sie am Leben bleiben (Gastrulastadium), ebenfalls rein mütterliche Merkmale zeigen.

Daraus geht, will man die Ergebnisse der Versuche noch so vorsichtig deuten, zum wenigsten hervor, daß bis zum Gastrulastadium, ohne Vorhandensein des mütterlichen Kerns, mütterliche Charaktere zum Vorschein kommen können.

Um Mißverständnissen vorzubeugen, möchte ich gleich bemerken, daß ich mit der Deutung meiner Experimente keineswegs die Rolle des Kerns bei den Vererbungserscheinungen in Abrede stellen will; ich bin nur der Ansicht, daß sowohl in der morphologischen und experimentellen Literatur, als auch in den Ergebnissen meiner Experimente keine einzige Tatsache vorliegt, welche die aktive Rolle beim Vererbungsprozeß ausschließlich für die Kernsubstanz in Anspruch nehmen und dem zweiten Bestandteile jeder Zelle: dem Protoplasma, jeden Anteil an der Übertragung der elterlichen Arteigenschaften absprechen ließe. Darauf, ob der Ausdruck Vererbungsträger in rein materieller Auffassung überhaupt einen Anspruch auf Berechtigung haben kann, will ich hier nicht eingehen. Ich muß aber auf die längst von VERWORN vertretene Anschauung hinweisen, daß, wenn Kern und Protoplasma in fortwährender Wechselbeziehung stehen und sich auf die verschiedenste Weise gegenseitig in allen Lebensphasen beeinflussen — die Annahme der Beteiligung, sowohl des Kerns als auch des Protoplasmas an dem Mechanismus der Vererbungserscheinung, auch mit den Anschauungen der allgemeinen cellulären Biologie im Einklang sich befindet.

---

Formation and Mechanical Fertilization in a Starfish (*Asterina*).<sup>\*</sup> (University of California Publications. 1905.) LOEB schreibt: »It is obvious that the effect of a spermatozoon upon an egg consists in starting the transformation of protoplasm into nuclear material.«

---

## Literaturverzeichnis.

- BOVERI, M. 1903. Über Mitosen bei einseitiger Chromosomenbildung. *Jen. Zeitschr.* Bd. 37.
- BOVERI, TH. 1888. Über partielle Befruchtung. *Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys.* München. Bd. 4.
- 1889. Ein geschlechtlich erzeugter Organismus ohne mütterliche Eigenschaften. *Ibid.* Bd. 5.
- 1890. III. Zellenstudien. Jena.
- 1895. Über die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigeleier. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. 2.
- 1901. IV. Zellenstudien. Jena.
- 1901. Merogonie (Y. DELAGE) und Ephobogenese (B. RAWITZ), neue Namen für eine alte Sache. *Anat. Anz.* Bd. 19.
- 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. *Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F.* Bd. 35.
- 1903. Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. 16.
- 1903. Noch ein Wort über Seeigelbastarde. *Ibid.* Bd. 17.
- 1904. Ergebnisse über Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena.
- 1905. V. Zellenstudien. Jena.
- DAVENPORT, C. B. 1904. Color inheritance in Mice. Wonder Horses and Mendelism. *Science.* Vol. 19.
- DELAGE, Y. 1898. Embryons sans noyau maternel. *C. R. Acad. des Sc.* V. 127.
- 1899. Études sur la Merogonie. *Arch. de zool. expérim. et gén.* T. 5.
- 1899. Sur l'interprétation de la fécondation merogonique et sur une théorie de la fécondation normale. *Ibid.* T. 7.
- 1901. Études expérimentales sur la maturation cytoplasmique et sur la parthénogénèse expérimentale. *Ibid.* T. 9.
- DRIESCH, H. 1896. Die taktische Reizbarkeit der Mesenchymzellen. *Arch. f. Entw.-Mech.* Bd. 3.
- 1896. Betrachtungen über die Organisation des Eies und ihre Genese. *Ibid.* Bd. 4.
- 1898. Über rein mütterliche Charaktere an Bastardlarven der Echiniden. *Ibid.* Bd. 7.
- 1898. Von der Beendigung morphogener Elementarprozesse. *Ibid.* Bd. 6.
- 1903. Über Seeigelbastarde. *Ibid.* Bd. 16.
- 1905. Über das Mesenchym von unharmonisch zusammengesetzten Keimen der Echiniden. *Ibid.* Bd. 19.
- DUNGERN, E. 1902. Neue Versuche zur Physiologie der Befruchtung. *Zeitschr. f. allgem. Physiolog.* Bd. 1.
- FISCHER und OSTWALD. 1905. Zur physikalisch-chemischen Theorie der Befruchtung. *PFLÜGERS Arch.* Bd. 106.
- GIARD, A. 1900. Développement des œufs d'Echinodermes sous l'influence d'actions kinétiques anormales (solutions salines et hybridisation). *Comptes Rend. des Sc. et Mém. de la Soc. de Biologie.* Paris.
- GODLEWSKI, E., jun. 1905. Die Hybridisation der Echinideen- und Crinoideenfamilie. *Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie.*

- HÄCKER, V. 1902. Über das Schicksal der elterlichen und großelterlichen Kernanteile. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 37.
- 1904. Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Zool. Jahrb. Suppl. 7.
- HERBST, C. 1893. Über die künstliche Hervorrufung von Dottermembranen an unbefruchteten Seeigeleiern. Biol. Centralbl. Bd. 13.
- 1902. Vorläufige Übersicht über die Rolle der zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe. Verh. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. Bd. 7.
- 1904. Über die künstliche Hervorrufung von Dottermembranen an unbefruchteten Seeigeleiern. (II. Mitteilung.) Mitteil. aus der Zool. Station zu Neapel. Bd. 16.
- 1904. Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 16.
- HERTWIG, O. 1893. Die Zelle und die Gewebe. Jena.
- HERTWIG, R. 1903. Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München 1903.
- HERTWIG, O. und R. 1887. Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies. Jena.
- KORSCHULT, E., und HEIDER, K. 1904. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. 2. Lief.
- KOSTANECKI, K. 1896. Über die Gestalt der Centrosomen im befruchteten Seeigelei. Anat. Hefte.
- 1904. Über Veränderung im Innern des unter dem Einfluß von KCl-Gemisch künstlich sich entwickelnden Eies von Mactra. Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie.
- 1904. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 64.
- KRAHELSKA, M. 1905. Zapłodnienie odłamków jaj jeżowców i pierwsze okresy ich rozwoju. Rozpr. Akad. Umiej. Wydz. matem.-przyrodn. Tom 45.
- Dasselbe französisch: Sur le développement mérogonique des œufs du Psammechinus. Bulletin de l'Acad. des Sc. de Cracovie. 1905.
- LILLIE, F. R. 1902. Differentiation without Cleavage in the Egg of the Annelid Chaetopterus pergamentaceus. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 14.
- LOEB, J. 1900. On the artificial Production of normal Larvae from the unfertilized Eggs of the Sea-Urchin. Amer. Journ. of Physiol. Vol. 3.
- 1900. Further Experiments of artificial Parthenogenesis. Ibid. Vol. 5.
- 1903. 27. April. On a Method by which the Eggs of a Sea-Urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) can be fertilized with the Sperm of a Starfish (*Asterias Ochracea*). University of California Publications. Physiology. Vol. 1.
- 1903. 9. Nov. The Fertilization of the Egg of Sea-Urchin by the Sperm of Starfish. Ibidem.
- 1903. Über die Befruchtung von Seeigeleiern durch Seesternsamen. PFLÜGERS Arch. Bd. 99.
- 1904. 10. Febr. Further Experiments on the Fertilization of the Egg of the Sea-Urchin with Sperm of Various Species of Starfish and a Holothurian. University of California Publications. Physiology. Vol. 1.
- 1904. 9. Dec. Further Experiments on heterogeneous Hybridization in Echinoderms. Ibid. Vol. 2.

- LOEB, J. 1904. Weitere Versuche über die heterogene Hybridisation bei Echinodermen. PFLÜGERS Arch. Bd. 104.
- 1905. On an improved Method of artificial Parthenogenesis (I, II, III Communications). University of California Publications. Physiology. Vol. 2.
- MENDEL, G. 1865. Versuche über Pflanzenhybriden. Herausg. v. E. TSCHERMAK. Leipzig, Wilh. Engelmann, 1901.
- MILLARDET, A. 1894. Note sur l'hybridation sans croisement ou fausse hybridation. Mém. Soc. Sc. phys. et nat. de Bordeaux. T. IV.
- MORGAN, T. H. 1894. Experimental Studies on Echinoderm Eggs. Anat. Anz. Bd. 9.
- 1895. The Fertilization of non-nucleated Fragments of Echinoderm Eggs. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 2.
- PETRUNKIEWITSCH, AL. 1904. Künstliche Parthenogenese. Zool. Jahrb. Suppl. 7.
- PRZIBRAM, H. 1902. Experimentelle Biologie der Seeigel. BRONNS Klassen u. Ordnungen des Tierreichs.
- 1904. Einleitung in die experimentelle Morphologie. Leipzig u. Wien.
- ROSTAFIŃSKI, J. 1877. O podzielnosci jaja. Rozpr. Akad. Umiej. u Krakowie.
- ROUX, W. 1883. Über die Bedeutung der Kernteilungsfiguren. Eine hypothetische Erörterung. Leipzig, Wilh. Engelmann. Auch in: Gesammelte Abhandlungen. Bd. 2.
- 1903. Über die Ursachen der Bestimmung der Haupttrichtungen des Embryo im Froschei. Anatom. Anz. Bd. 23.
- SCHMIDT, H. 1904. Zur Kenntnis der Larvenentwicklung von Echinus microtuberculatus. Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 36.
- SEELIGER, O. 1893. Studien zur Entwicklungsgeschichte der Crinoideen. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 6.
- 1895. Gibt es geschlechtlich erzeugte Organismen ohne mütterliche Eigenschaften? Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 1.
- 1896. Bemerkungen über Bastardlarven der Seeigel. Ibid. Bd. 3.
- STASSANO. 1883. Contribuzione alla fisiologia degli spermatozoidi. Zool. Anz. Bd. 11.
- STEINBRÜCK, H. 1902. Über die Bastardbildung bei Strongylocentrotus lividus und Sphaerechinus granularis. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 14.
- STEVENS, N. M. 1902. Experimental Studies on Eggs of Echinus microtuberculatus. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 15.
- STRASBURGER, E. 1905. Typische und allotypische Kernteilung. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 42.
- TEICHMANN, E. 1902. Über Furchung befruchteter Seeigeleier ohne Beteiligung des Spermakerns. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 37.
- VERNON, H. M. 1898. The Relation between the Hybrid or Parent forms of Echinoid Larvae. Philosoph. Trans. Roy. Soc. B. Vol. 190.
- 1900. Cross Fertilization among Echinoids. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 9.
- VERWORN, M. 1903. Allgemeine Physiologie. IV. Aufl.
- 1903. Die Lokalisation der Atmung in der Zelle. Festschr. f. HAECKEL.
- DE VRIES, H. 1903. Die Mutationstheorie. Leipzig 1903.
- WINKLER, H. 1901. Über Merogonie und Befruchtung. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 36.
- WILSON, E. 1900. The Cell in Development and Inheritance. New York.
- 1901. Experimental Study in Cytology. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 12 u. 13.



## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel XXII—XXIII.

Die gesamten Abbildungen sind von Herrn STANISLAW WEIGNER vermittels des ABBÉschen Zeichenapparats entworfen.

- Fig. 1. Befruchtung der *Echinus*-Eier mit dem *Antedon*-Sperma. Vergr. 500.  
 Fig. 2. Befruchtung des *Sphaerechinus*-Eies mit dem *Antedon*-Sperma. Vergr. 500.  
 Fig. 3, 4, 5. Weitere Befruchtungsstadien  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ . Vergr. 500.  
 Fig. 6, 7, 8. Erste Furchungsmitose  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ . Vergr. 500.  
 Fig. 9. Tochterplatte, 21 Chromosomen des Diasterstadiums, welches auf Fig. 8 abgebildet wurde. Vergr. 1800.  
 Fig. 10. Die Mitosen des Vierzellenstadiums im Übergang zum Achtzellenstadium. Vergr. 500.  
 Fig. 11.  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Blastula. Vergr. 500.  
 Fig. 12, 13.  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Gastrula mit Mesenchymzellen. Vergr. 500.  
 Fig. 14.  $\frac{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$ -Pluteus. Vergr. 372.  
 Fig. 15.  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Strongylocentrotus} \text{ ♀}}$ -Pluteus. Vergr. 372.  
 Fig. 16.  $\frac{\textit{Echinus} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Pluteus. Vergr. 372.  
 Fig. 17.  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Pluteus. Vergr. 372.  
 Fig. 18.  $\frac{\textit{Antedon} \text{ ♂}}{\textit{Echinus} \text{ ♀}}$ -Pluteus in Seitenansicht. Vergr. 372.
-

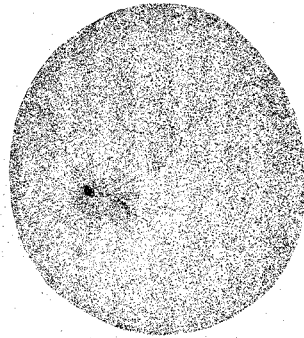


Fig. 1.

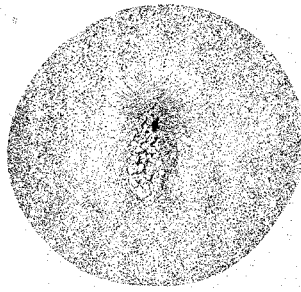


Fig. 2.

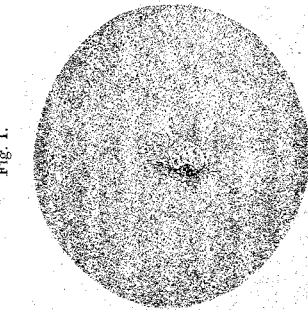


Fig. 3.

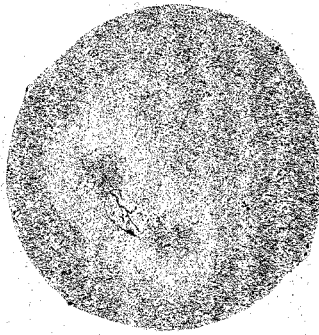


Fig. 4.

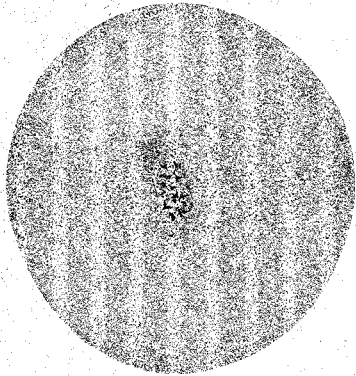


Fig. 5.

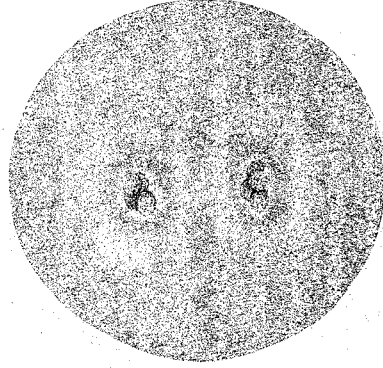


Fig. 7.

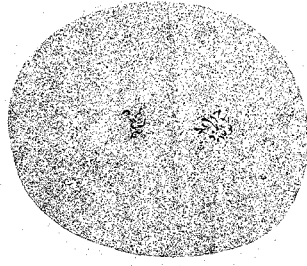


Fig. 8.

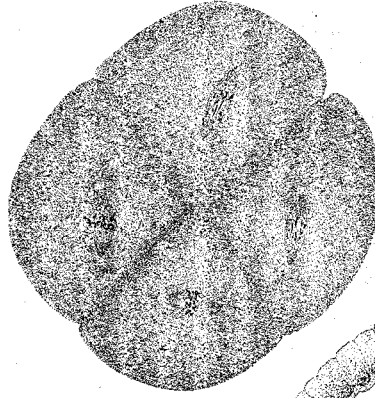


Fig. 10.



Fig. 9.

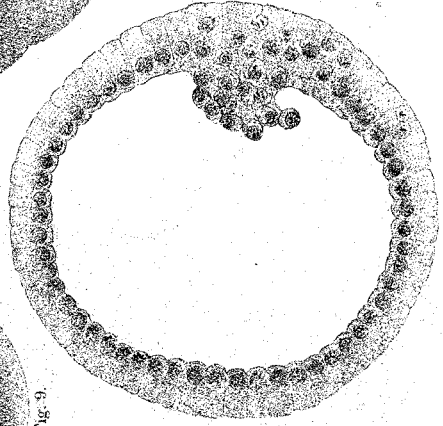


Fig. 11.

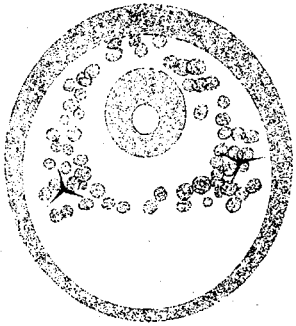


Fig. 12.

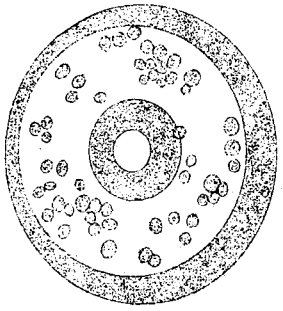


Fig. 13.

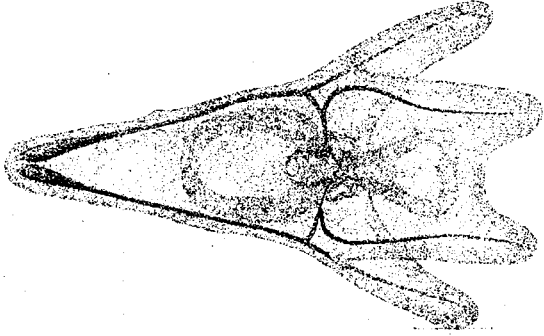


Fig. 16.

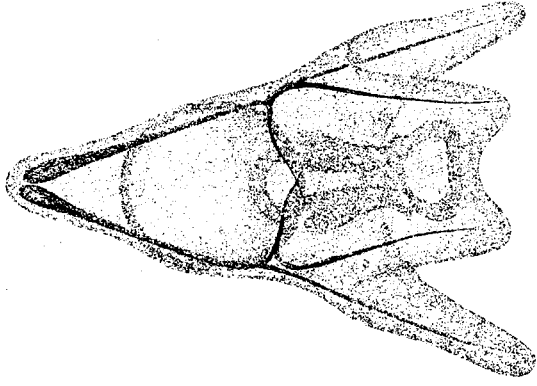


Fig. 17.

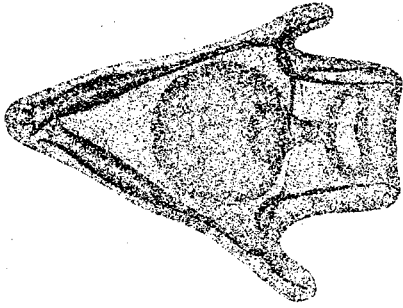


Fig. 14.

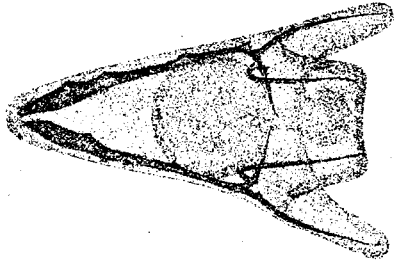


Fig. 15.

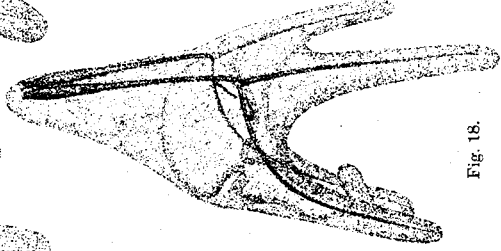


Fig. 18.