

Versuche über Beziehungen zwischen Eiern und Samenfäden bei Seeigeln.

Von

Dr. Arnold Löwenstein.

Aus dem deutschen anatomischen Institut zu Prag.

Vorstand: Prof. Dr. R. FICK.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher
Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

Mit 2 Figuren im Text.

Eingegangen am 11. Juni 1907.

Im Jahre 1900 veröffentlichte HANS WINKLER¹⁾ eine Reihe von Untersuchungen, die sich mit der Einwirkung von Extraktivstoffen aus dem Sperma auf unbefruchtete Eier befaßten. WINKLER fand, daß er durch Stoffe, die er auf physikalischem Wege aus Seeigelsperma gewann, Seeigeleier zur Furchung veranlassen konnte.

WINKLER ging bei seinen Versuchen im Prinzip folgendermaßen vor: Seeigelspermatozoen, die 1—2 Stunden auf 50—60° C. (bzw. 70°) erwärmt worden waren, wurden mit destilliertem Wasser versetzt; in das Filtrat (mehrfach filtriert!), das dann auf den Salzgehalt normalen Seewassers gebracht wurde, wurden Seeigeleier gebracht. Dabei hielt er die erforderlichen Vorsichtsmaßregeln streng ein, wie sie schon die Brüder HERTWIG²⁾ empfohlen und die dann J. LOEB als notwendigste Vorbedingung derartiger Arbeiten hinstellte; ihr Hauptzweck

¹⁾ HANS WINKLER, Über die Furchung unbefruchteter Eier unter der Einwirkung von Extraktivstoffen aus dem Sperma. Aus den Nachrichten der K. Gesellsch. d. Wissensch. zu Göttingen. Mathem.-physikal. Klasse. 1900. Heft 2.

²⁾ O. u. R. HERTWIG, Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. Jenaische Zeitschr. Bd. XIX. 1886. S. 125.

ist, zu vermeiden, durch lebende Spermatozoen das Versuchsergebnis zu trüben. Bei Einhaltung aller dieser Maßregeln, wie Abspülen der Tiere mit Süßwasser, Kochen aller gebrauchten Glasinstrumente, Ausglühen der Scheren und Pinzetten, kann man in der Tat Versuchsfehler ausschalten.

WINKLER erhielt bei seinen ersten Versuchen (1900) bei einem nicht sehr großen Teil der Eier wirkliche Furchung. Seine Resultate wurden berechtigterweise mit großem Interesse aufgenommen [vgl. v. FÜRTH¹⁾ u. a.]; sie sind von größter Bedeutung für alle Erklärungsversuche des Befruchtungsproblems; denn eine Befruchtung mit einer — wenigstens für unser Auge homogenen — Flüssigkeit, die wir chemisch und physikalisch leicht ändern können, würde uns in der Tat erlauben, die Bedingungen der Befruchtung viel leichter zu studieren als bei der normalen Befruchtung.

Ich hatte nun die Absicht, bei meinem Aufenthalt in der Zoologischen Station von Triest im März d. J. einige der eben angedeuteten Fragen anzugehen, zu denen die WINKLERSchen Versuche die unentbehrliche Grundlage bildeten.

In 17 Versuchsreihen, die ich unter den angedeuteten Kautelen unternahm, gelang es mir nun aber nicht, mit dem nach den WINKLERSchen Angaben gewonnenen Spermatozoenextrakt Seeigeleier (*Echinus microtuberculatus* und *Sphaerechinus granularis*) zur Furchung zu veranlassen, während die Kontrollkulturen im Durchschnitte etwa 70% normale Blastulae ergaben. Ich variierte die Versuchsbedingungen in verschiedenster Weise.

1) Versuchsordnung: Die Spermatozoen wurden sofort nach der Eröffnung des Seeigels in destilliertes H₂O gebracht und darin 1 Stunde auf 68° erhitzt, zwei bis dreimal durch doppeltes Filter geschickt; dann wurde im Filtrat der normale Salzgehalt mittels eingedampften Seewassers hergestellt, und in diese Lösung wurden Seeigeleier gebracht. 2) Die Spermatozoen wurden in normalem Seewasser erhitzt, und zwar mit ganz wenig Seewasserzusatz, dann diese konzentrierte Masse mit einer bestimmten Menge destillierten Wassers aufgenommen, filtriert, und dann der normale Salzgehalt wie oben hergestellt und reife Eier hineingebracht. 3) Es wurde Sperma sonst wie oben behandelt, aber unfiltriert den Eiern zugesetzt, da ich durch mikroskopische Untersuchung von Spermaextrakten, die ich

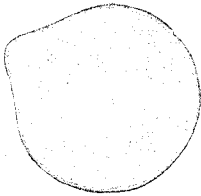
¹⁾ v. FÜRTH, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. 1903. S. 608.

drei bis viermal durch doppeltes Filter gehen ließ, immer noch spermatozoenähnliche Gebilde nachweisen konnte, eine Tatsache, auf die auch WINKLER (l. c.) schon hinweist. 4) wurde unerhitzter, im übrigen wie oben bereiteter Spermaextrakt (destilliertes Wasser, filtriert, auf Seewassersalzgehalt gebracht) mit Seeigeleiern versetzt und ähnliche Variationen mehr. Bei allen Versuchsanordnungen ergab sich aber immer das gleiche Resultat: Die Eier fürchten sich nicht.

Wohl waren häufig zerfallende Eier sichtbar, die bei oberflächlicher Betrachtung unregelmäßige Furchung vortäuschen konnten, bei näherem Zusehen erkannte man jedoch deutlich, daß es sich hier um keine Furchung handelte.

Ich bin jedoch weit davon entfernt, aus diesem negativen Ausfall meiner Versuche die WINKLERSchen Resultate in Zweifel zu ziehen,

Fig. 1.



wie GIES¹⁾ dies getan hat. Bei derartigen Versuchen, deren chemische Details uns vollständig unbekannt sind, kommen eben Versuchsfeinheiten in Betracht, die wir noch nicht beherrschen. Gelang doch WINKLER²⁾ im darauffolgenden Jahre die Befruchtung von Seeigeleiern mit Spermatozoenextrakten nur in den seltensten Fällen (leider ohne Angabe der Prozentzahlen). Witterungsverhältnisse und Temperatureinflüsse scheinen dabei eine Rolle zu spielen.

Eine höchstwahrscheinlich auf Witterungseinflüsse zurückzuführende Veränderung an reifen Seeigeleiern fiel mir an manchen Tagen auf: Eier von Tieren, die an solchen Tagen gefischt wurden, hatten (bis zu 70%) eigenartige Buckel, manche zwei bis drei an der Oberfläche des Eies (siehe Fig. 1). O. HERTWIG³⁾ hatte, ebenfalls in Triest, auch bei *Echinus*-Eiern nach heftigen Märzstürmen des Jahres 1890 »ein oder zwei Hügelchen« gefunden, »die aus homogener Rindensubstanz des Eies bestanden« und ihm »zu andern Zeiten bei Echinodermeneiern noch nie aufgefallen waren«.

¹⁾ WILLIAM J. GIES, Do Spermatozoa contain Enzyme having the power of causing development of mature ova? *Americ. Journal of Physiology*. 1902. Vol. VI. p. 53.

²⁾ HANS WINKLER, Über Merogonie und Befruchtung. 1901. Separatabdr. aus d. Jahrbüch. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXVI. Heft 4. S. 761. »Über die Einwirkung der chemischen Bestandteile des Spermas auf unbefruchtete Eier.«

³⁾ O. HERTWIG, Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. *Jenaische Zeitschr.* Bd. XXIV. 1890. S. 271.

Bei den besprochenen Versuchen machte ich nun einige Beobachtungen, die mir bemerkenswert erscheinen. Wenn ich lebende *Echinus*-Eier mit frischen Spermatozoen in der Glasdose versetzte, so sah ich die normale, ziemlich gleichmäßig verteilte Korona von Spermatozoen um das Ei. Hatte nun das Ei eine Verletzung erlitten, durch die Plasma ausgetreten war, so sammelten sich an dieser Stelle weit mehr Spermatozoen an als an unverletzten Partien des Eies, eine Tatsache, die leicht verständlich wird: Die anziehenden Stoffe, die wir uns vom Ei ausgehend denken, diffundieren ohne Eihaut besser in die Umgebung als durch dieselbe.

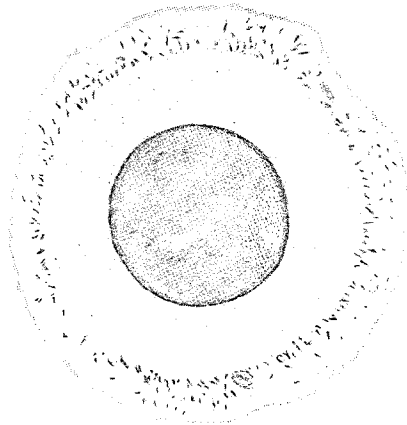
Daß sich Spermatozoen in abgesprengte Eistücke einbohren können, ist schon seit der Veröffentlichung von O. und R. HERTWIG¹⁾ im Jahre 1887 bekannt.

Ich nahm nun lebende Seeigeleier und setzte ihnen Seeigelsperma zu, das ich durch einstündiges Erhitzen auf 68°C. getötet hatte. Während die Spermatozoen sich überall im Gesichtsfeld gleichmäßig verteilt hatten, ließen sie in der Umgebung des Eies einen Umkreis von $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ des Radius

des Eies frei. Bei den vielfachen Wiederholungen des Versuches fand ich immer eine spermatozoenfreie Zone, wenn ich zu lebenden Eiern tote Spermatozoen setzte (siehe Fig. 2). Versuchte ich dasselbe mit toten *Echinus*-Eiern, so fand ich die toten Spermatozoen ganz gleichmäßig im Präparat verteilt, teils am Ei liegend, teils ohne Berührung mit dem Ei: Die toten Spermatozoen also, die ich zu den (ebenfalls durch einstündiges Erwärmen auf 68° abgetöteten) Eiern in die Glasdose zusetzte, zeigten diese besondere Lagerung nicht.

Die Versuche wurden noch elfmal wiederholt, ebenso, wie die folgenden, immer mit dem gleichen Erfolg: Die toten Spermatozoen waren durch einen freien Hof vom lebenden Ei getrennt. Ich wollte

Fig. 2.



¹⁾ O. u. R. HERTWIG, Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jenaische Zeitschr. Bd. XX. 1887. S. 226.

nun die Natur dieser Sphäre untersuchen, deshalb setzte ich zu einem derartigen Präparat frische Spermatozoen: Diese durchdrangen die umliegende tote Spermatozoenschicht, vielen gelang es, in den freien Hof einzudringen. Hier sah man deutlich, daß das Spermatozoon in ein schwieriger zu durchdringendes Medium gelangt war: Seine Bemühungen, centralwärts vorzudringen, waren nur allmählich von Erfolg gekrönt, hingegen sah ich dann oft schnelle Bewegungen, tangential zum Ei und hierauf wieder centralwärts gerichtete.

Der äußere Rand dieses Hofes war scharf begrenzt, die Existenz einer abgrenzenden Membran kann ich mit Sicherheit weder annehmen noch ausschließen. Daß aber dieser Hof aus einem vom umgebenden Meerwasser verschiedenen Material besteht, geht schon aus dem mikroskopischen Bilde hervor, die Zone zeigte eine von der Umgebung verschiedene Lichtbrechung, ferner aus der merkwürdigen Bewegungsform eingedrungener Spermatozoen, und drittens sah ich oft bei Strömungen unter dem Deckglas tote Spermatozoen und Zelltrümmer scharf am äußeren Rande des Hofes herumschwimmen.

Setzte ich zu toten Eiern lebende Spermatozoen, so bewegten diese sich vollständig frei durch das Gesichtsfeld, ohne sich um die toten Eier zu kümmern: Tote Seeigeleier üben also weder eine Anziehung noch Abstoßung auf lebende Spermatozoen aus.

Die Versuche wurden auch an unreifen Seeigeleiern mit großem Keimbläschen ausgeführt und alle obenerwähnten Tatsachen bestätigt gefunden.

Schließlich möchte ich noch erwähnen, daß die Experimente mit *Echinus microtuberculatus* (Eiern und Sperma), mit *Sphaerechinus granularis* (Eiern und Spermatozoen) unternommen wurden; ferner wurden lebende *Echinus*-Eier und totes *Sphaerechinus*-Sperma verwendet, lebende *Sphaerechinus*-Eier und totes *Echinus*-Sperma usw. usw. in allen Kombinationen, immer mit dem erwähnten Erfolge. Auch war die *Echinus*-Spermatozoenkorona um die *Sphaerechinus*-Eier nicht geringer wie die der *Sphaerechinus*-Spermatozoen um *Sphaerechinus*-Eier.

Die Versuche wurden in der K. K. Zoologischen Station von Triest angestellt; Herrn Direktor Prof. CORI möchte ich an dieser Stelle noch für seine liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Prag, im Juni 1907.