

Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Classe

der

k. b. Akademie der Wissenschaften

zu München.

Band XXXII. Jahrgang 1902.

München.

Verlag der k. Akademie.

1903.

In Commission des G. Franz'schen Verlags (J. Roth).

Ueber Wesen und Bedeutung der Befruchtung.

Von **Richard Hertwig.**

(*Bingelaufen 26. März.*)

Als mein Bruder zum ersten Mal durch seine Untersuchungen an Seeigeleiern eine sichere Beobachtungsbasis für die Lehre von der Befruchtung schuf, definierte er den Vorgang der Befruchtung als die Vereinigung geschlechtlich differenzirter Kerne. Diese Auffassung wurde dann schärfer ausgeprägt durch v. Beneden, welcher die beiden Geschlechtskerne, den „pronucleus mâle“ und „pronucleus femel“ für Halbkerne erklärte, welche sich vereinigen müßten, um einen mit allen Eigenschaften des Zellkerns ausgerüsteten, für die Entwicklung nothwendigen Furchungskern zu liefern. Von Anfang an geneigt den Grund zum sexuellen Dimorphismus in den verschiedenen Eigenschaften der Geschlechtskerne zu suchen, kam ich von dieser Auffassung bald zurück, als ich an Eiern die völlige Gleichartigkeit von Samen- und Eikern nachweisen konnte, wenn man durch geeignete Eingriffe ihre Vereinigung verhindert, als ich ferner die Befruchtungsvorgänge der Infusorien kennen lernte, bei denen die Unterschiede „männlich“ und „weiblich“ meistens überhaupt nicht durchführbar sind. Indem ich so die vollkommene Gleichwerthigkeit der Geschlechtskerne erwies, musste aus der Definition meines Bruders der Zusatz „geschlechtlich differenzirt“ gestrichen werden, so dass demnach die Befruchtung nur als die Vereinigung von Geschlechtskernen definiert werden konnte.

In eine neue Phase schien die Befruchtungslehre zu treten, als v. Beneden und Boveri an den Eiern von *Ascaris megal-*

cephala nach der Befruchtung ein besonderes Zelltheilungsorgan, das Centrosoma, auffanden, welches letzterer unter Benutzung correspondirender Vorgänge am Seeigeli als ein Derivat des Spermatozoon hinstellte. Nach Boveri ist die Befruchtung die Einführung eines dem Ei fehlenden Theilungsorgans, des Centrosoma, in das Ei, welches seinerseits das dem Spermatozoon fehlende, zur Theilung ebenfalls nöthige Archoplasma besitzt.

Die beiden soeben besprochenen Definitionen: „Die Befruchtung ist die Vereinigung zweier Geschlechtskerne“ und „Die Befruchtung ist die Einführung eines Centrosoma in das nur mit Archoplasma ausgerüstete Ei“ sind von einander völlig verschieden, weil sie zwei ganz verschiedene Vorgänge, welche bei der Befruchtung vielzelliger Thiere und Pflanzen vereint sind, ihrem Wesen nach aber nicht nothwendig zusammengehören, ins Auge fassen. Die Befruchtung der vielzelligen Thiere und Pflanzen ist einerseits „Entwicklungsregung“, ein Vorgang, welcher zur Fortpflanzung führt, welcher Ursache ist, dass das bis dahin unthätige Ei durch das hinzutretende Spermatozoon befähigt wird, einen neuen Organismus aus sich heraus zu erzeugen. Andererseits ist aber auch die Befruchtung ein die Vererbung vermittelnder Vorgang. Bei der Befruchtung werden zwei Individualitäten oder richtiger gesagt die Anlagen dazu vereinigt zu einem neuen Gebilde, welches die Resultante beider ist, wie denn das Entwicklungsproduct des befruchteten Eies, der junge Organismus, im Allgemeinen gleich viel väterliche und mütterliche Eigenschaften besitzt. Wir haben alle Ursache anzunehmen, dass die beiden kurz charakterisirten Vorgänge durch ganz verschiedene Substanzen vermittelt werden; die Entwicklungsregung geht vom Centrosoma aus, die Combination zweier Individualitäts-Anlagen ist an Ei- und Samenkern geknüpft. „Entwicklungsregung“ und „Vereinigung zweier Individualitäten“ sind somit zwei ganz verschiedene Dinge. Wenn wir den Begriff „Befruchtung“ definiren wollen, können wir somit nicht beide Erscheinungen in die Definition aufnehmen, sondern müssen uns für eine von beiden entscheiden. Wir werden uns dabei für den Vorgang zu entscheiden haben,

welcher für die Befruchtung das Wesentliche und Charakteristische ausmacht, durch welchen sie sich von anderen Entwicklungsvorgängen unterscheidet.

In den Augen des Laien erscheint als das Wichtige bei der Befruchtung die Entwicklungserregung, die Erscheinung, dass das Ei die Fähigkeit gewinnt einen neuen Organismus zu bilden; und so war es auch lange bei den Vertretern der Wissenschaft. Trotzdem ist diese Auffassung unhaltbar. Sowohl die Erfahrungen über die Fortpflanzung der vielzelligen Thiere als auch der Nachweis von Befruchtungsvorgängen bei den Protozoen führen übereinstimmend zu dem Resultat, dass das Charakteristische der Befruchtung nur die Vereinigung zweier Kerne ist.

In dieser Hinsicht ist zuerst zu betonen, dass die Eientwicklung auch ohne Befruchtung, parthenogenetisch, vor sich gehen kann. Man hat vorübergehend daran gedacht, dass auch bei der Parthenogenese eine Art Befruchtung vorkommt, dass der im Ei verbleibende oder mit ihm wieder verschmelzende II. Richtungskörper die Rolle des Spermatozoon spielt. Indessen giebt es Fälle, in denen nach endgiltiger Eliminirung des zweiten Richtungskörpers gleichwohl Parthenogenese noch möglich ist. Die spontane Entwicklungsfähigkeit des völlig gereiften Eies ist vor Allem durch die Versuche Loeb's bewiesen. Nachdem ich selbst schon Theilungen unbefruchteter Eier durch Strychnin-Einwirkung erzielt hatte, ist es ihm unter Anwendung 12 ‰ Lösungen von Magnesiumchlorid gelungen, die Entwicklung von Eiern, die unter gewöhnlichen Verhältnissen sich ohne Samenzusatz nicht theilen würden, bis zur Bildung normaler Larven zu fördern.

Giebt es somit Fälle von Entwicklungserregung, welche sich ohne Befruchtung vollziehen, so giebt es andererseits ächte Befruchtungsvorgänge, bei denen die Entwicklungserregung fehlt, mit anderen Worten, bei denen die befruchtete Zelle sich gar nicht theilt oder sich nicht anders theilt als es ohnedem geschehen sein würde. Ein Fall der letzteren Art ist die Conjugation der Infusorien, ein ächter Befruchtungsvorgang, welcher keinenfalls einen befördernden, eher einen hemmenden Einfluss

auf die Theilung ausübt. Wenn man conjugirende Infusorien trennt, ehe die Befruchtung eingeleitet ist, so theilert sie sich rascher als wenn sie die Conjugation zu Ende geführt hätten. Ich habe derartige „entcopulirte“ Paramaecien Monate lang gezüchtet. In vielen anderen Fällen tritt bei Protozoen und einzelligen Pflanzen sogar das Entgegengesetzte von Entwicklungserregung ein. Nachdem ohne Befruchtung lebhaftere Theilungen vor sich gegangen sind, tritt Befruchtung ein; damit hören die Theilungen auf; die Zelle geräth in einen Wochen und Monate lang andauernden Ruhezustand.

Seitdem im Lauf des letzten Decenniums über die Befruchtung der Protozoen reichliches Material bekannt geworden ist, kennen wir alle nur denkbaren Beziehungen zwischen Fortpflanzung (Theilung und Knospung) und Befruchtung. Wir haben soeben Fälle kennen gelernt, in denen die Befruchtung keinen oder wenigstens keinen erheblichen Einfluss auf die Fortpflanzungsfähigkeit der Thiere hat. Wir haben ferner gesehen, dass sie die Fortpflanzungsfähigkeit lähmen kann. Ausserdem kommt es vor z. B. bei den Malariaparasiten, dass der Lebenscyclus eines Protozoen sich aus Theilungen von zweierlei Art zusammensetzt; die gewöhnliche Vermehrung ist von der Befruchtung unabhängig, ist, wie man sich ausdrückt, eine ungeschlechtliche Fortpflanzung. Beim Malariaparasiten sind es die im Blut des Menschen vor sich gehenden, die Fieberparoxysmen verursachenden Theilungen. Zeitweilig tritt dann Befruchtung auf und in ihrem Gefolge Theilungen einer besonderen Art. Beim Malariaparasiten sind es die in der Mücke sich abspielenden Theilungen, vermöge deren die befruchteten Ovocyten in die sichelförmigen Keime zerfallen. Endlich scheint es bei Protozoen auch vorzukommen, dass die ungeschlechtlichen Theilungen ganz fehlen und die Vermehrung ausschliesslich im Gefolge der Befruchtung eintritt. Und so ist die Befruchtung bei den Protozoen ein Vorgang für sich, welcher in der Mehrzahl der Fälle mit der Fortpflanzung nichts zu thun hat, aber schon die Tendenz erkennen lässt, mit der Fortpflanzung in Verbindung zu treten, so dass man

dann von geschlechtlicher Fortpflanzung reden kann. Unverändert kehrt dagegen überall der eine Process wieder, die Vereinigung zweier Kerne, welche von verschiedenen Thieren stammen, was nach unseren Auffassungen von der Wirkungsweise der Kerne die Aufgabe hat, die Individualitäten beider Thiere zu einer einzigen zu verschmelzen.

Wie kommt es nun, dass die Befruchtungsvorgänge vielzelliger Thiere und Pflanzen stets mit der Fortpflanzung verknüpft sind? Es lässt sich mit Leichtigkeit erweisen, dass diese Verknüpfung eine nothwendige Consequenz der Vielzelligkeit ist. Soll bei vielzelligen Organismen eine Individualitätenmischung, eine Amphimixis (Weismann) eintreten, so ist das nur zu der Zeit möglich, wo der Organismus auf den Zustand einer einzigen Zelle reducirt ist, den Zustand der Fortpflanzungszelle. Dauernde Vereinigung zweier vielzelliger Organismen oder Organismenstücke ist zwar möglich. Das zeigen die Ergebnisse des Pfropfverfahrens bei Pflanzen. In ähnlicher Weise hat man auch niedere Thiere, selbst Thiere verschiedener Art, zum Zusammenheilen gebracht. Allein bei diesen Versuchen hat sich herausgestellt, dass jeder Theil seine Eigenart beibehält und keine Vermischung der Eigenschaften eintritt. Höchstens ist nur in sehr untergeordnetem Maasse eine Beeinflussung des einen Organismus durch den anderen möglich. Eine vollkommene Durchdringung von zweierlei Individualitäten, eine Durchdringung, an welcher jede Zelle des Organismus Antheil hat, wird dagegen erreicht, wenn die Eizelle befruchtet wird und so eine Combinationszelle geschaffen wird, aus welcher sämtliche Zellen eines Thieres oder einer Pflanze durch successive Theilung entstehen.

Aus den angestellten Erörterungen ergibt sich mit Nothwendigkeit folgendes Problem. Wenn die Befruchtung ihrem innersten Wesen nach nicht den Zweck hat, die Bildung eines neuen Organismus einzuleiten, wenn diese Entwicklungserregung nur etwas Accessorisches ist, welches sich secundär ihr beigesellt hat, worin ist dann die Aufgabe der Befruchtung zu suchen? Ihre Aufgabe muss von fundamentaler Bedeutung

sein. Denn seitdem wir aus allen Classen der Protozoen Befruchtungsvorgänge kennen gelernt haben, gewinnt die Anschauung immer mehr an Sicherheit, dass die Befruchtung eine mit dem Wesen der lebenden organischen Substanz nothwendig verbundene Erscheinung ist.

Man kann die Lösung dieses Problems nach zwei verschiedenen Richtungen suchen. In seiner Lehre von der Amphimixis hat Weismann die Vermuthung ausgesprochen, die Individualitätenmischung sei für die Fortbildung der Art von Wichtigkeit, es würde damit eine Fülle von Eigenschafts-Combinationen geschaffen, aus welcher die Natur durch Auslese das Geeignete festhalte. Viele Forscher, unter ihnen Boveri, haben sich dieser Auffassung angeschlossen. Ihr zufolge wäre die Amphimixis eine Erscheinung, die sich zwar an dem einzelnen Individuum ausbilde, in ihrer Wirkungsweise aber erst an dem gesammten Individuenbestand einer Art zum Austrag käme; sie würde sich damit wie die ganze Lehre vom Kampf um's Dasein der Controlle durch exacte Beobachtung entziehen. Auch würde das Befruchtungsproblem dann kein einheitliches mehr sein, es würde aus einer endlosen Summe von Einzelproblemen bestehen. Für jeden einzelnen Fall wäre zu entscheiden, welche Combination von Eigenschaften wohl die zweckmässigste ist.

Man kann aber noch in einer anderen Richtung die Lösung der Frage anstreben. Es wäre denkbar, dass die Befruchtungsbedürftigkeit eine nothwendige Consequenz des Lebensprocesses ist, dass, wie eine Maschine sich allmählig verbraucht, so auch die lebende Substanz eine Abnützung erleidet, wenn sie nicht in grösseren oder geringeren Intervallen durch die Befruchtung eine Kräftigung erfährt. Wir wissen nun zwar, dass zwischen einer Maschine und einem Organismus ein gewaltiger Unterschied gegeben ist, welcher darin besteht, dass der Organismus die Fähigkeit hat, die durch Function entstandenen Verluste am Organ wieder auszugleichen, ja sogar mehr als das; denn ein Organ kräftigt sich durch normale Function. Aber wir wissen nicht, ob diese Compensationsfähigkeit in's Unbegrenzte

fortgeht, ob nicht vielmehr hiebei der Organismus doch mit einer stets zunehmenden Unterbilanz arbeitet. Nehmen wir diesen Gedankengang an, so würden im Lebensprocess als solchem die Keime zu seiner Zerstörung enthalten sein, der Tod würde dann nicht, wie Weismann will, eine im Kampf um's Dasein erworbene Anpassung, sondern eine nothwendige Consequenz des Lebensprocesses darstellen, die nur dadurch vermieden werden kann, dass zeitweilig eine Reorganisation der lebenden Substanz stattfindet. Eine solche Reorganisation hätten wir in der Befruchtung zu erblicken; ob die einzig mögliche? das sei zunächst dahin gestellt. Aber wenn auch noch andere Möglichkeiten der Reorganisation gegeben sein sollten, würde die Befruchtung, wie wir aus ihrer weiten Verbreitung schliessen können, immer als die wichtigste angesehen werden müssen.

Von vornherein sind nun zwei Möglichkeiten gegeben, in denen man sich die reorganisirende Wirkungsweise der Befruchtung vorstellen kann. Man könnte daran denken, dass die Befruchtung die Aufgabe hat, eine Steigerung der Lebensenergie herbeizuführen, einen Verjüngungsprocess der organischen Substanz zu bewirken, sowie man durch das Aufziehen eine Uhr in den Gang setzt. Diese Lehre wurde von Bütschli für die Befruchtungsvorgänge der Infusorien aufgestellt: es sei durch fortgesetzte Theilung die Fortpflanzungsfähigkeit herabgesetzt und bedürfe einer Auffrischung; diese werde durch die Befruchtung bewirkt. Die Verjüngungstheorie ist schon für die Infusorien ganz unhaltbar. Denn wie ich durch ein oben schon erwähntes Experiment nachgewiesen habe, ist die Theilfähigkeit entcopulirter Infusorien eher grösser als die Theilfähigkeit befruchteter Thiere. Die Verjüngungstheorie lässt uns gänzlich im Stich bei den Vielzelligen. Denn die Eizellen, welche befruchtet werden, sind im Vergleich zu den übrigen Körperzellen jugendliche Zellen, die sich nicht durch Antheilnahme an den Lebensprocessen erschöpft haben.

Und so wurde meine Auffassung bei meinen Infusorienuntersuchungen nach der entgegengesetzten Richtung gelenkt.

Zur normalen Erledigung der Lebensprocesse bedarf es nicht nur der treibenden Kräfte, sondern auch der regulirenden. Die Befruchtung, die Vereinigung zweier verschiedenartiger Organisationen in eine, hat den Zweck, diese regulirenden Einrichtungen zu verstärken; sie ist daher um so nothwendiger, je lebhafter der Lebensprocess, je höher die Organisation ist, was in Uebereinstimmung steht mit der relativen Häufigkeit der Befruchtung bei den höheren Organismengruppen.

Von diesen Gesichtspunkten aus habe ich schon seit einer Reihe von Jahren Experimente an einzelligen Thieren unternommen, zunächst an Infusorien, später aus Gründen, die ich hier übergehe, an Actinosphärien, einem in unserem Süßwasser weit verbreiteten Rhizopoden. Da ich für dieses Thier den Nachweis der Befruchtung erbracht hatte, legte ich mir die Frage vor: unter welchen Bedingungen tritt Befruchtungsbedürftigkeit auf? und ferner: ist es möglich, die Cultur der Actinosphärien so einzurichten, dass die Befruchtung ausbleibt und dass die Thiere schliesslich aus eigenen inneren Ursachen nur in Folge ihrer Lebensfunction zu Grunde gehen?

Ehe ich auf die Darstellung meiner Versuchsergebnisse eingehe, muss ich Einiges vorausschicken. Die Function einer Zelle beruht auf der Wechselwirkung von Kern und Protoplasma; wie diese Wechselwirkung vor sich geht, entzieht sich noch unserer Kenntniss. Bei Actinosphärien findet sich eine Einrichtung, welche es vielleicht ermöglicht, der Prüfung dieser Frage näher zu treten. Bei einem in Verdauung begriffenen Actinosphärium finden sich ausser den Kernen im Protoplasma zerstreut noch kleine Körperchen, welche ich „Chromidien“ nennen will, weil ihre Substanz höchst wahrscheinlich mit dem an Nucleolarsubstanz gebundenen Chromatin des Kerns identisch ist. Was ihre Entstehung anlangt, so müssen wir zwei Möglichkeiten in Betracht ziehen: 1. sie können vom Protoplasma abgespalten sein, 2. sie können aus den Kernen ausgestossen sein. Dass letzteres vorkommt, dafür habe ich Beobachtungen. Wenn man Actinosphärien hungern lässt, so können drei Fälle eintreten. 1. die Thiere

verhungern allmählich, 2. sie encystiren sich, sie umgeben sich mit einer festen Hülle, innerhalb deren die Befruchtung vollzogen wird, 3. sie lösen ihre Kerne auf. Im letzteren Fall verwandeln sich unter Auflösung der Kernmembran die Kernsubstanzen — offenbar ziemlich rasch, da es schwer fällt, Umgebungsstadien zu finden — in Chromidien um. Das Thier zieht seine Pseudopodien ein und wird eine Protoplasmakugel, deren Inneres nach allen Richtungen von Chromidien durchsetzt ist. Leider ist es mir bisher noch nicht geglückt, die besonderen Bedingungen festzustellen, unter denen der sehr interessante Vorgang eintritt, da die zu den Hungerculturen verwandten Thiere frisch eingefangen worden waren.

Ich bemerke noch, dass die Chromidialmasse sich allmählich in eine bräunliche Substanz verwandelt, welche aus dem Thier ausgestossen wird. Einen ganz analogen Vorgang kenne ich von Infusorien.

Ich habe nun in folgender Weise experimentirt. In Uhrgläschen wurden Actinosphärien mit blauen und grünen Stentoren gefüttert und immer Sorge getragen, dass ein Ueberfluss von Nahrung vorhanden war. Ferner wurde durch tägliches Erneuern des Wassers die Ansammlung schädlicher Stoffe verhütet. Da die Actinosphärien durchsichtig sind und das Futter intensiv gefärbt, kann man den Grad der Fütterung und an der eintretenden Verfärbung auch genau den Grad der Verdauung feststellen. An circa 40 Culturen, die ich zum Theil vor 2 Jahren, zum Theil in den letzten Monaten einrichtete und von denen manche noch im Gang sind, konnte ich feststellen, dass unter günstigen Verhältnissen ein Actinosphärium etwa das 10—20 fache seiner Masse im Lauf eines Tags frisst, was dann zu einer ganz colossalen Vermehrung führt, so dass ich in der Lage bin, an einem enormen planmässig eingelegten Material die Zellveränderungen genauer zu studiren, wovon ich in Zukunft noch manche Aufklärung erwarte. Die starke Fütterung hält nicht an; nach einigen Tagen wird sie geringer und es treten Zeiten freiwilligen Hungers ein. Diese Hungerperioden lehren, dass in der That ein fortgesetztes

Assimiliren und zur Vermehrung führendes Wachstum nicht möglich ist, dass vielmehr nach einiger Zeit eine Erschöpfung des Organismus eintritt und dass eine erneute Aufnahme der Function nur möglich ist, wenn eine Reorganisation der lebenden Substanz stattgefunden hat. Mit dem Fortschreiten der Cultur verschärfen sich die Constraste. Die Fütterung wird enormer, andererseits wachsen die Zeiten freiwilligen Hungerns. Es können Pausen von 3—5 Tagen eintreten. Diese Unfähigkeit, Nahrung aufzunehmen, kann zu einem dauernden Zustand werden. Es ist ein merkwürdiges Bild, Thiere trotz aller Sorgfalt der Cultur inmitten einer Fülle von Nahrung verhungern zu sehen; oder es werden wieder schwache Versuche zu fressen gemacht; das Aufgenommene wird aber so langsam verdaut, dass kein Wachstum und keine Vermehrung eintritt. Ab und zu encystiren sich im Stadium dieser Assimilationsunfähigkeit die Actinosphärien; sie nehmen, um nicht zu Grunde zu gehen, den Ausweg der Befruchtung.

Noch häufiger als Verhungern und Encystirung ist ein dritter Ausgang meiner Culturen; er ist zugleich bei weitem der interessanteste. Bei Actinosphärien, die wochenlang in einer Ueberfülle von Nahrung cultivirt worden waren, kommt es vor, dass sich nach mehrtägigem Fasten enorme Fütterung einstellt und dass dann eine wahre Revolution im Kernapparat beginnt. Ein Theil der Kerne wird aufgelöst, andere wachsen dagegen heran. In letzteren sondert sich die Nucleolarsubstanz vom Chromatin; sie ist es, die an Masse zunimmt, das Chromatin herausdrängt, welches sich im Protoplasma vertheilt. Die Nucleolarmasse eines Kerns kann in solchen Fällen so colossal zunehmen, dass, während alle übrigen Kerne aufgelöst werden, ein einziger Riesenkern übrig bleibt, welcher etwa die tausendfache Masse eines gewöhnlichen Actinosphärenkerns besitzt. Gewöhnlich bleiben aber mehrere Kerne von gleicher Grösse erhalten. Die ihres Chromatins beraubten Rieskerne werden ausgestossen und das dadurch kernlos gewordene Thier geht zu Grunde.

Es liegt nahe, bei den geschilderten Vorkommnissen an

Folgen von Schädlichkeiten, sei es chemischer Substanzen, sei es parasitärer Organismen, zu denken. Ich habe daher, um diese Frage zu prüfen, eine Menge Versuche angestellt, über die ich hier im Einzelnen nicht berichten kann. Nur um eine Versuchsweise zu erwähnen, ich habe wiederholt Culturen, in denen noch einige in Kerndegeneration begriffene Actinosphären enthalten waren, ohne Veränderung des Wassers und des Futterbodens mit neuen Actinosphären besiedelt und stets feststellen können, dass dieselben sich bei mässiger Ernährung viele Wochen lang gesund weiter entwickelten. Ausser diesen Experimenten spricht gegen die Annahme einer infectiösen Natur und lässt dieselbe geradezu ausgeschlossen erscheinen die Art, mit welcher sich die Kerndegeneration entwickelt, und die Häufigkeit, mit welcher ich sie durch lange zum Theil Monate dauernde Cultur habe hervorrufen können. Von 40 Culturen sind mehr als die Hälfte in dieser Weise zu Grunde gegangen und zwar zu ganz verschiedenen Zeiten, was offenbar mit der Verschiedenartigkeit des Ausgangsmaterials zusammenhängt, zum Theil auch wohl damit, dass es bei der grössten Sorgfalt nicht möglich ist, völlig gleichartige Fütterungsbedingungen herzustellen, nicht einmal in dem Uhrgläschen einer und derselben Cultur. Und so komme ich zu dem Schluss, dass eine functionelle Degeneration vorliegt; ich nehme an, dass die in ganz aussergewöhnlicher Weise gesteigerten Lebensfunctionen, welche in einer ganz enormen Vermehrung der Thiere zum Ausdruck kommen, das Gleichgewicht der Zelltheile erschüttern, dass der Organismus Versuche macht, durch Hungerpausen dieses Gleichgewicht wieder herzustellen, dass im Verlauf die Schädigungen immer intensiver, die regulatorischen Vorgänge immer unzureichender werden, bis schliesslich eine letzte übermässige Functionsanstrengung den Zusammenbruch der Zelle bedingt.

Es wäre nun wünschenswerth, die im Lauf der Cultur eintretenden Veränderungen im Zellenleben nicht ausschliesslich nach den Erscheinungen der Nahrungsaufnahme zu beurtheilen, sondern noch nach anderweitigen Kriterien. Als

ein solches Kriterium käme zunächst in Betracht die Fortpflanzungsenergie. Hierzu ist das Actinosphärium gänzlich unbrauchbar, weil seine Grösse zu sehr variirt. Oft kommt es vor, dass im Lauf eines Tages ein riesiges Actinosphärium sich in 20, 30 selbst hundert kleinere Thiere auflöst, und dass im weiteren Verlauf die Zahl durch partielle Verschmelzung wieder eine bedeutende Reduction erfährt. Auch können Thiere von gleicher Grösse ganz verschieden reich an Substanz sein, je nachdem sie stärker oder weniger stark vacuolisirt sind. Nur durch mühsames Zählen der Kerne, welches nur an conservirtem Material möglich ist, würde man die Zunahme an lebender Substanz genauer bestimmen können. In dieser Hinsicht würden Infusorien viel günstigere Objecte sein, weil hier die individuelle Grösse bei gleichartigen Fütterungsbedingungen eine bestimmte ist. Bei analogen Fütterungsexperimenten mit *Paramecium caudatum*, bei dem man leider die Intensität der Nahrungsaufnahme nicht in der Weise wie bei Actinosphären bemessen kann, habe ich feststellen können, dass bei lang fortgesetzten Culturen die Perioden der Vermehrung durch Perioden unterbrochen werden, in denen Tage lang keine Theilungen stattfinden, bis nach längerer Ruhe die Vermehrung von Neuem beginnt. Hiermit ist auf einem anderen Wege bewiesen, dass der Organismus zeitweiliger Reorganisation bedarf.

Eine Art Reagens auf den jeweiligen Organisationszustand der Protozoen ist ferner in der Einrichtung von Hungerculturen gegeben. Ich habe von diesem Verfahren bei meinen Actinosphärenzuchten ausgiebigen Gebrauch gemacht. Man bekommt dabei äusserst mannichfache Resultate. Es kann vorkommen, dass alle zur Hungercultur verwendeten Thiere sich in den ersten 3 Tagen encystiren. Man kann dann, da die Encystirung mit Befruchtungsvorgängen combinirt ist, von einer Art geschlechtlichen Reife reden. Es kann aber auch vorkommen, dass alle Thiere infolge lange fortgesetzten Hungers zu Grunde gehen, ohne sich zu encystiren. Dazwischen giebt es mittlere Zustände. Klare übersichtliche Resultate

habe ich bisher auf diesem Wege noch nicht gewinnen können mit Ausnahme des einen, dass ungünstige Encystirungsbedingungen sowohl vor als nach dem Zeitpunkt geschlechtlicher Reife eintreten. Jedenfalls hat dieses scheinbar gleichartige Verhalten vor und nach dem Encystirungsoptimum ganz verschiedene Bedeutung. Klarheit kann jedoch hierüber nur gewonnen werden, wenn die Veränderungen, welche die Zellbestandtheile des Actinosphärium auf den verschiedenen Stadien der Cultur erfahren, einer genauen Untersuchung unterworfen worden sind. Ich komme hiermit auf einen Punkt, welcher für die Verwerthung der durch Züchtung gewonnenen Resultate unerlässlich ist.

Ich habe leider bisher noch nicht Zeit gehabt, das reiche Material, welches ich von den verschiedenen Entwicklungsserien conservirt habe, genauer zu studiren. Um völlige Sicherheit zu erzielen, müssen von verschiedenen Stadien Querschnitte angefertigt und diese in ganz übereinstimmender Weise gefärbt werden. Gleichwohl stehen mir jetzt schon genügende Erfahrungen an gefärbten ganzen Thieren zu Gebote, um mit Bestimmtheit sagen zu können, dass bei all den geschilderten Vorgängen das Massenverhältniss von Protoplasma und Kernsubstanz eine ausschlaggebende Rolle spielt. Nimmt die Masse an Kernmaterial rascher zu als die Masse des Protoplasma, so muss sie durch theilweise Auflösung eine Reduction erfahren. Es mehren sich dann die Chromidien, sie werden in die oben schon gelegentlich erwähnte bräunliche Masse verwandelt, welche ausgestossen wird. Diese Verminderung der Chromatinmasse habe ich oben für hungernde Actinosphären beschrieben, bei denen der Schwund von Körpermasse, zunächst also von Protoplasma, stets auch einen Schwund von Kernen zu Folge hat. Analoge Verhältnisse treten bei stark fütternden Actinosphären ein: bei der Function nimmt das Kernmaterial rascher zu als das Protoplasma und muss daher beständig durch theilweise Auflösung und Ausstossung reducirt werden. Erreicht diese Chromatin-Ausstossung eine grosse Energie, so verliert die Zelle die Fähigkeit, zu assimiliren und Nahrung aufzunehmen.

Es treten Hungerperioden trotz reichlichen Nährmaterials ein. Wie nun bei Hungerculturen unter bestimmten Verhältnissen die kernaflösende Kraft des Protoplasma so gross werden kann, dass alle Kerne in Chromidien verwandelt werden, so kann auch bei fortgesetzter Ueberanstrengung der assimilirenden Thätigkeit der Zelle schliesslich ein Zustand eintreten, der nicht mehr durch die gewöhnlichen Mittel ausgeglichen werden kann; es tritt dann die soeben besprochene Erscheinung ein: ein grosser Theil der Kerne wird aufgelöst, ein Rest in die Bahnen der Riesenkernbildung geleitet. Ich schliesse aus gewissen Erscheinungen, dass man bei geeigneter Durchführung des Experiments auch durch Futtercultur die nahezu gleichzeitige Auflösung sämtlicher Kerne erzielen kann, die ich durch Hungercultur bei Actinosphärien, die im Freien gesammelt worden waren, erzielt habe. Wir haben somit in den besprochenen verschiedenen Formen der Kernreduction dieselbe Grunderscheinung vor uns, nur in verschiedenen Graden der Intensität.

Starke Reduction des Kernmaterials geht nun auch den Befruchtungsvorgängen voraus. Bei der Encystirung von Actinosphärien werden etwa 90 % der Kerne aufgelöst und etwa 10 % zur Befruchtung verwandt. Das befruchtete Actinosphärium repräsentirt den Zustand der Zelle, in welcher das im normalen Leben vorkommende Mindestmaterial von Kernsubstanz erreicht ist. Das Gleiche gilt für Infusorien, bei denen während der Conjugation der chromatinreiche Hauptkern aufgelöst wird und die chromatinarmen Nebenkern übrig bleiben. Die aus den befruchteten Nebenkernen hervorgehenden „Placenten“, die Anlagen der neuen Hauptkerne, sind ganz ausserordentlich chromatinarm. Auch bei den vielzelliger Thieren ist der Kern des befruchteten Eies, der Furchungskern ganz ungläublich klein und chromatinarm. Die Reduction der Masse von Kernsubstanz bei Befruchtungsprocessen ist somit für eine so grosse Zahl von Fällen beschrieben worden, dass wir in ihr eine allen Befruchtungsvorgängen zukommende Erscheinung zu erblicken haben.

Die Reduction der Kernmasse beim Befruchtungsprocess würde sich somit den regulatorischen Vorgängen anschliessen, welche während des Lebens der Protozoen zu beobachten sind; sie ist aber nur eine Begleiterscheinung der Befruchtung, macht dagegen nicht das Wesentliche derselben aus. Wie ich oben durchgeführt habe, ist das Wesentliche der Befruchtung in der Vereinigung zweier Kerne gegeben, welche von verschiedenen Zellen stammen und daher individuelle Unterschiede erkennen lassen. Diese Unterschiede dürfen nicht zu gering sein wie bei Inzucht, noch zu gross wie bei Bastardirung, damit gute Resultate durch die Befruchtung erzielt werden. Die Erfahrungen der Züchter machen es wahrscheinlich, dass ein gewisses, im Einzelnen nicht genauer definirbares Optimum der Unterschiede gegeben sein muss.

Ist es nun möglich, die bei der Befruchtung zu Stande kommende Vereinigung verschieden gearteter Kerne als einen Process sich vorzustellen, der in ähnlichem Sinne regulatorisch wirkt, wie die besprochenen Vorgänge der Kernreduction? Ich glaube, dass das in der That der Fall ist. Wenn es für die Integrität des Zellenlebens von Wichtigkeit ist, ein bestimmtes Wechselverhältniss von Kern und Protoplasma aufrecht zu erhalten, so wird diese Aufgabe viel besser durch Einrichtungen gelöst, welche Störungen verhindern, als durch Einrichtungen, welche eingetretene Störungen ausgleichen. Es wäre aber sehr gut denkbar, dass durch Einführen eines fremden Zellkerns in das Protoplasma, wie es bei der Befruchtung geschieht, ein übermässiges Anwachsen der Wechselwirkungen zwischen Kern und Protoplasma und damit eine übermässige Zunahme der Kernsubstanz auf längere Zeit hinaus verhindert wird.

Was durch Addiren eines fremden Kerns zu einer Zelle erreicht wird, müsste, so sollte man meinen, auch durch Mischung von Protoplasma zweier Zellen erreicht werden können. Bezeichnen wir mit a und b Kern und Protoplasma einer Zelle und mit a' und β die entsprechenden Theile einer zweiten Zelle, so würde durch Protoplasamischung ein ähn-

liches Verhältniss der Zellbestandtheile $\left(\frac{b + \beta}{2} : a\right)$ erreicht werden, wie durch reine Kernbefruchtung $\left(b : \frac{a + \alpha}{2}\right)$. Es würde nur der erstere Vorgang schwieriger zu bewerkstelligen sein als der zweite.

In dieser Weise erklärt sich vielleicht die sogenannte „Plasmogamie“, die bei Rhizopoden weit verbreitete Erscheinung, dass Thiere nur mit ihren Plasmaleibern verschmelzen. Von vielen Seiten werden Plasmogamien als Vorläufer ächter Befruchtung (Karyogamie) aufgefasst. Nach meiner Auffassung würde es sich vielmehr um ein Surrogat handeln, und zwar ein minder wirksames, weil eine gleichmässige Durchmischung zweier Zellplasmen nur durch völlige auch die Kerne betreffende Verschmelzung herbeigeführt werden kann. Die gewöhnlichen Verschmelzungen zweier Rhizopoden werden immer nur einen geringfügigen Stoffaustausch herbeiführen.

Bei Actinosphärium ist Plasmogamie eine weit verbreitete Erscheinung; man hat sich daher daran gewöhnt, ihr keine grössere Bedeutung beizumessen und hat diese Auffassung auch damit gestützt, dass keine besonderen Vorgänge in ihrem Gefolge auftreten. Ich habe lange Zeit auch dieser Auffassung gehuldigt, bin aber von ihr zurückgekommen, seitdem ich durch intensives Studium eine intimere Kenntniss der Lebensvorgänge des Rhizopoden gewonnen habe. Ich habe feststellen können, dass Plasmogamien immer nur unter bestimmten Bedingungen auftreten. Man findet sie bei Culturen, wie ich sie angestellt habe, in den ersten Zeiten so gut wie gar nicht; nach wochenlanger Fütterung werden sie immer häufiger und ausgiebiger, so dass man Plasmogamien findet, deren Producte vielleicht aus 100 Actinosphärien von mittlerer Grösse bestehen und mehrere Millimeter gross sind. Plasmogamien treten ein am Ende gewaltiger Futterperioden oder auch in den Zeiten, in denen die Assimilationsfähigkeit aufgehört hat, d. h. zu Zeiten, in denen Störungen im Wechselverhältniss von Kern und Protoplasma eingetreten sind. Actinosphärien in Riesen-

kernbildung sind sehr häufig plasmogamirt, was man, abgesehen von der Grösse, häufig auch darin erkennen kann, dass die einzelnen Regionen des Riesenthiers sich auf verschiedenen Entwicklungsstufen der Kernumwandlung befinden.

Ich habe in dieser Arbeit versucht, die zur Zeit noch völlig unbestimmten Anschauungen über das Wechselverhältniss, welches bei den Zellfunctionen zwischen Kern und Protoplasma besteht, wenigstens etwas bestimmter zu gestalten. Im Anschluss hieran habe ich ferner versucht, für die physiologische Bedeutung des in seinen morphologischen Erscheinungen so gut erforschten Befruchtungsprocesses eine einheitliche Auffassung zu gewinnen. Diese Auffassung führt, wie ich oben schon andeutete, mit Nothwendigkeit zur Annahme, dass zwischen dem Verlauf der Lebensfunctionen und dem natürlichen Tod, dem durch keine äusseren Schädlichkeiten bedingten Lebensende, ein causaler Zusammenhang besteht. Im Gegensatz zu Weismann nehme ich an, dass schon im normalen Lebensprocess die Keime des Todes enthalten sind, dass der Tod keine zufällige Anpassung ist, sondern die nothwendige Consequenz des Lebens selbst. Somit können auch die Protozoen nicht unsterblich sein in dem Sinne wie Weismann will; sie würden ebenso zu Grunde gehen müssen wie die vielzelligen Thiere, wenn nicht Einrichtungen getroffen wären, welche die schädlichen Wirkungen des Lebensprocesses compensiren. Die wirksamste Einrichtung in dieser Hinsicht ist die Befruchtung, ein Vorgang, bei dem aus dem Material zweier allmählich zum Untergang hinneigender Individuen ein neues lebenskräftigeres Thier geschaffen wird.
