

Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Classe

der

k. b. Akademie der Wissenschaften

zu München.

Band XXV. Jahrgang 1895.

München.

Verlag der K. Akademie.

1896.

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

Zur Kenntniss des Befruchtungsvorganges.

Von **J. Rückert.**

(Eingelaufen 5. Januar.)

Bei einer Untersuchung der sich furchenden Eier von *Cyclops strenuus* traf ich auf ein eigenthümliches Verhalten der Kerne, das in naher Beziehung zum Befruchtungsvorgang steht und von mir im Folgenden geschildert werden soll.

An die grundlegende Entdeckung O. Hertwig's, dass der wesentliche Vorgang bei der Befruchtung in einer Vereinigung der Kerne der beiden Geschlechtszellen beruht, knüpft sich naturgemäss die weitere Frage nach der Art und Weise dieser Verbindung. Besteht dieselbe in einer völligen Verschmelzung, in einer Vermischung der Substanzen beider Geschlechtskerne oder nur in einer Aneinanderlagerung derselben, derart, dass die von den beiden Erzeugern gelieferten Kernbestandtheile sich innerhalb der Kerne des neuen Organismus selbständig erhalten? Wenn wir von dem sogenannten „ersten Furchungskern“ absehen, so spricht der äussere Anschein sehr gegen die letztere Ansicht, denn die Furchungskerne, ebenso wie die Kerne der späteren Embryonalzellen und der fertigen Gewebszellen, erweisen sich, soweit man dieselben bis jetzt kennt, als völlig einheitliche Gebilde, welche von einer Zusammensetzung aus 2 Hälften nichts bemerken lassen. So nahmen denn auch O. u. R. Hertwig eine innige Verschmelzung der beiden Geschlechtskerne an und betrachteten dieselbe sogar als einen wesentlichen und nothwendigen Akt bei der Befruchtung. In einer von beiden

Forschern gemeinsam herausgegebenen Schrift¹⁾ heisst es: „Nur dann, wenn die Substanzen von Ei- und Spermakern sich ganz durchdringen, entstehen Kerne, welche mit allen für die weitere Entwicklung nöthigen Lebenseigenschaften ausgerüstet sind.“ An dieser Auffassung hält O. Hertwig auch noch in einer späteren Arbeit²⁾ fest, nur verlegt er hier mit Rücksicht auf van Beneden's Befunde bei *Ascaris* die Verschmelzung nicht mehr auf den Moment, in welchem die bläschenförmigen Vorkerne zusammentreffen, sondern auf den Zeitraum nach Ablauf der ersten Furchungstheilung.

van Beneden selbst ist hierin anderer Meinung. Aus seiner wichtigen Entdeckung,³⁾ dass bei *Ascaris megalcephala* (*bivalens*) die Vorkerne, ohne mit einander zu verschmelzen, sich in je zwei Chromosomen umwandeln, von denen bei der ersten Furchungstheilung in jeden Tochterkern eine Spalthälfte gelangt, zog er neben anderen bedeutsamen Schlussfolgerungen auch diejenige, dass in den zwei ersten Furchungskernen die zwei väterlichen und zwei mütterlichen Chromosomen in getrennten Gruppen neben einander sich befinden. Und er vermuthete weiter, dass wie die erste, so sich alle folgenden Kerngenerationen verhalten möchten, d. h. dass auch in ihnen die vom Vater und der Mutter abstammenden Kernsubstanzen sich von einander gesondert erhalten. Er stützte diese Annahme auf die weitere Beobachtung,⁴⁾ dass der Mutter-

1) O. u. R. Hertwig: Ueber den Befruchtungs- und Theilungsvorgang des thierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.

2) O. Hertwig: Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Eine Grundlage für celluläre Streitfragen. Arch. f. m. A., Bd. 36, 1890.

3) E. van Beneden: Recherches sur la maturation de l'oeuf, la fécondation et la division cellulaire. Arch. de Biol. T. IV, 1883.

4) E. van Beneden et A. Neyt: Nouvelles Recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'*Ascaride Mégalocéphale*. Bull. de l'Acad. roy. de Belgique. 1887.

knäuel in den Furchungskernen von *Ascaris meg. bivalens* nicht einen continuirlichen Faden bildet, sondern zunächst zwei Fadenstücke, deren jedes alsdann durch Quertheilung zwei Chromosomen liefert. Möglicherweise, so meint van Beneden, entspricht jedes dieser beiden Fadenstücke den zwei Chromosomen eines Vorkerns. Den Beweis dafür konnte er freilich an diesem Object nicht erbringen, und es hat daher die andere Möglichkeit, dass jedes Fadenstück ein väterliches und ein mütterliches Chromosoma enthält, vorläufig ebensoviel Wahrscheinlichkeit für sich. Uebrigens bestreitet Boveri¹⁾ die letztere Beobachtung van Beneden's und Neyt's entschieden und gibt an, dass die vorübergehende Verbindung je zweier Chromosomen zu einem einzigen, in sich geschlossenen, Faden nur eine scheinbare ist, hervorgerufen durch dichte Aneinanderlagerung derselben. Man kann daher aus van Beneden's Untersuchungen nur folgern, dass die väterlichen und mütterlichen Chromosomen getrennt in das Ruhegerüst der zwei ersten Furchungskerne eingehen, ob sie aber aus diesem als gesonderte Gruppen bei der nächsten Theilung wieder hervortreten, das ist nicht gezeigt. Gerade hierauf aber kommt es an, denn in dem zwischen die zwei Theilungen eingeschobenen feinfadigen Ruhegerüst kann eine Vermischung des väterlichen und mütterlichen Chromatins stattfinden.

Es scheint somit, dass bei *Ascaris* unsere Frage überhaupt nicht zu lösen ist, denn würden hier zwei den Vorkernen entsprechende Abtheilungen in den Furchungskernen unterscheidbar sein²⁾ so wäre dies kaum den vortrefflichen Beobachtern entgangen, die sich gerade mit diesem Object

1) Boveri: Zellenstudien. Heft 2. Jena 1888.

2) Nur um diese rein empirisch festzustellende Frage handelt es sich für mich, nicht aber um die von van Beneden damit verknüpfte Ersatztheorie und Lehre vom Hermaphroditismus der Zellkerne. Auch die von Rabl, namentlich aber von Boveri vertretene Ansicht von der Individualität der Chromosomen, der ich

befasst haben. Hingegen dürfte der von mir untersuchte *Cyclops strenuus* in dieser Hinsicht günstigere Untersuchungsverhältnisse bieten, wie aus dem Folgenden hervorgeht.

Ich fand in der ersten Furchungsspindel dieses Copepoden in derjenigen Phase, in welcher die Tochterplatten auseinanderzuweichen beginnen, die den Vorkernen entsprechenden Chromatinportionen durch einen deutlichen Spalt getrennt. Leider treten die Spindelfasern an meinen mit Sublimat fixirten Objekten nicht so scharf hervor, dass man entscheiden könnte, ob auch die Spindel sich aus zwei solchen Hälften zusammensetzt. Häcker¹⁾ hat bei *Cyclops strenuus* eine jüngere Theilungsphase des ersten Furchungskerns, nämlich „den Uebergang aus dem Bläschen- in das Asterstadium“ beobachtet und gibt an, dass hier „die Anlagen von zwei gesonderten Kernspindeln mit vier Centrosomen zu bestehen scheinen.“ Er bildet auch (l. c. Fig. 27a) zwei Spindeln ab, die nur im Bereich des Aequator zusammenhängen, gegen die Pole zu aber weit auseinander liegen. Es wäre von grossem Interesse zu erfahren, ob hier wirklich, wie es den Anschein hat, jeder Vorkern seine eigene Spindel bildet. Auf Grund meines jetzigen Materials kann ich zu dieser Frage keine bestimmte Stellung einnehmen, denn wenn die von mir beobachteten älteren Spindeln überhaupt aus zwei scharf gesonderten Hälften bestehen, dann sind die letzteren

mich selbst mit angeschlossen habe, berührt sich zwar mit der vorliegenden Frage, deckt sich aber mit ihr keineswegs. Denn es wäre einerseits möglich, dass die Vorkerne sich selbständig erhalten, die Chromosomen innerhalb derselben aber nicht, eine Anschauung, die van Beneden vertritt. Aber auch das Umgekehrte wäre denkbar: es brauchen sich die Chromosomen nicht aufzulösen, aber sie könnten sich doch derartig untereinander verlagern und vermengen, dass die den Vorkernen entsprechenden Gruppen alsbald verloren gehen.

1) Häcker: Die Eibildung bei *Cyclops* und *Canthocamptus*. Zool. Jahrb. A. f. A. u. O., Bd. V.

doch sicher mit ihren Polen viel dichter aneinander gerückt als in Häcker's Figur. Die Attraktionssphären allerdings erscheinen hier, sowie auch in den folgenden Furchungstheilungen von auffallender Breite, so dass der Gedanke aufkommen könnte, sie möchten aus je zwei nebeneinander gelegenen Sphären hervorgegangen sein. Andererseits darf aber nicht unerwähnt bleiben, dass ich in dem Befruchtungsstadium, in welchem die noch bläschenförmigen Vorkerne sich berühren, im Ganzen stets nur zwei Sphären fand, für jeden Theilungspol eine einzige, und dass ich diese genetisch auf den Spermakern zurückverfolgen konnte.

Nachdem die Tochterplatten der ersten Furchungsspindel gegen die Pole der Theilungsfigur gerückt sind, finde ich in ihnen die väterlichen und mütterlichen Chromosomengruppen noch weiter von einander getrennt als vorher. Da die Verbindungsfäden sich nur zwischen den correspondirenden Hälften der Tochterplatten ausspannen, so erscheint bei Seitenansicht auch dieser mittlere Abschnitt der Theilungsfigur durch einen breiten Spalt in zwei Hälften zerlegt. Bei Polansicht lassen sich in jeder Hälfte einer Tochterplatte 11 oder 12 Chromosomen zählen, nicht 4, wie Häcker für die Aequatorialplatte der ersten Theilung von *Cyclops strenuus* angibt und abbildet. Im Ganzen enthält also jede Tochterplatte des ersten Furchungskernes die Normalzahl von 22 oder 24 Chromosomen, was mit den von mir¹⁾ bei der Eireifung gefundenen Zahlenverhältnissen übereinstimmt.

Wenn dann weiterhin das Chromatin der Tochterplatten sich in ein Ruhegerüst umwandelt, tritt eine Anzahl bläschenförmiger Unterabtheilungen auf, die anfänglich offenbar den einzelnen Chromosomen des Dyasters entsprechen, wie dies schon für die Furchungskerne bei anderen Objekten wiederholt beschrieben wurde. Die Bläschen beginnen schon früh-

1) Rückert: Zur Eireifung bei Copepoden. Anat. Hefte 1894.

zeitig zu confluiren und zwar innerhalb ein und desselben Kerns in ungleichem Tempo. So möchte ich es wenigstens erklären, dass man neben kleineren, meist peripher gelegenen Bläschen in der Regel auch einige grössere antrifft, welche häufig durch vollständige oder unvollständige Scheidewände wieder in Unterabtheilungen zerlegt erscheinen. Indem schliesslich alle Abtheilungen zusammenfliessen und die unregelmässigen Vorbuchtungen und Zerklüftungen der Kernoberfläche verschwinden, tritt eine einheitliche Kernblase auf. Bei diesem Vorgang, der nicht nur nach Ablauf der ersten, sondern auch der späteren Furchungstheilungen zu beobachten ist, macht sich die Zusammensetzung des Kerns aus zwei Hälften bemerkbar. Zwar rücken die den Vorkernen entsprechenden Abtheilungen jetzt dicht zusammen, aber man kann sie bei einigermassen günstiger Lagerung des Kerns doch noch recht deutlich unterscheiden, namentlich bei Anwendung schwächerer Vergrösserung, bei welcher man einen besseren Ueberblick über den gesammten Kern erhält als mit Hilfe der Immersion. Wenn die erwähnten Unterabtheilungen des Kerns schon confluirten sind, und ein einheitliches Ruhegerüst aufgetreten ist, lässt sich die Grenze der beiden ursprünglichen Kernhälften in Gestalt einer Scheidewand noch erkennen, welche senkrecht zum grössten Durchmesser des länglichen Kerns steht. Diesen Zustand der beiden ersten Furchungskerne hat Häcker (l. c.) schon bei *Cyclops tenuicornis* gesehen und dahin gedeutet, dass die zwei Abtheilungen des Kerns selbständig gebliebene Abkömmlinge der Geschlechtskerne seien. Solange die vorausgegangenen Theilungsphasen nicht bekannt waren, konnte man die Berechtigung dieser Auffassung anzweifeln, nachdem sich aber jetzt bei *Cyclops str.* die beiden Kernhälften an einer lückenlosen Entwicklungsserie von der ersten Furchungsspindel bis zur Ruhephase der Tochterkerne haben verfolgen lassen, erscheint dies nicht mehr möglich.

Aus der Ruhephase der zwei ersten Furchungskerne konnte ich nur wenige Eier untersuchen, die demselben Thier angehören und sich daher auch in genau dem gleichen Entwicklungszustand befinden. Ich kann daher nicht sagen, ob im weiteren Verlauf der Ruhephase die Trennung der beiden Kernhälften aufgehoben wird. Sicher aber ist, dass beim Uebergang zum Knäuel der zweiten Theilung von einer Scheidewand innerhalb des Kernraumes an meinen Präparaten nichts mehr zu sehen ist. Nur an der Kernmembran fand ich bei einem Theil der Objekte an der betreffenden Stelle noch eine Einkerbung. Der Chromatinknäuel selbst erscheint bei einigen Kernen einheitlich, bei anderen in zwei Hälften zerlegt. Das Gleiche gilt für die Aequatorialplatte der zweiten Furchungsspindel. Im Dyaster hingegen liess sich wieder die Zusammensetzung der länglichen Tochterplatte aus zwei Hälften in der Mehrzahl der Kerne mit aller Deutlichkeit erkennen. Es ist offenbar in dieser Theilungsphase ein Auseinanderweichen der Kernhälften leichter möglich, als in der Aequatorialplatte, was sich aus der Mechanik des Theilungsvorganges erklären lässt. Auch im Dyaster der zweiten Furchungstheilung war ich im Stande, bei Polansicht das oben mitgetheilte Zahlenverhältniss der Chromosomen für beide Hälften der Tochterplatte festzustellen, so dass die Ableitung der letzteren von den Vorkernen nicht bezweifelt werden kann. Es wird hierdurch die eingangs aufgestellte Frage, ob aus den Ruhekerne der ersten Theilung die väterlichen und mütterlichen Chromosomen wieder in getrennten Gruppen hervorgehen können, in bejahendem Sinne entschieden.

Von der dritten Theilung habe ich den Dyaster nicht zu Gesicht bekommen, doch konnte ich im Mutterknäuel und in der Aequatorialplatte für einen Theil der Kerne noch ebenso eine Zusammensetzung aus zwei Hälften nachweisen wie bei der zweiten Theilung. In den folgenden Furchungs-

stadien wird diese Erscheinung während der eigentlichen Theilungsphasen immer seltener, und nur noch beim Uebergang zur Ruhephase treten die Kernhälften in der oben beschriebenen Weise hervor. Oft sieht man ausser der Scheidewand auch an der Oberfläche der länglichen Kerne eine Einschnürung, wodurch das ganze Gebilde Bisquit- resp. Bohnenform erhält. Diese Einkerbung bleibt, nachdem die Scheidewand geschwunden, oft noch als einziges Merkmal der ursprünglichen Trennung erhalten. Zuweilen erscheint auch die eine Kernhälfte intensiver gefärbt als die andere, offenbar weil ihr Chromatin sich noch im Zustande stärkerer Concentration befindet. Da diese Doppelkerne sich im Wesentlichen noch ebenso verhalten, wie diejenigen, welche nach Ablauf der ersten und zweiten Theilung auftreten, so müssen sie auch in dem gleichen Sinne wie jene gedeutet werden. Der Umstand, dass während der mittleren Furchungsstadien die Duplicität der Kerne bloss bei Eintritt der Kernruhe, in den eigentlichen Theilungsphasen dagegen nur mehr ausnahmsweise sichtbar ist, beweist nichts gegen die vorgebrachte Auffassung. Es lässt sich vielmehr diese Erscheinung in ungezwungener Weise damit erklären, dass die Chromosomen innerhalb der karyokinetischen Figuren zu dieser Zeit schon dichter gelagert sind, als während der ersten Theilungen, ein Verhalten, das offenbar auf die zunehmende Verkleinerung des Zellenleibes und die dadurch bedingte Raumbegung zurückzuführen ist.

In späten Furchungsstadien und während der Keimblätterbildung weist ein immer kleiner werdender Bruchtheil der im Ei vorhandenen Kerne eine Zusammensetzung aus zwei Hälften auf. Doch konnte ich vereinzelt solcher Kerne soweit verfolgen, als ich meine Untersuchungen überhaupt ausgedehnt habe, nämlich bis zu dem Stadium der dreigliedrigen Larvenanlage. Es muss daher die Möglichkeit zugegeben werden, dass schon während der Furchung eine

totale Verschmelzung und Vermischung der beiden ursprünglichen Kernhälften eintritt, wenigstens bei einem Theil der Kerne, während bei den übrigen dieser Vorgang erst später einsetzen würde. Mindestens ebenso berechtigt erscheint aber die gegentheilige Auffassung. Nur während der ersten Furchungszeit theilen sich sämtliche Kerne des Eies gleichzeitig, später dagegen nur mehr ein Theil derselben und dieser Bruchtheil wird immer geringer, je weiter die Entwicklung fortschreitet. Man darf daher gar nicht voraussetzen, in vorgerückteren Entwicklungsstadien eine grössere Anzahl von Kernen in dem für unsere Untersuchung geeigneten Zustand anzutreffen. Dafür muss man aber erwarten, einige wenige derselben in einem jeden derartigen Ei vorzufinden. Man begegnet aber auch hier bei genauerem Zusehen wohl stets einigen Kernen, welche die Spuren einer Zusammensetzung aus zwei Stücken erkennen lassen.

Es sind mehrere Forscher darauf ausgegangen, der Zelle einen bilateral symmetrischen Bau zu vindiciren, indessen haben derartige Versuche sich bisher als nicht durchführbar erwiesen. Die bei Cyclops vorhandenen Doppelkerne zeigen nun eine bilaterale Symmetrie. Und wenn die Zusammensetzung des Kerns aus zwei Hälften während der Mitose sichtbar ist, was für die ersten Furchungstheilungen von Cyclops gilt, dann liegt eine bilaterale Symmetrie der gesammten Zelle vor, von dem Augenblicke an, in welchem die Einstellung der Chromosomen in den Aequator der Spindel vollendet ist. Die Symmetrieebene schneidet die Aequatorialplatte resp. die Tochterplatten in einem Winkel von 90° und theilt sie in zwei Hälften, deren eine vom männlichen, deren andere vom weiblichen Vorkern abstammt.

Die mitgetheilten Beobachtungen beziehen sich nur auf embryonale Zellen. Es wäre von Interesse zu wissen, ob sie auch für die Gewebszellen des fertigen Thieres Geltung besitzen. Eine Untersuchung in dieser Richtung verspricht

indess von vornherein wenig Erfolg wegen der geringen Grösse der betreffenden Kerne; ist doch schon die Beurtheilung der älteren Embryonalstadien aus diesem Grunde sehr erschwert. Im ausgebildeten Thier existirt nur eine einzige Art von Zellen, in welchen das Chromatin innerhalb eines verhältnissmässig sehr grossen Kernraumes liegt; es sind das die reifenden Eizellen. Wenn sich die väterlichen und mütterlichen Chromosomengruppen bis in diese Zellgeneration selbständig erhalten würden, dann könnten sie hier, wo sie einer räumlichen Beengung nicht mehr unterworfen sind, auch gesondert zum Vorschein kommen und zwar von dem Zeitpunkt ab, in welchem die kurzen und compacten Chromosomen der ersten Richtungsspindel aus dem feinfadigen Keimbläschengerst hervorgegangen sind. In der That zeigen nun bei Cyclops diese Chromosomen, wenn sie aus der Peripherie des Keimbläschens gegen den Aequator der zukünftigen Richtungsspindel vorrücken, eine Gruppierung, die sehr auffallend ist und schon von Häcker und später mir selbst erwähnt und abgebildet wurde, ohne dass jedoch einer von uns sie zu der vorliegenden Frage in irgend welche Beziehung gebracht hätte. In mehreren seiner Arbeiten stellt Häcker¹⁾ Keimbläschen dar, in deren Peripherie, an zwei gegenüberliegenden Punkten, sich eine Anhäufung von vier chromatischen Doppelstäben befindet. Dass diese Gruppierung der Chromosomen in Häcker's Präparaten eine sehr reguläre gewesen sein muss, geht nicht nur aus seinen Abbildungen sondern auch aus der Deutung hervor, welche er der Erscheinung gab. Er betrachtete die 2 Gruppen als die Tochterplatten der eben vollzogenen Richtungstheilung, eine Auffassung, die, wie ich an anderer Stelle (l. c.) gezeigt habe,

¹⁾ l. c. Fig. 22. Derselbe: Das Keimbläschen, seine Elemente und Lageveränderungen. I. Arch. f. m. A. Bd. 41. Fig. 11. Derselbe: Die Kerntheilungsvorgänge bei der Mesoderm- und Entodermbildung von Cyclops. Ibidem Bd. 39, Fig. 31.

schon deshalb nicht richtig ist, weil die erste Richtungstheilung in dem fraglichen Stadium sich erst vorbereitet. Ich selbst¹⁾ habe mir diese Gruppenbildung der Doppelstäbe, die übrigens an meinen Objekten zahlreichen individuellen Schwankungen unterliegt, früher nicht erklären können. Nachdem sich aber jetzt herausgestellt hat, dass sich in den Kernen der befruchteten Cyclopseier zwei den Vorkernen entsprechende Abtheilungen über eine Anzahl von Furchungstheilungen hinaus gesondert erhalten können, liegt es nahe, die räthselhaften Chromosomengruppen des reifenden Eies auf diese Abtheilungen zu beziehen. Das Zusammentreffen der beiden Erscheinungen ist jedenfalls ein so auffälliges, dass man es nicht unberücksichtigt lassen darf. Auf der andern Seite muss aber ausdrücklich betont werden, dass die Gruppenbildung individuell variiert. Dass eine Gruppe wieder in Unterabtheilungen aufgelöst sein kann, scheint mir weniger von Belang, wenn dies Verhalten auch zu Beginn des betreffenden Reifungsstadiums die Orientirung oft erschwert und zuweilen unmöglich macht. Mehr in Betracht kommt das Zahlenverhältniss zwischen beiden Hauptgruppen. Zu Anfang des Stadiums ist die Zählung der Doppelstäbe schwierig, und kann ich daher nicht angeben, ob die Gesamtzahl derselben im Keimbläschen 11 oder 12 beträgt. Wenn die Einstellung in den Aequator der Spindel fast vollendet ist, finde ich stets 11. Nur bei einem Theil dieser Eier stehen die beiden Gruppen in dem Verhältniss von 5:6, bei anderen fand ich 4:7 und sogar 3:8. Man müsste also, wenn man die Gruppen auf die ursprünglichen Kernhälften bezieht, jedenfalls die Möglichkeit zulassen, dass in individuell wechselnder Weise einzelne Chromosomen aus der einen Gruppe sich lösen und sich der anderen anschliessen. Ohne auf die Consequenzen einzugehen, welche sich hieraus für den Reductions-

¹⁾ l. c.; Fig. 12 und 15.

vorgang ergeben würden, möchte ich doch zu erwähnen nicht unterlassen, dass gerade die berührten individuellen Differenzen sich mit einer Vererbungsthatsache (Ungleichheit der successiven Kinder eines Elternpaares) in Einklang setzen liessen, welche von mehreren Forschern (Weismann, Boveri) mit der Chromosomenreduction in Verbindung gebracht wird. Durch welche Einrichtungen in der Kernstruktur die Gruppenbildung hervorgerufen oder erhalten wird, ob durch achromatische, nicht sichtbare Verbindungsfäden zwischen den zusammengehörigen Chromosomen oder durch ein Eingreifen entsprechend angeordneter Spindelfasern, ist vorläufig nicht zu ermitteln.
