

113,570.9

116

Die parthenogenetische Furchung des Hühnereies.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten medicinischen Facultät der Kaiserlichen

Universität zu Jurjew (Dorpat)

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

H. Lau.

Ordentliche Opponenten:

Prosector Dr. V. Schmidt. — Prof. Dr. K. Dehio. — Prof. Dr. D. Barfurth.



Jurjew (Dorpat).

Gedruckt bei C. Mattiesen.

1894.



Das Thema der vorliegenden Arbeit verdanke ich Herrn Prof. D. Barfurth, ihm sage ich hiermit für die freundliche Hülfe bei derselben, sowie für alle Anregung während meiner Studienzeit meinen aufrichtigsten Dank. Ebenso dem Herrn Prosector Dr. med. V. Schmidt und Herrn Assistenten Dr. med. D'olschansky spreche ich hiermit meinen Dank für ihr liebenswürdiges Entgegenkommen aus.

An dieser Stelle will ich auch die Gelegenheit ergreifen, allen meinen hochverehrten Lehrern an hiesiger Hochschule für die mir in reichem Masse gebotene wissenschaftliche Anregung und Belehrung meinen Dank auszusprechen.

Einleitung.

Die Parthenogenesis ist eine bei den niedrigstehenden Tieren sehr häufig vorkommende Fortpflanzungsart. Bei den höherstehenden, besonders den Wirbeltieren, ist durchaus die Vereinigung beider Geschlechter notwendig, um Nachkommenschaft zu erzeugen.

Von manchen dieser auf zweigeschlechtlichem Wege sich fortpflanzenden Tieren wird aber in der Litteratur berichtet, dass ihre Eier auch ohne Befruchtung einen Ansatz zur Entwicklung machen, worauf sie absterben.

So ist z. B. vom Froschei von mehreren Beobachtern übereinstimmend mitgeteilt worden, dass es sich ohne Befruchtung zu furchen beginne; dieser Process höre aber bald auf.

Pflüger prüfte diese Angaben sorgfältig nach und kam durch Versuche, die mit allen Vorsichtsmassregeln gemacht waren, zu dem Ergebnis, dass sich kein Froschei ohne Befruchtung furcht und die angebliehe spontane Entwicklung auf das Eindringen abgeschwächter Spermatozomen zurückzuführen ist.

Auf Grund dieser von Pflüger gemachten Entdeckung schlug mir Herr Prof. D. Barfurth vor, durch neue Experimente festzustellen, ob etwa die vielfach beobachtete Furchung nicht befruchteter Hühnereier im Eileiter dieselbe Ursache habe, die von Pflüger für das Froschei festgestellt ist, oder ob hier vielleicht eine andere Ursache vorläge. Denn da nach unserer jetzigen Kenntnis die echte parthenogenetische Entwicklung auf die niederen Metazoen (Wirbellose) beschränkt ist, und wir durch Pflüger's Versuche

auf die Fehlerquellen der Beobachtungen hingewiesen sind, so ist eine sorgfältige Prüfung der vorliegenden positiven Angaben über parthenogenetische Entwicklung bei den Wirbeltieren sehr wünschenswert. Eine solche Prüfung habe ich in Bezug auf das Hühnerei durch neue Versuche vorgenommen, über die ich in der nachfolgenden Arbeit berichte.

I. Historische Uebersicht.

A. Echte Parthenogenesis mit vollständiger Entwicklung.

Den Ausdruck „Parthenogenesis“ finden wir zuerst (1849) in Owen's¹⁾ Einleitung in die entwicklungsgeschichtlichen Vorlesungen. Er braucht das Wort hier aber nicht in dem jetzt gebräuchlichen Sinne, da er darunter die beim Generationswechsel auftretende ungeschlechtliche Fortpflanzung verstand. Freilich verbesserte er diesen Ausdruck bald, indem er in einer am 21. Juli 1851 gehaltenen Vorlesung dafür „Metagenesis“ setzte. Siebold²⁾ dagegen war in seinem Schriftchen über wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen der erste, welcher den Begriff „Jungfernzeugung“ wissenschaftlich scharf fasste, indem er den Unterschied zwischen dieser und dem Generationswechsel hervorhob. Er verstand jetzt unter Parthenogenesis eine Zeugung, bei welcher von ausgebildeten Weibchen unbefruchtete Eier gelegt werden, die sich entwickeln.

Schon aus früheren Jahrhunderten liegen Beobachtungen über Parthenogenesis vor, was man *lucina sine concubitu* — eine Geburt ohne Begattung — nannte. Bei diesen Fällen dachte man aber nicht daran, dass sich das unbefruchtete Ei allein entwickeln könnte, sondern erklärte es sich durch Zwitterbildung oder anders, denn das Dogma von der geschlechtlichen Vereinigung des männlichen mit dem weiblichen Individuum zum

Zwecke der Zeugung war zu tief eingewurzelt. Charakteristisch für die damalige Anschauung ist Réaumur's Antwort an C. de Castellet. Letzterer, welcher Generalinspector der sicilianischen Seidenspinnerei war, beobachtete, dass die unbefruchteten Eier des Seidenspinners (*Bombyx mori*) sich entwickeln; er machte daraufhin Réaumur, welcher damals Präsident der Pariser Akademie war, darüber Mitteilung, erhielt aber nur die lakonische Antwort: „ex nihilo nihil fit!“

Siebold sammelte nun die bis zu seiner Zeit publicirten Fälle von Parthenogenesis und unterwarf sie in der oben erwähnten Schrift ⁽²⁾ einer scharfen Kritik; er kam zum Resultat, dass die früheren Untersuchungen ohne die nötigen Vorsichtsmassregeln gemacht seien; und zum Beweis dafür gaben die Versuche, die er selbst unter den nötigen Cautelen zur Controlle anstellte, negative Resultate. In dem folgenden Teile seiner Arbeit giebt dann Siebold den strengen Beweis für die wahre Jungferzeugung bei der Honigbiene und einigen Schmetterlingen.

Siebold's Arbeit rief eine grosse Litteratur über diesen Gegenstand hervor (welche O. Taschenberg ³⁾ sorgfältig zusammengestellt hat), und es wurde Parthenogenesis bei vielen Tieren konstatiert, aber fast nur bei Arthropoden. Ausserhalb dieses Tierkreises sind nur wenige Beispiele bekannt.

B. Abortive*) Parthenogenesis in Folge Eindringens nicht lebenskräftiger Spermatosomen oder äusserer Reize.

Bei den höherstehenden Tieren, besonders den Wirbeltieren, ist eine Fortpflanzung nur durch eine Vereinigung beider Geschlechter möglich, eine echte Parthenogenesis findet nicht mehr statt. Trotzdem wird in der Litteratur von einzelnen Species berichtet, dass ihre Eier sich ohne Befruchtung zu furchen be-

*) abortiv, weil die Entwicklung vor Erreichung ihrer vollständigen Ausbildung aufhört.

ginnen. Diese Entwicklung schreitet aber nicht weit fort, sondern hört früher oder später auf, so dass es nicht zur Ausbildung eines fertigen Individuums kommt.

Die niedrigste Tierklasse, in der eine abortive Parthenogenese vorkommt, wird durch die Echinodermen präsentirt. Hier hat Hertwig⁴⁾ bei *Asterias glacialis* und *Asteropecten* die Entwicklung unbefruchteter Eier beobachtet; dieselbe schreitet aber nur bis zum Blastulastadium fort.

C. Vogt (cit. aus Leucart⁵⁾) beobachtete bei den unbefruchteten Eiern einer Meerschnecke, *Firola*, eine Dotterzerklüftung bis zur Bildung der Embryonalzellen, so dass sich einzelne Dotter selbst mit Wimperhaaren bedeckten und zu drehen anfangen.

Von Fischeiern liegen Beobachtungen vor von Burnett und Agassiz (cit. aus Oellacher⁶⁾ p. 221). Burnett giebt an, dass er noch im Eierstock von *Gadus Morrhua* Eier gefunden habe, die deutlich zeigten, dass der Furchungsprozess schon begonnen hatte. Er hielt sie für unbefruchtet, da sie noch im Eierstock waren.

Agassiz hielt aber diese Eier für befruchtet, weil er Fische gesehen habe, die ihr Abdomen innig genähert hatten, während der „Eingang zum Ovarium“ beim Weibchen weit offen stand.

In derselben Arbeit giebt Agassiz aber noch das blosse Faktum an, dass Fischeier sich auch unbefruchtet furchen können.

Bei Fröschen haben schon mehrere Beobachter Parthenogenese gesehen, ich will nur Bischoff und Leucart (cf. Oellacher⁶⁾ p. 220) anführen. Letzterer⁵⁾ sagt in R. Wagner's Handwörterbuch der Physiologie, dass man bei unbefruchteten Froscheiern hin und wieder die ersten Furchungsstadien und zwar Zwei- und Vierteilung finde. Die späteren Stadien seien in der Regel höchst unregelmässig, bis die einzelnen Furchungskugeln auseinanderfallen, und der ganze Dotter sich in eine breiige Masse auflöst.

Unter den Vögeln ist vornehmlich das Huhn, von dem berichtet wird, dass seine unbefruchtet gelegten Eier sich gefurcht haben. Doch darauf will ich hier weiter nicht eingehen, da später davon ausführlicher die Rede sein wird.

Von Furchung unbefruchteter Kaninchen Eier berichtet uns Hensen⁷⁾. Er fand das rechte Uterushorn bei einem weissen Kaninchen atrophisch und vom Eileiter völlig getrennt. Dieser war im Uebrigen normal, ebenso Fimbrien und Eierstock. In dem blinden Ende des Eileiterganges fanden sich gegen 100 Eier, welche verschiedene in bestimmte Richtung gehende Entwicklungsstadien zeigten. Die jüngsten Eier enthielten eine ziemlich matt aussehende mehr oder weniger zerbröckelte Protoplasmamasse mit einem oder mehreren Kernen. Andere Eier waren kleiner bis unter Normalgrösse herab und zeigten 2, 3, 4, 8 und noch mehr Abteilungen ihres Protoplasmas, noch andere waren in die Länge gestreckt und mit vielen Abteilungen des Protoplasmas versehen. Bei weiteren Stadien hatten die Zellen einfache und verzweigte Fortsätze getrieben, welche von einer hellen Hülle, einer Fortsetzung der zona pellucida, umgeben waren und als Inhalt ungleich grosse Protoplasmaabteilungen besaßen.

Die Protoplasmaabteilungen, welche gewöhnlich nicht vollständig getrennt sind, entstehen nach Hensen dadurch, dass die innere Schicht der zona pellucida durch Anhäufung der mittleren in die Protoplasmamasse gedrückt werde.

Bischoff⁸⁾ hat Parthenogenese bei einer Sau beobachtet. Diese war brünstig geworden und hatte bis zu dieser Zeit an einem Ort gelebt, wo kein Eber vorhanden war; sie wurde 5 Tage nach Eintritt der Brunst getötet. In jedem Ovarium fanden sich 8 ganz frische gelbe Körper, die Eier aber waren schon in den Uterus gewandert, wo er 11 derselben fand; sie waren nicht grösser als die aus dem Ovarium ohne Discus. Ihre einzige Hülle war die Zona. Von einem Discus war nicht die mindeste Spur mehr vorhanden. In einigen Eiern bildete der Dotter eine einzige Masse, in den meisten aber war er in eine verschiedene Zahl von Kugeln geteilt: einer war in zwei,

ein anderer in zwei grosse und wahrscheinlich vier kleine, ein dritter in 16 bis 20 Kugeln zerfallen, was nicht genau zu konstatiren war, da die Kugeln übereinander lagen; ihre Grösse war auch verschieden. Es war ihm unmöglich in diesen Kugeln das Keimbläschen (la vésicule transparente) zu finden, welches er bei normalen (befruchteten) Eiern nie vermisste.

Die Ungleichheit in der Grösse der Furchungskugeln erklärt Autor dadurch, dass sie unbefruchtet sind, wobei er auf die unregelmässige Furchung bei unbefruchteten Fisch- und Froscheiern hinweist.

Ausserdem findet er es sehr wahrscheinlich, dass in den beschriebenen Eiern der Furchungsprocess ein Ende hat, und die Auflösung beginnt.

In dieser Ansicht wurde er bestärkt durch einen Befund bei einer anderen Sau, welche kurz nach der Brunst getötet wurde und bis dahin nicht besprungen war. Dort fand er wieder im Uterus Eier. Die Eier zeigten eine nahe bevorstehende Destruktion: sie waren etwas kleiner als die oben beschriebenen; ihr Dotter war nicht so dicht wie es immer bei den reifen Eiern der Fall ist; der Dotter war unregelmässig gefleckt, aber nicht in Kugeln geteilt, welche wahrscheinlich schon aufgelöst waren.

Eine sonderbare Beobachtung teilt Tichomiroff⁹⁾ mit. Ihm war bekannt, dass befruchtete Eier des Seidenspinners (*Bombyx mori*) sich gewöhnlich im Sommer nicht vollständig entwickeln, aber durch mechanische und chemische Reize (conc. Schwefelsäure und Bürsten — wie er anführt) dahin gebracht werden, dass sie sich noch in demselben Sommer zu Räumchen entwickeln. Davon ging er aus und behandelte unbefruchtete Eier des Seidenspinners mit conc. Schwefelsäure oder bürstete sie stark. Am 6. Tage erhielt er durch die Schwefelsäure Embryonen mit seröser Hülle, beim Bürsten aber trat der für die beginnende Entwicklung charakteristische Farbenwechsel ein. Er schliesst daraus, dass die Eier von *Bombyx* sich parthenogenetisch entwickeln können, und dass die Entwicklung durch Reize hervorgerufen werden kann.

Im Anschluss an Tichomiroff's Beobachtung teilt Dewitz¹⁰⁾ mit, dass er unbefruchtete Froscheier sich regelmässig und unregelmässig furchen sah, wenn sie in Sublimat (ohne Angabe der Concentration) gewesen waren.

Roux¹¹⁾ (p. 11, Anmerk.) wiederholte an Froscheiern die Versuche mit verschiedenen starken Sublimatlösungen (0,001—1, 4%) und fand, dass die Eier regelmässig und unregelmässig aufplatzten; aus diesen Spalten drang etwas flüssiger Dotter heraus, gerann und täuschte bei flüchtiger Betrachtung Furchung vor. Es wäre sehr gut, wenn Tichomiroff's Versuche auch noch einer Controlle unterworfen würden.

Pflüger¹²⁾, welcher über Bastardzeugung bei den Batrachiern arbeiten wollte, musste zu diesem Zwecke über die behauptete spontane Entwicklung der Froscheier vollständige Gewissheit haben, und stellte daher Versuche darüber an. Da er beobachtet hatte, dass die Männchen zur Zeit der Brunst sehr reizbar sind und ihren Samen manchmal entleeren, bevor das Weibchen gelaicht hatte, so führte Pflüger die abortive Parthenogenese bei den Fröschen auf das Eindringen der im Wasser suspendirten Samenfäden zurück. Und gerade das Absterben der sich entwickelnden Eier erklärt er durch die Wirkung der abgeschwächten Spermatozöen. Gewöhnlich ist der Vorgang bei der Befruchtung der, dass das Männchen auf dem Weibchen sitzt, und sobald letzteres die Eier ausstösst, seinen Samen darüber entleert. Hier also wirkt der Samen in seiner vollen Kraft, da er ganz frisch abgesondert wird. Befindet sich aber der Samen längere Zeit im Wasser, so wird er abgeschwächt und hat nicht mehr die volle Wirkung auf das Ei; infolge dessen tritt nur eine teilweise Entwicklung auf.

Von der Ansicht also ausgehend, dass unter Umständen im Wasser noch Samen vorhanden sei, welcher die abortive Parthenogenese verursache, schlug Pflüger bei seinen Versuchen folgenden Weg ein:

„Die Froschweibchen wurden in besonderen Gefässen, nachdem sie von den Männchen isolirt waren, wiederholt mit

„immer erneutem Wasser übergossen, um allen anhängenden „Samen fortzuschwemmen, und zwei Tage darauf zum Versuche „verwandt. Das zu benutzende Wasser, welches die Eier auf- „nehmen sollte, war abgekocht und wieder abgekühlt, alle Instru- „mente, mit denen die Operation am Tiere ausgeführt werden „sollte, waren längere Zeit in siedendem Wasser erhitzt. Wenn „er dann die Eier aus dem Uterus in mit jenem unschädlich ge- „machtem Wasser gefüllte Uhrsälchen brachte, trat niemals „unter Tausenden von Eiern die Spur einer Furchung ein. Je- „desmal führte er am Schluss aller Operationen einem Uhrglas „eine Spur von Samen zu — und hier entwickelten sich natür- „lich wie gewöhnlich fast alle Eier.“

Damit hat Pflüger glänzend bewiesen, dass eine abortive Parthenogenesis bei den Batrachiern nicht vorkommt, sich also kein Batrachierei ohne Befruchtung entwickelt.

Auf Grund dieses Pflüger'schen Resultates schlug mir Herr Prof. D. Barfurth vor, die vielfach behauptete spontane Entwicklung des Hühnereies nachzuprüfen.

Ueber meine Untersuchungen und Ergebnisse berichte ich im folgenden Abschnitt. Doch zunächst will ich noch eine kurze Uebersicht über die einschlägige Litteratur geben.

Die älteste mir zugängige Schrift über das unbefruchtete Hühnerei ist ein Aufsatz von Prévost und Dumás¹⁸⁾. Sie unterscheiden die befruchtete Keimscheibe von der unbefruchteten. Die letztere besteht nach ihnen aus einer weissen, körnigen Masse, welche von hellgelben, wenig unterscheidbaren Kreisen umgeben ist. Bei Loupenbetrachtung bemerkt man, dass die mittlere, weisse, kompakte Substanz von einer gürtelförmigen Substanz umgeben ist, welche aus Strahlen besteht, die von der weissen Masse ausgehen und mit einander verbunden sind; durch diese Massen sieht man den gelben Dotter durch. Schon Malpighi sollen nach ihrer Angabe diese Unterschiede bekannt gewesen sein.

Ausser von der Oberfläche haben beide Autoren die Keimscheibe weiter nicht untersuchen können, da sie zerfiel, sobald sie dieselbe isoliren wollten.

Auch schon Bebrütungsversuche haben sie angestellt; sie kamen zum Resultate, dass das Aussehen der Keimscheibe dasselbe bleibe mit Ausnahme von 3 Fällen unter den 500 Eiern, die sie dazu verwandt hatten. In diesen Ausnahmefällen war die Keimscheibe verkleinert und zeigte Löcher.

Coste¹⁴⁾ (p. 76 ff.) hat in seiner Entwicklungsgeschichte auch unbefruchtete Hühnereier berücksichtigt. Er konstatirt, dass in der unbefruchteten Keimscheibe die Furchung viel später beginnt, als in der befruchteten. Auch die Vacuolen, die er als schleimige, durchscheinende Tropfen in der Keimscheibe beschreibt, sind ihm bekannt. Im unteren Teil des Eileiters fand er sie in geringer Zahl und von nicht bedeutender Grösse, während sie bei älteren Eiern zahlreicher und grösser sind.

His¹⁵⁾ spricht sich nur ganz kurz über die unbefruchteten Eier aus: die Keimscheibe ist meist etwas kleiner als normal und der Gegensatz von area pellucida und area opaca fehlt. Die Keimscheibe ist reichlich von Vacuolen durchsetzt und in der Mitte am dicksten; sie besteht aus feinkörniger Masse, welche durch die Vacuolen die Anordnung eines Balkengerüstes hat.

Oellacher⁶⁾ dagegen hat sich das unbefruchtete Hühnerei zum Thema einer besonderen, grösseren Arbeit genommen. Er kommt zum Ergebnis, dass der Keim des Hühnereies, auch ohne befruchtet zu werden, im Stande ist während der intrametralen *) Periode organische Veränderungen durchzumachen, welcher Vorgang insofern der Furchung des befruchteten Eies analog zu halten sei, als hier wie dort der Keim in kernhaltige Zellen zerfalle.

Die näheren Resultate sind aber wie folgt. Am frischgelegten, unbefruchteten Hühnerei unterscheidet er drei Zonen:

1) Eine homogene, mehr oder weniger undeutlich concentrisch geschichtete Aussenzone von gelblicher Farbe.

*) Unter intrametraler Periode versteht Oellacher (18, p. 67) die Zeit zwischen der Befruchtung und dem Legen des Eies. Beim unbefruchteten Ei wird seine Periode wohl mit dem Eintritt der Furchung beginnen.

2) Eine wie von Löchern durchsetzte gefleckte innere Zone.

3) Einen centralen, gelblich weissen, wieder homogenen oder bei stärkerer Vergrösserung körnigen Fleck.

Die Maasse dieser drei concentrischen Zonen können wechseln, und besonders die der gefleckten (zweiten) können zunehmen auf Kosten des centralen Fleckes; ebenso ist die Gestalt und Grösse des letzteren verschieden.

Auf Durchschnitten, deren Schnittrichtung gleichgültig zu sein scheint, da die Formelemente zusammen immer eine bikonvexe Masse bilden, erhält er folgendes Bild:

ad 3) dem weissen Fleck entsprechend liegt in der Mitte eine bikonvexe, oben stark abgeplattete, etwas wellige Linse, welche aus grossen Formelementen besteht. Diese Linse wird an den Seiten und unten von

ad 2) einer feinkörnigen vakuolisirten Substanz umgeben. Diese beiden Schichten sind wiederum von beiden Seiten und unten von

ad 1) weissen Dotter umgeben.

Die Vacuolenschicht als Ganzes ist gegen die Masse der Formelemente stets scharf kontourirt, ganz ähnlich wie der Boden der Keimhöhle des befruchteten Eies; in den weissen Dotter jedoch geht dieselbe ohne scharfe Grenzen über.

Noch deutlicher spricht er sich auf p. 215 aus, indem er sagt, dass die Vakuolenschicht ursprünglich vom Keime ausgehe und nicht vom Dotter, obgleich sie letzterem anhafte. Eine Keimhöhle ist aber nicht vorhanden, denn die Vacuolenschicht folgt den grösseren Unregelmässigkeiten der nach innen gewandten Convexität des Kernes ziemlich genau, während sie über kleinere Unebenheiten in manchen Eiern hinwegzieht; diese Lücken sind entweder leer oder es liegen in ihnen lose kleinere, runde Formelemente; diese sind von den meist ziemlich unveränderten Elementen des weissen Dotters erfüllt und erinnern sehr an die Kugeln auf dem Boden der Keimhöhle des befruchteten Hühnereies. Hie und da sieht man ein, wie die centrale Masse granulirtes Formelement lose von einer Vacuole um-

geschlossen. Es liegt daher nahe anzunehmen, dass alle Vacuolen, oder doch wenigstens ein grosser Teil derselben früher von Formelementen erfüllt waren. Manchmal sieht man zwei oder mehrere Vacuolen unter einander communiciren, was durch Zusammenfluss geschehen ist. Die Vacuolen haben keine Membran, obgleich eine solche im Schnitt zu sehen ist; denn frisch unter dem Mikroskop untersucht, hat Oellacher nie etwas Aehnliches wie Vakuolen, etwa helle Bläschen, gesehen; und da die Vacuolen durch Confluenz sich vergrössern, so glaubt er erst recht nicht an Membranen.

Da die vacuolenhaltige Innenzone sich auf Kosten des centralen Fleckes vergrössert, und die Formelemente in ihr wie der centrale Fleck feingranulirt sind, so deuten die Vacuolen eine regressive Metamorphose an, d. h. Eier, welche Vacuolen besitzen, haben schon den Höhepunkt ihrer Entwicklung hinter sich; daher: je weniger Vacuolen, desto früher ist das Stadium.

Die Grösse der Formelemente des Kernes wechseln in den verschiedenen Eiern sehr, ebenso oft in demselben Ei nach gewissen Stellen hin: häufig kleinere in den oberen Schichten, besonders in der Mitte; dagegen grössere am Rande und in den tieferen Schichten.

Manche von den Formelementen zeigen einen scharfkontourirten, rundlichen, hellen, selten dunkleren Körper in ihrem Innern, selten zwei, oder wie Oellacher sich einmal überzeugt zu haben glaubte, drei. Diese Formelemente oder Zellen sind meist dichter granulirt als die Furchungszellen der befruchteten Eileitereier.

Dann giebt Oellacher eine kurze Charakteristik, worin sich befruchtete und unbefruchtete Eier unterscheiden:

1) Die unbefruchtete Keimscheibe ist kleiner als die befruchtete.

2) In der Innenzone der unbefruchteten Keimscheibe findet man Vacuolen, was ein sicheres Zeichen für Nichtbefruchtung ist, denn bei frischgelegten befruchteten Eiern sind Vacuolen

wenigstens nie von aussen zu sehen Ihr Fehlen sagt aber nicht, dass ein Ei befruchtet sei.

3) Im befruchteten Ei treten Vacuolen oft am Ende der intrametralen Periode auf, bei unbefruchteten vorher nie in grosser Zahl.

4) Am bebrüteten unbefruchteten Ei fehlen die Vacuolen nach einer gewissen Zeit meist vollkommen; dagegen treten bei Bebrütung der befruchteten Eier Vacuolen hart unter der Oberfläche des Keimwalles auf, und zwar zur Zeit der beginnenden Entwicklung des mittleren Keimblattes und sind am schönsten entwickelt um die 14–16 Stunde.

Als Analogon der Vacuolenschicht im unbefruchteten Ei ist Keimwall und Boden der Keimhöhle im befruchteten zu betrachten, aber Keimwall und Boden der Keimhöhle bestehen aus weissem Dotter, während die Substanz der Vacuolenschicht viel feinkörniger und kompakter ist, etwa wie der Keim oder die aus ihm hervorgegangenen Formelemente.

In den unbefruchtet frischgelegten Eiern ist keine Spur von beginnender Schichtung in Blätter zu finden; die Form aller Furchungskugeln zusammen ist ein mächtiger bikonvexer Körper, während bei entsprechendem Stadium des befruchteten Eies die Keimscheibe eine flachlinsenförmige ist, welche schon zu dieser Zeit fast in ihrer ganzen Ausdehnung vom weissen Dotter abgehoben ist.

Dann zeigen viele Zellen des unbefruchtet frischgelegten Eies viel grössere Dimensionen, wie die Zellen des befruchteten Eies bei weniger fortgeschrittener Zerklüftung. Dieses lässt auf enorme Aufnahme von Nahrungsmaterial aus dem Dotter schliessen, wie auch die Randzellen mit Dottermaterial vollgeprofft sind. Die unbefruchteten Zellen verarbeiten daher nicht so rasch, wie die befruchteten.

Bei den unbefruchteten Eiern unterscheidet Oellacher zwei Typen, die bei seinem nicht zu umfangreichen Material ohne Vermittelung dastehen; bei dem einen zeichnet sich der Keim durch Tiefe aus, bei dem anderen durch Länge und Flachheit; bei letzterem finden sich auffallend wenig Vacuolen und

eine geringere oft stellenweise fehlende Vacuolenschicht. Ferner hat er die Lücken, welche er mit einer rudimentären Keimhöhle vergleicht, mit den in ihnen liegenden Furchungselementen auch nur an langen und flachen Keimen gefunden.

Bevor Oella cher im zweiten Teil seiner Arbeit auf die Eileitereier übergeht, beschreibt er noch ein gelegtes, aber unentwickeltes Ei. Die Oberfläche desselben zeigte keine einzige Vacuole und kein körniges Aussehen. Die Narbe erschien überall gleichartig, nur ein offenbar der Aussenzone entsprechender Ring derselben zeigte die gewöhnliche, undeutliche konzentrische Streifung. Durchschnitte durch diesen Keim zeigten ein ähnliches Bild wie Eierstockseier aus späterer Zeit ohne das Keimbläschen, von dem aber auch sicher keine Spur mehr vorhanden war.

An dieses noch keine Entwicklung aufweisende Stadium schliessen sich dann die sich immer weiter und weiter entwickelnden Eileitereier. Dabei schien es ihm, dass der Gang der Furchung nicht immer ganz genau den Typus einhält, welchen das befruchtete Ei zeigt, sondern dass gleich schon im Beginne Abweichungen vorkommen können.

Zum Schluss geht der Autor noch auf Bebrütungsversuche über und hat gefunden, dass dabei eine regressive Metamorphose eintritt, der aber eine Vermehrung und Verkleinerung der Zellen vorhergeht; diese Veränderung beginnt in der Mitte. Die Zellen der unteren Schicht scheinen grösser geworden zu sein und mit gröberem Dotterelementen gefüllt, als am frischgelegten unbefruchteten Ei. Nach 2—3 Tagen der Bebrütung machte sich eine fortschreitende Vermehrung der Zellen am Rande und eine stets zunehmende Auflösung solcher in der Mitte bemerkbar: viele Zellen wurden undeutlich und von mancher war nur der Kern in einer feingranulirten formlosen Masse erkennbar. Allmählich wurde die Grenze zwischen weissem Dotter und Keimmasse undeutlich, während sie dort, wo noch Zellenvermehrung statt zu haben schien, also am Rande des Präparates, noch scharf und deutlich war. Die Vacuolen

verloren sich mehr und mehr mit der Verflüssigung der Keimmasse und erschienen zunehmend schwächer kontourirt.

Motta-Maia, in dessen Arbeit ich leider keine Einsicht nehmen konnte, hat den Bau der unbefruchtet gelegten Eier einer Turteltaube beschrieben. Nach M. Duval¹⁶⁾ (p. 28, Anm.) sind seine Resultate sehr ähnlich denen Oellacher's.

M. Duval¹⁶⁾ welcher über die ersten Stadien des befruchteten Eies gearbeitet hat, bedurfte zu seiner Arbeit Eier, die der Orientirung wegen mit einer Schale versehen sein mussten. Da nach Oellacher ein gelegtes unbefruchtetes Hühnerei in seiner Entwicklung etwa einem befruchteten Eileiterei entspricht, so nahm Duval zum Ersatz etwaiger schalenloser Stadien des befruchteten Eies unbefruchtete mit Schalen versehene Eier zu seinen Untersuchungen. Da es ihm aber hauptsächlich auf Lageverhältnisse ankam, so hat er die unbefruchtete Keimscheibe in anderen Beziehungen wenig berücksichtigt. Er konnte nur Oellacher's Angaben bestätigen. Bei künstlichen Bebrütungsversuchen stellte er fest, dass aus dem primitiven Entoderm kein Entodermblatt sich bildet, d. h. die unbefruchteten Eier erreichen dabei nicht die Entwicklung, welche ein frischgelegtes, befruchtetes Ei hat. Zum Unterschied von Oellacher hat er eine Höhle — *cavité de segmentation* — zwischen dem Haufen der Furchungszellen entdeckt. Diese „Höhle“ wird aber von Kionka¹⁷⁾ auf doppelte Fixirung resp. Härtung zurückgeführt.

Letzterer Autor, der auch die jüngsten Stadien des Hühnerkeimes bearbeitet hat, fand unter seinem Material Eier, die er für möglicherweise unbefruchtet hielt. Die Keimscheibe war bei denselben zuweilen ganz, zuweilen teilweise mit zahlreichen Vacuolen durchsetzt. An solchen vacuolisirten Stellen war das Keimplasma noch völlig ungefurcht, oder es waren durch ein paar unregelmässige Furchen einige grosse verschieden geformte Plasmaschollen abgegrenzt, welche fast nie einen Kern in sich schlossen.

Die Vacuolen fasst er auch als Absterbeerscheinung auf.

II. Eigene Untersuchungen.

A. Experimente.

a. Versuche über die Lebensdauer der Spermatozomen.

Aus später zu erörternden Gründen war es mir wünschenswert zu erfahren ob die Spermatozomen noch länger wie 18 Tage lebenskräftig resp. befruchtungsfähig sind. Harvey¹⁹⁾ (Exercit. 39. p. 135.) z. B. giebt an, er habe durch Experimente festgestellt, dass noch das 20. Ei, welches nach der Trennung des Huhnes vom Hahn gelegt wurde, befruchtet und entwicklungsfähig sei. Danach würde eine Ejaculation bei einem Huhn, das fleissig legt, noch bis zum 20—30. Tage befruchtend wirken können.

Coste (14, p. 91 ff.) dagegen kommt zu einem viel kürzeren Termin. Er hatte auch die Hühner vom Hahn getrennt und fand nach 18 Tagen kein befruchtetes Ei mehr. Er stellte dabei noch fest, dass zwischen den befruchteten auch hin und wieder ein unbefruchtetes gelegt wird.

1. ausserhalb des Körpers.

Angeregt durch Piersol's²⁰⁾ Arbeit machte ich nach seiner Methode einige Versuche. Er hat nämlich auf einen Objekträger frische menschliche Samenflüssigkeit gebracht und diese mit einem Deckglase zugedeckt, dessen Kanten, um Verdunstung zu verhüten, mit Vaseline bestrichen wurden. Diese Präparate wurden in Glaszylinder fest verschlossen und dann in fließendes Wasser gestellt, um eine niedrige Temperatur zu erhalten. Nach 9 Tagen erhielt er noch bei einigen Spermato-

somen eine schwache Bewegung, nachdem er sie erst längere Zeit einer Temperatur von + 25° C. ausgesetzt hatte. Zur Kontrolle setzte er ebensolche Präparate einer beständigen Temperatur von + 24° C. aus und schon am 4. Tage hörte die Bewegung auf.

Ich machte auch auf dem Objekträger vor Verdunstung geschützte Präparate mit Spermiosomen vom Hahn fertig, stellte sie aber in den Brutschrank, um die Temperatur, welche im Eileiter der Hühner vorhanden ist, zu erhalten. Bei diesem Vorgehen war aber schon am folgenden Tage keine Bewegung mehr zu sehen.

Ich veränderte daraufhin das Verfahren, indem ich natürlichere Bedingungen einführte. Zu diesem Zweck präparierte ich aus dem eben getöteten Hahn das Samenbläschen und ein Stück des Samenleiters heraus, band sie an beiden Seiten mit steriler Seide ab und hängte die Präparate direkt in sterile 0,5% Kochsalzlösung, welche sich in einem sterilen Reagensgläschen befand. Als ich nach 10 Tagen die Präparate auf Spermiosomen untersuchte, fand ich sie vollständig intakt, aber ohne Bewegung.

Zur Kontrolle hatte ich noch von allen Hähnen gleich nach Anfertigung der Präparate etwas Sperma untersucht und immer lebhaftige Bewegung der Spermiosomen gefunden.

2. im vas deferens und in den vesiculae seminales nach der Castration des Hahnes.

Auf Herrn Prof. D. Barfurth's Vorschlag stellte ich jetzt Versuche mit castrirten Hähnen an. Da mir die Operation nicht gelingen wollte, so war Herr Prof. W. Gutmann am hiesigen Veterinär-Institut so liebenswürdig sie für mich auszuführen, wofür ich ihm hier nochmals meinen aufrichtigsten Dank ausspreche.

Zwölf vollständig geschlechtsreife Hähne wurden castrirt, indem die Hoden abgedreht wurden. Teils blieben dieselben in der Bauchhöhle zurück, zum grössten Teil wurden sie aber aus dem Körper ganz entfernt. Leider war der Hühnerstall, in dem die operirten Tiere untergebracht wurden, verseucht, so dass

alle bis auf zwei in den ersten zehn Tagen zu Grunde gingen.

Von diesen beiden Hähnen wurde einer am 14. Tage nach der Operation getötet, der letzte Teil beider Samenleiter bis zur Kloake lospräpariert und herausgeschnitten. Diese ungefähr 3 cm. langen Stücke wurden in mehrere kleinere Teile zerschnitten, welche dann auf einem Objekträger ausgedrückt wurden. Das Glas wurde kaum getrübt, so wenig Inhalt war im Samenleiter vorhanden. Darauf wurde nach Zusatz von 0,5% NaCl.-Lösung das Präparat unter dem Mikroskop untersucht. Es fanden sich in jedem Präparate nur einzelne wenige Spermatozomen, welche in lebhafter Bewegung waren. Der andere Hahn wurde am 24. Tage nach der Castration getötet, es fanden sich aber nur einzelne leblose Spermatozomen. Diese Versuche werden fortgesetzt, da sich für die operierten Tiere ein gesunder Stall Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. W. Gutmann gefunden hat.

b. Versuche über die Dauer der Befruchtungsfähigkeit der Spermatozomen nach einem Coitus.

Um nicht nur unbefruchtete Eier zu erhalten, sondern auch etwa bestimmen zu können, wann die befruchtende Kraft der Spermatozomen aufhört, liess ich am 29. April 94 5 Hühner durch einen Hahn befruchten und isolierte sie dann in einem vollständig abgeschlossenen, aber Luft und Licht genügend Zutritt gewährenden Stall. Den Schlüssel nahm ich selbst in Verwahrung und besorgte auch selbst die Hühner. Da die Hühner sehr spärlich legten, so begann ich schon am 21. Tage mit dem Schlachten, um einer neuen Serie Platz zu machen.

Am 23. Tage nach der Isolierung fand ich bei einem Huhn in der Kloake ein kleines hartschaliges Ei, wie sie unten näher werden beschrieben werden. Diesem Huhn wurden gleichzeitig die grossen Ovarialeier entnommen.

Am selben Tage fand ich bei einem anderen Huhn ein weichschaliges Ei im Eileiter nahe vor dem Uterus.

Bei den übrigen Hühnern fand ich bei der Section keine Eier, untersuchte aber bei allen 5 den Eileiter auf Spermatozomen, indem ich mit dem Messer etwas Schleim abwischte und unter das Deckglas brachte, erhielt aber keine positiven Resultate.

Unter den 21 Eiern, die diese 5 Hühner in 22 Tagen gelegt hatten, befanden sich 7 kleine, welche einen Längsdurchmesser von 28—30 mm. besaßen. Ihr Inhalt bestand nur aus klarem, geruchlosen Eiweiss mit einigen darin suspendirten Fäden, welche an Chalazen erinnerten. Der gelbe Dotter fehlte!

Die zweite Serie bestand aus 3 Hühnern, welche am 26. Mai vom Hahn getrennt wurden. Sie legten im Verlauf von 34 Tagen 53 Eier. Am 34. Tage wurde ein Huhn getötet und ihm ein Ei mit weicher Schale, welches sich im Uterus befand, entnommen. Bei den übrigen Hühnern wurde bei der Section kein Ei gefunden.

Die dritte Serie bestand aus 15 Hühnern, welche am 8. Juli isolirt wurden. Von allen diesen legten fast nur 2 Hühner Eier, so dass ich im Verlauf von 47 Tagen nur 52 Eier erhielt.

Bei einem am 47. Tage geschlachteten Huhn fand ich ein weichschaliges Ei, welches schon mit einem Teile in den Uterus eingedrungen war; bei den übrigen fand ich nichts.

Die in den ersten Tagen nach der Isolirung gelegten Eier zeigten bei der makroskopischen Untersuchung von einander etwas abweichende Flächenbilder. In der Mitte war ein gelber mehr oder weniger weisslich getrübtter Kreis, dessen Durchmesser 2—3 mm. betrug. Oefter war er zum Centrum hin stärker weisslich getrübt oder hatte dort einen runden oder länglichen weissen scharf umschriebenen Fleck. Dieser weisslichgelbe Kreis war von einem mehr oder weniger breiten, weissen Ring umgeben, dessen Durchmesser im Maximum 7 mm. betrug. Gewöhnlich aber war er schmaler und wurde öfter von 1—2 weissen Kreislinien, deren Durchmesser nie mehr als 7 mm. betrug umgeben.

Bei einigen wenigen Eiern finden wir in dieser Zeit und bei oben beschriebenem Bilde auch schon vereinzelt Vacuolen,

und zwar nicht nur in dem weissen Ringe, sondern auch in dem gelblichen Kreise, aber nur in seinen peripheren Teilen. Ungefähr am 17.—20. Tage ändert sich das Bild. Der Kreis wird weisser, so dass er zuerst in's Auge fällt; der Ring blasst ab, nähert sich also in seiner Farbe der des Dotters, oder wir finden an seiner Stelle nur mehrere oder eine concentrische mehr oder weniger deutlich zu sehende Kreislinie; ausserdem treten Vacuolen zahlreich auf. Am meisten Verschiedenheiten bietet aber der mittlere Kreis dar. Bei manchen Eiern ist er gleichmässig weiss, bei anderen ist in einem gelben Felde ein weisser, unregelmässiger Fleck zu sehen, welcher nicht nur excentrisch, sondern auch manchmal in einer Hälfte des Kreises liegt; der weisse Fleck hat die verschiedensten Gestalten, ist häufig scharf begrenzt, geht aber auch diffus in die Umgebung zur Peripherie über; auch hier giebt es Uebergänge, indem eine Seite des weissen Fleckes scharf begrenzt ist, während er an der anderen sich auflöst, diffus endigt.

Vacuolen findet man in dem weissen Fleck nur bei wenigen Eiern, und dann nicht viele. Ihr Hauptgebiet ist zwischen dem Fleck und der Peripherie des mittleren Kreises; dieser ist manchmal nicht abzugrenzen, da er in einigen Fällen zur Peripherie hin so gelb wird wie die Umgebung; dann wird man aber durch die Vacuolen auf die Grenze hingewiesen, da dieselben in ihrer Gesammtheit immer einen Kreis bilden, und nie andere, etwa vieleckige Figuren.

Am Ende der Versuche wurden die Hühner getötet und ergaben folgendes. Ein weichschaliges Ei, das schon mit einem Ende in den Uterus getreten war, zeigte beim Losschneiden noch vollständig dickflüssiges Eiweiss. Die Keimscheibe bot ein sehr einfaches Bild dar: ein deutlich weisser, scharfumgrenzter Kreis (Dm. 2,75 mm.) mit einem stärker weissen runden Fleck in der Mitte war von zwei concentrischen Ringen umgeben, einem gelben (Dm. 3,5 mm.) und einem weissen (Dm. 4,0 mm.). Die anderen beiden Eier, welche aus dem distalen Ende des Eileiters stammen, zeigen beinahe dasselbe Bild, nur ist der weisse Ring zu einer Kreislinie zusammengeschrunpft, und der gelbe infolge dessen breiter geworden.

c. Versuch mit jungfräulichen Hühnern.

Um Eier zu erhalten, bei welchen jegliche Einwirkung der Spermatozomen vollständig auszuschliessen war, verschaffte ich mir Ende Juni zwei noch nicht geschlechtsreife Küken, welche am 1. April aus dem Ei gekrochen waren. Es gelang mir nicht noch mehrere solcher Küken zu finden, daher musste ich mich mit diesen zweien begnügen. Sie wurden isolirt. Am 15. August erhielt ich das erste Ei. Wie alle ersten Eier war auch dieses sehr klein: die Länge betrug 40 mm., während die der normal grossen Eier 50 mm. und noch mehr beträgt. Das Gelbe vom Ei war auch sehr klein: 24 mm. gegen c. 35 mm. Die Keimscheibe selbst hatte aber die normale Grösse und bot dasselbe Bild dar, wie wir es schon bei den gelegten Eiern gefunden haben, nur waren die Vacuolen viel zahlreicher vertreten; sie nahmen den ganzen mittleren Kreis bis auf den weissen Fleck, der stark zusammengeschrumpft war, ein. Nach aussen waren die Vacuolen zuerst von einer etwas breiteren gelben Kreislinie und darauf von einer dünneren weissen umgeben.

Am folgenden Tage erhielt ich ein zweites Ei, dessen Länge schon auf 44 mm. gestiegen war, und dessen Dotter auch schon 25 mm. betrug. Zum Unterschied von den vorigen Keimscheiben waren hier die Vacuolen weniger dicht gedrängt, nahmen aber auch mit Ausnahme des kleinen weissen Fleckes den ganzen Kreis ein. Die Vacuolen wurden von einem 1 mm. breiten Ringe eingeschlossen, der auf der einen Seite (zum breiten Eipole hin) gleichmässig weisslichgelb war, während die andere Seite aus einem breiten gelben Streifen bestand, der von zwei weisslichgelben Linien eingefasst wurde.

Das dritte Ei (Länge 47 mm. und Dotter 25 mm.) wurde erst am 29. August gelegt und bestand aus einem vollständig vacuolisirtem Kreise, der von zwei Ringen umgeben war, einem gelben und einem weissen. Den 31. August erhielt ich das 4. und letzte Ei (Länge 47 mm., Dotter $26\frac{1}{2}$ mm.). Der Kreis, der von einem weissen Ringe umgeben war, und auch der weisse Fleck waren überall von grösseren Vacuolen durchsetzt.

Alle vier Eier stammen von einem Huhn; das andere Huhn legte überhaupt nicht. Da ich weiter keine Eier erhielt, tötete ich am 12. September beide. Im Ovarium fand ich nur ganz kleine helle Bläschen. Abgesehen vom kalten Wetter, mag auch die zu gute Nahrung — die beiden Hühner waren sehr fett —, oder überhaupt die Gefangenschaft das Reifen und Ablegen der Eier verhindert haben.

d. Bebrütungsversuche.

Um die Vorgänge bei der Bebrütung unbefruchteter Eier besser verfolgen zu können, schnitt ich aus der Schale ein so grosses Stück heraus, dass ich die Keimscheibe bequem übersehen konnte. Das Ei wurde dann mit einer ziemlich enganschliessenden Glasschale bedeckt, um die Verdunstung so viel wie möglich aufzuhalten. Um eine einigermaßen sichere Garantie zu haben, dass dieser Eingriff nicht etwa störend auf die Entwicklung des Embryo einwirke, machte ich einen Kontrollversuch mit einem Ei vom sechsten Tage nach dem Coitus. Die Bebrütung ging normal vor sich, und als ich am dritten Tage den ausgebildeten Gefässhof nebst kräftig pulsirendem Herzen sah, brach ich den Versuch ab. Der Embryo entsprach beinahe vollständig der Fig. 20 auf der Tafel XII von His (15). Da die weiteren Bebrütungsversuche in den Spätsommer fielen, so machte ich noch öfters Controlversuche mit befruchteten Eiern, welche sich in ungefähr 48 Stunden so weit entwickelten, dass man die Anlage des Centralnervensystemes deutlich erkennen konnte, ebenso noch den Rest des Primitivstreifens.

Im Vergleich zu dieser Entwicklung der befruchteten Eier will ich einzelne Versuche mit dem Material anführen, welches ich von den nach dem Coitus isolirten Hühnern erhalten habe.

Ein Ei vom 7. Tage zeigte einen gelben Kreis, der von einem vacuolisirten weissen Ring umgeben war; es wurde in

den Brütöfen gestellt. Nach 48 Stunden waren die Vacuolen verschwunden und der weisse Ring hatte sich bedeutend ausgedehnt. Von einem Primitivstreifen war nichts zu bemerken.

Bei einem Ei vom 13. Tage fand ich folgendes Oberflächenbild: ein weisser Ring umgab einen gelben Kreis, welcher in der Mitte einen runden weissen Fleck hatte. Soweit entsprach das Bild einer befruchteten Keimscheibe, was man aber weiter sah, waren dagegen Kennzeichen der Nichtbefruchtung. Es war nämlich noch im gelben Kreise ungefähr in der Mitte zwischen Centrum und Peripherie ein etwas breiterer Streifen zu sehen, der die Form eines Viertelkreises besass. Ausserhalb dieses weissen Streifens, zwischen ihm und dem weissen Ring sind Vacuolen in dem gelben Kreise sichtbar. Um nun zu entscheiden, ob das Ei wirklich befruchtet sei, stellte ich es in den Brütöfen, und erhielt nach 48 Stunden einen Embryo, bei dem das Centralnervensystem deutlich in der Ausbildung begriffen war, so dass man den Primitivstreifen nur noch als kurzen Strich bemerkte.

Die übrigen wenigen Keimscheiben, welche bebrütet wurden und jünger als 19 Tage waren, entwickelten sich so gut wie die befruchteten Probeeier. Von den Eiern, welche am 19. Tage und später gelegt und dann bebrütet wurden, zeigten alle dieselben Veränderungen, daher will ich nur 2 verschieden weit fortgeschrittene Stadien beschreiben. Ich will gleich hier bemerken, dass zur Controlé gleichzeitig befruchtete Eier bebrütet wurden; diese entwickelten sich.

Als erstes führe ich ein Ei an, welches am 40. Tage nach der Isolirung gelegt und drei Tage bebrütet wurde. Die Keimscheibe zeigte den gelben Kreis, der bis auf den linken unteren Theil vom weissen Fleck ausgefüllt ist. In dieser freien Stelle sind Vacuolen zu sehen, ebenso im inneren weissen Ring, deren zwei den gelben Kreis concentrisch umgeben. Nach 3 Stunden tritt im äusseren weissen Ring eine gelbe Linie auf, welche nach 24 Stunden denselben vollständig geteilt hat. In dieser Zeit ist der innere Ring verschwunden und an seine Stelle sind Vacuolen getreten; diese haben sich auch im gelben

Kreise auf Kosten des weissen Fleckes vermehrt. Nach 3 Tagen ist der Befund folgender: die Vacuolen haben auf Kosten des weissen Fleckes stark zugenommen, sind aber undeutlich geworden. Vordem waren die Vacuolen sehr deutlich, weil sie von dicken, weissen Ringen umgeben waren oder in einer weissen Masse lagen; diese Masse schwindet immer mehr oder wird heller, so dass der Kontrast wegfällt.

Ein weiteres Stadium zeigt ein Ei, das am 19. Tage gelegt und 6 Tage bebrütet wurde. Die Keimscheibe des frischgelegten Eies zeigte nur den gelben Kreis, der bis auf den centralen weissen Fleck vollständig vacuolisirt war. Nach 6 Tagen war nichts mehr von den Vacuolen zu sehen, sondern nur ein Gerüst von undeutlich weissen Balkchen, welche auch im Centrum der Keimscheibe zu sehen waren. Es machte den Eindruck, als ob zwischen Netzwerk und darunterliegendem Pander'schen Kern eine klare Schicht sich befände.

Von einem anderen Bebrütungsversuch möchte ich noch eine Beobachtung mitteilen. Ich habe schon bei dem Ei, das 6 Tage bebrütet wurde, bemerkt, dass dort der äussere weisse Ring im Verlauf von 12 Stunden durch eine gelbe Kreislinie in zwei Teile geteilt wurde.

Viel deutlicher sah ich diese Veränderung bei einem Ei, das am 3. Tage gelegt war. Hier war der weisse Ring sehr breit. Nach 9 Stunden war in seiner Mitte ein gelber Ring aufgetreten und hatte den weissen bis auf die innere und äussere Kreislinie vollständig absorbirt. Nur unten war der gelbe Ring auf eine kleine Strecke getrennt, indem hier die äussere und innere Kreislinie durch eine weisse Brücke zusammenhingen.

Ich will sodann hier ganz kurz eine kleine Beobachtung mitteilen, die ich vorgenommen hatte, um zu konstatieren, wie die von der runden Form abweichenden Zellen im frischen Zustande aussehen.

Zu diesem Zweck entnahm ich der Mitte und den seitlichen Partien der frischen Keimscheibe eines Eies von 23. Tage post coitum mit der Messerspitze eine kleine Substanzmenge und

brachte sie in 0,5% Kochsalzlösung unter das Mikroskop. Die Untersuchung fand an warmen Sommertagen statt. Von eckigen Gebilden fand ich nichts; es waren nur Kugeln zu sehen, welche feiner und gröber gekörnt waren und auch die charakteristischen Dottereinschlüsse besaßen. Die Grösse der Kugeln war sehr verschieden: von den kleinsten bis zu ungeheuer grossen waren welche zu sehen.

Bald zogen Teilungsvorgänge meine Aufmerksamkeit auf sich. Von den grossen Kugeln schnürten sich kleinere ab, welche an der Peripherie der Mutterkugel liegen blieben oder weiter schwammen. Einmal habe ich sogar bemerkt, dass sich zwei kleine Kugeln nach der Reihe abschnürten. Bald hörten die Teilungsvorgänge auf, und es fanden sich noch hin und wieder einige Kugeln, welche eine Einschnürung zeigten, die stationär blieb.

B. Methode der Untersuchung.

Die mit etwas Dotter abgenommene Keimscheibe wurde in Salpetersäure, welche Schifferdecker²¹⁾ in einer sehr starken Verdünnung (sp. 9.1,02) für sehr junge Embryonen empfiehlt, fixirt. Diese Methode gab betriedigende Resultate. Die weitere Behandlung war die gewöhnliche.

Als Färbemittel benutzte ich Boraxcarmin (nach Grenacher); dabei stellte es sich heraus, dass der Farbstoff auf Eier, welche sehr spät nach der Isolirung gelegt waren, und ebenso auf Eileiter- und Ovarialeier eine bedeutend längere Zeit einwirken musste, um dieselbe Stärke in der Färbung zu ergeben, wie sie bei Eiern, welche in der ersten Zeit nach der Isolirung gelegt waren, schon nach einer kürzer dauernden Einwirkung eintrat. Die Keimscheiben wurden dann in Paraffin eingebettet und in Schnittserien von 5–6 μ Schnittdicke zerlegt.

C. Mikroskopische Befunde.

a. Ovarialeier.

Das Ovarialei bei isolirt gehaltenen Hühnern unterscheidet sich durch nichts von dem der mit dem Hahn zusammenlebenden Hühnern. Das war auch von vornherein anzunehmen, da die Befruchtung ja im Eileiter stattfindet. Oellaacher (6, p. 67 u. 68) weist schon auf die Unmöglichkeit hin, dass die Befruchtung im Ovarium stattfinde, denn dann müssten die durch einen Coitus befruchteten Eier gleich weit entwickelt sein. Er fand seinen Schluss auch bestätigt, als er im Eileiter rings um ein Ei, das nachträglich eine Furche zeigte, eine beträchtliche Menge von Spermiosomen fand; dieselben sah er ausserdem noch im Eiweiss.

Da nach His (15, p. 21) die Angaben über das Ovarialei insofern verschieden sind, als einige Autoren, darunter K. E. v. Baer und Allen Thomson, angeben, dass das Keimbläschen schon im Ovarium verlorengelasse resp. der Rand desselben eingerissen sei, so will ich kurz auch meine Befunde angeben.

Bei den Follikeleiern welche ungefähr die Hälfte oder zwei Drittel der Grösse des Eileitereies ohne accessorische Hüllen erreicht haben, fand ich das Keimbläschen in der feinkörnigen Masse der Keimscheiben schon dicht unter der Dotterhaut; es hatte bei den verschiedenen Präparaten von einander nicht bedeutend abweichende Formen. In einem Präparat hatte es auf dem Durchschnitt das Aussehen eines etwas plattgedrückten Kreises. In diesem Kreise lag eine Masse, welche sich ein wenig von der Peripherie zurückgezogen hatte und feiner gekörnt war, wie die Keimscheibe. In anderen Präparaten war das Keimbläschen dagegen halbkreisförmig, indem die Sehne parallel der Dotterhaut verlief, während der Bogen mit seiner Convexität zum Centrum des Dotters sah. Der Halbkreis war von derselben feinkörnigen Masse, wie oben erwähnt, erfüllt. Diese Masse nahm bei anderen Keimscheiben aber nicht mehr den

ganzen halbkreisförmigen Raum ein, da sie eine biconvexe Gestalt angenommen hatte; infolge dessen berührte sie oben nur in der Mitte die Sehne resp. ihre Membran. An beiden Seiten befanden sich daher Lücken. Aber auch ein biconvexes, linsenförmiges Keimbläschen habe ich gesehen, welches beinahe vollständig den ihr angewiesenen Raum einnimmt und sich gar nicht retrahirt hat. Noch ist zu bemerken, dass die feinkörnige Masse des Keimbläschens am Rande an manchen Stellen etwas aufgelockert ist, ja ein feinmaschiges, unregelmässiges Netzwerk darzustellen scheint.

Ovarialeier, deren Grösse zwischen zwei Drittel und der vollen Grösse des Eileitereies schwankt, zeigen schon etwas andere Bilder. In dem Keimbläschen nimmt die feinkörnige Masse nur die Hälfte oder noch weniger des ihm vorgeschriebenen Raumes ein, so dass sich eine grosse Lücke vorfindet. Diese Lücke ist gewöhnlich zum Teil von einer weitmaschigen aus feinen Fäden bestehenden Masse ausgefüllt. Bei einem Ei, das schon die normale Grösse erreicht hatte, sah ich vom Keimbläschen nichts mehr. An seiner Stelle fand ich ein feinfädiges Maschenwerk, welches in Form einer flachen Scheibe die Mitte des Bildungsdotters einnimmt.

b. Eileitereier.

An dieses Eierstocksei schliesst sich als folgendes Stadium ein Eileiterei, welches einem Huhn, das am 47. Tage nach der Isolirung und Befruchtung geschlachtet wurde, entnommen ist. Es war schon mit einem Teil in den Uterus eingetreten, während das andere sich noch im Eileiter befand. Das Eiweiss war noch durchweg dickflüssig. Das Oberflächenbild ist schon früher kurz beschrieben (pag. 25). Ein Durchschnitt durch die Mitte der Keimscheibe (Fig. 1) zeigt eine gleichmässig feingekörnte biconvexe Masse, welche aus ebensolchen feinen und dichtgelagerten Körnern (Fig. 1 b) besteht, wie die Keimscheibe eines Ovarialeies. Die zum Dotter gewandte Seite ist stärker gekrümmt, wie diejenige, welche an die Dotterhaut stösst; die Gestalt ist also etwa

dieselbe, wie sie die Linse des menschlichen Auges hat. An den Seiten und unten geht die Keimscheibe allmählich in gröbere, weiter von einander liegende Körner über, aber bei der Gesamtansicht sah man doch eine Grenze (Fig. 1, u.) zwischen Keimscheibe und anliegendem Dotter. Von einem Kern war keine Spur zu finden, ebenso auch nicht die Stelle, wo früher das Keimbläschen sass.

Etwas weiter entwickelt war ein anderes Ei, welches sich bei einem Huhn, das am 23. Tage nach der Isolirung getötet wurde, im distalen Ende des Eileiters vorfand. Die Schale war weich und das Eiweiss noch dickflüssig. Hier zeigt der Durchschnitt schon eine beginnende Furchung, die aber von der des befruchteten abweicht. In den mittleren Schnitten sieht man eine Furche, welche die ganze Dicke der Keimscheibe durchsetzt. An dem der Dotterhaut zugewandten Ende dieser Furche sitzt eine kleine Furchungskugel, welche vollständig von der übrigen Keimscheibe getrennt ist. Verfolgt man die Schnitte weiter, so wird die Furchungskugel immer kleiner, bis sie schliesslich verschwindet. Die Furche ist aber immer noch als eine feine senkrechte Linie zu sehen. Geht man die Schnitte noch weiter durch, so gesellt sich bald zu ihr eine zweite senkrechte Linie, welche bald, nachdem sie beinahe die ganze Dicke der Keimscheibe durchsetzt hat, horizontal umbiegt und schliesslich die erste Linie erreicht. Auf diese Weise wird ein neues Furchungselement, welches im Gegensatz zum ersteren von beinahe geraden Linien umgrenzt wird und ungefähr 4—5 mal so gross wie jenes ist, abgetrennt. Kerne sind nicht zu finden.

Ein Stadium, welches etwas weiter fortgeschritten ist, zeigt ein Eileiterei, welches am 33. Tage nach der Isolirung dem Uterus eines Huhnes entnommen wurde. Die Schale war noch weich und nicht verkalkt; das Eiweiss war noch dickflüssig. Hier waren drei bis vier Furchungskugeln auf den mittleren Schnitten zu sehen, aber sie zeigten noch mehr Unregelmässigkeit in Gestalt und Grösse. Ein Kern ist auch hier nicht vorhanden. Die Keimscheibe dieser beiden letzten Eileitereier weicht in ihrer

Form und Struktur in keiner Beziehung von der des ersten Eileiters ab.

Zum Vergleich mit den unbefruchteten Eileitereiern und den später zu beschreibenden gelegten unbefruchteten Eiern will ich hier kurz ein befruchtetes Ei aus dem distalen Ende des Eileiters beschreiben. Die Schale war noch vollständig weich und transparent, das Eiweiss noch dickflüssig. Die Keimscheibe (Fig. 2.) welche schon in eine Menge Furchungskugeln (Fig. 2 f.) zerfallen ist, wird durch die Furchungshöhle (Fig. 2 fh.) vom darunterliegenden Dotter getrennt. An den Seiten aber hängen die Furchungselemente mit dem weissen Dotter zusammen. Die nicht seltenen Kerne sind fast alle hübsch rund und deutlich zu sehen. Auf weitere Details gehe ich nicht ein, da mir diese Angaben für meine Arbeit genügen.

c. Eier, welche die befruchteten und vom Hahn isolirten Hühner gelegt haben.

Die in der ersten Zeit nach der Isolirung gelegten Eier zeigen mit wenigen Ausnahmen schon das Gastrulastadium. Das Ektoderm ist schon hübsch ausgebildet, das Entoderm besteht aber noch aus einer Schicht von Kugeln, welche sich noch nicht zu den charakteristischen spindelförmigen Zellen umgewandelt haben. Unter der Gastrulahöhle und an den Seiten der Keimscheibe sind mehr oder weniger Vacuolen zu sehen, aber nie in grosser Zahl.

Auch ein jüngeres Stadium fand ich unter diesen Eiern; hier war das Ektoderm noch aus runden Kugeln gebildet, welche sich aber schon geordnet hatten, und neben einander in einer Reihe standen. Die übrigen Verhältnisse waren dieselben wie bei den eben beschriebenen Keimscheiben.

Ungefähr am 17—22. Tage ändert sich das Bild. Wenn am vorausgehenden Tage ein Ei mit hübsch ausgebildetem Gastrulastadium gelegt worden ist, so findet man plötzlich am darauffolgenden Tage eine Keimscheibe, welche nur Furchungsku-

geln zeigt. Diese Kugeln differiren aber schon mehr in der Grösse und besonders mehr in der Form (Fig. 5), als die der befruchteten Keimscheibe des entsprechenden Stadiums. Sonst ist diese Keimscheibe auf dem Durchschnitt nicht von einer befruchteten zu unterscheiden, da Kerne, wenn auch in geringer Anzahl, zu finden sind und die Vacuolen auch allseitig den Bildungsdotter umgaben. Eine Furchungshöhle ist hier aber nicht vorhanden.

Es ist noch zu bemerken, dass dieser eben erwähnte Uebergang nicht bei einem bestimmten Ei eintritt, denn mitten unter den Keimscheiben, welche das Gastrulastadium zeigen, findet man plötzlich eine, welche in Kugeln von abnormer Ungleichheit des Volumens zerfallen ist.

In den Eiern, deren Legetermin sich noch weiter vom Tage der Befruchtung entfernt, werden die Furchungskugeln immer unregelmässiger, wobei das gelegentliche Vorkommen einer regelmässigeren Furchung nicht ausgeschlossen ist. In den mittleren Schnitten ist die Unregelmässigkeit nicht so stark ausgeprägt, wie in denjenigen, welche durch die Peripherie der Keimscheibe gelegt sind. In diesen differirt die Grösse und Gestalt der Furchungselemente viel bedeutender. Neben ganz kleinen Kugeln sieht man plötzlich eine grosse, deren Volumen das 20—30fache, ja noch mehr beträgt. Manche von diesen grossen Kugeln sind teilweise oder auch ganz von kleineren durch eine Membran bzw. Pseudomembran umgrenzte Kugeln eingenommen.

Andere Elemente haben die Form grösserer, allseitig abgegrenzter Schollen, deren Contouren mehr gradlinig sind. Auch diese Schollen zeigen öfters in ihrem Innern einzelne durch eine Membran abgegrenzte Kugeln, oder am Rande hat sich eine Kugel abgeschnürt, so dass der Contour hier plötzlich bogenförmig nach innen einspringt.

Besonders in peripheren Schnitten sieht man öfters zwischen den Furchungselementen ein noch völlig gleichmässig feinkörniges grösseres Stück der Keimscheibe, welches noch vollständig ungefurcht ist (Fig. 3b).

Die Furchungskugeln sind an ihrer Peripherie öfters nicht mehr scharf begrenzt; es sieht so aus, als ob sie sich dort auflösen. Durch diesen Unterschied tritt aber ein Membran deutlich hervor. Andere Kugeln haben sich allseitig schon mehr von der Membran gelöst, so dass sich zwischen dieser und ihrem Inhalt ein freier Raum befindet. Das Furchungselement liegt dann in einer Vacuole. Dabei ist noch zu bemerken, dass gleich grosse Vacuolen im selben Schnitt sehr verschieden grosse Kugeln enthalten. Diese Membran ist an ihrer Innenfläche uneben, mit Flocken besetzt, die im Ansehen an Fibrinflöckchen erinnern. Ausserdem findet man hin und wieder an den Furchungskugeln, welche nur einen Teil der Vacuolen einnehmen, eine Membran, welche sich stellenweise abgelöst hat und dadurch dem Auge sichtbar geworden ist.

Die Körnung der verschiedenen Gebilde in der Keimscheibe selbst ist auch nicht gleichmässig. Am feinsten gekörnt sind die Stellen, wo die Keimscheibe noch nicht gefurcht ist. Die Körner haben dieselbe Grösse oder vielmehr Feinheit, wie ich sie bei der Keimscheibe des ungefurchten Eileitereies beschrieben habe. Die abgefurchten Elemente sind verschieden gekörnt, aber im Grossen und Ganzen feinkörniger als die Furchungskugeln des befruchteten Eies. Einige Stellen haben aber eine viel verwischtere Zeichnung, welche besonders am Rande stark ausgeprägt ist; hier kann man Körner nicht mehr deutlich unterscheiden, denn an ihre Stelle ist ein feinfädiges Maschenwerk getreten.

Oefters kann man an den Zellen ganz deutlich sehen, dass die Dotterkugelchen nur in der Peripherie vorhanden sind, während das Innere von feinkörnigem Plasma erfüllt ist; hier befinden sich auch die Kerne resp. der Kern. Kerne sind in den Zellen wohl vorhanden, aber nicht häufig zu finden. Gewöhnlich sind sie gross und haben eine rundliche Form. Einige Körner sind hell; ihr Inneres besteht aus einem Fädengerüst, welches an manchen Stellen knötchenförmig verdickt ist. Andere dagegen sind dunkel und scheinen aus einer körnigen Masse zu

bestehen. Gewöhnlich findet man nur einen Kern in einer Zelle, aber es kommen auch mehrere Kerne vor. So habe ich öfters Zellen mit mehreren Kernen gefunden und sogar einmal eine mit sieben Kernen.

Auch die Gestalt der Kerne bietet eine Abweichung von der normalen Form, denn öfters haben sie einen eckigen Contour; auch die Hufeisenform ist mir einmal vorgekommen.

Kernfiguren konnte ich nirgends finden, obgleich ich hin und wieder Kerne sah, die eine deutliche einseitige oder auch doppelseitige Einschnürung zeigten.

Eine deutlich ausgesprochene Furchungshöhle war nicht vorhanden, dafür aber fanden sich grössere und kleinere Lücken zwischen den Furchungselementen und dem darunterliegenden Dotter, was schon Oellacher beschrieben hat.

Bei den Eiern, welche vor dem 17. resp. 22. Tage gelegt waren, traten die Vacuolen mit einer Ausnahme (cf. Bebrütungsversuche, Ei vom 13. Tage) nur im Nahrungsdotter auf. Nach diesem Termin aber findet man sie auch schon im Bildungsdotter und zwar viel häufiger an der Peripherie, wie im Centrum. Wo sie aneinander stossen, werden sie durch eine Pseudomembran, welche schon oben beschrieben ist, getrennt. Auch bei isolirt dastehenden Vacuolen ist gewöhnlich eine Pseudomembran deutlich zusehen. Manchmal communiciren zwei oder mehrere Hohlräume unter einander.

Oefters findet man in den Vacuolen Kugeln, die mehr oder weniger jene ausfüllen und je nach ihrer Herkunft aus Bildungs- oder Nahrungsdotter bestehen.

Die Vacuolen können bei manchen Keimscheiben nur auf den Bildungsdotter beschränkt bleiben, während der Nahrungsdotter davon vollständig frei ist. Das Bild ist dann folgendes: in der gleichmässig feingranulirten Keimscheibe, welche von dem grobkörnigen Nahrungsdotter umgeben ist, sieht man verschiedene grosse Löcher zerstreut liegen. Hie und da umschliesst eine Vacuole eine Furchungskugel, welche ebenso granulirt ist, wie die übrige Masse der Keimscheibe. In seltenen Fällen habe ich auch Kerne in diesen Kugeln gefunden.

d. Eier, welche die jungfräulichen Hühner gelegt haben.

Hier fand ich zwei verschiedene Bilder. Das eine (Fig. 3) bot folgende Einzelheiten dar: die beinahe überall gleichmässig feingekörnte Keimscheibe ist fast continuirlich an den Seiten und unten von grösseren und kleineren Vacuolen umgeben (Fig. 3, v.); aber auch in ihr selbst haben sich die Vacuolen, die manchmal ein oder mehrere gekörnte runde Elemente umschliessen (was in Fig. 4, v. zu sehen ist), eingenistet, so dass nur ein Teil der Keimscheibensubstanz nachgeblieben ist. Die nachgebliebene Substanz ist zum grössten Teil noch unverändert (Fig. 3, b), während ein kleiner Teil in kugelförmig oder auch anders gestaltete Gebilde, welche auch aus ganz feinen Körnern zusammengesetzt sind, zerfallen ist (Fig. 3, f). In diesen ist kein Kern zu finden; ebenso fehlt auch die Furchungshöhle.

Das zweite Bild (Fig. 4) unterscheidet sich von dem oben beschriebenen hauptsächlich durch das Fehlen der Furchungskugeln. Dafür haben die Vacuolen zugenommen und zwar so stark, dass von der ungefurchten Masse nur noch Reste vorhanden sind, die zwischen den Vacuolen mehr oder weniger dicke Scheidewände herstellen.

e. Bebrütete Eier.

Das Material zu den Bebrütungsversuchen lieferten diejenigen Hühner, welche post coitum isolirt worden waren.

Auf den mikroskopischen Befund aus der ersten Zeit der Bebrütung gehe ich nicht weiter ein, da hier nur eine Vermehrung der Vacuolen stattfindet. Dafür will ich ein Stadium beschreiben, wo die Bebrütung schon längere Zeit gedauert hat. Ein Schnitt aus der Mitte der Keimscheibe, welche drei Tage bebrütet worden ist, zeigt folgendes Bild: die oberflächliche Schicht des Bildungsdotters ist verändert, an seiner Stelle befindet sich eine feinkörnige Masse, in welcher sich hier und da mehr oder weniger deutlich begrenzte Kugeln befinden. Der Rest der Keim-

scheibe besteht zum Teil aus einigen Furchungskugeln, während der übrige und grössere Teil ungefurcht ist.

Ein Stadium, wo der Zerfall noch weiter fortgeschritten ist, zeigt Fig. 6. Dieser Schnitt ist dem Ei entnommen, welches am 19. Tage gelegt und 6 Tage bebrütet wurde. Die ganze Keimscheibe hat sich hier in dieselbe feinkörnige Masse verwandelt. Die Kugeln sind hier zahlreicher vertreten, aber auch in Auflösung begriffen, wie man das an den undeutlichen Umrissen sehr gut sehen kann.

III. Besprechung der Befunde.

Ich habe die Ovarialeier so geordnet, dass ich zuerst das beinahe kreisförmige Keimbläschen beschrieb und dann die Formen anfügte, welche sich daraus ableiten lassen; ob die verschiedenen Formen wirklich verschiedene Stadien der Entwicklung darstellen oder auf Einwirkung der Reagentien beruhen, das wage ich nicht zu entscheiden, da mein Material an Ovarialeiern sehr gering ist.

Was aber die reifen Ovarialeier anbelangt, so schliesse ich mich der Ansicht an, dass schon im Ovarium das Keimbläschen in seiner ausgesprochenen Form geschwunden sein kann; an seine Stelle ist dann ein flaches Maschenwerk getreten (ob das Maschenwerk auch im frischen Objekt vorhanden oder nur ein Ausdruck der Gerinnung ist, lasse ich dahingestellt sein). Dieses schliesst aber nicht aus, dass noch bei reifen Ovarialeiern gut erhaltene Keimbläschen gefunden werden, denn es werden sogar Fälle berichtet, wo ein solches noch deutlich bei Eileitern gesehen worden ist.

Das erste Eileitern, welches ich beschrieben habe, schliesst sich gleich an das reife Eierstoksei an, dem es voll-

ständig gleicht, nur fehlt das Keimbläschen, resp. dessen Maschenwerk. Von ihm ist nichts mehr zu finden, sondern die Keimscheibe ist an allen Stellen ebenso wie die des Ovarialeies gleichmässig fein gekörnt.

Das zweite angeführte Eileiterei zeigt schon beginnende Furchung, bei welcher es gleich auffällt, dass eine kleine Kugel sich abgeschnürt hat, während die grosse Scholle noch nicht überall von der übrigen Masse isolirt ist.

Beim nächstfolgenden Präparate, wo die Segmentation schon weiter fortgeschritten ist, treten die Unregelmässigkeiten in der Grösse und Form der Furchungselemente noch mehr hervor.

Abgesehen davon, dass hier die Furchung viel später beginnt, als beim befruchteten Ei, worauf schon Oellacher und Duval hingewiesen haben, beginnt sie gleich mit Unregelmässigkeiten.

Die bis zum 17. resp. 22. Tage nach der Begattung gelegten Eier zeigen ein Stadium, wie wir es gewöhnlich bei befruchteten, gelegten Eiern finden. Die folgenden aber sind in der Entwicklung zurückgeblieben, da sie nur in Furchungskugeln zerfallen sind, also kein Ektoderm ausgebildet haben. Trotzdem aber weichen sie von dem entsprechenden Stadium der befruchteten Keimscheibe bedeutend ab; denn die Furchungselemente zeigen schon in den mittleren Schnitten, wo noch am meisten Gesetzmässigkeit herrscht, bedeutende Abweichungen in der Grösse. Zur Peripherie hin wird diese Unregelmässigkeit viel bedeutender; ausserdem treten hier auch noch Verschiedenheiten in der Form der abgeschnürten Elemente auf, welche oben schon beschrieben worden sind.

Die Furchung selbst schreitet vom Centrum auch nicht gleichmässig nach allen Seiten fort, sondern bleibt an einigen Stellen zurück, wofür die ungefurchten Stücke der Keimscheibe zwischen den Furchungselementen sprechen.

Hieraus kann man sehen, dass die Furchung im Centrum beginnt und auch hier schon an Regelmässigkeit eingebüsst hat. Vom Centrum aus geht sie nicht allseitig zur Peripherie, wobei

die Unregelmässigkeit der Furchungsproduction immer mehr zunimmt. Der ganze Process macht eher den Eindruck einer regressiven, wie einer progressiven Metamorphose. Dass viele Teilungsprodukte ihrer kugeligen Form wegen Aehnlichkeit mit echten Furchungskugeln haben, braucht uns nicht abzuhalten, sie dennoch als Zerfallsprodukte aufzufassen, besonders da ähnliche regressive Erscheinungen an Follikel-eiern von Pflüger und Barfurth mitgetheilt worden sind.

Pflüger²²⁾ hat im Ovarium der Katze einen ähnlichen Zerfall des Dotters gesehen. Der Dotter präsentirt sich entweder als „scharf begrenzte Kugel oder er zeigt einen unregelmässigen Cöntour, als ob von aussen nach innen eine Lösung gleichsam die Oberfläche der Dotterkugel anfressend vorschritte. Oft sieht man dann die letztere in zwei, drei, vier und mehr Partien zerfallen, die ähnlich wie ein in Furchung begriffenes Ei aussehen“.

Barfurth²³⁾, welcher die Rückbildung der Eifollikel bei den Bachforellen studirt hat, fand bei Follikel-eiern, welche zu Grunde gehen, neben der fettigen Degeneration einen Zerfall des Dotters in kugel-, ei- und pantoffelförmige Gebilde.

Auch die Vacuolen weisen auf einen Zerfall hin; sie treten zuerst in der Peripherie der Keimscheibe auf und rücken dann zum Centrum hin. Sie entstehen dadurch, dass ein abgefurchtes Element sich von der Peripherie aus auflöst, so dass um dasselbe ein freier Raum entsteht. Diese Hohlräume werden von einander durch die dazwischenliegende ungefurchte Masse getrennt, welche auf diese Weise das Aussehen eines Balkengerüstes oder Maschenwerkes erhält, je nach der Form, die die abgefurchten Stücke hatten und nach der Masse des ungefurchten Dotters, die dazwischen lag.

Auch diese Scheidewände lösen sich allmählich auf; sie werden zuerst dünner und schwinden dann ganz, so dass die Vacuolen unter einander communiciren und schliesslich zu einer einzigen zusammenfliessen. Die Form der Vacuolen ist gewöhnlich die einer Hohlkugel, aber besonders an den Stellen, wo die

Furchungselemente von der runden Form abweichen, findet man auch anders gestaltete Hohlräume. Trotzdem enthalten diese letzteren nur runde Elemente, sobald der Zwischenraum zwischen diesen und der Vacuolenwand ein grösserer ist.

Es sind dafür nur zwei Erklärungen möglich: entweder schmelzen die nicht runden Elemente an ihrem Rande ungleichmässig, so dass sie eine runde Form erhalten, oder sie ziehen sich zu einer Kugel zusammen, sobald die Entfernung von der Vacuolenwand ihnen dieses erlaubt.

Ich möchte mich für die letztere Erklärung entschliessen, da die Elemente in einer Flüssigkeit suspendirt das Bestreben haben sich kugelförmig zu gestalten (cf. Untersuchung des frischen Objectes), und ausserdem die Auflösung an der Peripherie eine gleichmässige ist. Würde die Zerstörung nicht gleichmässig an allen Seiten angreifen, so würde man in den Vacuolen nicht immer die Kugelform finden; ausgeschlossen sind natürlich die unregelmässig begrenzten Furchungselemente, die noch so wenig von der Vacuolenwand abstehen, dass sie eben gezwungen sind ihre unregelmässige Form zu behalten.

Auf einen Unterschied in der Körnung möchte ich noch aufmerksam machen. Die Furchungskugeln der befruchteten Keimscheiben sind ziemlich gleichmässig und gröber gekörnt, wie die Keimscheibe eines Ovarialeies. Bei den Eiern, die nach dem 17. resp. 22. Tage gelegt worden sind, findet man einen grösseren Unterschied in der Körnung derselben Keimscheibe. Die noch ungefurchten Teile derselben sind ebenso feinkörnig geblieben, wie sie beim Ovarial- resp. Eileiteri waren. Die Furchungselemente selbst sind durchschnittlich feiner gekörnt, wie die des befruchteten Eies, und die gröberen Körnchen verschwinden immer mehr, je später die Eier nach dem Tage der Isolirung gelegt werden. Trotzdem findet man häufig besonders in den Zellen, welche vom Centrum der Keimscheibe entfernt, also dem Nahrungsdotter näher sind, grosse Körner. Diese haben grosse Aehnlichkeit mit den Kügelchen des weissen Dotters, oder sind vielmehr davon nicht zu unterscheiden. Diese Zellen

sind aber nicht vollständig von Nahrungsdotter erfüllt, denn wie man bei starker Vergrößerung deutlich sehen kann, nehmen die gröberen Kügelchen nur die Peripherie ein, während das Centrum heller gefärbt und feinkörnig ist. Sehen wir uns aber eine wirklich unbefruchtete Keimscheibe (Fig. 3 u. 4) an, so finden wir alles feingekörnt, auch die abgefurchten Teile. Grössere Kügelchen sind nirgends zu sehen.

Oellacher betont schon in seiner Arbeit (6), dass die Zellen der befruchteten Keimscheibe den aufgenommenen Nahrungsdotter nicht verarbeiten können, da sie zu schwach dazu sind.

Ich möchte diesen Satz noch dahin erweitern, dass viele Zellen, besonders in der Mitte der Keimscheibe, überhaupt nicht im Stande sind Nahrung aufzunehmen, da sie eben feingekörnt bleiben, und bei wirklich unbefruchteten Eiern bleibt die ganze Keimscheibe ebenso feinkörnig, wie sie als Eileiter- resp. Ovarialei war.

Die Kerne zeigen auch ein abnormes Verhalten, welches sich besonders in den Keimscheiben, welche vom Tage der Isolierung recht weit entfernt sind, bemerkbar macht. Die verschiedenen Formen sind schon oben beschrieben worden.

Trotzdem auch Kerne vorkamen welche im Begriff waren sich abzuschnüren, war doch niemals irgend eine Mitose zu bemerken; man muss daher diese Kernteilung als eine amitotische auffassen, was bei degenerativen Prozessen eine ganz gewöhnliche Erscheinung ist (cf. Flemming²⁴), Ziegler²⁵) und Barfurth²⁶).

Oben ist bei den Vacuolen eine Membran beschrieben. Da aber auch die Furchungskugeln, welche von den Vacuolen umschlossen sind, eine Membran im Präparate zeigen, so möchte ich diese Bildung als eine arteficielle auffassen. Denn es wäre undenkbar, dass die Furchungskugel, trotzdem sie immer kleiner wird, ihre anschliessende Membran nicht verliert. Dasselbe Verhältnis ist bei den Membranen der Vacuolen der Fall: trotzdem sich die Vacuole stetig vergrössert, ist immer nur eine Membran vorhanden. Erklärt man die Membran aber durch Gerinnungserscheinungen,

wofür auch die kleinen Zottchen, die an ihrer Innenfläche sitzen, sprechen, so muss sie gleich beim Fixiren auftreten, einerlei in welchem Auflösungsstadium sich die Furchungskugeln resp. die Septen der Vacuolen befinden.

Auch schon Oellacher hat sich dahin ausgesprochen, dass es an den erhärteten Präparaten den Anschein habe, als wären wirklich Membranen vorhanden. Aber da es ihm nie gelungen ist aus der frischen Keimscheibe ein Bläschen zu isoliren, so glaubte er nicht an die Anwesenheit von Vacuolen d. h. Hohlräumen mit einer Membran. Ausserdem hält er es noch für sehr möglich, dass die Vacuolen sich durch Zusammenfliessen vergrössern, was erst recht gegen die Membran sprechen würde.

Bei den Eiern, welche die jungfräulichen Hühner gelegt haben, ist das Bild der Degeneration noch viel stärker ausgesprochen (Fig. 3): die Vacuolen haben zugenommen, so dass von der Keimscheibensubstanz nur ein Rest nachgeblieben ist. Ein Teil davon ist unverändert und bildet mehr oder weniger breite Scheidewände zwischen den Vacuolen. Der andere Teil ist unregelmässig in kugelige Gebilde zerfallen

Fig. 7 stellt ein weiter fortgeschrittenes Stadium dar. Die ganze Keimscheibe ist von grossen Hohlräumen eingenommen, in denen hin und wieder runde Kugeln zu sehen sind.

Dieser starke Zerfall ist vielleicht darauf zurückzuführen, dass die Eier den Eileiter sehr langsam passirten, also gleichsam einer Bebrütung unterworfen waren; wenigstens lassen mich das die langen Legepausen vermuten: das dritte Ei wurde erst 16 Tage nach dem zweiten gelegt.

Ein principieller Unterschied lässt sich aber zwischen diesen Eiern und denjenigen, welche von den anderen Hühnern gelegt worden sind, nicht feststellen, wenn man nicht besonderes Gewicht auf die vollständige Abwesenheit gröberer Körnung legen will.

Die Bebrütungsversuche zeigen uns noch deutlicher dass bei den Eiern, welche ungefähr nach dem 19. Tage gelegt worden sind, die Vacuolenbildung weiter fortschreitet. Von der Fläche gesehen verschwinden allmählich die weissen Stellen resp.

Septen zwischen den Vacuolen immer mehr, so dass der weisse Fleck im gelben Kreise vollständig schwindet; dafür sieht man aber den Pander'schen Kern durchschimmern. Dem entsprechend ist auch das mikroskopische Bild. Von Vacuolen ist nichts mehr zu sehen, da sie alle nach Auflösung ihrer Scheidewände ineinandergeflossen sind. Es ist eine grosse Vacuole entstanden, welche die ganze Keimscheibe einnimmt und in ihrem Inneren noch einzelne Reste der früheren Zellen als mehr oder weniger undeutlich begrenzte Kugeln enthält.

Dieses Resultat zeigt also deutlich, dass bei der Bebrütung nach dem oben genannten Termin keine Weiterentwicklung stattfindet. Vor diesem Termin findet wohl eine solche statt, aber wie es scheint bei verschiedenen Eiern in ungleichem Maasse. Ich will nur an das Ei von 7. Tage erinnern, das sich wohl entwickelt hat, aber viel langsamer wie ein normales, befruchtetes.

Ebenso interessant ist das Resultat bei einem Ei vom 13. Tage, welches nach der Oberfläche zu urtheilen eine Zwischenstellung zwischen befruchteten und unbefruchteten einnimmt. Es hat sich aber doch ganz normal bis zum 3. Tage entwickelt.

Auf eine Erscheinung möchte ich noch hinweisen. Wie ich oben bei den beiden Eiern vom 40. und vom 3. Tage beschrieben habe, traten bei der Bebrütung im weissen Ring gelbe Kreislinien resp. Ringe auf. Es sind dadurch aus dem einheitlich weissen Ring drei concentrische mehr oder weniger breite Kreislinien entstanden.

Daher möchte ich Oellacher's „homogene mehr oder weniger concentrisch geschichtete Aussenzone von gelblicher Farbe“ als ein Folgestadium des weissen Ringes der unentwickelten Keimscheibe auffassen. Und zwar ist diese Veränderung durch die Wärme bedingt, möge sie vom Brutofen oder der Körpertemperatur der Hühner herkommen.

Das mikroskopische Bild zeigt an der Stelle, wo die gelbe Kreislinie sitzt, eine Einschnürung der dünnen weissen Dotterschicht.

Die Frage nach der Entstehung dieser Einschnürung lasse ich aber offen.

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Frage, ob sich Hühnereier parthenogenetisch entwickeln können, muss ich negativ beantworten. Der Furchungsprocess ist hier degenerativer Natur, da er gleich unregelmässig beginnt und nach Zerklüftung des Bildungsdotters aufhört. Ausserdem spricht noch für einen regressiven Process das Auftreten der Vacuolen in der Keimscheibe und die anormale Kernbildung und Kernverteilung in den abgefurchten Teilen. Es ist aber nicht ausgeschlossen, dass das Sperma bei den sogenannten unbefruchteten Eiern irgend welchen Einfluss gehabt hat, denn bei den Eiern, welche die vom Hahn isolirten Hühner gelegt haben, nehmen einige Zellen doch noch Dotterkügelchen, wenn auch in geringem Masse auf; in den Keimscheiben aber, welche von den jungfräulichen Hühnern stammen, finden wir nirgends Dotterkügelchen; alles ist gleichmässig fein gekörnt.

2. Die verschiedenen Resultate bei der Bebrütung derjenigen Eier, welche vor dem 17.—22. Tage gelegt worden sind, lassen eine Einwirkung nicht lebenskräftiger Spermatozoon nur vermuten, da die Untersuchungen über die Lebensdauer der Spermatozoon noch kein bestimmtes Urtheil erlauben.

3. Die Membran der Zellen und Vacuolen ist künstlich hervorgerufen.

4. Es ist wahrscheinlich, dass eine unbefruchtete Keimscheibe das Vermögen verliert Nahrungsdotter aufzunehmen.

5. Die verschiedenen weissen und gelben concentrischen Kreise, welche die unbefruchtete Keimscheibe umgeben, entwickeln sich aus dem breiten weissen Ring, welcher die unentwickelte Keimscheibe umgab.

6. Das Keimbläschen kann schon im Ovarium verschwinden.

V. Litteratur.

1. R. Owen. On parthenogenesis: a discourse introductory to the Hunterian Lectures on generation and development for 1849. London 1849.
2. C. Th. E. v. Siebold. Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen. Leipzig 1859.
3. O. Taschenberg. Historische Entwickelung der Lehre von der Parthenogenesis. Sonderabdruck aus den Abhandlungen der Naturforscher-Gesellschaft zu Halle. Bd. XVII. Halle 1892.
4. O. Hertwig. Experimentelle Studien am tierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. Jenaische Zeitschr. für Naturwissenschaft. 24. Bd. 1890.
5. R. Leuckart. Artikel Zeugung p. 958 in R. Wagner's Handwörterbuch der Physiologie. Bd. IV. 1853.
6. J. Oellacher. Die Veränderungen des unbefruchteten Keimes des Hühnereies im Eileiter und bei Bebrütungsversuchen. Zeitschr. für wissenschaftl. Zoologie. Bd. XXII. S. 181—234. Leipzig 1872.
7. Hensen. Ueber eine Züchtung unbefruchteter Eier. Centralblatt für die medicinische Wissenschaften. Jahrg. VII. Berlin 1869. p. 403 f.
8. M. Th. Bischoff. Mémoire sur la maturation et la chute périodique de l'oeuf de l'Homme et de Mammifères, indépendamment de la fécondation. Annales des sciences naturelles. III Série. Zoologie. T. II. Paris 1844. p. 134 u. ff.
9. A. Tichomiroff. Die künstliche Parthenogenese bei Insekten. Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiol. Abteil., Jahrg. 1886. Supplementband.
10. J. Dewitz. Kurze Notiz über die Furchung von Froscheiern in Sublimatlösung. Biolog. Centralblatt. Bd. VII. 1887/88.
11. W. Roux. Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo. Nr. 5: Ueber die künstliche Hervorbringung halber Embryonen etc. Separatabdruck aus Virchow's Archiv. Bd. 114. Berlin 1888.
12. E. Pflüger. Ueber die parthenogenetische Furchung der Eier

- der Amphibien. Pflüger's Archiv für d. gesammte Physiologie. Bd. XXIX. Bonn 1882. S. 40 u. ff.
13. Prévost et Dumas. Mémoire sur le développement du Poulet dans l'oeuf. Annal. des sciences naturelles, T. XII, Paris 1827, p. 415—443.
 14. M. Coste. Histoire générale et particulière du développement des corps organisés. T. II. Paris 1859.
 15. W. His. Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. I: Die erste Entwicklung des Hühnchens im Ei. Leipzig 1868.
 16. M. Duval. De la formation du blastoderme dans l'oeuf d'oiseau. Annales des sciences naturelles. Zoologie T. XVIII Série VI. 1884.
 17. H. Kionka. Die Furchung des Hühnereies. Inaugural-Dissertation. Würzburg 1893.
 18. J. Oellacher. Untersuchung über die Furchung und Blätterbildung im Hühnereie. Studien aus dem Institute für experimentelle Pathologie in Wien aus dem Jahre 1869, herausgegeben von Stricker. Wien 1870.
 19. G. Harveus. Exercitationes de Generatione Animalium. Amsterdam 1651.
 20. G. A. Piersol. Anat. Anzeiger. VIII. Jahrgang. 1893. S. 299 bis 301. Ueber die Lebensdauer menschlicher Spermatozoen etc.
 21. W. Behrens, A. Kossel u. P. Schiefferdecker. Die Gewebe des menschlichen Körpers und ihre mikroskopische Untersuchung. Braunschweig 1889. Bd. I, p. 148.
 22. E. F. W. Pflüger. Ueber die Eierstöcke der Säugetiere und des Menschen. Leipzig 1863.
 23. D. Barfurth. Biologische Untersuchungen über die Bachforelle. Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. XXVII. 1886.
 24. W. Flemming. Ueber Teilung und Kernformen bei Leukocyten und über deren Attraktionssphären. Archiv f. mikrosk. Anatomie. Bd. 37. 1891.
 25. H. E. Ziegler. Die biologische Bedeutung der amitotischen (directen) Kernteilung im Tierreich. Biolog. Centralblatt. Bd. 11. 1891.
 26. D. Barfurth. Regeneration und Involution. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Bd. III. 1893.

Thesen.

1. Bei den Wirbeltiere gibt es keine Parthenogenese.
 2. Das Eierlegen der Hühner beruht zum Teil auf Zuchtwahl.
 3. Wenn Spermatozomen nicht mehr vollständig lebenskräftig sind, so können sie doch noch eine geringe Entwicklung des Eies hervorrufen.
 4. Ein Hustenmittel ohne Morphinumzusatz hat wenig Wert.
 5. Auch bei Cholera-typhoid sind die Cantani'schen Enteroclysen von grossem Nutzen.
 6. Salzsäure als Präservativ gegen Cholera kann bei gesundem Magen auch sehr nachteilige Folgen haben.
-

IV. Figuenerklärung.

Alle Bilder sind mit dem Abbechen Zeichenapparat gezeichnet bei einer Vergrößerung von Zeiss Obj. A, Oc. 2 Dicke der Schnitte 6 μ .

Erklärung der Abkürzungen.

<p><i>b</i> = Bildungsdotter. <i>w</i> = weisser Nahrungsdotter. <i>u</i> = Uebergangsstelle. <i>f</i> = Furchungskugeln. <i>fh</i> = Furchungshöhle. <i>g</i> = gelber Nahrungsdotter. <i>v</i> = Vacuole.</p>	<p><i>v'</i> = Vacuole mit Furchungskugeln. <i>r</i> = Rand des Präparates, welcher zur Keimscheibe hin umgeschlagen ist. <i>j</i> = zerfallende Furchungskugeln. <i>f^a</i> = feinkörnige Masse, welche infolge des Zerfalles der Keimscheibe entstanden ist.</p>
---	---

Fig. 1. Schnitt durch die Mitte der Keimscheibe eines unbefruchteten weichschaligen Eileitereies, welches schon mit einem Teil in den Uterus getreten war und dem Huhn am 47. Tage nach der Isolirung gleich nach dem Schlachten entnommen wurde. Die Keimscheibe (*b*) besteht aus einer gleichmässig feinkörnigen Masse, welche an den Rändern (*u*) und unten allmählig in den Nahrungsdotter übergeht. Von Furchung ist keine Spur vorhanden. Salpetersäure, Boraxcarmin.

Fig. 2. Schnitt durch die Mitte der Keimscheibe eines befruchteten Eies aus dem distalen Ende des Eileiters. Die Keimscheibe ist schon in viele, zum Teil kernhaltige Furchungskugeln (*f*) zerfallen, welche aus grösseren Körnern bestehen, wie die Keimscheibe voriger Fig. Unter den Furchungskugeln befindet sich die Furchungshöhle (*fh*), welche in ihrem unteren Teil von einer feinen fädigen und körnigen Masse — geronnenem Eiweiss — erfüllt ist. Der Boden der Furchungshöhle wird von weissem Nahrungsdotter gebildet. Unter diesem befindet sich gelber Nahrungsdotter. Chromessigsäure und Sublimat (gesättigte 0,5% NaCl-Lösung) ää; Boraxcarmin.

Fig. 3. Schnitt durch die Mitte der Keimscheibe eines Eies von den jungfräulichen Hühnern. Der Bildungsdotter ist reichlich von Vacuolen (*v*) durchsetzt und zeigt neben der in kugelähnliche Gebilde zerfallenen Stelle (*f*) auch noch vollständig unveränderte Partien (*b*). Von einer Furchungshöhle ist keine Spur vorhanden. Salpetersäure; Boraxcarmin.

Fig. 4. Ei von demselben jungfräulichen Huhn; Schnitt durch die Mitte der Keimscheibe. Der Bildungsdotter ist grösstenteils von grösseren und kleineren Hohlräumen (*v*) eingenommen, in denen sich hin und wieder runde Körper (*v'*) finden. Von irgend einer Gliederung der Keimscheibe in kugelähnliche Gebilde wie in Fig. 3 ist hier nichts zu sehen. Eine Furchungshöhle ist hier auch nicht vorhanden. Der Rand des Präparates hat sich nach oben umgefaltet (*r*). Salpetersäure; Boraxcarmin.

Fig. 5. Ei vom 43. Tage nach der Isolirung. Schnitt durch die Mitte der Keimscheibe. Diese ist ganz unregelmässig zerfallen. Die Furchungshöhle ist hier nur eine scheinbare, da der Hohlraum durch Zerfall und Auflösung der abgeschnürten Elemente (*z, f.*) entstanden ist. Darauf weist die angefressene und nicht scharf begrenzte Peripherie vieler Kugeln (*z, f.*) hin. Links im Schnitt Vacuolen. Chromessigsäure und Sublimat (gesättigte 0,5% NaCl-Lösung); Boraxcarmin.

Fig. 6. Am 19. Tage nach der Isolirung gelegtes unbefruchtetes Ei, welches 6 Tage mit geöffneter Schale bebrütet wurde. Von dem Bildungsdotter ist ausser den in der feinkörnigen Zerfallsmasse (*f. m.*) enthaltenen Kugeln (*z, f.*) nichts mehr übrig. Chromessigsäure und Sublimat (gesättigte 0,5% NaCl-Lösung); Boraxcarmin.

