

Zwei Fehlerquellen bei Merogonieversuchen und die Entwicklungsfähigkeit merogonischer und partiell- merogonischer Seeigelbastarde.

Von
Theodor Boveri †.

Mit 3 Tafeln.

Eingegangen am 10. April 1917.

Vorwort.

Die nachfolgende Arbeit hat mein Mann unvollendet hinterlassen. Nach seiner Gewohnheit hätte er wohl auch die hier vorliegenden Abschnitte einer nochmaligen Überarbeitung unterzogen. Es war sein ausdrücklicher Wunsch, »Daß die Arbeit trotz ihres unvollendeten Zustandes veröffentlicht werde, da das darzustellende Tatsachenmaterial in dem Niedergeschriebenen vollständig enthalten ist und er mit den mitgeteilten Resultaten einen alten, von ihm in die Wissenschaft eingeführten Irrtum zu berichtigen hoffte«.

5. April 1917.

Marcella Boveri.

Inhaltsverzeichnis.

(Nachträglich hinzugefügt von Marcella Boveri.)

	Seite
I. Einleitung	419
II. Vorbemerkung über die Nomenklatur	420
III. Das Verschwinden des Eikerns infolge des Schüttelns	421
IV. Das Vorkommen von Partialeikernen	426
V. Über die Brauchbarkeit des Schüttelverfahrens und anderer Methoden zur Herstellung kernloser Eifragmente. Kriterien der Kernlosigkeit.	428
VI. Totale Merogonie	432
A. Innerhalb der gleichen Species	432
B. Bei der Kombination <i>Parechinus</i> × <i>Paracentrotus</i>	433
C. Bei den Kombinationen <i>Sphaerechinus</i> × <i>Paracentrotus</i> und <i>Sphaerechinus</i> × <i>Parechinus</i>	435
D. Bei der Kombination <i>Parechinus microtuberculatus</i> ♀ × <i>Antedon rosacea</i> ♂	447
VII. Partielle Merogonie	448
A. Innerhalb der gleichen Species	449
B. Bei der Kombination <i>Parechinus</i> × <i>Paracentrotus</i>	451
C. Bei der Kombination <i>Sphaerechinus</i> × <i>Paracentrotus</i> und <i>Sphaerechinus</i> × <i>Parechinus</i>	453
D. Unklare Fälle	459

	Seite
VIII. Die Beziehung zwischen der Entwicklungsfähigkeit merogonischer Bastarde und den Chromatinverhältnissen	451
IX. Die Parallele in dem Verhalten merogonischer Bastardlarven und dispermer Larven	463
X. Entwicklung und Vererbung	465

Provisorisches Inhaltsverzeichnis (vom Autor).

(Es bekundet die beabsichtigten, aber nicht mehr ausgeführten Teile.)

1. Das Verschwinden des Eikerns während des Schüttelns.
2. Das Vorkommen von Partialeikernen.
3. Die Brauchbarkeit der Schüttelmethode zur Herstellung von kernlosen Eifrag-
menten. Kriterien der Kernlosigkeit.
4. Merogonie bei homospermer Befruchtung.
5. Merogonie bei Bastardierung.
 - A. Die Kombination *Echinus* ♀ × *Strong.* ♂.
 - B. Die Kombinationen *Sphaer.* ♀ × *Strong.* ♂ und *Sphaer.* ♀ × *Echinus* ♂.
 - I. Versuche mit isolierten Fragmenten. Die Erfahrungen des Jahres 1912.
 - II. Versuche mit Massenkulturen (1912 und 1914).
 - III. Ältere Angaben über merogonische Bastardierung 1889, 1896, God-
lewski.
6. Partielle Merogonie, erzielt durch Doppelbefruchtung (sog. Doppelspindeltypus).
 - A. Bei homospermer Befruchtung.
 - B. Bei der Kombination *Echinus* × *Strong.*
 - C. Bei der Kombination *Sphaer.* × *Strong.* und *Sphaer.* × *Echinus.*
7. Die Beziehungen zwischen der Entwicklung merogonischer und dispermer Keime.
(Bei homospermer Befruchtung und bei der Kreuzung *Echinus* × *Strong.*
können aus dispermen Dreiern annähernd normale Larven hervorgehen, bei
der Kombination *Sphaer.* × *Strong.* und *Sphaer.* × *Echinus* nicht; eine Aus-
nahme und ihre Erklärung.)
8. Die Bestimmung des Skeletcharakters bei Seeigellarven.
(Das Skelet wird von den primären Mesenchymzellen geliefert. Sind sie
unfähig, so entsteht es nicht, sind unfähige mit fähigen gemischt, so wird es
rudimentär. Der besondere Charakter aber scheint durch die Beschaffenheit
der ektodermalen Wand bestimmt, vielleicht in der Weise, daß die genaue
Stellung der Mesenchymzellen von der Beschaffenheit der Wand abhängig ist.
Ohne diese Annahme wären Skelete, die rechts die eine, links die andere Art
repräsentieren [Herbst] kaum denkbar.)
9. Über die Bedeutung des Kerns in der Entwicklung. Bestätigung der zwei
Perioden, die aus der Dispermie erschlossen worden sind (G. Hertwig).
10. Die Rolle des Kerns in der Entwicklung nicht zusammenfallend mit der Über-
tragung der elterlichen Qualitäten.
Wenn eine Bastardlarve *Sphaer.* × *Strong.* väterlich aussieht, so lehrt
das Mißlingen der Merogonie bei dieser Kombination, daß die Entwicklung
an sich bis zu dem erreichten Stadium vom Eikern allein geleistet wird. In
diese Entwicklung vermögen dann die väterlichen Tendenzen hineinzuspielen.
11. Über den Kern als Vererbungsträger.
Argumente, welche dafür sprechen; und dann, wie sich die Erfahrungen
des Kap. 10 damit vereinbaren lassen. Verschiedene Möglichkeiten über die
Bedeutung einzelner Chromosomen bei diesen Vorgängen.

Auch ein Kapitel über die Beziehung zwischen der Fähigkeit zu merogonischer Bastardierung und dem Chromosomencharakter.

I. Einleitung.

Vor 25 Jahren habe ich, fußend auf Versuchen von O. und R. Hertwig (1886), feststellen können, daß kernlose Eifragmente eines Seeigels, wenn sie monosperm befruchtet werden, normale Plutei liefern. Das Gelingen dieser »Merogonie«-Versuche schien die Möglichkeit zu bieten, die Frage nach der Rolle von Protoplasma und Kern bei der Vererbung zu entscheiden. Denn wenn man ein kernloses Ei einer Seeigelspecies durch das Spermium einer anderen Species von genügend verschiedener Larvenform befruchtet, und wenn aus dieser Kombination ein gesunder Pluteus entsteht, beantwortet sich jene Frage sehr einfach, je nachdem der Pluteus nur väterliche oder nur mütterliche Charaktere oder eine Mischung beider zur Schau trägt. In der Tat haben mich damals Versuche mit der Kreuzung *Sphaerechinus granulatus* ♀ × *Echinus microtuberculatus* ♂ zu dem Ergebnis geführt, daß kernlose Eibruststücke von *Sphaerechinus*, durch Spermien von *Echinus* befruchtet, Plutei ergeben, und zwar solche von rein väterlichen Formen. Freilich ist das Beweisverfahren ein indirektes gewesen. Es ist mir damals nicht gelungen, isolierte kernlose Fragmente zu bastardieren, sondern mein Kriterium war die durch die homospermen Merogonieversuche nachgewiesene, geringere Kerngröße der merogonischen Plutei. Indem ich in den Bastardmassenkulturen aus zerschüttelten Eiern vereinzelt Zwergplutei auffand, die rein väterlich aussahen und sich durch ihre kleineren Kerne von den echten Bastarden unterschieden, schien es mir bewiesen zu sein, daß ich in solchen Objekten wirklich merogonische Bastarde vor mir hatte.

Schon wenige Jahre nachher habe ich, auf Grund der Versuche von Seeliger (1895, 1896), Morgan (1894, 1895) und Vernon (1900), sowie auf Grund eigener neuer Erfahrungen erkennen müssen und habe es in meinen seitherigen Veröffentlichungen immer wieder anerkannt, daß meine Versuche zur Entscheidung der Frage nicht genügen. Das wesentliche Bedenken gegen ihre Beweiskraft lag darin, daß auch echte Bastarde der Kombination *Sphaerechinus* ♀ × *Echinus* ♂ rein väterlich aussehen können. Trotzdem glaubte ich an der Hoffnung festhalten zu dürfen, daß sich das Problem auf dem eingeschlagenen Weg werde lösen lassen. Das Kriterium, das mir damals zur Bestimmung, ob eine Bastardlarve merogonisch sei, gedient hatte: die Größe der Larvenkerne, hat sich, trotz des Einspruchs Seeligers, als stichhaltig erwiesen; ich konnte deshalb nicht zweifeln, daß die kleinkernigen Larven meiner Versuche von 1889 wirklich aus kernlosen Eifragmenten hervorgegangen waren. Überdies gelang es mir im Jahr 1896, bei Versuchen, die ich gemeinsam mit F. M. MacFarland unternommen hatte, aus Eifragmenten, die als kernlos isoliert worden waren, bei Be-

fruchtung mit Sperma einer anderen Species Plutei zu erzielen. Und so schien es nur nötig zu sein, ein Seeigelmaterial zu finden, bei dem die echten Bastarde sehr geringe Tendenzen nach der väterlichen Seite besitzen, um die Frage doch noch zu lösen.

Mehrmals habe ich, meist gemeinsam mit meiner Frau, diese Versuche wieder aufgenommen und glaube nun endlich ein abschließendes Ergebnis vorlegen zu können. Es sei gleich vorausgeschickt, daß dieses Ergebnis wesentlich anders lautet als ich erwartet hatte.

Die meisten Versuche, die dieser Arbeit zugrunde liegen, sind im Winter 1911/12 und in den Monaten Januar bis April 1914 in der Zoologischen Station in Neapel ausgeführt worden, die den großen Ansprüchen, welche derartige Experimente an die Materialbeschaffung stellen, in der entgegenkommendsten Weise gerecht geworden ist. Dafür sei hier herzlich gedankt.

Bei den Arbeiten im Winter 1911/12 hatte ich mich der Unterstützung des Elizabeth Thompson Science Fund zu erfreuen, wofür ich an dieser Stelle meinen ergebensten Dank ausspreche.

II. Vorbemerkung über die Nomenklatur.

In meinen bisherigen Arbeiten, bis zur letzten (1914), habe ich an den so lange Zeit üblichen Namen *Echinus microtuberculatus* und *Strongylocentrotus lividus* festgehalten, weil ich es bei Arbeiten dieser Art für wichtiger hielt, die Kontinuität mit dem bisherigen Gebrauch aufrecht zu erhalten, als in systematischer Hinsicht korrekt zu sein. Nachdem aber die neue Nomenklatur der Seeigel doch schon in entwicklungsmechanische Arbeiten Eingang gefunden hat und es dem auf diesem Gebiet Interessierten nicht erspart bleibt, sich die alten und die neuen Bezeichnungen einzuprägen, bekehre auch ich mich zu den neuen Benennungen, besonders aus folgendem Grund.

Die Genera, welche früher und jetzt die Bezeichnungen *Strongylocentrotus* und *Echinus (Parechinus)* tragen, gehören zwei verschiedenen Familien an. Demgemäß finden wir z. B. bei H. Ludwig, in der Synopsis der Tierkunde von Leunis, den *Echinus microtuberculatus* der Familie »Echinidae«, den *Strongylocentrotus lividus* der Familie »Echinometridae« zugeteilt, zu der auch der *Sphaerechinus granularis* gehört. Sowohl jene Trennung, wie diese Zusammenfassung waren etwas durchaus Künstliches; nicht nur die Gestaltung der fertigen Tiere, sondern auch das Aussehen der Larven stellt es außer Zweifel, daß der *Strongylocentrotus lividus* dem *Echinus microtuberculatus* viel näher verwandt ist als dem *Sphaerechinus granularis*.

Nun aber gehört der Name *Strongylocentrotus* einer Anzahl von Arten an, die wirklich in engerer Verwandtschaft zur Gattung *Sphaerechinus*

stehen. Aus diesem Zustand gab es keinen anderen Ausweg, als für den fälschlich zur Gattung *Strongylocentrotus* gestellten *Str. lividus* einen neuen Gattungsnamen zu wählen. So heißt er seit Mortensen (1903) *Paracentrotus lividus*, und so werde auch ich ihn fortan nennen. Zur gleichen Zeit hat Mortensen sich veranlaßt gesehen, für den *Echinus microtuberculatus* und zwei verwandte Formen die Gattung *Parechinus* zu bilden, was wir nun, nachdem doch einmal geändert werden muß, gleichfalls akzeptieren wollen. Man kann es vielleicht sogar begrüßen, daß die Vorsilbe »Para«, die nun den beiden Gattungen zukommt, die engere Verwandtschaft gegenüber dem *Sphaerechinus granularis* einigermaßen zum Ausdruck bringt.

Um das Gesagte kurz zusammenzufassen, stelle ich den bisherigen und den neuen Gebrauch nebeneinander.

Bisherige Benennungen:	Neue Benennungen:	
<i>Echinus microtuberculatus</i> ,	<i>Parechinus microtuberculatus</i> ,	} Familie Echinidae
<i>Strongylocentrotus lividus</i> ,	<i>Paracentrotus lividus</i> ,	
<i>Sphaerechinus granularis</i> ,	<i>Sphaerechinus granularis</i> ,	

Wie früher nenne ich der Kürze wegen jede Species nur mit ihrem Gattungsnamen. Ist die Kreuzung zweier Species durch die Formel »*Sphaerechinus* × *Parechinus*« ausgedrückt, so bedeutet der erste Name stets das Weibchen.

III. Das Verschwinden des Eikerns infolge des Schüttelns.

Im Winter 1911/12 hatten wir die Methodik der isolierten Züchtung durch mancherlei kleine Verbesserungen, die ich nächstens an anderer Stelle mitteilen werde, so weit ausgebildet, daß wir endlich in der Lage waren, mit größeren Zahlen, wie solche zu einem klaren Ergebnis nötig schienen, zu arbeiten. Es wurden zuerst kernlose Bruchstücke von *Sphaerechinus*-Eiern mit *Paracentrotus*-Samen befruchtet, und dabei traten neben einer weit überwiegenden Zahl mehr oder weniger krankhafter Keime, die spätestens als beginnende Gastrulae das Ende ihrer Entwicklung erreichten, eine Anzahl wohlgebildeter Plutei auf. Zu meiner Überraschung waren diese aber nicht alle von väterlicher Form, sondern die Mehrzahl dokumentierte sich, vor allem in der Gestalt des Skelets, als richtige Mittelformen, wie sie als typische Vertreter in jeder Bastardzucht der Kombination *Sphaerechinus* ♀ × *Paracentrotus* ♂ vorkommen. Als wir dann die gleichen Versuche mit *Parechinus*-Sperma anstellten, war das Resultat das gleiche: auch hier erhielten wir aus Fragmenten, die wir als kernlos isoliert hatten, Plutei von typischer Bastardform. Daraufhin schien es überflüssig, die Versuche noch weiter

fortzusetzen. Denn bei diesem Ergebnis des Experiments genügt im Grund ein einziger Fall, um die aufgeworfene Frage zu entscheiden; sie schien entschieden im entgegengesetzten Sinn als ich ursprünglich geglaubt hatte, nämlich so, daß das Eiplasma auch ohne Eikern im Stande sei, die spezifischen mütterlichen Merkmale in voller Stärke auf das Kind zu übertragen.

Als aber die fraglichen Plutei gefärbt waren und auf ihre Kerngröße geprüft wurden, stellte es sich heraus, daß ihre Kerne genau ebenso groß sind wie bei den zur Kontrolle aus ganzen Eiern gezogenen echten Bastarden; und es konnte, nachdem sich die strenge Proportion zwischen Kerngröße und Chromosomenzahl so oft bestätigt hatte, kaum zweifelhaft sein, daß die als kernlos isolierten Stücke doch einen Eikern besessen hatten.

Dieses Ergebnis, daß trotz sorgfältiger Arbeit und trotz der Kontrolle durch zwei Personen der Kern eines Eifragments übersehen werden kann, war sehr niederschlagend; es mußte unsere nächste Aufgabe sein, dieser Fehlerquelle auf den Grund zu kommen. Die Untersuchungen des letzten Winters klärten uns darüber auf.

Bereits Delage hat gegen das Verfahren, zu Merogonieversuchen die Eier durch Schütteln zu fragmentieren, das Bedenken geltend gemacht, daß die heftige Erschütterung den Eikern in kleine Stücke zersprengen könne, so daß in einem scheinbar kernlosen Fragment die wesentlichen Kernbestandteile doch noch enthalten sein und an der Entwicklung teilnehmen könnten. Ich bin früher (1901) dieser Meinung entgegengetreten. Wenn man gesehen hat, wie bei zerschüttelten Echinideneiern selbst winzig kleine Plasmafragmente mit intaktem Kern gefunden werden und wie Stücke vorkommen, die dicht am Kern von dem anderen Teil losgerissen sind, ohne daß der Kern geschädigt worden ist, so wird man gewiß geneigt sein, meiner damals ausgesprochenen Meinung beizustimmen, daß die physikalischen Eigenschaften des Eikerns solche seien, daß er durch Schütteln nicht zum Verschwinden gebracht werden kann. Dieser Meinung ist auch Winkler (1901) gewesen, der die Schüttelmethode als das beste Verfahren zur Herstellung kernloser Fragmente bezeichnet hat; und ebenso hat sich Godlewski (1906) bei seinen bekannten Merogonieversuchen dieser Methode bedient.

Allein das Bedenken Delages ist doch gerechtfertigt, wie uns zuerst ein Versuch bewiesen hat, den wir mit *Echinocardium*-Eiern angestellt haben (28. Januar 1914). Eier von *Echinocardium* waren zuerst zentrifugiert worden, um die Kerne an die Oberfläche zu verlagern, und dann zum Zweck des Fragmentierens geschüttelt. Wie zuerst unser damaliger Mitarbeiter, Herr Dr. von Dobkiewicz, konstatiert hat, war nach dieser Prozedur in mehr als der Hälfte der noch intakten Eier kein Kern mehr zu sehen. Zunächst war ich der Meinung, daß der an die Oberfläche

zentrifugierte Kern sich unter der Schüttelwirkung nach außen aufgelöst haben könne. Allein als dann nicht zentrifugierte Eier des gleichen Weibchens, bei denen der Eikern fast genau im Zentrum gelegen war, geschüttelt wurden, verschwand der Kern gleichfalls.

Was unmittelbar nach diesem Verschwinden aus dem Kern geworden ist, kann ich nicht angeben, da erst etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Schütteln eine Portion der Eier konserviert worden ist. Nach dieser Zeit findet man fast in jedem gefärbten Ei das gleiche Bild. An Stelle des kugligen Kerns, wie ihn Taf. XIII, Abb. 1 in einem normalen Ei des gleichen Weibchens zeigt, liegt ein winziges unregelmäßiges Häufchen gut färbbarer Substanz, anscheinend aus Körnchen und Fädchen bestehend und nicht weiter zu analysieren (Taf. XIII, Abb. 2). Wenn ein Kern, wie der der Abb. 1, Taf. XIII, seine Membran und seinen Kernsaft verliert, und wenn nun seine geformten Teile dicht zusammengedrängt werden, so wird ungefähr dieser »chromidiale« Zustand entstehen müssen. Und man begreift, daß man von einem solchen Häufchen selbst in dem feinkörnigen Eiplasma von *Echinocardium* im Leben nichts wahrnehmen kann. Niemals fand ich ein Ei, wo der Kern in kleine Partikelchen zersprengt worden war; sondern immer kehrte in auffallender Gleichförmigkeit das Bild der Abb. 2, Taf. XIII wieder.

In diesem Zustand verharren jedoch die Eier, wenigstens die meisten, nicht. Vielmehr differenzieren sich aus dem Häufchen typische Chromosomen heraus, die sich in bekannter Weise kugelschalenartig um eine neben ihnen aufgetretene deutliche Plasmastrahlung gruppieren. Dieser Ansatz zu einer parthenogenetischen Entwicklung ist sicher eine Folge der durch das Schütteln verursachten Kernauflösung. Denn diejenigen Eier, die ihren Eikern bewahrt hatten, waren noch nach 24 Stunden unverändert.

Was nun das Verhalten der befruchteten Eier mit verschwundenem Eikern anlangt, so ist leider versäumt worden, solche Eier isoliert bis zu dem Stadium, auf dem sie konserviert werden sollten, zu züchten. Es ist nur eine Massenbefruchtung ausgeführt worden, so daß für kein Ei, das im Stadium der ersten Furchungsspindel abgetötet worden ist, angegeben werden kann, ob in ihm zur Zeit der Befruchtung der Eikern als Bläschen vorhanden oder aufgelöst war. Da jedoch in etwa der Hälfte dieser Eier der Eikern verschwunden war und da unter den auf dem Spindelstadium konservierten kein einziges gefunden worden ist, dessen karyokinetische Figur als eine Spermaspindel gedeutet werden könnte, so wird der Schluß berechtigt sein, daß das Chromatin eines durch Schütteln aufgelösten Kerns in der gleichen Weise wie das eines intakten Eikerns die zur Mitose führende Metamorphose erleidet, so daß alles Weitere normal verläuft. Dieser Schluß ist um so mehr berechtigt, als ja die Fähigkeit des Chromatins des zerschüttelten Eikerns,

sich in typischer Weise zu Chromosomen umzubilden, durch die oben erwähnten Ansätze zu parthenogenetischer Entwicklung bewiesen ist.

Merogonievorsuche waren bisher bei *Echinocardium* nicht ausgeführt worden, und es war denkbar, daß die Kerne bei diesem Seeigel eine Empfindlichkeit besitzen, die ihnen bei den sonst benützten fehlt. Unsere Erfahrungen lehren darüber Folgendes. Zur gleichen Zeit wie die Eier des in Rede stehenden *Echinocardium*-Weibchens (es heiße ♀ I) waren die Eier von noch drei anderen Weibchen den gleichen Prozeduren unterworfen worden. Bei einem von diesen wurden nach starkem Schütteln einige wenige Eier ohne Eikern beobachtet; bei den zwei anderen erwies sich der Kern als völlig resistent; es wurde nach dem Schütteln kein ganzes Ei gefunden, dem der Kern gefehlt hätte. Damit war es schon wahrscheinlich geworden, daß es eine bestimmte Periode im Leben der Eier ist, während deren ihr Kern gegen das Schütteln empfindlich ist. Und diese Annahme wurde aufs vollkommenste dadurch bestätigt und zugleich näher präzisiert, daß die Eier des Weibchens I, nachdem wir sie 24 Stunden in Seewasser hatten liegen lassen, jene Reaktion gänzlich verloren hatten. Obgleich sie jetzt viel heftiger geschüttelt wurden, ja schließlich so stark, daß der weitaus größte Teil in winzige Fragmente zerfiel, wiesen die jeweils intakten Eier sämtlich einen deutlichen Kern auf. Nach diesem Befund läßt sich nicht zweifeln, daß die Erscheinung von dem Reifezustand der Eier abhängt, und zwar daß es die jungen Eier sind, denen jene Labilität des Eikerns eigen ist.

Wer längere Zeit mit Echinideneiern gearbeitet hat, weiß, daß man gelegentlich Weibchen antrifft, deren Eier zum weitaus größten Teil in der Bildung der Richtungskörper begriffen sind. Daran ist zu erkennen, was bei einem in vollster Reife stehenden Weibchen nicht mehr feststellbar ist, daß wenigstens manchmal sich nahezu alle Eier eines Individuums im genau gleichen Stadium befinden. Offenbar ist unser *Echinocardium*-Weibchen I ein solches Tier gewesen; wahrscheinlich war in allen Eiern, deren Kern infolge des Schüttelns verschwunden ist, die Richtungskörperbildung erst vor Kurzem abgelaufen. Aus den Erfahrungen über die Verschmelzung von Kernbläschen wissen wir, daß die Kernmembranen kurz nach ihrer Bildung viel leichter auflösbar sind als später. Die um die einzelnen Chromosomen entstandenen Bläschen verschmelzen miteinander, falls sie rasch genug in Berührung kommen; ist eine gewisse Frist verstrichen, so vereinigen sie sich nicht mehr. So weist also auch dieser Umstand darauf hin, daß es sehr junge Eier sind, bei denen das Schütteln jenen Effekt hat.

Befänden sich die Eier eines Seeigelweibchens immer alle im gleichen Stadium, so wäre die aufgedeckte Fehlerquelle für die Merogoniefraage kaum von Belang. Denn in einer Eiermasse, in der allgemein eine so

große Neigung zum Verschwinden der Kerne besteht, könnte diese Eigenschaft nicht übersehen werden. Man würde einfach solches Material von den Versuchen ausschließen. Allein bei den allermeisten Weibchen gibt es eine solche Gleichgültigkeit im Reifezustand der Eier nicht¹⁾. Selbst in den reifsten Weibchen findet man fast immer einzelne Nachzügler: Oocyten, deren Keimbläschen sich auflöst und solche, die gerade in der Bildung der Richtungskörper begriffen sind. Es muß also auch ganz junge Eier mit vor kurzem gebildeten Eikern darunter geben, und ein solcher Kern wird vermutlich bei allen Echinidenspecies die gleiche Eigenschaft haben, unter starker Schüttelwirkung zu verschwinden.

Schon am Tag nach der Erfahrung mit *Echinocardium*, als nun unsere Aufmerksamkeit auf solche Vorkommnisse gerichtet war, kam uns ein Fall vor, der das Gesagte bestätigte. Zu einem Versuch anderer Art waren an *Paracentrotus*-Eiern, deren gut ausgebildeter Pigmentring die Polarität des Eies erkennen ließ, die Kerne an die Oberfläche zentrifugiert worden, und es handelte sich darum, solche Eier herauszusuchen, bei denen der Kern möglichst genau am animalen Pol lag. Nachdem eine größere Zahl isoliert worden war, ergab es sich als wünschenswert, das gleiche mit Eiern auszuführen, die außer durch jene Lage des Kerns auch noch durch Verlängerung in der Richtung der Eiachse ausgezeichnet waren. Zu diesem Zweck wurde eine Portion der gleichen Eier geschüttelt, durch welche Einwirkung viele Eier wurstartig gestreckt werden, ein Vorgang, der, wenn das Schütteln noch weiter fortgesetzt wird, zur Fragmentierung führt. Als nun diese Eier auf die Lage ihres Kerns geprüft wurden, fiel schon nach kurzer Zeit ein fast kugliges, nach Größe und Pigmentanordnung sicherlich unverletztes Ei auf, in welchem weder ein Kern noch die geringste Andeutung einer Struktur sichtbar ward, die auf eine Reifungsteilung gedeutet hätte. Nachdem dieses Ei etwa eine Stunde gelegen hatte, ohne sich zu verändern, wurde es befruchtet; es furchte sich zur rechten Zeit und normal und ergab einen Pluteus, dessen Kerne die gleiche Größe besitzen wie diejenigen der normalen Kontrollplutei. Es scheint mir keinem Zweifel zu unterliegen, daß hier als seltene Ausnahme die gleiche Erscheinung einer Auflösung des Eikerns infolge des Schüttelns eingetreten war, die in dem oben besprochenen *Echinocardium*-Weibchen so häufig gewesen ist.

Nach diesen Erfahrungen ist es klar, wie die oben erwähnten Fälle zu deuten sind, wo bei Befruchtung anscheinend kernloser Eifragmente großkernige Plutei mit deutlich ausgeprägten mütterlichen Merkmalen entstanden waren. Die Eibruchstücke hatten eben offenbar einen durch das Schütteln unsichtbar gewordenen Eikern enthalten, und die

¹⁾ Vgl. hierzu Köhler (1914).

aus ihnen hervorgegangenen Larven waren das, als was sie sich darstellen: echte Bastarde mit richtigen diploiden, aus väterlichen und mütterlichen Chromosomen zusammengesetzten Kernen. So verloren sie ihre scheinbar revolutionäre Bedeutung und damit jedes weitere Interesse.

IV. Das Vorkommen von Partialkernen.

Ehe wir die Bedeutung erörtern, welche der im vorigen Abschnitt besprochenen Fehlerquelle für das Merogonieproblem zukommt, ist noch eine zweite Erscheinung namhaft zu machen, die bei solchen Versuchen zu Täuschungen führen kann. Es kommt bei Echinideneiern vor, daß die Chromosomen, die nach der Bildung des zweiten Richtungskörpers im Ei zurückgeblieben sind, nicht einen einheitlichen Eikern bilden, sondern zwei oder mehrere Partialkerne, die dauernd selbständig bleiben. Am 2. März 1914 ist uns ein *Parechinus*-Weibchen in die Hände gekommen, bei dem in fast der Hälfte der Eier solche Partialkerne vorhanden waren, oft zwei oder drei, nicht ganz selten sogar vier oder fünf (Taf. XIII, Abb. 4 und 5). Diese Bläschen können sehr verschieden groß sein; manche sind so klein (Taf. XIII, Abb. 5), daß sie, nach der Größe der übrigen zu urteilen und unter Einsetzung der für *Parechinus* ermittelten haploiden Chromosomenzahl 18, wohl nur ein einziges Chromosoma enthalten können.

Wie solche Zustände entstehen, kann nicht zweifelhaft sein. Bekanntlich bildet bei den Seeigeln jedes Tochterchromosoma zunächst seine eigene Kernvacuole und alle diese für gewöhnlich dicht benachbarten Bläschen verschmelzen allmählich zu einigen größeren und schließlich zu einem einzigen, dem »Kern«. Wir wissen besonders gut von den Verhältnissen bei *Ascaris megaloccephala*, daß diese Verschmelzung nur vor sich gehen kann, solange die Bläschen jung und ihre Wandschicht wenig widerstandsfähig ist. Ist dieser Zeitpunkt überschritten, so vereinigen sich die Partialkerne nicht mehr. Aus diesem Grund kommen z. B. bei *Ascaris* Ei- und Spermakern, selbst bei inniger Berührung, meist nicht zur Verschmelzung. Auch dauernd sich erhaltende Partial-Eikerne kommen, wie ich vor langer Zeit (1888) beschrieben habe, bei *Ascaris* vor, und zwar dann, wenn die Chromosomen bei der Kernbildung weit von einander entfernt sind. Ganz ebenso werden wir uns die Entstehung solcher Teilkern im Echinidenei zu denken haben. Jedenfalls war in dem erwähnten Eimaterial eine sonst sehr seltene Tendenz vorhanden, die dem Ei zugeteilten Tochterchromosomen der zweiten Richtungsspindel ungewöhnlich weit zu zerstreuen, so daß nur einzelne der zunächst entstandenen Bläschen zeitig genug in Berührung kamen, um verschmelzen zu können, andere aber diesen Anschluß, bei

dem wohl eine auf gewisse Entfernung wirkende gegenseitige Anziehung mitwirkt, nicht erreichen.

Nicht ohne Interesse ist die Regellosigkeit, mit der die Partialkerne im Ei zerstreut sind. Nachdem ich (1901) im *Paracentrotus*-Ei die schon durch Selenka bekannt gemachte, aber wieder in Vergessenheit geratene Eiachse von Neuem aufgefunden hatte, zeigte mir die verschiedene Position, die der Eikern in verschiedenen Eiern zu dieser Achse einnahm, daß er im Echinidenei eine fixe Lage überhaupt nicht hat, sondern von seinem Entstehungsort am animalen Pol ohne erkennbare Gesetzmäßigkeit im Plasma herumwandert, wie dies die Beobachtung des gleichen Eies durch mehrere Stunden hindurch direkt beobachten läßt. Die Eier mit Partialkernen illustrieren dieses Verhalten besonders gut. Entstanden müssen alle diese Bläschen am animalen Pol sein; von da haben sie sich ganz unabhängig von einander der eine dahin, der andere dorthin begeben.

Als wir solche Eier befruchteten, trat das ein, was zu erwarten war: die in den Mittelpunkt des Eies gerückte Spermasphäre zieht alle Partialkerne, soviel ihrer sein mögen, an sich, so daß sie hier mit dem Spermakern zusammen, sei es nach vorheriger Verschmelzung, sei es unverschmolzen, sich auflösen, worauf alles Chromatin ganz ebenso in die erste Furchungsspindel eintritt, wie bei Vorhandensein eines einheitlichen Eikerns. Die entstandenen Plutei sind in jeder Hinsicht normal.

Würde man solche Eier vor der Befruchtung fragmentieren, so würde man leicht in größerer Zahl Bruchstücke mit einem oder zwei Partialkernen erhalten können. Leider habe ich versäumt, dieses so ungewöhnlich günstige Material zu einem solchen Versuch zu benützen. Durch das Problem der merogonischen Bastardierung waren meine Gedanken damals so okkupiert, daß ich meinte, die Herstellung von Fragmenten mit Partial-Eikernen könne nur dann etwas von Bedeutung lehren, wenn man sie durch Sperma einer anderen Species von wesentlich abweichender Larvenform befruchten könne. Da es *Parechinus*-Eier waren, war ein solcher Versuch ausgeschlossen. Es wäre aber auch schon die Entwicklung derartiger Fragmente bei homospermer Befruchtung interessant gewesen. Denn man hätte Keime erhalten, in deren Kernen bestimmte Chromosomen einfach, andere doppelt vertreten gewesen wären; und es hätte sich die durch die Dispermieversuche aufgeworfene Frage entscheiden lassen, ob das verschiedenfache Vorkommen der einzelnen Chromosomenarten die Entwicklung beeinflußt oder nicht. Ich erwähne dies nebenbei, da es vielleicht andere Beobachter anregen mag, bei sich bietender Gelegenheit dieser Frage nachzugehen.

Für unser gegenwärtiges Problem ist die Tatsache bedeutungsvoll, daß es Eier mit Partialkernen bei Echiniden überhaupt gibt. In so großem Prozentsatz wie bei dem besprochenen *Echinus*-Weibchen kommen sie,

wie ich nach meinen langen Erfahrungen sagen darf, gewiß nur höchst selten vor. Als gelegentliche Ausnahmen kann man sie aber bei genauer Durchsicht größerer Eiermengen immer wieder beobachten. Eier mit zwei Partialkernen sind gar nicht so sehr selten. Und damit gelangen wir zu einem zweiten Moment, das als Täuschungsquelle bei Merogonieversuchen verhängnisvoll werden kann. In dem hellen Eiplasma von *Parechinus* wird selbst ein sehr kleiner Partialkern der Beobachtung kaum entgehen können. Keineswegs aber möchte ich dies für die oft so trüben, grobkörnigen *Sphaerechinus*-Eier behaupten, die ja von den Seeigeleiern des Mittelmeers die einzigen sind, die für Merogonieversuche, wenn durch dieselben Vererbungsfragen entschieden werden sollen, in Betracht kommen. Des Weiteren aber ist zu erwarten, daß, wenn durch Schütteln der gewöhnliche einheitliche Eikern ohne Störung seiner weiteren Leistungen unter gewissen Umständen zum Verschwinden gebracht wird, dies auch in einem durch Schütteln hergestellten Fragment mit dem ihm zugefallenen Partialkern geschehen kann. Auf diese Weise aber ist die Entstehung von Larven möglich, die deutlich kleinere Kerne besitzen als die gewöhnlichen und doch einen Teil des mütterlichen Chromatins enthalten.

V. Über die Brauchbarkeit des Schüttelverfahrens und anderer Methoden zur Herstellung kernloser Eifragmente. Kriterien der Kernlosigkeit.

Angesichts der Fehlerquellen, die wir in den beiden vorigen Kapiteln kennen gelernt haben, muß sich die Frage erheben, ob denn auf solchem Weg die Existenz merogonischer Objekte überhaupt bewiesen werden kann, und speziell, was die bisherigen Versuche beweisen. Daß die Schüttelmethode, wenn die Kernlosigkeit nur auf Grund des Aussehens der Eifragmente behauptet werden kann, unzuverlässig ist, bedarf keiner weiteren Erörterung. Es fragt sich vor allem: Haben wir bessere Methoden?

Delage hat die Eier zerschnitten. Ein solches Verfahren hatte auch ich bei meinen ersten Versuchen im Jahr 1889 angewandt, jedoch mit so schlechtem Erfolg, daß ich es bald wieder aufgab, um nie mehr darauf zurückzukommen. Ähnliche ungünstige Erfahrungen mit dem Zerschneiden hat später H. Winkler (1901) gemacht. Damit soll natürlich nicht bestritten werden, daß eine bessere Technik des Zerschneidens tadellose kernlose Stücke liefern könnte. Da aber Delage in seinen angeblich merogonischen Objekten die diploide Chromosomenzahl gefunden haben will und da er den zwischen amphigonischen und wirklich merogonischen Larven so auffallenden Unterschied der Kerngröße nicht beobachtet hat, kann sein Verfahren nicht viel Vertrauen er-

wecken und hat jedenfalls in seinen Händen den Beweis für die Existenz merogonischer Larven nicht geliefert. Es muß einstweilen fraglich bleiben, ob diese Methode so ausgebildet werden kann, daß die auf solche Weise hergestellten Fragmente ebenso lebensfähig sind wie die durch Schütteln gewonnenen.

Godlewski (1906) gibt an, daß er bei seinen Merogonieversuchen Eier sowohl zerschüttelt als zerschnitten habe. Zu letzterem Zwecke hat er einen Eierhaufen mit wenig Wasser auf einen Paraffinblock gebracht und nun mit einem scharfen Scalpel Schnitte hindurch geführt. Bei dieser Art des Vorgehens hat die Schneidemethode vor der Schüttelmethode an Exaktheit nichts voraus. Denn der Vorzug des Zerschneidens liegt ja nur darin, daß man an einem bekannten Einzelei arbeitet und nach dessen Zerschneidung in demjenigen Fragment, das den Kern enthält, den Beweis besitzt, daß das andere Stück kernlos ist. Blindes Zerschneiden ist gewiß nicht besser als das Zerschütteln. Liegt ein junger, zur Auflösung geneigter Eikern annähernd in der Ebene, wo das Messer durchgeht, so wird er nicht nur zerdrückt und dadurch unsichtbar gemacht werden, sondern auch zerschnitten werden können. Godlewski hat nicht angegeben, was für Resultate er mit dem Zerschneiden erzielt hat; da er aber an einer späteren Stelle seiner Arbeit (S. 634) die Frage erörtert, ob die Entwicklungsstörungen, die ihm an seinen merogonischen Keimen so häufig vorgekommen sind, durch die Erschütterung beim Fragmentieren bedingt sein könnten, vermute ich, daß seine Resultate in der Hauptsache durch die Schüttelmethode gewonnen sind.

Winkler hat ein Verfahren angegeben, das auf dem gleichen Prinzip wie das Zerschneiden beruht, nach seinen Angaben aber bessere Resultate gibt. Er hat über die Öffnung einer Pipette, die wenig weiter war als der Durchmesser des Eies, einen feinen Faden gespannt und die in die Pipette gefüllten Eier durch geeigneten Druck auf das Pipettenhütchen herausgedrückt, wodurch es gelingt, ein Ei so durch die Kapillaröffnung der Pipette zu pressen, daß es durch den Faden in zwei Teile zerlegt wird. Über die Entwicklungsfähigkeit der mit diesem Verfahren erzielten kernlosen Stücke hat Winkler keine speziellen Angaben gemacht. Da er aber, wie oben schon erwähnt, die Schüttelmethode als die beste erklärt, muß auch ihm dieses Massenverfahren bessere Ergebnisse geliefert haben, als die Zerteilung eines bestimmten Einzeleies durch den Faden.

Trotzdem müßte in Anbetracht der nunmehr aufgedeckten Fehlerquellen die Schüttelmethode verlassen und alles Bemühen auf die Ausarbeitung eines besseren Verfahrens gerichtet werden, wenn wir kein anderes Kennzeichen für die Kernlosigkeit eines Eifragments hätten als die Nichtauffindbarkeit des Kerns. Glücklicherweise besitzen wir ein solches Kriterium in der Kerngröße der Larven. Über diese

Verhältnisse habe ich mich früher (1905) eingehend verbreitet und darf auf jene Untersuchung verweisen. Nur eine Bemerkung sei hier noch hinzugefügt. Ein vollkommen strenger Beweis dafür, daß haploide Kerne von Seeigelplutei zu diploiden in einer konstanten Proportion stehen, und zwar so, daß sich die Oberflächen wie 1 : 2 verhalten, wird durch jenen Typus der Dispermie geliefert, den ich als den Doppelspindeltypus bezeichnet habe. Sind in ein typisches Ei zwei Spermaköpfe eingedrungen, von denen der eine sich mit dem Eikern verbunden hat, der andere selbständig geblieben ist, so entsteht — soweit nicht mehrpolige Mitosen eingreifen — ein gesunder Pluteus, der in einem Teil seines Körpers diploide, im anderen haploide Kerne (Abkömmlinge des selbständig gebliebenen Spermakerns) enthält. An solchen Objekten habe ich schon früher (1905, 1907) und neuerdings wieder das Kernoberflächenverhältnis 1 : 2 mit immer gleicher Konstanz verwirklicht gefunden. Von diesem Typus der Dispermie weicht hinsichtlich der Kernverhältnisse die Entwicklung einerseits eines kernhaltigen, andererseits eines kernlosen Eifragments, bei monospermer Befruchtung, nur dadurch ab, daß das, was dort in einem Keim vereinigt abläuft, hier auf zwei verteilt ist. Weist also die Larve aus einem als kernlos isolierten, monosperm befruchteten und normal gefurchten Eifragment Kerne auf, die sich zu den Kernen von Larven aus kernhaltigen Fragmenten oder ganzen Eiern in ihren Oberflächen wie 1 : 2 verhalten, so kann die Kernlosigkeit jenes Fragments als über jeden Zweifel sicher gestellt gelten.

Wenn wir aber doch einmal auf ein solches nachträgliches Kriterium angewiesen sind, dann hat natürlich das Isolieren kernlos erscheinender Stücke aus einer zerschüttelten Eiermasse, zum Beweis merogonischer Entwicklung, überhaupt keinen Wert mehr; wir können ebensogut in der Massenkultur, die aus jenem Schüttelmaterial angesetzt worden ist, nach erfolgter Konservierung und Färbung jene Larven aufsuchen, die sich durch ihre in bestimmtem Verhältnis kleineren Kerne und zugleich durch ihre entsprechend größere Kern- und Zellenzahl von den Normallarven unterscheiden. Es fragt sich nur, welche Art des Vorgehens weniger zeitraubend ist. Hierüber sei einstweilen gesagt, daß für gewisse Merogonieversuche die Massenkultur, für andere das Isolieren der kernlos erscheinenden Stücke zweckmäßiger ist, letzteres, wie kaum noch betont zu werden braucht, nicht als ein Beweisverfahren, sondern nur aus Gründen der Arbeitsökonomie. Denn die Prüfung der Kerngröße der entstehenden Larven bleibt immer unerläßlich. Hat man aber die Wahl, ob man aus vielen Tausenden von Larven einer Massenkultur die kleinkernigen, oder ob man aus einer großen Menge von Eifragmenten eine Anzahl kernloser herausuchen soll, so erfordert das letztere Verfahren unter gewissen Umständen so

viel weniger Zeit, daß die nachträglich vorzunehmende Kontrolle, ob die entstandenen Larven wirklich alle kleinkernig sind, kaum ins Gewicht fällt.

Um eine Vorstellung zu geben, wie sich diese Dinge in praxi gestalten, gebe ich hier einen vorläufigen Bericht über eigenartige Meroгонieveruche, die in den Rahmen dieser Arbeit nicht passen und nächstens gesondert dargestellt werden sollen. Nachdem Baltzer (1910) gefunden hatte, daß die krankhafte Entwicklung der Bastardlarven, die bei den Kreuzungen *Parechinus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂ und *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂ entstehen, darin ihren Grund hat, daß die *Sphaerechinus*-Chromosomen mit Ausnahme von vier oder fünf, in dem fremden Eiplasma nicht richtig an dem mitotischen Prozeß teilnehmen und früher oder später »eliminiert« werden, war es von Interesse, den Schicksalen und der Leistungsfähigkeit jener vier oder fünf väterlichen Chromosomen näher nachzugehen unter Verhältnissen, wo sie nicht mit den mütterlichen kombiniert sind. Wir führten deshalb die gleichen Bastardkombinationen mit isolierten kernlosen Fragmenten aus. Es gelang in sieben verschiedenen Versuchen, von denen zwei mit *Parechinus*-, fünf mit *Paracentrotus*-Eiern angestellt worden sind, 135 durch *Sphaerechinus*-Samen befruchtete, anscheinend kernlose Fragmente zu isolieren. Von diesen waren mindestens 110 monosperm befruchtet.

Zwischen der Entwicklungsfähigkeit der kernhaltigen Eier und kernlosen Stücke besteht nun bei diesen Kreuzungen ein sehr großer Unterschied. Während die ersteren, trotz der Abstoßung pathologischer Massen in die Furchungshöhle, lebhaft bewegliche Blastulae und, wenn die abgestoßenen Teile nicht ein gar zu großes Hindernis bilden, sogar Gastrulae und Plutei liefern (Baltzer), gelangen die aus kernlosen Eifragmenten gezüchteten, nicht über das Stadium junger Blastulae hinaus, die es höchstens zu einer schwachen zitternden Bewegung innerhalb der sich erweichenden Dotterhaut bringen, um dann rasch abzusterben. Von diesem Verhalten machten nur zwei der als kernlos isolierten Stücke eine Ausnahme; sie waren lebenskräftig und höchst beweglich, wie die aus ganzen Eiern. Als sie aber konserviert und gefärbt waren, ließ der Zustand ihres Chromatins keinen Zweifel, daß die scheinbar kernlosen Fragmente, aus denen sie entstanden waren, einen — wahrscheinlich infolge des Schüttelns verschwundenen — Eikern besessen haben müssen.

Zunächst interessiert uns an diesen Versuchen die Größe des Fehlers, der bei der Isolierung der kernlos erscheinenden Stücke vorgekommen ist; er beträgt noch nicht 2%. Nachdem man einmal weiß, daß man mit solchen Fehlern zu rechnen hat, und ein Mittel besitzt, sie nachträglich als solche zu erkennen, sind sie harmlos geworden. Wo aber,

wie dies früher geschehen ist, die Unauffindbarkeit des Kerns in einem Schüttelfragment als genügendes Kriterium der Kernlosigkeit angesehen wird, muß auch ein so kleiner Fehler verhängnisvoll werden, wovon unten noch zu sprechen sein wird.

Sodann zeigt das Mitgeteilte, wie vorteilhaft in einem Fall wie diesem die Verfolgung isolierter Stücke ist. Hätte man die Resultate der Versuche aus Massenkulturen gewinnen wollen, so wäre die Frage, wie weit sich ein kernloses Fragment bei der in Rede stehenden Bastardierung entwickeln kann, nur dadurch zu beantworten gewesen, daß man in kleinen Intervallen jeweils eine Anzahl Larven konserviert hätte, um später aus den Kernverhältnissen zu ermitteln, bis zu welcher Etappe sich noch merogonische Stücke darunter befinden. Es ist einleuchtend, wieviel umständlicher diese Art des Vorgehens gewesen wäre. Die nicht unwichtige Frage, wie die merogonischen Objekte am Ende ihrer Entwicklung aussehen, ob sie sich bewegen usw., wäre auf diesem Weg wahrscheinlich gar nicht zu beantworten gewesen.

Mit diesen Erfahrungen ausgerüstet, wollen wir nun betrachten, was sich über die Entwicklungsfähigkeit merogonischer Larven und besonders merogonischer Bastardlarven einesteils aus der Literatur, andererseits aus neuen Versuchen ableiten läßt. Den zuerst zu besprechenden Fällen der gewöhnlichen oder totalen Merogonie stelle ich unter dem Namen partielle Merogonie solche gegenüber, wo bloß in einem Teil des Keims Abkömmlinge eines Spermakerns enthalten sind, wogegen der andere Teil den typischen diploiden Kernbestand aufweist.

VI. Totale Merogonie.

A. Innerhalb der gleichen Species.

Hierüber genügen wenige Worte. Schon bei meinen ersten Merogonieversuchen vom Jahr 1889 habe ich kernlos erscheinende Stücke von *Parechinus*-Eiern nach Befruchtung mit *Parechinus*-Samen isoliert aufgezüchtet und an den daraus entstandenen Plutei festgestellt, daß ihre Kerne erheblich kleiner waren als diejenigen der diploiden Kontrollplutei. Dieses Verfahren ist auch von unserem jetzigen Standpunkt einwandfrei. Die Fähigkeit kernloser Eifragmente, sich bei homospermer Befruchtung zu normalen Plutei zu entwickeln, war damit bewiesen. Später (1902, 1905) habe ich über neue Versuche gleicher Art berichtet, bei denen es vor allem darauf abgesehen war, das Verhältnis der Kerngrößen und der Zellenzahlen von haploiden und diploiden Larven exakt zu bestimmen.

Das Einzige, was ich hier noch hervorheben will, ist die Tatsache, daß merogonische Keime sich zu ebenso schlanken, langarmigen Plutei entwickeln können, wie die normalen diploiden Keime. Daß man aus isolierten Exemplaren fast niemals so wohlentwickelte Larven erhält, rührt ohne Zweifel von den Schädigungen her, denen die Bruchstücke bei dem notwendigen öfteren Übertragen mit der Pipette ausgesetzt werden mußten.

B. Bei der Kombination *Parechinus* ♀ × *Paracentrotus* ♂.

Die Versuchsbedingungen sind hier fast ebenso günstig wie bei homospermer Befruchtung, da sich die *Parechinus*-Eier durch *Paracentrotus*-Sperma fast stets tadellos befruchten lassen.

Schon im Jahr 1896 hatte ich bei den mit MacFarland gemeinsam unternommenen Versuchen, über die ich in aller Kürze (1901) berichtet habe, aus einem als kernlos isolierten Eifragment von *Parechinus* nach Befruchtung mit *Paracentrotus*-Samen einen wohlgebildeten Pluteus erhalten, der, nachdem er gezeichnet war, in einer Pipette kleben geblieben und so verloren gegangen ist. Die Größe seiner Kerne ist nicht bestimmt worden, seine merogonische Natur bleibt daher zweifelhaft. Im Winter 1912 sind meine Frau und ich auf Versuche dieser Kombination zurückgekommen, haben damals aber nur mit Massenkulturen von zerschüttelten Eiern gearbeitet. Diese Zuchten ergaben, neben einer großen Mehrzahl von großkernigen, also diploiden Plutei verschiedener Größe, eine geringe Zahl von Zwergplutei, die nach Kerngröße und Zellenzahl zweifellos merogonisch sind. Damit ist bewiesen, daß ein Spermatozoon auch mit kernlosem Eiplasma einer anderen Species ein normales Produkt liefern kann.

Alle diese merogonischen Bastardlarven sind kürzer und plumper als diejenigen aus kernhaltigen Fragmenten. Dies rührt wenigstens zum Teil daher, daß sie in der Entwicklung hinter den anderen zurück sind, obgleich sie unter genau gleichen Bedingungen aufgewachsen sind. Nachdem wir oben erfahren haben, daß bei Befruchtung innerhalb der gleichen Species die in einer Massenkultur aufgewachsenen Plutei aus kernhaltigen und kernlosen Fragmenten gleich gut entwickelt sein können, wird man in jenem Nachhinken der merogonischen bei der Kreuzung *Parechinus* ♀ × *Paracentrotus* ♂ schon einen geringen schädigenden Einfluß der zwischen Spermatozoon und Eiplasma bestehenden Fremdartigkeit erkennen müssen.

Merogonieversuche der Kreuzung *Parechinus* × *Paracentrotus* können deshalb im Allgemeinen nichts Wesentliches lehren, weil die Larven dieser beiden Species fast identisch sind. Ich wüßte wenigstens kein einziges durchgreifendes Merkmal anzugeben, an dem sich ein *Paracentrotus*-Pluteus von einem *Parechinus*-Pluteus unterscheiden ließe.

Allerdings gibt es einige gelegentliche Abweichungen, von denen die einen der einen Species eigentümlich zu sein scheinen, andere der anderen. So finden sich bei *Paracentrotus* ziemlich häufig doppelte Analstäbe, was bei *Parechinus*, außer an mißgebildeten Skeletten, nach meinen Erfahrungen nicht vorkommt. Bei *Parechinus* hinwiederum hat die Keule der Scheitelstäbe eine bei *Paracentrotus* in dieser Weise nicht vorkommende Neigung zu Astbildungen, manchmal so, daß sie tief gegabelt ist (diese Eigentümlichkeit besaßen die *Parechinus*-Plutei bei dem obenerwähnten Merogonieversuch von 1896), häufiger so, daß das angeschwollene Ende mit gröberen und feineren Zacken besetzt ist.

Wegen solcher besonderer Gestaltungen, die da, wo sie auftreten, meist allen Individuen einer Zucht in gleicher Weise zukommen, hielt und halte ich noch ausgedehnte Merogonieversuche dieser Kombination für die Frage nach der Rolle von Kern und Plasma bei der Vererbung für nicht ganz aussichtslos. Denn wenn der Zufall einmal bei einem solchen Versuch Geschlechtsprodukte von sehr verschiedener Formtendenz zusammenführt, könnten die Unterschiede vielleicht doch groß genug sein, um eine Aussage zu gestatten, ob ein die in größerer Zahl gezüchteten merogonischen Plutei rein väterliche Vererbungsrichtung besitzen oder nicht¹⁾.

Ich gehe auf den genaueren, infolge der zahlreichen nötigen Kontrollen ziemlich umständlichen Plan, nach dem wir solche Versuche ausgeführt haben, nicht ein, da ein Erfolg nicht erreicht worden ist. Als wir nämlich im vergangenen Winter (1914) wieder merogonische Keime der Kombination *Parechinus* × *Paracentrotus* züchten wollten, gelang das, was 2 Jahre vorher mit Leichtigkeit gelungen war, nicht ein einziges Mal; wir konnten bei mehreren Versuchen keine merogonische Larve dieser Kombination über das Stadium einer unvollkommenen Gastrula hinausbringen. Es zeigte sich hier wieder einmal das bei solchen Versuchen nicht seltene Versagen des Materials, durch das schon so viel Zeit und Mühe nutzlos verloren gegangen ist. Die Monate Januar bis April 1914 waren überhaupt für Experimente mit Seeigeleiern die ungünstigste Periode, die ich je in Neapel erlebt habe. Besonders abnorm zeigten sich die Geschlechtsprodukte des mit seinem Namenswechsel überdies viel seltener gewordenen *Parechinus microtuberculatus*, mit dem ich in früheren Jahren gerade die besten Erfahrungen gemacht hatte.

¹⁾ Die gleichen Erwägungen gelten übrigens auch für Merogonieversuche innerhalb der gleichen Species, da auch hier die Plutei verschiedener Eltern in den Proportionen ihres Skelets, in der Form der Keulen usw. ziemlich verschieden sein können.

C. Bei den Kombinationen *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* und *Sphaerechinus* × *Parechinus*.

Auf kein anderes Experiment habe ich je so viel Zeit verwendet als auf die Züchtung merogonischer Bastarde aus *Sphaerechinus*-Eiern; und wenn, wie sich gleich zeigen wird, das nach manchen Irrwegen schließlich erzielte wissenschaftliche Ergebnis diesem Aufwand durchaus nicht entspricht, so bringt es doch, wie ich glaube, endlich Klarheit in ein dunkles und verworrenes Gebiet.

Im Jahr 1889 hatte ich in Massenkulturen aus zerschüttelten *Sphaerechinus*-Eiern, die mit *Parechinus*-Samen befruchtet worden waren, Zwergplutei gefunden von väterlicher Form und mit kleineren Kernen als die echten Bastardlarven sie darboten. Nachdem ich vorher für *Parechinus* die Entwicklungsfähigkeit merogonischer Keime bis zum Pluteusstadium nachgewiesen und diese Plutei durch ihre kleinen Kerne charakterisiert gefunden hatte, glaubte ich berechtigt zu sein, jene kleinkernigen Zwergplutei der Bastardkultur gleichfalls als merogonisch in Anspruch zu nehmen. Von dieser Meinung getragen und weiterhin überzeugt, daß die Kernlosigkeit von Schüttelfragmenten, die sich unter den damals angegebenen Kautelen als kernlos darstellten, keinem Zweifel unterliegen könne, habe ich bis vor 2 Jahren immer wieder versucht, durch sehr ausgedehnte Versuche und verbesserte Methodik solche Objekte isoliert und womöglich in größerer Menge zu züchten. Bei diesen Versuchen sind in der Tat mehrmals Plutei von der erwarteten Beschaffenheit aufgetreten, allerdings so selten, daß auf einen solchen Pluteus gewiß mehr als 100 andere Keime trafen, die auf viel früheren Stadien ihre Entwicklung eingestellt hatten. So, wie ich die Sachlage jetzt ansehe, hätte mich diese äußerst geringe Ausbeute schon stutzig machen können; allein damals betrachtete ich sie nur als die Folge der mancherlei Schädigungen, denen mehr oder weniger alle merogonischen Objekte, in erhöhtem Maß bei Bastardierung, und ganz besonders diejenigen von *Sphaerechinus* ausgesetzt sind. So überraschend gut sich manche Fragmente entwickeln, so sind doch viele andere durch die Prozedur des Zerschüttelns erheblich geschädigt, was man leicht daran erkennt, daß in einer homospermen Schüttelkultur fast stets viele Zwergkeime gefunden werden, die es nicht über das Gastrulastadium hinausgebracht haben. Es kommt noch hinzu, daß, wie ich 1901 festgestellt habe, alle Fragmente, die aus der animalen Hälfte des Eies stammen, als Blastulae ihre Entwicklung einstellen. Des weiteren glaube ich aus meinen Erfahrungen den Schluß ziehen zu dürfen, daß die Entwicklungsaussichten eines Fragments ohne Eikern, selbst bei homospermer Entwicklung erheblich geringer sind als die eines kernhaltigen. Bei einem früher (1905, S. 8) mitgeteilten Versuch war das

Verhältnis folgendes gewesen. Von einem *Parechinus*-Weibchen waren aus zerschüttelten Eiern 21 kernhaltige Fragmente isoliert und mit *Parechinus*-Samen befruchtet worden; sie lieferten 13 gute Plutei, d. i. ungefähr 62%. Aus 36 kernlosen (kernlos erscheinenden) Fragmenten des gleichen Versuchs dagegen gingen nur sieben wohlgestaltete Plutei hervor, d. i. etwa 19%.

Viel verderblicher jedoch als die Schädigung beim Fragmentieren ist diejenige beim Isolieren. Das öftere Übertragen der Fragmente mit feinen Pipetten bewirkt Störungen, besonders dann, wenn die Fragmente, wie es bei *Sphaerechinus*-Eiern sehr häufig der Fall ist, große Neigung zum Kleben besitzen. Ein am Boden des Gefäßes festgeklebtes Stück kann man nur durch einen sehr kräftigen Wasserstrom losreißen, wobei nicht selten nochmals ein Teil des Plasmas durch Hängenbleiben am Glas verloren geht, in allen Fällen aber das Plasma vorübergehend stark deformiert wird.

In diesen Umständen hatte ich, wie gesagt, die Gründe gesehen, warum ich aus kernlosen Stücken von *Sphaerechinus*-Eiern bei Befruchtung mit *Parechinus*- oder *Paracentrotus*-Samen so äußerst wenige Plutei erhalten konnte. Es schien mir eben das Zusammentreffen einer Reihe von günstigen Umständen nötig zu sein, damit »merogonische Bastarde« dieser Kombinationen sich entwickeln konnten.

Erst die Erfahrungen von 1912, daß einige Fragmente, die ich als kernlos isoliert hatte, nach der Kerngröße der daraus entstandenen Larven doch einen Eikern besessen haben mußten, und die Art, wie sich diese unsichtbare Kernhaltigkeit nach dem im Kapitel II Mitgeteilten aufgeklärt hat, ließen mich die Dinge in einem anderen Licht erblicken. Sollten, so mußte ich mich fragen, vielleicht alle bis zum Pluteusstadium gelangten Keime einen Eikern oder wenigstens einen Teil eines solchen besessen haben? Könnten nicht die vielen auf frühem Stadium stehen gebliebenen Stücke, die ich achtlos weggeworfen hatte, die wahren merogonischen, bis an das für diese Kombinationen erreichbare Ende gelangten Keime sein?

Diese Fragen, die, wie ich jetzt glaube, zu bejahen sind, seien zunächst an der Hand der Versuchsergebnisse von 1912 näher geprüft. Es kommen sechs Versuche in Betracht, fünf von der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*, einer von *Sphaerechinus* × *Parechinus*. Bei allen sechs Versuchen zusammen waren über 200 befruchtete Fragmente, die anscheinend ohne Kern waren, isoliert worden. Die genaue Zahl kann ich nicht angeben, da bei zwei Versuchen die Protokollzettel derjenigen Objekte, die ihre Entwicklung auf einem frühen Stadium eingestellt hatten, nicht aufbewahrt worden sind. Aus diesen mindestens 200 Stück haben wir 11 wohlgestaltete Plutei erhalten. Von diesen zeigen acht die Kerngröße der echten Bastarde; es war also

aller Wahrscheinlichkeit nach in diesen 8 als kernlos isolierten Stücken ein unsichtbarer Eikern vorhanden gewesen. Hierfür spricht nun nachträglich noch ein besonderer, bei der Anstellung der Versuche von uns verkannter Umstand. Es war uns aufgefallen, daß wir in einigen dieser Versuche »kernlose Fragmente« fanden, die ungefähr die Größe ganzer Eier hatten. Da bei allen Versuchen vor dem Zerschütteln der Eikern durch Zentrifugieren dicht unter die Oberfläche verlagert worden war und da das Schütteln manchmal nur sehr kleine Stückchen vom Ei gleichsam abbricht, was dann oft noch eine Zeitlang an der Beschaffenheit der Bruchstelle kenntlich ist, kam es uns nicht in den Sinn, daß diese großen Stücke etwas anderes als ungewöhnlich große Fragmente sein könnten; und wir fahndeten gerade nach solchen Riesenfragmenten, da die Entwicklungsaussichten sicherlich um so besser sind, je weniger vom Eiplasma verloren gegangen ist. Dies schien sich auch an den drei Stücken, die besonders groß waren, zu bestätigen, indem sie sich ausnehmend rasch und gut entwickelten. Jetzt halte ich es nicht mehr für zweifelhaft, daß wir in diesen drei Stücken intakte Eier isoliert hatten, deren Kern durch das Schütteln verschwunden war. In der Tat unterscheiden sich die drei Plutei, die sie ergeben haben, in keiner Hinsicht von den echten Bastarden der Kontrollkulturen; außer der gleichen Kerngröße haben sie auch ungefähr die gleichen Dimensionen, und ihr Skelet zeigt die charakteristische Mischung väterlicher und mütterlicher Merkmale.

In gleicher Weise als typische Bastarde stellen sich die übrigen fünf Plutei dieser großkernigen Kategorie dar, die, nach ihrer geringen Größe, wirklich aus Fragmenten hervorgegangen sein müssen. Eine von diesen Larven (*Sphaerechinus* × *Parechinus*, vom 4. März 1912) ist in Abb. 6a, Taf. XIII abgebildet. Wenn, wie wir aus den vorher genannten drei Objekten schließen müssen, in dem Schüttelmaterial ganze Eier vorhanden waren, bei denen das Schütteln den Kern zum Verschwinden gebracht hatte, dann ist es selbstverständlich, daß auch in einzelnen kernhaltigen Fragmenten der Kern unsichtbar geworden sein muß; solche lagen offenbar in diesen fünf zu Plutei gediehenen Bruchstücken vor.

Diese acht Objekte sind es gewesen, die mich vorübergehend zu dem Schluß geführt haben, daß das kernlose Eiplasma die mütterlichen Merkmale ebensogut übertragen könne als das kernhaltige, bis später die Kernmessungen zunächst alle diese Larven als in ihrer Herkunft unsicher erscheinen ließen, und schließlich die Erfahrung, daß das Schütteln den Eikern, ohne ihn zu schädigen, zum Verschwinden bringen kann, das Auftreten dieser zuerst als so revolutionär erscheinenden Objekte einfach erklärte.

Neben diesen acht großkernigen Plutei waren unter den als kernlos isolierten Fragmenten drei weitere aufgetreten, die sich abweichend verhalten. Zwei davon haben in einem Teil ihres Kröpers größere, in einem anderen Teil kleinere Kerne; auf sie werde ich weiter unten zurückkommen. Das dritte ist gegenüber jenen acht großkernigen als »kleinkernig« zu bezeichnen, und ist bei einem Versuch vom 29. Januar 1912 von der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* erhalten worden. Es ist in Abb. 7a, Taf. XIII wiedergegeben. Sein einer Oralstab ist etwas mißgebildet, sonst ist er ziemlich symmetrisch. Man könnte die Larve zur Not als einen mangelhaft entwickelten *Paracentrotus*-Pluteus gelten lassen, wenn auch der doppelte Analstab der einen Seite und die Enden der Scheitelstäbe auf *Sphaerechinus*-Einflüsse hinweisen. Freilich kommt, worauf ich oben (S. 434) schon hingewiesen habe, der doppelte Analstab auch bei reinen *Paracentrotus*-Larven so häufig vor und ist auch, wofür Abb. 11, Taf. XIII ein Beispiel gibt, in der *Paracentrotus*-Kontrolle unseres Versuchs vorhanden gewesen, daß dieser Doppelstab in der fraglichen Larve durchaus nicht ein mütterliches Merkmal zu sein braucht. Und die in Abb. 11, Taf. XIII wiedergegebenen Scheitelstab-Enden eines reinen *Paracentrotus*-Pluteus des gleichen Versuchs zeigen Verhältnisse, welche auch die Scheitelstäbe unseres Fragmentpluteus als ziemlich »väterlich« passieren zu lassen erlauben.

Abb. 7b, Taf. XIII gibt einige Kerne aus dem Scheitel dieser Larve; in Abb. 8, 9 und 10, Taf. XIII sind Kerne aus Kontrollarven des Versuchs, in Abb. 8, Taf. XIII von *Paracentrotus*, in Abb. 9, Taf. XIII von *Sphaerechinus*, in Abb. 10, Taf. XIII von einer Bastardlarve *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* abgebildet. Wie fast immer sind die *Sphaerechinus*-Kerne deutlich größer als die *Paracentrotus*-Kerne, die des Bastards stimmen in diesem Fall ziemlich genau mit den *Sphaerechinus*-Kernen überein. Gegenüber allen diesen Kernen sind die unseres Fragmentpluteus, der sich aus einem als kernlos isolierten Bruchstück entwickelt hat, sehr erheblich kleiner. Die Kernoberflächen verhalten sich zu denen der reinen *Paracentrotus*-Larve etwa wie 5,8 : 8, zu denen der Bastardlarve wie 5,8 : 9.

Ähnliche kleinkernige Objekte, wie sie hier aus isolierter Zucht vorliegen, wurden auch einige Male in Kulturen gefunden, wo fragmentierte *Sphaerechinus*-Eier in Massen mit *Paracentrotus*-Sperma befruchtet und ihrer Entwicklung überlassen worden waren. Da diese Funde ganz gelegentliche waren, ist zu erwarten, daß bei systematischer Durchprüfung solcher Zuchten derartige Objekte in größerer Zahl gefunden werden könnten. Ich bilde in Abb. 12a, Taf. XIV eine solche, sehr kleine Larve aus einer Massenkultur *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* vom 6. Februar 1912 ab. Es ist ein junger Pluteus von rein väterlichem

Typus. Abb. 12b gibt einige Kerne aus dem Scheitel dieser Larve wieder; zum Vergleich sind in Abb. 13, Taf. XIV einige Scheitelkerne aus einem reinen *Paracentrotus-Pluteus* des gleichen Versuchs gezeichnet. Die Kernoberflächen verhalten sich etwa wie 6,4 : 8.

In Larven, wie den zwei zuletzt beschriebenen, von denen eines aus einem Eierbruchstück stammt, das als kernlos isoliert worden war, glaubte ich längere Zeit zweifellose merogonische Bastarde nach Art der im Jahr 1889 gezüchteten vor mir zu haben. Zwar die Kerngrößen wollten zu dem, was ich inzwischen (1905) über die Proportion zwischen haploiden und diploiden Kernen ermittelt hatte und was von Herbst, Baltzer u. a. bestätigt worden war, nicht stimmen. Denn an Stelle des Verhältnisses der Kernoberflächen 1 : 2 bestehen in unseren jetzigen Fällen Proportionen wie 5,8 : 8 und 6,4 : 8, d. i. wie 1,45 : 2 und 1,6 : 2. Trotz dieses dem sonstigen Gesetz nicht folgenden Größenverhältnisses glaubte ich an der Annahme, es mit wirklich merogonischen Larven zu tun zu haben, festhalten zu dürfen. Die Untersuchungen von Marcus (1906), Erdmann (1909), Godlewski (1908) und Köhler (1912) haben gelehrt, daß die Kerngröße der Seeigellarven nicht nur vom Chromatingehalt, sondern in hohem Grad auch von äußeren Umständen abhängig ist. Larven, die in niederen Temperaturen aufgezogen worden sind, haben viel größere Kerne als solche, die sich bei hohen Temperaturen entwickelt haben. Da nun die Schnelligkeit der Entwicklung eine Funktion der Temperatur ist, worüber wir für Seeigel speziell den Untersuchungen von Peter (1906) genauere Daten verdanken, so lassen sich die Ergebnisse der obengenannten Züchtungsversuche bei verschiedenen Temperaturen auch dahin formulieren, daß die Kerne einer Seeigellarve um so größer werden, je langsamer die Entwicklung vor sich geht. Nun kann man sich stets überzeugen, daß die Bastarde der Kombinationen *Sphaerechinus* und *Parechinus* oder *Paracentrotus* unter gleichen äußeren Bedingungen sich langsamer entwickeln als die reinen *Sphaerechinus*- und viel langsamer als die reinen *Paracentrotus*- und *Parechinus*-Larven. Auch haben wir oben (S. 433) erfahren, daß die merogonischen Bastardlarven zwischen den sich so nahestehenden Arten *Parechinus* (♀) und *Paracentrotus* (♂) gegenüber den im gleichen Glas aufgewachsenen echten Bastardlarven in ihrer Entwicklung verlangsamt sind. Die Verbindung dieser beiden retardierenden Momente, der Bastardierung an sich und der merogonischen Bastardierung noch obendrein, konnten, so schien mir, wohl ähnlich wirken wie niedere Temperatur, und also eine Vergrößerung der Kerne gegenüber denen der homospermen merogonischen Plutei bewirken. Dabei spielte noch die Vorstellung mit herein, daß vielleicht

ein Kern, der seine Funktionen in einem so fremdartigen Plasma auszuüben hat, sich intensiver betätigen müsse, und daß diese stärkere Beanspruchung zu einer Hypertrophie führen könnte. Für absolut ausgeschlossen möchte ich diese Deutung auch jetzt nicht halten. Allein die sogleich zu besprechenden letzten Erfahrungen und die Aufdeckung der in dem Vorkommen von Partial-Eikernen liegenden Fehlerquelle machen mir eine andere Erklärung viel wahrscheinlicher.

Alle im vorstehenden aufgeführten Erfahrungen hatten mir endlich klar gemacht, daß, wenn die Frage nach dem Vorkommen und Aussehen merogonischer Bastarde aus *Sphaerechinus*-Eiern mit *Parechinus*- oder *Paracentrotus*-Sperma überhaupt lösbar ist, die Aufgabe anders angegriffen werden muß. Es bleibt nichts anderes übrig, als sämtliche Larven von Massenkulturen zerschüttelter Eier in verschiedenen Etappen abzutöten und Stück für Stück auf ihre Kerngrößen zu prüfen. Treten hierbei Larven mit Kernen von der sonst für merogonische Larven festgestellten Größe auf, so ist die Sache relativ einfach. Man braucht nur nachzusehen, bis in welche der konservierten Portionen sie vorkommen und welches Stadium die ältesten erreichen, um die Frage gelöst zu haben. Werden dagegen Larven mit so kleinen oder wenigstens nicht viel größeren Kernen überhaupt auf keiner Etappe gefunden, dann könnte nur eine sehr mühsame, auf verschiedene Umstände sich erstreckende Analyse vielleicht noch weiter führen. Nun, wir brauchen diese zweite Alternative nicht näher ins Auge zu fassen; denn Larven mit der typischen Größe haploider Kerne kommen in diesen Kulturen so reichlich vor, wie man es nach der ziemlichen Seltenheit und der geringen Befruchtungsneigung der kernlosen Fragmente nur erwarten kann.

Ehe ich zur Schilderung der Versuche übergehe, komme ich mit ein paar Worten auf eine im V. Kapitel, S. 430 gemachte Bemerkung zurück. Ich habe an jener Stelle ausgeführt und an einem bestimmten Fall erläutert, daß auch nach der Erkenntnis, daß scheinbare Kernlosigkeit eines Eifragments nicht wirkliche Kernlosigkeit bedeuten muß, die isolierte Zucht von kernlos erscheinenden Fragmenten, der Zeitersparnis wegen, von großem Nutzen sein kann. Es wird nötig sein, zu sagen, warum wir bei den in Rede stehenden Versuchen dieses Verfahren nicht mehr angewandt haben. Es waren hiefür zwei Gründe bestimmend: einmal stellt die Aufgabe, ausgewählte Fragmente von *Sphaerechinus*-Eiern zu bastardieren, die Geduld des Experimentators auf so starke Proben, daß gewiß niemand, der diese Arbeit nur einmal oder gar öfter durchgemacht hat, sie ohne die dringendste Notwendigkeit wieder in Angriff nehmen wird. Sodann aber kam es gerade bei diesen Versuchen

darauf an, soweit als möglich jeden Eingriff zu vermeiden, der die Entwicklungsaussichten beeinträchtigen konnte. Die Prozedur des Isolierens der meist sehr klebrigen Eifragmente von *Sphaerechinus* wirkt aber, wie oben schon hervorgehoben worden ist, wohl immer mehr oder weniger schädigend auf die Entwicklungsvorgänge ein.

Nachdem wir schon im Winter 1912 einen sehr lehrreichen Versuch der bezeichneten Art angestellt hatten, haben wir zwei weitere im letzten Winter ausgeführt. Bei diesen beiden wurde besonders darauf geachtet, daß lediglich solches Eimaterial zur Verwendung gelangte, in welchem sorgfältige Prüfung nur Eier mit einheitlichem Eikern feststellen ließ. Im übrigen bestand das Verfahren darin, von den unter möglichst günstigen Bedingungen gehaltenen Massenkulturen, in anfangs kürzeren, dann längeren Intervallen, eine Anzahl Keime abzutöten, wobei besonders darauf geachtet wurde, daß auf jeder solchen Etappe Keime aller Sorten: schwimmende und am Boden liegende, große und kleine, gesund und krank aussehende zur Konservierung gelangten. Als Männchen wurde in zwei Versuchen *Paracentrotus* verwendet, im dritten neben diesem auch *Parechinus*. Das konservierte Material aus den beiden letzten Versuchen ist so groß, daß wir bis jetzt nicht imstande waren, es vollständig durchzuarbeiten. Allein die gemachten Proben ergaben eine so vollkommene Übereinstimmung mit den Resultaten des genau analysierten ersten Versuchs, daß sich an dem wesentlichen Ergebnis nichts mehr ändern wird.

Dieses Ergebnis ist sehr einfach. Nach dem Kriterium der Kerngröße entwickeln sich die kernlosen Fragmente von *Sphaerechinus*-Eiern bei Befruchtung mit *Paracentrotus*- oder *Parechinus*-Sperma zunächst ebensogut wie die kernhaltigen. Nach Vollendung des Blastulastadiums aber halten sie mit den anderen nicht mehr Schritt und stellen die Weiterentwicklung bald ein. Die weitest entwickelten, die wir in den drei Kulturen gefunden haben, waren während der Gastrulation stehen geblieben. Zwei winzige Dreistrahler sind das Äußerste, was sie an Skelet hervorbringen.

In diesem Zustand können die Larven einige Tage unverändert weiterleben. Daß sie dabei lebhaft beweglich sein können, haben wir dadurch festgestellt, daß wir einige, die im Leben den geschilderten Habitus darboten, gesondert konservierten und daß sie sich nach der Färbung als kleinkernig erwiesen.

In Abb. 14a, b, c, Taf. XIV ist eine merogonische Bastardlarve der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* aus dem Versuch vom 18. Januar 1912 in drei verschiedenen Ansichten abgebildet. Sie ist etwas über 3 Tage alt. Die im gleichen Gefäß gezüchteten echten Bastarde sind junge Plutei. Die merogonische Larve ist in der Form eine der besten, die in den drei Versuchen vorgekommen sind. Der optische

Durchschnitt bei seitlicher Ansicht kommt dem einer normalen *Sphaerechinus*-Larve auf dem Stadium des sog. »Prisma« ziemlich nahe. Aber der Urdarm ragt nur bis in etwa ein Drittel der Körperhöhle hinein, und seine Wand ist von abnormer Dicke. Primäre Mesenchymzellen sind gebildet, halten auch ungefähr das Niveau des normalen Mesenchym-Rings ein; doch fehlt die richtige Ordnung, wenn auch der optische Querschnitt (b) auf der einen Seite eine Anhäufung erkennen läßt, die wohl als ein unvollkommenes Mesenchym-Dreieck aufzufassen ist. Merkwürdigerweise hat diese Anhäufung von Skeletbildnern nichts Weiteres als ein winziges Kalkkörperchen hervorgebracht, wogegen auf der anderen Seite, wo weniger solche Zellen liegen, ein kleiner Dreistrahler entstanden ist (c). Solche Asymmetrien sind sehr häufig; noch häufiger aber fehlt das Skelet völlig.

In dem dickwandigen Darmrudiment unserer Larve beginnt sich der epitheliale Zusammenhang zu lockern; die Zellen springen mit kuppelartiger Abrundung in die Furchungshöhle vor; einzelne scheinen sich herauszuziehen, hier und dort sieht man schon eine abgelöst. Ob dieser Vorgang der Bildung des sekundären Mesenchyms entspricht oder schon ein Zeichen von Degeneration darstellt, vermag ich nicht zu entscheiden. Daß aber degenerative Prozesse schon eingesetzt haben, ergibt sich aus dem Vorhandensein kleiner unregelmäßiger Zellen-Anhäufungen in der primären Leibeshöhle, wie eine solche in Abb. 14a über dem Darm zu sehen ist.

Die Kerne dieser Larve und aller ihr ähnlichen fallen schon bei schwächerer Vergrößerung durch ihre Kleinheit und dichte Lagerung neben denen der benachbart gelegenen diploiden Larven auf. Die Messung ergibt, daß sich ihre Oberflächen zu denen der Kerne der in dem gleichen Gefäß aufgewachsenen Jungplutei — seien sie aus ganzen Eiern oder aus Fragmenten entstanden — wie 1 : 2 verhalten. Diese Proportion, welche eben die so oft bestätigte zwischen den haploiden und diploiden Echinidenkernen ist, läßt keinen Zweifel, daß wir in den durch die Abb. 14, Taf. XIX illustrierten Larven die richtigen merogonischen Bastardlarven vor uns haben.

Wo wir unter den vielen Tausenden von Larven aus den drei genannten Versuchen einen Pluteus oder auch nur eine voll entwickelte Gastrula auf ihre Kerne geprüft haben, waren sie diploid; und umgekehrt, wo eine Larve durch ihre kleinen, haploiden Kerne das Auge auf sich lenkte, war sie über das Stadium eines Prisma mit sehr rudimentärem Urdarm und winzigen Skeletanlagen nicht hinausgekommen, ja die meisten hatten diesen Zustand nicht einmal erreicht.

Der Widerspruch dieses Ergebnisses zu meinen früheren ist, sobald wir den Verhältnissen genauer nachgehen, nur scheinbar. Denn solche

zurückgebliebene Larven, wie in Abb. 14, Taf. XIV eine der besten abgebildet ist, haben auch in allen meinen Versuchen mit isolierten kernlos erscheinenden Fragmenten die gewaltige Mehrzahl gebildet. Nur hatte ich sie, in der Überzeugung, daß unter günstigen Bedingungen Plutei entstünden, und da nur gut entwickelte Plutei für mein Problem von Bedeutung sein konnten, unbeachtet weggeworfen. Jetzt unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, daß diese frühzeitig zum Stillstand gelangten Keime das wirkliche Ergebnis der Versuche repräsentierten, und daß die wenigen dabei aufgetretenen Plutei das nicht Hineingehörige sind. Wir wissen ja auch bereits, daß sich ihr Auftreten zum Teil daraus erklärt, daß ein scheinbar kernloses Eifragment doch einen Kern enthalten kann. In diese Kategorie gehört aller Wahrscheinlichkeit nach der von mir und MacFarland im Jahr 1896 aus einem scheinbar kernlosen Eifragment von *Sphaerechinus* mit *Paracentrotus*-Samen gezüchtete Pluteus, den ich in einem kurzen Aufsatz von 1901 erwähnt habe. Da ich damals die im Leben konstatierte Kernlosigkeit für ein ausreichendes Kriterium wirklicher Kernlosigkeit gehalten habe und da kurz vorher Seeliger — wie wir jetzt wissen: mit Unrecht — angegeben hatte, daß die Kerngröße eines Pluteus für dessen Herkunft nichts beweise, habe ich jenes Objekt ungefärbt in Kanadabalsam eingeschlossen. Vor 2 Jahren, als der Verdacht in mir rege geworden war, daß merogonische Plutei zwischen *Sphaerechinus* und *Paracentrotus* gar nicht entstehen können, habe ich versucht, die Kerngröße der Larve trotz ihres ungefärbten Zustands zu bestimmen. Bei geeigneter Beleuchtung war dies wenigstens mit solcher Genauigkeit möglich, daß ich mit Bestimmtheit sagen kann: die Kerne sind zu groß, um haploid zu sein; sie besitzen wahrscheinlich die Größe von diploiden.

Nun bleiben noch meine ersten Versuche vom Jahr 1889 zu betrachten übrig. Damals war mir die isolierte Zucht kernloser Eifragmente von *Sphaerechinus* mit *Parechinus*-Sperma nicht gelungen, und ich habe mich daher auf die Untersuchung von Massenkulturen beschränken müssen. Allein obgleich demnach diese Versuche von der gleichen Art zu sein scheinen wie unsere allerletzten, besteht doch zwischen beiden ein fundamentaler Unterschied. Im Jahr 1889 war ich nur auf die Zucht von Plutei ausgegangen. Jeden Tag, manchmal mehrmals im Tag, wurde der gebildete Bodensatz aus den Kulturgläsern entfernt, um das Wasser für die schwimmenden Larven möglichst frisch zu erhalten. Nur die zuletzt noch übriggebliebenen Plutei gelangten zur Untersuchung. Beurteilen wir also diese Versuche vom Standpunkt unserer letzten Erfahrungen aus, so kommen wir zu dem Schluß, daß alle wirklich merogonischen Keime in dem zur Prüfung gelangten Material

gar nicht mehr enthalten waren. Es tritt dann die Frage auf, wie da Auftreten rein väterlich gestalteter Zwergplutei, die sich durch geringere Kerngröße von den echten Bastarden unterschieden habe, zu erklären ist.

Hier haben wir uns zuerst mit dem Merkmal der »Kleinkernigkeit« auseinanderzusetzen. Mein damaliges Material, das, in Hämatoxylin gefärbt und in Glycerin eingeschlossen, nach einigen Monaten Skelet und Kernfärbung verloren hatte, existiert nicht mehr, auch die Skizzen nicht mehr, nach denen ich noch in Neapel, unmittelbar nach der Herstellung der Präparate, die Kerngrößen verglichen hatte. Auf das konstante Größenverhältnis, in welchem diploide und haploide Kerne zu einander stehen, war ich damals noch nicht aufmerksam geworden. Wenn ich also geschlossen habe: jene Plutei müssen aus kernlosen Eifragmenten stammen, weil sie, wie die aus isolierten kernlosen Fragmenten bei homospermer Befruchtung gezüchteten, kleinen Kerne besitzen, so ist damit nicht gesagt, daß sie die Größe wirklich haploider Kerne besessen haben.

Weitaus am wahrscheinlichsten ist es mir vielmehr, daß jene kleinkernigen Bastardplutei von 1889 von der Art derjenigen gewesen sind, die wir neuerdings sowohl in Massenkulturen wie aus anscheinend kernlosen Fragmenten isoliert gezüchtet haben und von denen ich oben (S. 438 ff.) gesprochen und in Abb. 7 a, Taf. XIII und 12 a, Taf. XIV Abbildungen gegeben habe. Was dort über diese Larven gesagt worden ist, würde nun auch für diejenigen von 1889 gelten. Sie wären aller Wahrscheinlichkeit nach auf Eifragmente zurückzuführen, die neben dem durch die Befruchtung eingeführten typischen Spermakern von *Parechinus* einen Teil des *Sphaerechinus*-Eikerns besessen haben. Eine Möglichkeit für das Zustandekommen dieses Zustandes kennen wir jetzt in dem Vorkommen von Eiern mit Partial-Eikernen. Daneben dürfte es aber mindestens noch eine andere Möglichkeit für ein solches Ereignis geben. Wenn auch ein Kern mit bereits resistent gewordener Membran beim Zerschütteln des Eies stets unverletzt in das eine oder in das andere Bruchstück übergeht, wird doch in Eiern, deren Kern sich unter der Schüttelwirkung aufgelöst hat, der Fall eintreten können, daß das direkt ins Plasma eingebettete Kernreticulum beim Durchreißen des Zellkörpers mit zerrissen wird, wodurch in jedes Fragment ein Teil davon gelangen würde.

Die Annahme, daß in den kleinkernigen Bastardplutei von 1889 ein Teil des Eikerns vorhanden war, setzt, angesichts der guten Entwicklung dieser Larven, voraus, daß der in das Eifragment übergegangene Teil des Eikerns imstande gewesen ist, so viel zu leisten wie der ganze. Ich glaube aber, daß diese Annahme keinen triftigen Grund gegen sich hat. Wenn wir es als sicher betrachten dürfen, daß der *Paracentrotus*-

oder *Parechinus*-Kern im Eiplasma von *Sphaerechinus* die Entwicklung nicht über das Stadium einer beginnenden Gastrula hinausführen kann, daß vielmehr zum Überschreiten dieser Entwicklungsstufe Kernsubstanz von *Sphaerechinus* nötig ist, so wissen wir damit doch noch nicht, wieviel von dieser Kernsubstanz hierzu nötig ist. Stellen wir uns auf den Standpunkt, daß die einzelnen Chromosomen des haploiden Kerns qualitativ verschieden sind, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß, um den Keim auf dem Stadium der beginnenden Gastrula weiterzuführen, nicht alle Chromosomenarten eingreifen müssen, sondern nur einige, vielleicht gar nur eine einzige. Wenn aber jemand, trotz der Beweise fürs Gegenteil, an einer essentiellen Gleichwertigkeit aller Chromosomen des Seeigelkerns festhalten wollte, so würde für ihn die Anwesenheit sämtlicher *Sphaerechinus*-Chromosomen behufs Überschreitung jenes Stadiums erst recht nicht notwendig erscheinen.

Die Annahme, daß die kleinkernigen Zwergplutei von 1889 in die gleiche Kategorie gehören wie die in Abb. 7 a, Taf. XIII und 12 a, Taf. XIV dieser Arbeit abgebildeten Larven, wird noch besonders durch die Tatsache gestützt, daß auch diese letzteren in ihren Merkmalen rein oder fast rein väterlich sind. Diese Erscheinung ist freilich heute nicht mehr von dem Gewicht, das ich ihr seinerzeit zuschreiben zu dürfen geglaubt hatte. Wir haben durch die Bastardierungsversuche Seeligers (1895), Morgans (1894), Vernons (1900) und anderer erfahren, daß auch die echten Bastarde rein väterlich aussehen können. Ich habe mich seither selbst oft davon überzeugt. Doch bin ich immer wieder auf Kulturen gestoßen, in denen nur Mischformen zu finden waren; und auch Baltzer hat, wie er mir mündlich mitteilt, solche unter den Händen gehabt¹⁾. Um also auf unser Problem zurückzukommen, so ist gegen jede Larve, deren rein väterliche Vererbungsrichtung man mit irgend einer Abweichung vom typischen Zustand in Zusammenhang bringen will, der Einwand möglich: die Larve wäre vielleicht ohne diese Besonderheit ebenso rein väterlich ausgefallen. Hierin eben liegt der Grund, warum meinen alten Versuchen eine Beweiskraft in der Frage der Lokalisierung der Erbfaktoren nicht zuerkannt werden konnte, ganz abgesehen von der neuen Beleuchtung, in welche jene Ergebnisse jetzt getreten sind.

Immerhin ist es auffallend, daß nicht nur die kleinkernigen Bastardplutei von 1889 im Gegensatz zu allen von mir damals untersuchten echten Bastarden väterlich waren, sondern daß so ziemlich das gleiche auch von den neuen gesagt werden kann, wofür nochmals auf die oben (S. 438 ff.) gegebenen Darlegungen verwiesen sei. Und für die in Abb. 7 a

¹⁾ Die neuen Versuche Köhlers (1914) scheinen endlich eine Erklärung für dieses verschiedene Verhalten zu liefern.

abgebildeten isoliert gezüchteten Plutei dieser Kategorie gilt weiterhin, daß die aus dem gleichen Material isolierten Fragmente, deren Larven dann die diploide Kerngröße aufwiesen, aufs deutlichste den mütterlichen Einfluß erkennen lassen, wie es in Abb. 6 a für eine solche Larve zu sehen ist.

Es scheint mir nicht angängig, für all dies den Zufall verantwortlich zu machen, um so weniger, als nach der Erklärung, die wir oben für die Entstehung dieser kleinkernigen oder, besser gesagt: »mittelkernigen« Plutei zu geben versucht haben und der ich keine andere an die Seite zu stellen wüßte, eine besondere Tendenz dieser Larven nach der väterlichen Seite nicht überraschen kann. Denn es steht, wenn diese Erklärung zutrifft, dem vollen väterlichen Chromatin nur ein Teil der mütterlichen Chromosomen gegenüber, und vielleicht gerade der Teil, der, indem er die zur Vollendung der Gastrulation nötigen Bedingungen enthält, mit der Bestimmung des Skeletcharakters nichts zu tun zu haben braucht. Wollte man aber hier wieder eine essentielle Gleichwertigkeit aller *Sphaerechinus*-Chromosomen und ebenso aller *Paracentrotus*-Chromosomen in Bezug auf ihre Vererbungs kraft vertreten, so wäre der Sieg der auf der väterlichen Seite liegenden Majorität ebensowenig verwunderlich.

Man könnte nach diesen Erörterungen auf den Gedanken kommen, daß an das Vorkommen von Eiern mit Partial-Eikernen doch noch brauchbare Experimente zur Vererbungsfrage angeknüpft werden könnten. Wenn ich aber bedenke, wie viele günstige Umstände zusammentreffen müßten, um ein exaktes Ergebnis zu gewährleisten, glaube ich nicht, daß solche Versuche sehr aussichtsvoll wären. —

Ich habe in den vorausgegangenen Erörterungen meine Ergebnisse von 1889 von dem Standpunkt aus beurteilt, daß merogonische Bastarde der in Rede stehenden Kombination niemals über das Stadium der beginnenden Gastrula hinausgehen. Ob sie es aber sicherlich niemals tun? Auf S. 434 habe ich die Erfahrung mitgeteilt, daß wir im vergangenen Winter (1914) keinen einzigen merogonischen Pluteus der Kombination *Parechinus* × *Paracentrotus* haben erzielen können, während wir vom Winter 1912 eine größere Anzahl solcher Larven besitzen. Könnte nicht bei der Bastardierung kernloser *Sphaerechinus*-Eier mit *Parechinus*-Samen eine gleiche Variabilität bestehen? Überblicke ich die Gesamtheit meiner Versuche, so glaube ich dies nicht mehr. Jedenfalls wird es durch jene alten Versuche nicht bewiesen, da exakte Bestimmungen der Kerngrößen der damals gezüchteten Plutei nicht vorliegen. Und so müssen jene Ergebnisse künftig bei Diskussionen über diese Fragen außer Betracht bleiben.

D. Bei der Kombination *Parechinus microtuberculatus* ♀ × *Antedon rosacea* ♂.

Angeregt durch die zuerst von J. Loeb mit Erfolg ausgeführten Bastardierungen zwischen Angehörigen verschiedener Klassen der Echinodermen, hat E. Godlewski jun. (1906) Seeigeleier mit *Antedon*-Sperma bastardierte. Das Hauptresultat dieser Versuche ist gewesen, daß die Entwicklung in den günstigsten Fällen bis zum Pluteus fortschreitet, daß das väterliche Chromatin an dieser Entwicklung teilnimmt, daß aber trotzdem die Larven rein mütterliche Merkmale darbieten. Wie ich selbst diese Befunde beurteilen zu müssen glaube, darüber habe ich mich schon früher (1907, S. 247 ff.) eingehend ausgesprochen. Meine Meinung ist die, daß die *Antedon*-Chromosomen dem Echinidenplasma so fremd gegenüberstehen, daß, wenn sie in ihm auch wachsen und sich vermehren können, sie doch in die Entwicklungsprozesse der eigentlich gestaltenden Periode nicht eingreifen, diese Vorgänge vielmehr, soweit sie überhaupt der Kernsubstanz bedürfen, ausschließlich von den mütterlichen Chromosomen beeinflußt werden. Eine solche Larve verhält sich also hinsichtlich der Kernverhältnisse, streng genommen, wie eine parthenogenetische.

Godlewski hat nun die Möglichkeit dieser heterogenen Bastardierung auch zu Merogonieversuchen benützt; er hat Eifragmente von *Parechinus microtuberculatus*, die er als kernlos isoliert hatte, mit *Antedon*-Sperma befruchtet. Obgleich die Sterblichkeit dieser Keime schon in frühen Stadien ungeheuer groß war, hat Godlewski vier Gastrulae erhalten, die er folgendermaßen beschreibt (S. 635): »Der ganze Habitus dieser Embryonen entsprach genau dem mütterlichen Typus. Das Mesenchym war hier schon deutlich in zwei Gruppen angeordnet, der Urdarm hat die für *Echinus* charakteristische Wanderung nach der Vorderwand durchgemacht, überhaupt waren die Tiere bis auf die Größe von denen der reinen *Echinus*-Kultur nicht zu unterscheiden.«

Erwägt man, daß merogonische Bastarde zwischen *Sphaerechinus* ♀ und *Parechinus*- oder *Paracentrotus* ♂, also zwischen Formen, die sich unendlich viel näher stehen als ein Seeigel und ein Haarstern, bei allen einwandfreien Versuchen spätestens auf der Stufe einer beginnenden Gastrula mit nicht richtig geordnetem Mesenchym stehen geblieben sind, so hat es etwas Erstaunliches, daß ein *Antedon*-Spermium in kernlosem *Parechinus*-Eiplasma die Entwicklung bis zur vollendeten Gastrula mit geordnetem Mesenchymring soll führen können. Aber wie man darüber auch denken mag, wir werden auch in diesem Fall den bis jetzt einzigen zuverlässigen Maßstab anlegen und fragen müssen: Wie verhält es sich mit der Kerngröße jener vier Gastrulae? Leider geben Godlewskis Untersuchungen darüber keinen Aufschluß; die Larven waren abgestorben, ehe sie fixiert und gezeichnet werden konnten.

Hält man die Unwahrscheinlichkeit einer so weitgehenden merogonischen Entwicklung bei derartig heterogener Kreuzung zusammen mit dem Mangel eines sicheren Nachweises für die merogonische Natur der fraglichen Keime, so muß der Verdacht entstehen, daß es sich hier, wie bei einem großen Teil meiner eigenen Versuche über merogonische Bastardierung, um eine Täuschung gehandelt hat. Die ungeheure Mehrzahl von Godlewskis merogonischen Keimen ist auf frühen Stadien abgestorben; nur vier haben sich weiterentwickelt. Haben wir da nicht das vollste Analogon zu dem von mir oben (S. 431 ff.) mitgeteilten Ergebnis über merogonische Bastardierung zwischen *Parechinus*- und *Paracentrotus* ♀ mit *Sphaerechinus* ♂, wo neben etwa 110 Keimen, die als junge Blastulae abgestorben sind, zwei sehr lebenskräftige Larven von wesentlich anderem Habitus aufgetreten sind? Früher hätte auch ich den Schluß Godlewskis gezogen, ich hätte diese zwei Larven als das eigentliche Resultat der Versuche betrachtet. Zu der Zeit aber, wo ich die Versuche ausführte, war mir schon bekannt, daß ein kernlos erscheinendes Fragment nicht wirklich kernlos zu sein braucht; und die cytologische Untersuchung hat, wie oben berichtet, diesen Verdacht bestätigt: die beiden Larven rühren aus kernhaltigen Bruchstücken her. Nach solchen Erfahrungen habe ich kaum einen Zweifel, daß auch die vier anscheinend merogonischen Gastrulae Godlewskis diploide Keime gewesen sind. Sie haben ein Stadium erreicht, auf dem auch die von Godlewski aus ganzen Eiern gezüchteten Bastarde sehr häufig stehen geblieben sind. Wieviel mehr ist dies bei einem Keim aus einem kernhaltigen Fragment zu erwarten!

Ich glaube erlauben zu können, welche Fülle von aufreibender Arbeit in jenem Ergebnis Godlewskis steckt, und es geschieht daher mit aufrichtigem Bedauern, wenn ich sage: auch diese Arbeit, wie so manche andere auf diesem Gebiet, war nutzlos. Die Angaben Godlewskis über merogonische Bastarde zwischen *Parechinus* und *Antedon* haben, gleich meinen eigenen früheren Angaben über merogonische Bastarde zwischen *Sphaerechinus* und *Parechinus*, aus der Diskussion zu verschwinden.

VII. Partielle Merogonie.

Bei meinen Untersuchungen über die Entwicklung dispermer Seeigeleier (1902, 1907) ist eines der wesentlichsten Ergebnisse dieses gewesen, daß Eier, bei denen nur der eine Spermakern mit dem Eikern verschmilzt, der andere selbständig bleibt (Doppelspindel-Typus), zu normaler Entwicklung befähigt sind. Dieses Resultat ist mir in erster Linie wichtig gewesen als ein Beweis, daß Mehrfachbefruchtung nicht nur dort unschädlich ist, wo die überzähligen Spermaköpfe von der Entwicklung ausgeschlossen werden, wie im Selachier- oder Bienenei,

sondern daß sie auch in Eiern, wo solche innere Abwehr-Vorrichtungen nicht bestehen, nicht an und für sich eine Störung der Entwicklung mit sich bringt. Verderblich wird sie erst dann, wenn infolge des Ineinandergreifens von mehr als zwei Sphären die reguläre Verteilung der Chromosomen unmöglich gemacht ist.

Es war natürlich der nächste Gedanke, diese Art der Dispermie mit Bastardierung zu kombinieren, um dadurch Keime zu erhalten, die in ihrer einen Hälfte echte, in der anderen merogonische Bastarde wären. Es ist klar, wie weit eine solche partielle Bastardmerogonie der totalen in Vererbungsfragen überlegen wäre. Bei der großen Variabilität der Seeigelbaste bleibt gegenüber der Beweiskraft eines merogonischen Bastards stets das Bedenken bestehen: Wer weiß denn, ob nicht das gleiche Eiplasma, samt seinem Kern, mit dem fremden Sperma ein gleiches Produkt geliefert hätte? Im Fall der Doppelbefruchtung dagegen wüßte man, welche Art von Bastardierung gerade dieses bestimmte Ei ergibt; und wenn die andere Hälfte, in der die Eikern-Derivate fehlen, wesentlich anders aussehen würde, so könnten daraus Schlüsse von viel größerer Sicherheit gezogen werden als in jenen Fällen, wo ganze Bastarde aus kernlosen Fragmenten mit ganzen Bastarden aus intakten Eiern verglichen werden müssen. Mit der Erkenntnis, daß sich die merogonischen Bastarde zwischen den Arten, deren Larven stark voneinander verschieden sind, nicht über das Stadium einer frühen Gastrula hinaus entwickeln, werden auch diese Überlegungen, wenigstens für das bis jetzt zu solchen Versuchen dienende Seeigelmaterial, hinfällig. Immerhin haben die Versuche, die ich über partielle Merogonie gemacht habe, einige Tatsachen aufgedeckt, die es, wie ich glaube, rechtfertigen, die Ergebnisse hier mitzuteilen.

A. Innerhalb der gleichen Species.

Über solche Objekte, ihr Aussehen, ihre Furchung und ihre Kernverhältnisse habe ich mich früher eingehend ausgesprochen (speziell in 1907, S. 16 und S. 164) und eine Anzahl von Abbildungen dazu gegeben (1905, Abb. 25, Taf. II, 1907, Abb. 69—73 und 75, Taf. IX, sowie Textabb. V, LXV—LXVIII). Wenn ich hier nochmals kurz darauf zurückkomme, so geschieht es, weil erstens alle Larven dieses Typus, die ich bisher beschrieben habe, in der einen oder anderen Hinsicht mangelhaft gewesen sind; und weil es zweitens für das Verständnis des Folgenden notwendig ist, daß der Leser mit dem einen Grund dieser Mangelhaftigkeit vertraut ist. Wie früher dargelegt, teilen sich Eier mit dispermer Doppelspindel fast niemals in vier Zellen; sondern es entstehen, da dauernde Plasmadurchschnürung zwischen Sphären, die nicht durch Chromosomen verbunden sind, nur selten vorkommt, in der Regel zwei doppelwertige Zellen, die diesen Zustand wieder auf

ihre eigenen Abkömmlinge übertragen können. Je länger der diploide und der haploide Kern nebeneinander hergehen, d. h. je kleiner die Zellen werden, die diesen Zustand darbieten, um so größer scheint die Wahrscheinlichkeit zu werden, daß die beiden Kerne zusammentreten und daß dann bei der nächsten Teilung eine vierpolige Mitose mit ihren verderblichen Folgen auftritt. Nur insoweit, als sich diploide und haploide Bereiche früher oder später rein voneinander sondern, ist der Keim zu normaler Entwicklung befähigt; überall, wo mehrpolige Mitosen eingreifen, entstehen pathologische Zellen, die in die primäre Leibeshöhle abgestoßen werden. Ist der Keimbezirk, der auf diese Weise von der Entwicklung ausgeschlossen wird, nicht zu groß, so können ziemlich gute Plutei entstehen, wie ich einen solchen in 1907, Taf. IX, Abb. 72 abgebildet habe. Alle dispermen Eier, die ich früher auf dem Stadium der Doppelspindel isoliert hatte, haben Larven ergeben, die mehr oder weniger stark durch pathologische Massen gestört waren. Bei drei anderen Keimen verlief die Entwicklung völlig gesund; aber bei diesen war der Beweis, daß sie dem gleichen Typus angehören, nach meiner Überzeugung zwar mit Sicherheit, aber doch nur indirekt zu führen. Ich habe daher immer wieder, wo mir disperse Eier des Doppelspindeltypus vorgekommen sind, die Gelegenheit wahrgenommen, solche isoliert zu züchten. Dabei bin ich im vorigen Winter auf eine *Paracentrotus*-Kultur gestoßen, die sich als besonders günstig erwiesen hat. Sie war dadurch eigentümlich, daß in allen Eiern, in denen der eine Spermakern selbständig geblieben war, die haploide Spindel beträchtlich kleiner war als die diploide und, was damit jedenfalls zusammenhängt, eine mehr oberflächliche Lage einnahm. Abb. 15 a, Taf. XIV illustriert dieses Verhalten. Als ich eine Anzahl solcher Eier isoliert hatte, vermerkte ich im Protokoll, daß hier Larven zu erwarten seien, bei denen der haploide Bereich beträchtlich kleiner sein werde als der diploide. Abb. 15 b, Taf. XIV zeigt, daß diese Erwartung eingetroffen ist. Der wohlgebildete schlanke Pluteus enthält fast gar keine pathologischen Zellen. Seine kräftiger entwickelte rechte (in der Abbildung linke) Hälfte besteht ausschließlich aus diploiden Zellen; dieser diploide Bereich greift aber sowohl am Scheitel, wie am Mundfeld und der Vorderfläche weit nach links herüber, so daß der haploide Bezirk kaum mehr als ein Viertel des Körpers ausmachen dürfte. Dabei zeigt sich die gleiche Erscheinung, die ich früher für disperse Eier des Triastertypus beschrieben habe, daß Körperform und Skelet, wenn auch in ihrer strengen Symmetrie gestört, doch an den Grenzen der beiden Bereiche ohne eine Änderung der Struktur oder Dimension ineinander übergehen, so daß speziell die linke Skelethälfte, die zum Teil in den diploiden, zum Teil in den haploiden Bereich fällt, ebenso einheitlich ist, wie bei irgendeinem tadellos entwickelten Normalpluteus

B. Bei der Kombination *Parechinus* × *Paracentrotus*.

Ich habe oben (Kap. VI, Abschn. B, S. 433) über Bastardierungen dieser Kombination vom Winter 1912 berichtet, wo in Massenkulturen aus zerschüttelten Eiern Zwergplutei aufgetreten waren, deren Kerngröße die haploide ist und die daher zweifellos »merogonische Bastarde« darstellen. In den gleichen Kulturen haben sich nun einige Plutei gefunden, die nach allen Merkmalen auf disperme Eier des Doppelspindel-Typus zurückzuführen sind. Sie bestehen aus einer großkernigen und einer kleinkernigen Hälfte; die beiderlei Kerne zeigen genau die Größen von diploiden und haploiden. Die einzige andere Möglichkeit, wie solche halb diploide, halb haploide Larven entstehen könnten, wäre die »partielle Befruchtung«, d. h. der Fall, wo in einem monospermen Ei der Eikern allein geteilt wird, während der zunächst gelähmte Spermakern ungeteilt in die eine Blastomere übergeht und erst von hier an sich an der Entwicklung beteiligt. Ob eine partiell-haploide Larve auf das eine oder das andere Ereignis zurückzuführen ist, läßt sich nun in gewissen Fällen entscheiden, nämlich immer dann, wenn die Larve pathologische Massen enthält. Sind solche vorhanden, dann kann man sicher sein, daß der Keim aus einem dispermen Ei mit Doppelspindel stammt. Es ist oben (S. 450) erörtert worden, warum in solchen Keimen fast ohne Ausnahme größere oder kleinere Bereiche pathologisch werden. Bei der partiellen Befruchtung dagegen ist kein Anlaß zu krankhafter Entwicklung; diese Larven bleiben durchaus gesund.

Alle Larven der in Rede stehenden Kulturen, die aus einem diploiden und einem haploiden Bereich bestehen, enthalten nun, manche reichlich, andere spärlicher, krankhafte Zellhaufen in der primären Leibeshöhle, und danach sind sie mit Sicherheit als disperme Doppelspindellarven, oder, wie wir sie von dem Standpunkt unserer gegenwärtigen Betrachtungen besser bezeichnen, als partiell-merogonische Bastardlarven anzusprechen.

Eine der bestentwickelten von diesen Larven ist in Abb. 16, Taf. XIV abgebildet¹⁾. Leider ist ihr Skelet nicht intakt. Die Larve, wie auch die anderen der gleichen Zucht, sind längere Zeit in Nelkenöl aufbewahrt worden, das sonst die Kalkskelete nicht angreift. In diesem Fall dagegen ist der Kalk doch, anscheinend äußerst langsam, aufgelöst worden, so daß die dünnsten Stäbe völlig verschwunden, die dickeren nur dünner geworden sind. In dem abgebildeten partiell-merogonischen Bastardpluteus ist so viel vom Skelet erhalten geblieben, daß der Kenner die

¹⁾ In meinem Aufsatz »Über die Entstehung der Engsterschen Zwitterbienen« (1914, S. 302) habe ich von dieser Larve zwei Stellen des Ektoderms abgebildet, in denen die Grenze zwischen dem diploiden und dem haploiden Bereich enthalten ist.

fehlenden Teile mit Sicherheit ergänzen kann. Trotz der Abstoßung pathologischer Massen ist die Larve sehr wohlgebildet und äußerlich, besonders in der durch den Scheitel und die Analarme gebildeten Hinterseite, nahezu symmetrisch. Um so auffallender ist es, daß die Proportion zwischen Scheitelstab und Analstab rechts eine andere ist als links. In dem intakten Skelet sind sicherlich die Mittelstäbe nicht aufeinander getroffen; sondern der linke hat offenbar dort geendigt, wo eine kleine Vorwölbung in der Wimperschnur zu sehen ist, das Ende des rechten ist bei der gewählten Vergrößerung mindestens 1 cm weiter scheidelwärts zu denken. Es ist dies das gleiche Verhalten, das ich früher (1907) bei den dispermen Triasterlarven als eine so häufige Erscheinung konstatiert und daraus erklärt habe, daß infolge der unregelmäßigen Chromosomenverteilung auf der linken Seite andere individuelle Tendenzen in der Skelettbildung zur Wirkung gekommen sind als auf der rechten. Noch einleuchtender ist diese Interpretation für die in Rede stehende Larve, bei der wir genau angeben können, in welcher Weise der Kernbestand der beiden Seiten verschieden ist, nämlich so, daß links nur Chromosomen eines Spermakerns von *Paracentrotus* zur Wirkung gelangt sind, wogegen die Kerne der rechten Seite neben den Chromosomen eines zweiten *Paracentrotus*-Spermakerns diejenigen des Eikerns von *Parechinus* enthalten. In den drei normalen *Paracentrotus*-Kulturen dieses Versuches, bei denen das zur Bastardierung verwendete Sperma mit drei verschiedenen *Paracentrotus*-Weibchen kombiniert worden ist, gibt es Plutei genug, die in ihren Skeletproportionen mit der linken Seite unserer Abbildung übereinstimmen; besonders aber ist zu erwähnen, daß der einzige aus der gleichen Bastardkultur stammende total-merogonische Pluteus, dessen Skelet gut erhalten ist, ungefähr das gleiche Verhältnis zwischen Scheitel- und Analstab aufweist wie die merogonische Hälfte unseres Pluteus Abb. 16, Taf. XIV. Desgleichen lassen sich unter den echten Bastardplutei dieser Zucht Hunderte finden, deren Skeletproportion mit der diploiden Hälfte unserer Abbildung übereinstimmt. Allein durchgängig gilt dies nicht; es gibt in den gleichen Kulturen reine *Paracentrotus*-Plutei mit kurzen, *Parechinus*- und Bastardplutei mit langen Scheitelstäben. Damit verlieren natürlich die Asymmetrien der partiell-merogonischen Plutei jede Beweiskraft in der Frage der Lokalisierung der Erbfaktoren. Denn die Grundfrage bei der merogonischen Bastardierung ist ja immer diese: Kann das Ei plasma auch ohne seinen Kern die spezifischen mütterlichen Eigenschaften übertragen? Diese Frage aber ließe sich nur dann beantworten, wenn die mütterlichen und die väterlichen Merkmale stets in gleichem Sinn deutlich voneinander verschieden wären.

C. Bei der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* und
Sphaerechinus × *Parechinus*.

Nach den oben (S. 435ff.) mitgeteilten Resultaten über die totale Merogonie dieser Kombination möchte man erwarten, daß bei partieller Merogonie Larven entstehen, die in ihrer einen Hälfte wohlentwickelte Bastarde, in der anderen sehr verkümmerte Gebilde wären. Diese Erwartung scheint um so mehr begründet, als es Seeigellarven, bei denen die eine Hälfte aufs beste ausgebildet, die andere verkümmert ist, wirklich gibt (vgl. Boveri 1907). Allein für die partiell-merogonischen Bastarde aus *Sphaerechinus*-Eiern trifft dies nicht zu. Sie sind in ihrer diploiden Hälfte schlechter, in ihrer haploiden besser entwickelt, als es den Potenzen dieser beiden Hälften, wenn sie sich selbständig entwickeln würden, entspricht.

In Abb. 17 und 18, Taf. XV sind zwei solche Larven, beide aus der Kreuzung *Sphaerechinus* × *Parechinus*, aus Versuchen vom 21. Januar und 12. Februar 1914 wiedergegeben. Es sind die besten, die wir erhalten haben. Die erste präsentiert sich annähernd von hinten, die zweite von vorn. Die Grenze der beiden Bezirke verläuft in beiden Fällen, wenn auch mit erheblichen Abweichungen, so, daß der eine die rechte, der andere die linke Larvenhälfte bildet. Der Darm ist bei beiden in übereinstimmender Weise zweigliedrig, der Art, daß sich ein kurzer dünner Analdarm von einem fast dreimal so langen, viel weiteren »Vorderdarm« absetzt. In der Larve der Abb. 17, Taf. XV ist deutlich zu erkennen, daß die eine Seite dieses Darmstücks aus diploiden, die andere aus haploiden Zellen zusammengesetzt ist. Das Skelet besteht in beiden Larven aus zwei mittelgroßen Dreistrahlern; hier wie dort ist derjenige der haploiden Seite etwas weniger gut ausgebildet als der andere.

Wie bei fast allen dispermen Larven des Doppelspindeltypus sind auch in unseren Fällen pathologische Zellen entstanden und in die primäre Leibeshöhle abgestoßen worden. Doch ist deren Menge nicht groß genug, um etwa daraus den kümmerlichen Zustand der beiden Larven zu erklären; in meiner Arbeit über Doppelbefruchtung (1907) habe ich disperme Larven abgebildet, die, trotz viel beträchtlicherer Ausscheidung erkrankter Bezirke, in der Ausbildung von Skelet und Darm das typische Pluteusstadium erreicht haben. Wir müssen also nach einem besonderen Grund suchen, warum die diploide Hälfte unserer beiden Larven so mangelhaft entwickelt ist, und zugleich nach dem Grund, warum die haploide Hälfte mehr geleistet hat, als was bei totaler Merogonie ein Spermakern von *Paracentrotus* mit Eiplasma von *Sphaerechinus* leisten kann.

Nach meiner Überzeugung haben beide Erscheinungen einen gemeinsamen Grund, und dieser liegt für die Skeletverhältnisse in dem

Verhalten des primären Mesenchyms. Aus der Art, wie in beiden Larven die Grenzen zwischen dem haploiden und dem diploiden Bezirk verlaufen, ist anzunehmen, daß ungefähr die Hälfte des Mesenchyms aus haploiden, die andere Hälfte aus diploiden Zellen besteht. Auch kann man an verschiedenen Stellen in der primären Leibeshöhle der beiden Larven Zellen erkennen, die nach ihrem Habitus primäre Mesenchymzellen sind und die zum Teil kleine, zum Teil große Kerne enthalten. Nun habe ich früher in Fällen, die viel günstiger waren als die uns jetzt beschäftigenden, nämlich bei dispermen Larven des Triastertypus, auf Grund der verschiedenen Kerngröße, feststellen können, daß bei der Ordnung der primären Mesenchymzellen zu dem charakteristischen Ring eine besondere Anziehung der näher verwandten Zellen aufeinander durchaus nicht stattfindet. Dies ist sehr deutlich an einer jungen dispermen Dreiergastrula zu sehen, die ich 1907, S. 85 in Abb. XXXVIII abgebildet habe. Die Larve läßt drei Bezirke, einen mit sehr großen, einen mit mittleren und einen mit sehr kleinen Kernen unterscheiden. Diese drei Bezirke treffen genau am vegetativen Pol zusammen, und jeder von ihnen hat ungefähr ein Drittel des primären Mesenchyms geliefert. Diese dreierlei Mesenchymzellen haben sich aber nicht so angeordnet, daß jede Sorte dem entsprechenden Ektoblastbezirk zugeteilt ist, sondern große, kleine und mittlere sind wahllos durcheinander gemengt.

Prüfen wir, mit dieser Erfahrung ausgerüstet, unsere beiden partiellmerogonischen Larven Abb. 17 und 18, Taf. XV, so ist zwar hier der Mesenchymring längst zerstört; es läßt sich aber an den noch in Gruppen zusammenliegenden Zellen, die ihn gebildet hatten, erkennen, daß auch in diesen Larven diploide und haploide Elemente auf beiden Seiten gemischt waren. In diesem Umstand glaube ich den Grund für das unerwartete Verhalten der beiden Skelethälften erkennen zu dürfen. Die diploiden Mesenchymzellen der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* vermögen, wo sie allein und in genügender Zahl vorhanden sind, ein richtiges Pluteusskelet hervorzubringen; die haploiden sind dazu unfähig; im günstigsten Fall bilden sie einen winzigen Dreistrahler. Indem nun die merogonische Seite der Larve von der anderen Seite her diploide Mesenchymzellen erhält, erlangt sie damit die Fähigkeit, ein viel vollkommeneres Skelet hervorzubringen, als sie für sich allein bilden könnte. Umgekehrt wird die diploide Hälfte der Larve, durch Abgabe eines Teils ihrer fähigen Zellen und Aufnahme von unfähigen, in ihrer Skeletbildung entsprechend beeinträchtigt.

Es ist von Interesse, an diesen Fällen zu erkennen, daß die größere oder geringere Vollkommenheit des Larvenskelets offenbar von der Beschaffenheit der den Mesenchymring zusammensetzenden Zellen abhängt. Die normale Beschaffenheit der epithelialen Wand vermag die

Skelethälfte der diploiden Seite ebensowenig zu verbessern, wie die allgemeine Mangelhaftigkeit der merogonischen Hälfte das Skelet dieser Seite verschlechtert, falls eben normale Skeletbilder von der anderen Seite herübergekommen sind. Diese Feststellung erhält aber ihr eigentliches Interesse erst dadurch, daß eine Betrachtung, die uns unten begegnen wird, fast mit Sicherheit zu dem Schluß führt, daß umgekehrt der spezifische Charakter des Larvenskeletes von der Beschaffenheit der Mesenchymzellen, sofern sie nur überhaupt zu normaler Skeletbildung fähig sind, unabhängig ist.

Auch der Darm unserer beiden partiell-merogonischen Larven ist eigentümlich, und auch in seiner Gestaltung erkennen wir einen Kompromiß zwischen den beiden Hälften, wenn auch in wesentlich anderer Weise. Die diploide Seite wäre befähigt, einen typischen dreigliederigen Pluteusdarm zu liefern, die haploide kann, wie die total-merogonischen Keime dieser Kombination lehren, nur ein Darmrudiment hervorbringen. Statt dieser beiden ungleichen Hälften entsteht ein symmetrischer Urdarm, der zwischen jener Fähigkeit und dieser Unfähigkeit ungefähr die Mitte hält. Man wird das Verhältnis vielleicht so auffassen dürfen, daß von dem zu voller Invagination strebenden diploiden Urdarmbereich auch der hiezu unfähige haploide Bezirk passiv mit hineingezogen wird, daß dieser aber ein zu großes Hemmnis bildet, um jener anderen Hälfte ihre volle Ausbildung zu ermöglichen. Warum in beiden Larven die typische Gliederung in Vorder- und Mitteldarm nicht erfolgt ist, sondern nur der Enddarm sich abgesetzt hat, vermag ich mir nicht zu erklären. Auffallend ist auch, daß sich in beiden Fällen der Urdarm fast oder völlig vom Ektoderm abgeschnürt hat.

Die beiden beschriebenen Keime, sowie eine Anzahl noch weniger gut entwickelter, waren als Eier mit Doppelspindeln isoliert worden. Und zwar ist für das eine Objekt beobachtet worden, daß die zwei Spindeln parallel zueinander stehen, woraus mit Sicherheit zu schließen ist (vgl. Boveri 1901), daß sie beide in jener ungefähr äquatorialen Ebene gelegen waren, die ich als karyokinetische Ebene des Eies bezeichnet habe. Es gibt aber, wie ich früher schon (1907) angegeben habe, auch Fälle, wo die beiden Spindeln aufeinander senkrecht stehen, wie ja auch unter den richtigen »Tetrastern« ebene und gekreuzte vorkommen. Meistens folgen die Eier eines Weibchens entweder dem einen oder dem anderen Typus; es können aber auch beide im gleichen Material auftreten. Beim gekreuzten Tetraster sind natürlich auch die vier simultan entstehenden Blastomeren tetraedrisch zueinander gestellt, und das gleiche findet bei zwei gekreuzten Amphiastern statt, falls, wie es in einem von Teichmann (1903, Abb. 7) mitgeteilten

Fall sich ereignet hatte, der Doppelspindelzustand ausnahmsweise zu vollständiger Aufteilung des Eies in vier einwertige Blastomeren führt.

Da nun das Seeigeei in der Richtung vom animalen zum vegetativen Pol aus Schichten von verschiedener Beschaffenheit besteht (Boveri 1901, 1902), werden die vier Blastomeren bei ebener Stellung der vier Pole eine andere Wertigkeit besitzen als bei tetraedrischer, was sich in der weiteren Furchung sehr charakteristisch ausprägt. Hierüber hatte schon Driesch (1892) genauere Angaben gemacht, die aber erst durch meine Untersuchungen über die Eipolarität ihren richtigen Sinn erhalten haben. Bei ebener Stellung der vier Pole erhält jede der vier Blastomeren, falls sie alle vier gleich groß sind, ein Viertel sämtlicher Plasmazonen, also auch ein Viertel des den vegetativen Pol bildenden Mikromerenfelds. Bei der weiteren Furchung ergibt sich dann, daß von jeder der vier primären Blastomeren zwei Mikromeren, im ganzen also acht, geliefert werden. Bei tetraedrischer Stellung der vier Pole dagegen können nur zwei, höchstens drei der vier primären Blastomeren einen Anteil der vegetativen Polkappe erhalten; nur diese zwei oder drei Zellen bilden Mikromeren, deren es dann nur vier oder sechs, niemals acht, gibt.

Denken wir uns nun — und damit kommen wir auf unser Thema zurück — in einem dispermen Ei der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*, in welchem zwei gekreuzte Spindeln entstanden sind, simultane Vierteilung eintretend, so ist der Fall denkbar, daß auf die beiden Blastomeren, welchen die diploiden Kerne zufallen, das ganze Mikromerenfeld übergeht. Und da die Mikromeren es sind, die das primäre Mesenchym liefern, so würden in diesem Fall alle primären Mesenchymzellen diploide, d. h. zur Bildung eines normalen Larvenskelets befähigte Kerne besitzen. Wie würde sich ein solcher Kern entwickeln?

Wir besitzen eine disperme Larve *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*, von der ich glaube, daß sie das im Vorstehenden theoretisch Angeführte wirklich darbietet. Am 14. Februar 1912 hatten wir eine Bastardbefruchtung zwischen den genannten Arten vorgenommen, in der Absicht, disperme Eier mit Doppelspindeln zu isolieren. Allein obgleich große Mengen von Sperma zugesetzt worden waren, fanden sich doch nur sehr wenige disperme Eier, und wir waren nicht im Stande, innerhalb der kurzen Zeit, während deren man die Existenz zweier getrennter Spindeln, besonders zweier gekreuzter, sicher feststellen kann, ein solches Ei zu isolieren. Nachdem die Teilung der Eier eingetreten war, isolierten wir eine Anzahl simultan viergeteilter, sowohl des ebenen wie des gekreuzten Typus, in der freilich äußerst geringen Hoffnung, daß darunter doch eines sein könnte, das zwei getrennte Spindeln enthalten hatte. In der Tat zeigte sich in einem der Gefäße zwei Tage später eine

gesund aussehende Gastrula, während alle übrigen Keime, dem gewöhnlichen Schicksal dispermer vierteiliger Eier gemäß, als Stereoblastulae zugrunde gingen. Am 19. Februar war aus jener Gastrula der in Abb. 19, Taf. XV wiedergegebene Jungpluteus entstanden, der nun konserviert wurde, da auf seine Weiterentwicklung nicht zu rechnen war.

Daß nun diese Larve, die trotz ihrer kümmerlichkeit in allen Teilen völlig gesund ist, aus einem Ei mit dispermem Tetraster stammen könnte, d. h. aus einem Ei, wo der *Sphaerechinus*-Eikern mit zwei *Paracentrotus*-Spermakernen sich vereinigt hätte und die Chromosomen dieser drei Kerne durch eine vierpolige Mitose wahllos auf die vier Blastomeren verteilt worden wären, darf als ausgeschlossen gelten. Man bedenke, daß wir im Winter 1901/02 aus weit über 1000 simultan vierteiligen Eiern bei homospermer Befruchtung nicht eine einzige normale Larve erhalten hatten! Wie sollte dann eine solche bei Bastardierung entstehen können? Auch sei hier schon bemerkt, worauf ich unten zurückkommen werde, daß wir aus einer großen Anzahl simultandreigeteilter dispermer Eier der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* niemals etwas anderes als Stereoblastulae erhalten haben, obgleich die Entwicklungsaussichten der dispermen Dreier, wie ich früher (1902, 1907) eingehend dargelegt habe, ungemein viel besser sind als die der Vierer. Es müssen also in unserem Ei Bedingungen für eine besonders günstige Chromosomenverteilung bestanden haben; und da ist eben kaum an etwas anderes zu denken, als daß der eine Spermakern mit dem Eikern eine normale diploide, der andere Spermakern für sich eine normale haploide Spindel gebildet hatte. Die Kernverhältnisse der Larve sind mit dieser Annahme in Einklang.

In Abb. 19c, Taf. XV sind Kerne aus einem Stück der Wimperschnur, in Abb. 19d, Taf. XV solche aus einem anderen Teil der Wimperschnur abgebildet. Ihre Oberflächen stehen ungefähr im Verhältnis 1 : 2. Allerdings ist hinzuzufügen, daß der Gegensatz nicht überall so klar ist. In beiden Bezirken bestehen beträchtliche Variationen in der Kerngröße, wie dies ja, ohne ersichtlichen Grund, auch sonst nicht selten vorkommt. In unserer Larve sind speziell die kleinen Kerne der dünnen ektodermalen Wände nicht unerheblich größer als die der Wimperschnur; eine Vergleichung von Abb. 19e, Taf. XV (Vorderwand) mit Abb. 19d, Taf. XV (Wimperschnur) läßt dies erkennen. Es ist jedoch kein Anhaltspunkt zu finden, um etwa drei Bezirke mit verschiedenen Kerngrößen zu unterscheiden. Auch sind die kleineren Kerne der Wimperschnur intensiver gefärbt als die etwas größeren der dünnen Wand, so daß sich die Differenz wohl aus verschieden dichter Lagerung der Kernbestandteile genügend erklärt.

Ogleich nun die Variationen der Kerngrößen und starke Grenzverwerfungen die Abgrenzung der beiden Bezirke nicht überall ge-

statten, läßt sich doch zunächst so viel mit Sicherheit feststellen, daß der Darm durcous großkernig ist. Wenn unsere Deutung des Falles als Doppelspindel-Ei richtig ist, heißt dies, daß der Darm sich ausschließlich aus den beiden Blastomeren ableitet, in welche bei der simultanen Vierteilung die zwei diploiden Kerne gelangt waren. Wenn aber diejenige Eizone, die zur Bildung des Darmes bestimmt ist, vollständig den diploiden Blastomeren zugefallen ist, dann muß die vegetative Polkappe, aus der die primären Mesenchymzellen entstehen, erst recht in die diploiden Zellen übergegangen sein. Dieses Postulat wird durch den Befund an unserer Larve bestätigt. Im Gegensatz zu den in Abb. 17 und 18, Taf. XV abgebildeten partiell-merogonischen Larven, bei denen das primäre Mesenchym aus diploiden und haploiden Zellen besteht, kommen bei unserer Larve nur großkernige, also nach aller Wahrscheinlichkeit diploide, aus allen Eikernchromosomen von *Sphaerechinus* und allen Chromosomen eines Spermakerns von *Paracentrotus* zusammengesetzte Kerne vor. Als solche aber haben sie, wie uns die gewöhnlichen Bastarde dieser beiden Species lehren, die Fähigkeit, ein normales Larvenskelet aufzubauen.

Die Herleitung der Larve aus einem dispermen Ei des Doppelspindeltypus wird noch dadurch bekräftigt, daß ihre Kernverhältnisse und die Art ihres Auftretens eine fast vollkommene Parallele bilden zu den Befunden an einem Pluteus von *Parechinus*, den ich früher (1907) beschrieben und in Abb. 75, Taf. IX jener Arbeit abgebildet habe. Auch er stammte aus einem Ei, das mit vielen anderen im Zustand der simultanen Vierteilung isoliert worden war. Auch bei ihm war die völlig gesunde und normale Entwicklung etwas höchst Auffallendes gewesen, nachdem bis dahin von mehr als 1500 isolierten Eiern, und auch von den 109 aus dem gleichen Material ausgelesenen vierteiligen Eiern, kein einziges sich normal entwickelt hatte. Aber der durch die Kernuntersuchung geführte, so gut wie sichere Nachweis, daß das Ei nicht eine einheitliche vierpolige Figur, sondern eine normale erste Furchungsspindel und eine Spermaspindel enthalten hatte, machte den völlig normalen Verlauf der Entwicklung verständlich.

Mit diesem homospermen Pluteus hat unser jetziger Bastardpluteus noch die weitere Eigenschaft gemein, daß der diploide und der haploide Bezirk sich nicht in das Rechts und Links der Larve teilen, wie es in den Larven der Abb. 15b, Taf. XIV bis 18, Taf. XV der Fall ist, sondern daß sie von der Medianebene annähernd symmetrisch halbiert werden. Der diploide Bereich, von dem, wie schon erwähnt, das ganze primäre Mesenchym und der Darm stammen, hat außerdem das Mundfeld und den größten Teil der Wimperschnur gebildet; die haploiden Zellen nehmen den Scheitel, die Vorderwand, einen Teil der Seitenwände und der Wimperschnur ein. Der oben schon erwähnte sehr unregelmäßige

Verlauf der Grenzen mag in einem schon von Driesch bei seinem Studium der dispermen Eier des Tetrastertypus beobachteten Moment seinen Grund haben, darin nämlich, daß sich während der Furchung nicht selten vier Zellpakete, jedes auf eine der vier primären Blastomeren zurückgehend, mehr oder weniger scharf getrennt erhalten, um im weiteren Verlauf sich entweder völlig voneinander zu lösen oder allmählich zusammenschweißen. Bei diesem letzteren Vorgang werden wohl starke Zellverschiebungen unvermeidlich sein.

Die annähernd symmetrische Anordnung der beiden Bezirke macht natürlich die Larve viel weniger interessant als sie es wäre, wenn der diploide und der haploide Bereich in der Medianebene zusammenstoßen würden. Die einzige bestimmte Aussage, zu der uns die Gestaltung der Larve berechtigt, ist wohl die, daß, wie es theoretisch vorauszusehen war, eine partiell-merogonische Larve der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* dem Zustand eines normalen Pluteus viel näher kommt, wenn die Skelettbildner nicht zur Hälfte haploid, sondern durchaus diploid sind. Eine Betrachtung von Abb. 19a und b, Taf. XV lehrt, daß beide Skelethälften die charakteristischen Hauptteile: Scheitel-, Mittel-, Anal- und Oralstab unterscheiden lassen. Das rechte Skelet ist sogar ziemlich gut ausgebildet. Merkwürdig ist der Verlauf des linken Scheitelstabs, der nicht, wie der rechte, gegen den Scheitel aufsteigt, sondern sich nach der Vorderwand zu krümmt. Beide Skelethälften zeigen, soweit dies bei dem rudimentären Zustand zu entscheiden ist, väterlichen Typus. Angesichts der Tatsache, daß dies auch für viele echte Basterde dieser Kombination zutrifft, lassen sich daraus nach keiner Richtung Schlüsse ziehen.

Wie das Skelet, so ist auch der Darm erheblich besser entwickelt als bei den in Abb. 17 und 18a, Taf. XV abgebildeten partiell-merogonischen Larven; die Mundbucht ist gebildet und mit dem Darm in Verbindung getreten; auch dies ist nicht weiter verwunderlich, da beide in Betracht kommenden Bereiche diploid sind.

D. Unklare Fälle.

An die Betrachtung der partiell-merogonischen Larven schließe ich die Besprechung zweier oben schon kurz erwähnter, in Abb. 20a und 21, Taf. XV abgebildeter Plutei an, deren Kernbestand ich nicht aufzuklären vermag. Sie stimmen insofern mit den partiell-merogonischen überein, als sie aus einem großkernigen Bezirk und einem solchen mit kleineren Kernen bestehen. Beide stammen aus einer Kreuzung *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* vom 3. Februar 1912, beide aus sehr großen Fragmenten, die als kernlos isoliert worden waren. Der Scheitel und die Vorderwand sind bei beiden Larven kleinkernig, Analarms und Mundfeld großkernig. Es ist dies also ungefähr die gleiche Verteilung,

wie wir sie bei der zuletzt beschriebenen Larve und der ihr so ähnlichen von 1907, Taf. IX, Abb. 75 angetroffen haben, nur mit dem Unterschied, daß in diesen mutmaßlichen dispermen Doppelspindellarven der Kontrast der Kerngrößen viel stärker ist als in den beiden uns jetzt beschäftigenden Larven. Bei der Larve der Abb. 20 a, Taf. XV ist das Oberflächenverhältnis der Kerne auf ungefähr 6,2 : 8 berechnet worden, bei derjenigen der Abb. 21, Taf. XV dürfte es ähnlich sein. Da die Kerne des Mundfelds generell größer sind als die des Scheitels, sind zur Vergleichung mit den Kernen der Scheitelregion (Abb. 20 b, Taf. XV) solche aus der Wimperschnur eines Analarms (Abb. 20 c, Taf. XV) benutzt, und es ist außerdem durch Vergleichung von Scheitelkernen und Wimperschnurkernen von echten Bastarden der gleichen Kultur festgestellt worden, daß diese beiden Regionen normalerweise identische Kerngrößen aufweisen. Es handelt sich also bei unseren beiden Larven sicherlich um eine essentielle Größendifferenz der Kerne, die durch die Proportion 6,2 : 8 annähernd richtig ausgedrückt sein dürfte. Hierzu ist noch zu bemerken, daß die großen Kerne die Größe der diploiden Bastardlarvenkerne besitzen, während die kleinen hinter diesen ungefähr ebenso stark zurückbleiben, wie es oben (S. 439) für zwei in allen Teilen »mittelkernige« Bastardlarven aus Eifragmenten beschrieben worden ist.

Das Skelet der beiden in Rede stehenden Larven präsentiert sich im Bereich der Analarms als echtes Bastardskelet. Dagegen sind die Scheitelstäbe in dem Pluteus der Abb. 20 a, Taf. XV rein väterlich, in dem der Abb. 21, Taf. XV wenigstens überwiegend väterlich; denn die hier vorhandenen ungewöhnlich starken Dornen an den keulenförmigen Anschwellungen der Stäbe, die in solcher Ausprägung bei den *Paracentrotus*-Plutei der Kontrollzucht nicht zu konstatieren sind, lassen sich kaum als einen Anklang an den *Sphaerechinus*-Typus deuten, für den vielmehr eher Glätte, dafür aber Verzweigung des äußersten Endes charakteristisch ist.

Was an diesen Verhältnissen einige Beachtung verdient, ist der Umstand, daß die Skeletteile, in denen der mütterliche Einfluß deutlich bemerkbar ist, dem großkernigen Bereich, diejenigen, wo er fast oder ganz fehlt, dem kleinkernigen angehören.

Als ich diese Larven und ihre Kernverhältnisse kennen lernte, kamen sie mir ziemlich wichtig vor. Ich war damals der Meinung, daß der Bezirk mit den kleinen Kernen merogonisch sei, und erklärte mir diese »partielle Merogonie« so, daß ein übersehener (durch das Schütteln unsichtbar gewordener) Eikern aus irgendeinem Grund nicht mit in die erste Furchungsspindel aufgenommen worden sei, die Spindel vielmehr nur die Chromosomen des *Paracentrotus*-Spermakerns richtig verteilt habe; erst in einer der beiden Blastomeren sei zu dem männlichen

Komplex der Eikern hinzugetreten. Nachdem wir jetzt wissen, daß haploide Kerne in fremdem Eiplasma nicht größer sind als in eigenem, nämlich auch hier in ihren Oberflächen zu denen der diploiden Kerne sich wie 1 : 2 verhalten, ist diese Deutung hinfällig. Wollte man auf ähnlichem Weg eine andere Erklärung suchen, so könnte man annehmen, daß an Stelle des einfachen Eikerns zwei Partialeikern vorhanden gewesen und daß von diesen nur der eine mit dem Spermakern verschmolzen, der andere unverändert in die eine Blastomere übergegangen sei. Als sehr wahrscheinlich möchte ich diese Hypothese jedoch nicht bezeichnen.

VIII. Die Beziehung zwischen der Entwicklungsfähigkeit merogonischer Bastarde und den Chromatinverhältnissen.

Im Kapitel II, bei der Besprechung der Mortensenschen, auch von uns akzeptierten Terminologie ist davon die Rede gewesen, daß dieses neue System, gegenüber den früher gebrauchten, die Verwandtschaftsbeziehungen der uns interessierenden Seeigelspecies richtig zum Ausdruck bringt, indem es den *Parechinus (Echinus) microtuberculatus* mit dem *Paracentrotus (Strongylocentrotus) lividus*, welche beide Arten noch mehr als im fertigen Zustand im Pluteusstadium übereinstimmen, in eine Familie zusammenstellt; wogegen dem *Sphaerechinus granularis*, der sowohl als Larve wie als Imago von jenen beiden Arten erheblich abweicht, sein Platz in einer anderen Familie angewiesen ist.

Schon auf Grund dieser Ähnlichkeitsverhältnisse läßt es sich verstehen, daß der *Paracentrotus*-Kern mit Eiplasma von *Parechinus* ein normales Produkt hervorbringt, während *Paracentrotus*- und *Parechinus*-Kern mit *Sphaerechinus*-Plasma hierzu nicht imstande sind und der *Sphaerechinus*-Kern im *Paracentrotus*- oder *Parechinus*-Plasma sich sogar völlig abnorm verhält.

Betrachtet man die Eier der drei Species, so wird man an ihnen allerdings jene engere Verwandtschaft zwischen *Paracentrotus* und *Parechinus*, die sich auf dem Pluteusstadium so klar ausprägt, kaum entdecken können. Ich glaube wenigstens, daß jeder Unbefangene den Unterschied im Aussehen zwischen einem *Parechinus*- und einem *Paracentrotus*-Ei nicht geringer finden wird als den zwischen einem *Paracentrotus*- und einem *Sphaerechinus*-Ei. Und gleiches dürfte für die Larven bis in das Gastrulastadium hinein gelten. Um so wichtiger ist es daher, daß die Morphologie der Chromosomen der drei Species mit den sowohl aus der Gestaltung der Plutei wie aus den Ergebnissen der merogonischen Bastardierung zu erschließenden Verwandtschaftsverhältnissen in bestem Einklang steht. Aus den Untersuchungen Baltzers (1909, 1910, 1913) wissen wir, daß *Paracentrotus* und *Par-*

echinus im haploiden Kern 18 Chromosomen besitzen, *Sphaerechinus* dagegen 20. Den beiden erstgenannten Species ist weiterhin das Vorkommen von Chromosomen gemeinsam, die von den Spindelfasern in der Nähe der Mitte angegriffen werden und infolgedessen nach ihrer Spaltung eine Hakenform annehmen, wogegen sich bei *Sphaerechinus* alle Zugfasern an die Enden der Chromosomen ansetzen, so daß hier sämtliche Tochterchromosomen sich zu geraden Stäbchen ausstrecken. Unter diesen Stäbchenchromosomen befinden sich bei *Sphaerechinus* in jedem haploiden Kern, zwei auffallend lange Elemente, für die sich bei *Paracentrotus* und *Parechinus* kein Pendant findet. Was die Hakenchromosomen dieser beiden Arten anlangt, so kommt dem haploiden Kern bei beiden in völlig übereinstimmender Weise ein »langer Haken« zu; außerdem besitzen beide Species in der Hälfte ihrer Spermien ein in den Metaphasen an seiner Hakenform kenntliches Idiochromosoma, das als ein spezifisches Element bei *Sphaerechinus* nicht nachweisbar ist. Ein Unterschied in dem Chromatinbestand von *Paracentrotus* und *Parechinus* liegt nur darin, daß bei letzterem in jedem haploiden Kern ein in den Metaphasen hufeisenförmiges Chromosoma vorkommt, das bei *Paracentrotus* durch ein stäbchenförmiges vertreten wird.

Die viel nähere Verwandtschaft, die nach dem Gesagten zwischen den Kernen von *Paracentrotus* und *Parechinus* besteht, läßt es begreifen, daß der eine für den anderen eintreten kann, daß seine Chromosomen mit dem Eiplasma der anderen Species ebenso zu wirtschaften vermögen, wie die in diesem Plasma einheimischen. Freilich würde diese Feststellung für sich allein noch nicht viel bedeuten. Denn man könnte annehmen, worauf ja die Godlewskischen Versuche nach seiner Meinung hinzuweisen schienen, daß für die Entwicklung bis zum Pluteus die Qualität der Chromosomen überhaupt nahezu gleichgültig sei, vielmehr alles zu dieser Entwicklung Nötige vom Eiplasma, auch mit so heterogenem Chromatin, wie es für *Parechinus*-Plasma im Kern von *Antedon* gegeben ist, geleistet werden könne. Wir haben jedoch oben (S. 448) den Godlewskischen Ergebnissen jegliche Beweiskraft in dieser Hinsicht absprechen müssen. Des weiteren aber haben wir erfahren, daß, entgegen meinen eigenen früheren Schlußfolgerungen, sogar im *Sphaerechinus*-Plasma der Kern von *Paracentrotus* oder *Parechinus* die Entwicklung nicht über das Stadium einer beginnenden Gastrula hinauszuführen vermag. Wir ersehen aus dieser Tatsache, daß von diesem Stadium an die Weiterentwicklung von der Anwesenheit eines zum Eiplasma richtig abgestimmten Chromosomenkomplexes abhängig ist; und diese richtige Zusammensetzung des Chromatins ist eben für das Eiplasma von *Parechinus* nicht nur in dem Chromosomenkomplex von *Parechinus* selbst, sondern auch in dem ihm morphologisch so ähnlichen von *Paracentrotus* gegeben.

IX. Die Parallele in dem Verhalten merogonischer Bastardlarven und dispermer Larven.

Der im vorigen Kapitel gezogene Schluß, daß von einem bestimmten Punkt an die Entwicklung nicht ohne Chromosomen von bestimmter Beschaffenheit weiter gehen kann, stimmt aufs beste mit den Ergebnissen meiner Versuche über die Entwicklung dispermer Eier (1902, 1907) überein. Diese Experimente hatten mich zu der Vorstellung geführt, zu der auch verschiedene andere Erfahrungen drängten (1903), daß in der Entwicklung zwei in Bezug auf die Mitwirkung des Kerns essentiell verschiedene Perioden zu unterscheiden sind: eine erste, in der die Konstitution des Eiplasmas maßgebend ist, während von den Chromosomen nur gewisse generelle Qualitäten gefordert werden; und eine zweite, in welcher die Chromosomen durch ihre spezifischen Eigenschaften zur Geltung kommen und in der der Keim, wenn diese Wirkung ausbleibt oder eine unrichtige ist, zugrunde geht. Nur diese Annahme kann es, wie ich glaube, verständlich machen, daß die dispermen Keime, mit gewissen Ausnahmen¹⁾, die auf Grund der Theorie von der Verschiedenwertigkeit der Chromosomen zu erwarten sind, bis zum Stadium der fertigen Blastula oder beginnenden Gastrula gesund bleiben, um dann fast plötzlich zu erkranken. Bezüglich weiterer Erörterung dieser Verhältnisse darf ich auf frühere Darlegungen, speziell in 1907, S. 246 bis 256, verweisen. In einem Punkt jedoch bedarf das dort Gesagte einer Ergänzung. Als ich schon damals die Entwicklung dispermer Eier mit derjenigen merogonischer Bastarde verglich, ging ich von der irrigen Voraussetzung aus, daß sich merogonische Bastarde der Kreuzung *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* und *Sphaerechinus* × *Parechinus* zu Plutei, solche von *Parechinus* × *Antedon* zu fertigen Gastrulae entwickeln könnten. Wir wissen jetzt, daß beides im höchsten Grad unwahrscheinlich ist, daß alle sicher merogonischen Bastarde der beiden ersten Kombinationen spätestens auf dem Stadium einer beginnenden Gastrula stehen bleiben, und daß über die Stufe, welche diejenigen von *Parechinus* × *Antedon* erreichen können, überhaupt nichts Sicheres bekannt ist. Danach stimmen nun die Erfahrungen auf den beiden Gebieten noch erheblich besser zusammen als ich damals geglaubt hatte. Nach dem soeben Gesagten bringen es, soweit wir jetzt urteilen können, merogonische Bastarde, denen nicht zwei Species von sehr großer Ähnlichkeit, wie *Parechinus* und *Paracentrotus*, zu Grunde liegen, im besten Fall nur um wenig über das Stadium hinaus, auf dem die dispermen Keime typischerweise erkranken, nämlich das Stadium der fertigen Blastula oder beginnenden Gastrula.

¹⁾ Zu diesen Ausnahmen gehören in erster Linie die dispermen Keime des Doppelspindeltypus, die oben in dem Kapitel über »partielle Merogonie« beschrieben worden sind.

Den Grund für beide Erscheinungen sehe ich darin, daß von dem Zeitpunkt an, wo zur Weiterentwicklung die speziellen Chromosomeneigenschaften nötig werden, sowohl bei der heterospermen Merogonie wie bei der homospermen Dispermie die Kerne versagen. Im ersten Fall versagen sie, weil die Chromosomen nicht auf das Plasma, in dem sie sich befinden, abgestimmt sind, im zweiten Fall, weil die Chromosomen, obgleich zu diesem Plasma passend, nicht zu der richtigen Kombination vereinigt sind. Der interessanteste Unterschied aber, der neben dieser Übereinstimmung besteht, daß nämlich die merogonischen Bastarde zunächst lediglich die Entwicklung einstellen, wogegen die dispermen Keime auf dem kritischen Stadium sofort erkranken, scheint mir, wie ich schon früher ausgesprochen habe, seinen Grund darin zu haben, daß die Kerne des merogonischen Bastards zwar dem umgebenden Protoplasma nicht adäquat, daß sie aber doch in sich vollkommen normale Kerne sind, während die Chromosomen in den Kernen des dispermen Keimes auf dem Stadium, auf dem ihre spezifische Tätigkeit beginnen soll, infolge ihrer abnormen Kombination nicht richtig zusammenwirken und dadurch, zunächst selbst erkrankend, die ganze Zelle pathologisch machen.

Die neuen Erfahrungen über die sehr beschränkte Entwicklungsfähigkeit merogonischer Bastarde sind mir aber bei der Beurteilung meiner früheren Ergebnisse über die Entwicklung dispermer Eier noch in anderer Hinsicht von Wert gewesen. Nachdem ich die Erfahrung gemacht hatte, daß die dreipoligen dispermen Eier sich weit besser entwickeln als die vierpoligen, und daß viele von ihnen wohlgebildete Plutei ergeben, war es eine naheliegende Frage, wie solche Plutei aussehen, wenn man die Dispermie mit Bastardierung verbindet. Die Hoffnung schien nicht unbegründet, daß auf diese Weise ein lehrreiches Mosaik väterlicher und mütterlicher Eigenschaften zustande kommen könnte. Allein die Ergebnisse waren negativ. Aus dispermen Dreiern der Kombination *Parechinus* × *Paracentrotus*, von denen wir im Jahr 1902 30 Stück isoliert hatten, können zwar, wie dieser Versuch uns gelehrt hat, Plutei entstehen; da aber die Plutei der beiden Species so gut wie identisch sind, ist aus der Gestaltung dispermer Plutei dieser Kreuzung nicht mehr zu entnehmen, als was solche disperse Larven bei homospermer Befruchtung erkennen lassen. Dieser Satz hat sich ja schon oben bei der Betrachtung dispermer Keime des Doppelspindeltypus, zu denen die Eier von *Parechinus*, das Sperma von *Paracentrotus* stammte, bestätigt.

Wir haben daher damals in größerer Zahl und aus verschiedenem Material disperse Dreier der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* gezüchtet; diese aber endigten alle als Stereoblastulae. Heute ist mir dieses Resultat, das ich mir damals nicht recht erklären konnte,

begreiflich. Sowohl das, was wir jetzt über die mangelhafte Entwicklungsfähigkeit des mit *Paracentrotus*-Chromosomen arbeitenden *Sphaerechinus*-Plasma wissen, als auch die Verschiedenheiten in der Chromosomenmorphologie der beiden Species (vgl. oben S. 461), läßt es begreiflich erscheinen, daß eine zu normaler Betätigung fähige Mischung aus beliebigen Teilen beider Chromosomenbestände kaum jemals, vielleicht überhaupt nicht entstehen kann. Nur in jenen Fällen, wo infolge besonderer Umstände eine oder zwei Blastomeren die ganze Chromosomenserie von *Sphaerechinus* erhalten würden, vielleicht auch dann, wenn die ganze Serie der *Paracentrotus*-Chromosomen mit einer Anzahl bestimmter Chromosomen von *Sphaerechinus* in einer Blastomere zusammenkäme, könnte in diesen Teilen normale Entwicklung erwartet werden. Offenbar war dies in jenen dispermen Bastarddreiern niemals eingetreten.

X. Entwicklung und Vererbung.

Wenn wir heute ein Werk über Vererbungslehre durchblättern, sehen wir das großartige Bild vor uns entrollt, zu dem die Zucht der reinen Linien und die Mendelforschung die Grundlinien geliefert haben. Wir lernen die Lehre von den Genen oder Erbeinheiten kennen, die in immer neuen Kombinationen die Kette der Individuen durchziehen. In einzelnen dieser Werke wird daneben noch der Kreislauf der Chromosomen besprochen, der zu den Gesetzen der Mischung und Trennung der Gene, wie sie die Zuchtversuche enthüllt haben, eine nicht schöner zu erwartende Parallele bildet. Über die Vererbung selbst aber, d. h. über die Frage, wie die in der Zygote gegebene Konstellation zu jenem Erbeffekt hinführt, mit dem der Vererbungsforscher arbeitet, darüber erfahren wir nichts; denn darüber wissen wir eben trotz aller exakten Vererbungslehre so gut wie nichts. Und es ist auch leicht einzusehen, wie unendlich viel schwieriger die Bearbeitung der Probleme ist, die uns hier entgentreten; ja man wird vielleicht, wenn man an die jetzt bekannten Angriffsmöglichkeiten denkt, an der Lösbarkeit einer solchen Aufgabe überhaupt verzweifeln.

Wenn ich im Folgenden einige Ergebnisse hervorhebe, die sich aus den mitgeteilten Befunden in der genannten Richtung ableiten lassen, so knüpfe ich sie wohl zweckmäßigerweise an die Tatsache an, daß gewisse allgemeinste Formverhältnisse des entstehenden Individuums ohne Zweifel in der Anordnung des Eiplasmas vorgezeichnet sind. Wir kennen bei Eiern aus verschiedenen Tierabteilungen mehr oder minder ausgeprägte plasmatische Differenzierungen, durch welche die Achse des Embryos, der Ort der Darneinstülpung und des Auftretens anderer Organanlagen vorgezeichnet sind. Hier also spielen offenbar

die Gene noch gar keine Rolle, wenn nicht etwa in der Weise, daß sie bei der Bildung des Eies (der Oocyte) dessen Plasmabau beeinflußt haben könnten.

Mit diesen Erfahrungen über die sichtbare Vorbildung gewisser Primitivorgane im Eiplasma steht die Tatsache in bester Übereinstimmung, daß das Ei seine erste Entwicklung mit einem, wie man fast sagen kann, beliebigen Chromatinbestand auszuführen vermag. Sowohl der zufällige Chromosomenkomplex, wie ihn im allgemeinen die Blastomeren dispermer Eier enthalten, als auch die heterogenen Chromosomen einer anderen Familie, ja, nach Godlewskis Versuchen, sogar einer anderen Tierklasse genügen den Bedürfnissen des Keimes bis spätestens zum Beginn der Gastrulation.

Von da an erst braucht, wie ich schon früher ausführlich erörtert habe, das Eiplasma für die weitere Entwicklung einen Chromatinbestand von bestimmter Qualität. Aber — und damit gelangen wir zu einem bisher nicht genügend gewürdigten Punkt — von jenem Stadium an beansprucht auch das Chromatin ein zu seinen besonderen Eigenschaften richtig abgestimmtes Protoplasma. Das Eiplasma, mit dem ein bestimmter Kern zu wirtschaften vermag, kann wohl innerhalb gewisser Grenzen verschieden sein. Die Versuche über merogonische Bastardierung *Parechinus* × *Paracentrotus* haben uns gelehrt, daß der *Paracentrotus*-Kern, wenigstens bis zum Pluteusstadium, nicht nur mit *Paracentrotus*-, sondern auch mit *Parechinus*-Plasma zu arbeiten vermag, obgleich diese beiden Plasmaarten schon für unser Auge sehr deutlich voneinander verschieden sind. Aber mit *Sphaerechinus*-Protoplasma vermag der *Paracentrotus*-Kern die Entwicklung über jene erste Periode, für die wir formative Beziehungen zwischen Kern und Protoplasma überhaupt in Abrede stellen, nicht hinauszuführen.

Bezeichnet man also als Vererbung die Gesamtheit der inneren Bedingungen, die zur Entfaltung der Eigenschaften des neuen Individuums gehören, so kommt hierbei dem Protoplasma eine viel spezialisiertere Bedeutung zu, als man bisher vielfach anzunehmen geneigt war; und mehr als je erscheint die Meinung absurd, daß es gelingen könne, ein Spermium in einem künstlichen Nährboden zur Entwicklung zu bringen.

Die Tatsache aber, daß das entkernte *Sphaerechinus*-Eiplasma mit einem Spermium von *Parechinus* und *Paracentrotus* die Entwicklung nicht weiter als bis zum Beginn der Gastrulation fortführen kann, tritt erst dann in ihre richtige Beleuchtung, wenn wir sie mit den Erfahrungen zusammenhalten, die über die Vererbungsrichtung der echten Bastarde dieser beiden Kombinationen vorliegen. Solange die Hoffnung bestand, daß man aus kernlosen Fragmenten von *Sphaerechinus*-Eiern

bei Befruchtung mit *Parechinus*- oder *Paracentrotus*-Samen Plutei erhalten könne, war es für die Beweiskraft solcher Versuche in der Frage der Lokalisierung der Erbfaktoren ein höchst störender Umstand, daß ein echter Bastardpluteus der genannten Kombinationen rein väterlich aussehen kann. Jetzt wird uns dieser Mangel zum Vorteil. Denn wir gelangen zur Aufstellung des ziemlich unerwarteten Satzes: Ein bestimmtes Spermium von *Paracentrotus*¹⁾ vermag mit einem bestimmten Ei von *Sphaerechinus* einen Pluteus von rein väterlichem, also von *Paracentrotus*-Typus, zu erzeugen; aber das Spermium vermag dies nur, wenn der Eikern von *Sphaerechinus* die Entwicklung mitmacht; ohne ihn geht es nicht. Also gerade das, was man als das Hindernis für die reine Entfaltung der väterlichen Anlagen ansehen möchte, der mütterliche Kern, ist unerläßlich, um — unter gewissen Umständen, die nach Köhler von dem relativen Reifezustand der Gameten abhängen — die Entstehung einer rein väterlichen Form zu ermöglichen. In ihrem einen Teil sagt uns diese Feststellung nur das, was wir schon wissen: daß zur Überschreitung der ersten Entwicklungsperiode Chromatin von bestimmter, dem Eiplasma adäquater Beschaffenheit notwendig ist, wie es für das *Sphaerechinus*-Plasma in dem *Sphaerechinus*-Kern, nicht aber in dem *Paracentrotus*-Kern gegeben ist. Leistet aber der Eikern von *Sphaerechinus* die weitere Entwicklungsarbeit, dann vermag dasjenige Substrat, das die väterlichen Anlagen in sich hat, auf dieses Entwicklungsgeschehen, das es selbst durchaus nicht zu fördern vermöchte, formativ mit solcher Kraft einzuwirken, daß in dem entstehenden Pluteus die Entfaltung der mütterlichen Anlagen völlig unterdrückt wird.

Welches das Substrat ist, das die väterlichen Anlagen enthält, darüber lehrt die Erfahrung nichts. Den Kern läßt sie nur als Entwicklungsfaktor, nicht als Träger der erblichen Anlagen erkennen. Und man könnte vielleicht auf den Gedanken kommen, daß, wenn sich in den betrachteten Tatsachen der Kern nur als ein Organ zu erkennen gibt, welches dazu da ist, die Ausbildung des Larvendarms, des Skelets usw. zu ermöglichen, die spezifische Gestaltung dieser Prozesse, d. h. die Übereinstimmung mit der spezifischen Gestalt der Eltern, in anderen Teilen der Gameten ihre Bedingungen haben werde.

In diesen Zweifeln kommen uns andere Erfahrungen zu Hilfe. Vor kurzem haben gleichzeitig (1914) C. Herbst und ich den nach meiner Meinung bis jetzt ersten experimentellen Beweis dafür geliefert, daß die Übertragung der spezifischen mütterlichen Eigenschaften nicht durch das Eiprotoplasma, sondern durch den Eikern geschieht. Durch Bastardierung von Rieseiern sind wir zunächst beide zu der übereinstimmen-

¹⁾ Oder *Parechinus*.

den Feststellung gelangt, daß das Vererbungssubstrat bei Echiniden quantitativ wirkt, d. h. um so stärker, je mehr die Quantität an Eibsubstanz diejenige an Spermasubstanz übertrifft. Hiezu habe ich noch speziell beweisen können, daß nicht, wie es zunächst denkbar wäre, die bloße absolute Vermehrung der Eibsubstanzen zu einer reicheren Skelettbildung und damit zu einer nur scheinbaren Verstärkung der mütterlichen Tendenzen führt. Weiterhin hat jeder von uns auf anderem Weg Argumente geliefert, um zu zeigen, daß das, was bei den Rieseneiern die starke Verschiebung nach der mütterlichen Seite bewirkt, nicht die Vermehrung des Eiplasmas sein kann, sondern nur die des Eikerns. Herbst führt diesen Beweis durch seine früheren Versuche über Kombination der künstlichen Parthenogenese mit Befruchtung, wo in normaler Menge von Eiplasma im Idealfall ein einfacher Spermakern mit einem doppelten Eikern kombiniert ist und sich eine ähnliche Verschiebung nach der mütterlichen Seite gezeigt hat. Strenger, weil viel weniger von unkontrollierbaren Nebenumständen abhängig, scheint mir mein Verfahren, einerseits ganze Eier, andererseits kernhaltige Eifragmente mit Sperma des gleichen ♂ zu bastardieren und auf diese Weise immer gleiche Kernmengen mit verschiedener Menge von Eiplasma zu kombinieren. Die Tatsache, daß die mütterliche Tendenz mit der Verminderung des Eiplasmas nicht im mindesten abnimmt, läßt für die stark mütterliche Gestaltung der Riesenbaste nur die Erklärung zu, daß diese Gestaltung in der Verdoppelung der mütterlichen Kernsubstanz ihren Grund hat.

Stellt sich also die Kernsubstanz in der Tat, wofür ja so vieles andere spricht, als die — kurz gesagt — Vererbungssubstanz dar, und haben wir sie andererseits im vorigen Abschnitt und schon aus den Dispermieversuchen als diejenige Substanz erkannt, ohne deren ganz bestimmte Zusammensetzung die Entwicklung über einen gewissen Punkt nicht hinausgehen kann, so tritt nun die merkwürdige Tatsache auf, daß ein Kern, der die Fähigkeit hat, in einem bestimmten Plasma seine Vererbungstendenzen aufs Kräftigste zur Geltung zu bringen, damit durchaus nicht notwendig die Fähigkeit haben muß, die Entwicklung selbst bis zu jenem Stadium zu treiben, in welchem die Entfaltung seiner Vererbungskräfte erst möglich wird. In der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus* und *Sphaerechinus* × *Parechinus* ist dies realisiert. Denn in der gleichen Zucht, wo ganze Eier dieser Kombination Larven liefern, die von rein väterlichen kaum zu unterscheiden sind, wo nach dem Gesagten also der Spermakern in seiner Vererbungswirkung den Eikern fast völlig unterdrückt, ist dieser gleiche Spermakern in bloßem Eiplasma (ohne Eikern) durchaus nicht imstande, einen richtigen Darm und ein über die winzigsten Anlagen hinausgehendes Skelet zu liefern.

Daraus ist wohl zu schließen, daß im Kern verschiedene Bestandteile gemischt sind mit verschiedenen Aufgaben. (Hier bricht das Manuskript ab.)

Literaturverzeichnis.

- Baltzer, F., 1910. Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. f. Zellf. Bd. 5.
- 1909. Die Chromosomen von *Strongylocentrotus lividus* und *Echinus microtuberculatus*. Arch. f. Zellf. Bd. 2.
- 1913. Über die Herkunft der Idiochromosomen bei Seeigeln. Sitzungsber. der phys.-med. Ges. Würzburg.
- Boveri, Th., 1889. Ein geschlechtlich erzeugter Organismus ohne mütterliche Eigenschaften. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. Bd. 5.
- 1896. Über die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigeleier und über die Möglichkeit ihrer Bastardierung. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 2.
- 1901a. Merogonie (Y. Delage) und Ephebogenesis (B. Radwitz), neue Namen für eine alte Sache. Anat. Anz. Bd. 19.
- 1901b. Über die Polarität des Seeigeleies. Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 34.
- 1901c. Die Polarität von Ovocyte, Ei und Larve des *Strongylocentrotus lividus*. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 14.
- 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. Verh. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg. N. F. Bd. 35.
- 1903. Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 16.
- 1905a. Über Doppelbefruchtung. Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg.
- 1905b. Zellenstudien V. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena. Zeitschr. Naturw. Bd. 39.
- 1907. Zellenstudien. VI. Jena.
- 1914. Über die Charaktere von Echinidenbastardlarven bei verschiedenem Mengenverhältnis väterlicher und mütterlicher Substanzen. Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 43.
- 1914. Über die Entstehung der Engersterschen Zwitterbienen. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 41.
- Delage, Y., 1899. Études sur la Mérogonie. Arch. d. Zool. exp. et gén., Sér. 3. T. 7.
- Driesch, H., 1892. Entwicklungsmechanische Studien V. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55.
- Erdmann, R.h., 1909. Experimentelle Untersuchungen der Massenverhältnisse von Plasma, Kern und Chromosomen in dem sich entwickelnden Seeigel. Arch. f. Zellf. Bd. 2.
- Godlewski jun., E., 1906. Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 20.
- 1908. Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äußere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 26.
- Herbst, C., 1914. Vererbungsstudien X. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 39.
- Hertwig, O. und R., 1887. Über die Befruchtungs- und Teilungsvorgänge des tierischen Eies unter dem Einfluß äußerer Agentien. Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 37.

470 Theodor Boveri †: Zwei Fehlerquellen bei Merogonieversuchen und die

- Koehler, O., 1914. Über die Ursachen der Variabilität bei Gattungsbastarden von Echiniden, insbesondere über den Einfluß des Reifegrades der Gameten auf die Vererbungsrichtung. Ber. d. naturf. Ges. zu Freiburg i. B. Bd. 20.
- Marcus, H., 1906. Über die Wirkung der Temperatur auf die Furchung bei Seeigeleiern. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 22.
- Mortensen, Th., 1903. Echinoidea. Danish Ingolf-Exp. Vol. 4.
- Morgan, T. H., 1894. Experimental Studies on Echinoderm Eggs. Anat. Anz. Bd. 9.
- 1895. The Fertilization of non-nucleated Fragments of Echinoderm Eggs. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 2. Heft 2.
- Peter, K., 1906. Der Grad der Beschleunigung tierischer Entwicklung durch erhöhte Temperatur. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 20.
- Seeliger, O., 1895. Gibt es geschlechtlich erzeugte Organismen ohne mütterliche Eigenschaften? Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 1.
- 1896. Bemerkungen über Bastardlarven der Seeigel. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 3.
- Teichmann, E., 1903. Über die Beziehung zwischen Astrosphären und Furchen. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 16.
- Vernon, H. M., 1900. Cross Fertilization among Echinoids. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 9.
- Winkler, H., 1901. Über Merogonie und Befruchtung. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 36.

Tafelerklärung.

Tafel XIII.

- Abb. 1. *Echinocardium*, normales Ei, unbefruchtet. Vergr. 825.
- Abb. 2. *Echinocardium*, geschütteltes Ei, unbefruchtet. Vergr. 825.
- Abb. 3. *Parechinus microtuberculatus*, normales Ei, unbefruchtet. Vergr. 825.
- Abb. 4 und 5. *Parechinus microtuberculatus*. Zwei Eier mit Partialkernen, unbefruchtet. Vergr. 825.
- Abb. 6a. Pluteus eines scheinbar kernlosen *Sphaerechinus*-Eifragments, das mit *Parechinus*-Samen befruchtet wurde. Zeichnung nach dem lebenden Objekt. Vergr. etwas geringer als 450.
- Abb. 6b. Kerne aus dem Scheitel dieser Larve. Vergr. etwa 2650.
- Abb. 7a. Pluteus eines kernlosen *Sphaerechinus*-Eifragments, das mit *Paracentrotus*-Samen befruchtet wurde. Vergr. wie Abb. 6a.
- Abb. 7b. Kerne aus dem Scheitel dieses Fragmentpluteus. Vergr. etwa 2650.
- Abb. 8—10. Kerne aus dem Scheitel von Plutei aus Kontrolllarven des Versuchs in Abb. 8 von *Paracentrotus*, in Abb. 9 von *Sphaerechinus*, in Abb. 10 von einer Bastardlarve *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*. Vergr. wie Abb. 7b.
- Abb. 11. Pluteus einer reinen *Paracentrotus*-Kultur. Vergr. wie Abb. 6a.

Tafel XIV.

- Abb. 12a. Pluteus eines kernlosen Eifragments der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*. Vergr. wie Abb. 6a.
- Abb. 12b. Kerne aus dem Scheitel des Pluteus 12a. Vergr. etwa 2650.
- Abb. 13. Scheitelkerne eines Kontrollpluteus *Paracentrotus*. Vergr. wie Abb. 12b.
- Abb. 14a—c. Larve aus einem kernlosen Eifragment der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*. Drei verschiedene Ansichten. Vergr. 550.
- Abb. 15a. Dispermes *Paracentrotus*-Ei nach dem Doppelspindeltypus. Schema.

Abb. 15b. Pluteus eines dispermen Eies vom Doppelspindeltypus wie Abb. 15a. Die Grenze der Bereiche verschiedener Kerngröße ist durch eine punktierte Linie angegeben, wie in Abb. 16, 17, 18. Vergr. etwa 450.

Abb. 16. Partiell-merogonischer Pluteus (nach dem Doppelspindeltypus) der Kombination *Parachinus* × *Paracentrotus*. Vergr. etwa 450.

Tafel XV.

Abb. 17 und 18. Partiell-merogonische Larven (nach dem Doppelspindeltypus) der Kombination *Sphaerechinus* × *Parechinus*. Vergr. etwa 450.

Abb. 19a und b. Jungpluteus aus einem dispermen Ei des Doppelspindeltypus der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*. Zwei Ansichten. Vergr. etwa 450.

Abb. 19c, d, e. Kerne aus zwei Bezirken der Wimperschnur (c, d) und der Vorderwand (e). Vergr. etwa 1000.

Abb. 20a. Pluteus der Kombination *Sphaerechinus* × *Paracentrotus*. Vergr. wie Abb. 6a.

Abb. 20b und c. Kerne aus dem Scheitel (b) und der Wimperschnur (c) der Larve 20a. Vergr. etwa 2650.

Abb. 21. Pluteus ähnlich wie Abb. 20a, gleicher Kombination, gleiche Vergrößerung.
