

Chemische Studien über die Entwicklung der Insecteneier.

Von

A. Tichomirow.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. April 1885.)

Nachdem die vergleichend-embryologische Studien für die allgemeine Morphologie schon so vieles geleistet haben, kann man mit vollem Rechte erwarten, dass sie auch für die physiologische Chemie werthvolle Resultate liefern werden. Bis jetzt aber sind in dieser Richtung noch sehr wenige Arbeiten ausgeführt worden. Das Hauptsächlichste, was man von der Chemie der sich entwickelnden Eier weiss, betrifft meines Wissens nur die Wirbelthiere und speciell das Hühnchen. Die wirbellosen Thiere waren bis jetzt beinahe gar nicht berücksichtigt, obgleich Etliche von ihnen doch ein sehr bequemes Material für solche Untersuchungen liefern. Wir haben unter unsern Hausthieren ein Insect, den Seidenspinner, *Bombyx mori* L., von dem wir immer frisches und reichliches Material für solche Untersuchungen gewinnen können. Vielleicht stellen auch die Eier von *B. mori* in vielen Beziehungen ein günstigeres Object für chemische Studien dar, als die Hühnereier. Man kann diese Eier in gutem Zustande in der Zeit vom Juni bis zum April aufbewahren. Will man sie zur Entwicklung bringen, so kann es schon vom Ende Januar an geschehen. Bequem ist es auch, dass diese Bebrütung bei 18—20° R. am besten vor sich geht und dass das Erkalten der Eier bis zur gewöhnlichen Zimmertemperatur den Embryonen keinen grossen Schaden thut. Für die folgenden

Untersuchungen habe ich die Eier von *B. mori* als Object gewählt, nachdem ich mich schon ziemlich viel mit der Morphologie dieses Thieres beschäftigt hatte.

Bevor ich zur Darstellung dieser Resultate übergehe, sei es mir erlaubt, Herrn Dr. Kossel, Leiter der chemischen Arbeiten im physiologischen Institute zu Berlin, für seinen wissenschaftlichen Beistand, Rath und Hülfe meinen Dank hier öffentlich auszusprechen.

Die Eier (der sogenannte «Samen») unseres Thieres werden im Innern des Mutterleibes befruchtet und zu 400—500 vom Weibchen im Sommer abgelegt. Die frisch abgelegten Eier sind strohgelb und von zwei Häutchen umhüllt: von einem äusseren derben Chorion und von einer dünnen Dotterhaut. In Folge der Entwicklung verändert sich die Farbe der Eier vom Strohgelb bis zum Grauviolett. Diese grauviolette Färbung ist von einem sich in der sogenannten serösen (oberen) Embryonalhülle entwickelnden Pigmente bedingt. Desshalb bleiben die unbefruchteten Eier ohne jede Veränderung ihrer Farbe.

Die Eier von *B. mori* entwickeln sich im Sommer nur bis zu einer gewissen Stufe und zwar bis zur Ausbildung der definitiven Keimblätter. In diesem Stadium ruhen die Eier den ganzen Winter. Bringt man sie aber z. B. im Februar in ein geheiztes Zimmer, ungefähr in die Temperatur von 18—20° R., so schlüpfen die Räumchen schon in zwei Wochen aus.

Bei meinen Studien stellte ich mir als meine erste Aufgabe, die chemische Zusammensetzung der überwinternden Eier zu studiren und sie später mit der chemischen Zusammensetzung der entwickelten Eier zu vergleichen, um daraus eine Anschauung zu gewinnen über die Veränderungen, welche im Insectenei während seiner Entwicklung stattfinden.

Ich werde mit den überwinternden Eiern beginnen. Wie gesagt, bestehen die Eier aus dem Dotter (der in seinem Innern den Embryo beherbergt), der Dotterhaut und dem Chorion. Eine Isolation der Dotterhaut ist unmöglich. Dess-

wegen habe ich hier nur die Analysen des Chorion und des Dotters (mit Dotterhaut) zu besprechen. Vorher will ich einige Daten über das Gewicht und den Wassergehalt mittheilen.

Was das Gewicht der Eier betrifft, so variirt es ziemlich. Man muss es auch erwarten, da der Seidenwurm ein Hausthier ist und es schon viele Racen dieser Species giebt. Bei meinen Untersuchungen habe ich als Maximum für 100 überwinternde Eier 0,0691 gr., als Minimum 0,0512 gefunden.

Der Wassergehalt zeigt nicht sehr grosse Schwankungen. So habe ich in den schwersten Eiern 64,40 % Wasser gefunden und in den leichtesten 65,82 %.

Wenden wir uns jetzt zur Analyse des Chorions. So wird in der Zoologie die derbe Schaale genannt, die das Insectenei von Aussen umhüllt. Bei *B. mori* ist diese Schaale ziemlich dick und wie gewöhnlich bei den Insecten mit hübschen Sculpturen bedeckt und von feinen, zur Peripherie schief stehenden Porenkanälen durchbohrt. Ihrer Entstehung nach, hat sie zur Eizelle selbst keine Beziehung; sie ist ein Produkt des Ovariums des Mutterthieres und zwar ist es das Follikelepithel, das diese Haut erzeugt.

Vom morphologischen Standpunkte aus schien es mir sehr interessant zu ermitteln, wie dieses Chorion chemisch zu deuten sei. In der zoologischen Litteratur hört man sehr oft von chitinigen und chitinartigen Eischealen bei den Wirbellosen sprechen. Dafür kann man sehr viele Beispiele sowohl in der älteren, wie in der neueren Litteratur finden. So sagt Leydig in seinem «Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Thiere» (1857) «die Härtung der Eischealen (bei Wirbellosen) geschieht zumeist durch Chitinisirung»; nach demselben Autor sollen auch die Eier der Moosthierchen¹⁾ eine chitinisirte Schaale besitzen. In der letzten Zeit spricht auch H. Schauinsland²⁾ von einer chitinartigen Eischeale bei den Trematoden. Solche Beispiele kann man in der Litteratur sehr viele finden. Aber man kann doch diesen

¹⁾ Müller's Archiv, 1855.

²⁾ Jenaische Zeitschrift, Bd. XVI.

Behauptungen, dass die Eischalen der Wirbellosen chitinisirt sein können, kein Vertrauen schenken bis sie nicht durch die Elementaranalyse bestätigt sind, wie schon Schlossberger mit Recht betont hat.¹⁾ Vom morphologischen Standpunkte aus würde es auch sehr schwer zu verstehen sein, dass das Chorion Chitin enthält: es gelang noch Niemandem, ein ächtes Chitin zu constatiren in solchen Organen, die nicht vom Ectoderm abstammen. Meine Untersuchungen zeigten nochmals, dass bei den Insecten das Ectoderm keinen Antheil in der Bildung der Sexualdrüsen nimmt. Somit durfte ich hier kein Chitin erwarten. Aus Folgendem wird man sehen, dass vom Chitin hier in der That keine Rede sein kann.

Um die Schalen für die Analyse rein zu bekommen, wurden die Eier zunächst mit kleineren Portionen schwacher (1:1000) Salzsäure in einem Mörser zerrieben, dann zwei Stunden in grösserer Menge derselben Salzsäurelösung auf dem Wasserbade erwärmt; der durch Abgiessen getrennte unlösliche Rückstand mehrere Stunden in wirksamer Pepsinlösung im Brütöfen digerirt, dann zur weiteren Reinigung wiederholt mit schwacher Salzsäurelösung in einem Mörser wieder zerrieben, um mechanisch alle unverdauten Dotterreste zu entfernen, später mehrmals mit 96 procentigen Alkohol ausgekocht und endlich mit Aether und noch mit einer Mischung von Aether und Alkohol sorgfältig ausgewaschen. Kontrolirt man unter dem Mikroskop die so behandelten Schalen, so findet man an ihnen keine Spur von Dotterresten. Die Schalen selbst sind jetzt schwach gelblichweiss und etwas glänzend.

Um das relative Gewicht der Schale im Ei zu bestimmen, waren 0,9040 gr. Eier genommen. Es ergab sich, dass diese Quantität Eier 0,0802 gr. trockener Schale enthält; so dass das Gewicht der Schale 8,87 % des Gesamtgewichts des Eies ausmacht oder 25,97 % des Gewichts der Trockensubstanz des Eies.²⁾

¹⁾ Die Chemie der Gewebe (1856), S. 229.

²⁾ Der Wassergehalt der genommenen Eier war der maximale, betrug also 65,82.

Gehen wir jetzt zur Elementaranalyse der Schaale über. Um zu constatiren, ob die Schaale chitinartig sei oder nicht, war dieselbe zuvörderst auf ihren Stickstoffgehalt geprüft. Es waren zwei verschiedene Portionen der gereinigten Schaalensubstanz genommen und in ihnen der Stickstoffgehalt volumetrisch bestimmt.

1. Angewandte Substanz 0,2251 gr.; erhalten 33,2 c. c. N. Tp. 17,3°, Bar. 751 mm.; 16,88 p. ct. N.
2. Angewandte Substanz 0,2230 gr.; erhalten 32,4 c. c. N. Tp. 18,6°, Bar. 769 mm.; 16,98 p. ct. N.

Also wie wir sehen enthält die Schaalensubstanz beinahe 3 mal so viel Stickstoff wie das Chitin. Zur Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs waren Portionen von drei verschiedenen Darstellungen gereinigter Schaalensubstanz genommen.

1. 0,2219 gr. Substanz gaben 0,3845 p. CO₂ und 0,1371 gr. H₂O, d. i. 47,22% C, 6,85% H.
2. 0,2139 gr. Substanz gaben 0,3704 gr. CO₂ und 0,1290 gr. H₂O, d. i. 47,22% C, 6,68% H.
3. 0,2793 gr. Substanz gaben 0,4854 gr. CO₂ und 0,1659 gr. H₂O, d. i. 47,36% C, 6,59% H.

Die Schaalensubstanz löst sich sehr leicht in kochender Natron- und Kalilauge. Säuert man solche Lösungen an, so entweicht sogleich Schwefelwasserstoff. Diese Reaction zeigte schon von vorn herein, dass man einen bedeutenden Schwefelgehalt im Chorion erwarten muss.

Es werden zur Bestimmung des Schwefels zwei Portionen Schaalensubstanz mit Soda und Salpeter geschmolzen.

1. Angewandte Substanz 0,6542 gr. Erhalten schwefelsaurer Baryt 0,1864, d. i. 0,0256 gr. S oder 3,91%.
2. Angewandte Substanz 0,4227 gr. Erhalten Schwefelsaurer Baryt 0,1058, d. i. 0,0145 gr. S. oder 3,43%.

Zur Bestimmung des Aschengehalts wurden 0,6302 gr. Schaalensubstanz genommen.

Die Gesamtmenge der Asche war hier zu 0,0044 gr. oder 0,70% bestimmt.

Fassen wir die Resultate der Analyse zusammen, so bekommen wir folgenden Procentgehalt für einzelne Bestandtheile der Schaalensubstanz:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	Mittel.
C	47,22	47,22	47,36	—	—	—	—	—	47,27%
H	6,85	6,68	6,59	—	—	—	—	—	6,71%
N	—	—	—	16,88	16,98	—	—	—	16,93%
O	—	—	—	—	—	—	—	—	24,72%
S	—	—	—	—	—	3,91	3,43	—	3,67%
Asche	—	—	—	—	—	—	—	0,70	0,70%

Wie wir aus der chemischen Analyse ersehen, ist die Schaalensubstanz des Insectencies kein Chitin und auch keine «Chitinartige» Substanz. Leider sind mir keine Untersuchungen über chemische Bestandtheile des ächten Chorion bei anderen Thieren bekannt; desshalb ist auch kein Vergleich möglich. Wir wissen aber, dass vielleicht im ganzen Thierreiche kein anderes Organ existirt, welches in morphologischer Beziehung so übereinstimmende Merkmale zeigt, wie der Sexualapparat. Desshalb glaube ich, könnte man auch eine solche Uebereinstimmung in chemischer Beziehung erwarten und vielleicht ist es keine zu kühne Vermuthung, wenn ich annehme, dass das ächte Chorion immer aus einer und derselben Substanz besteht. Desshalb schlage ich vor, die Substanz, die ich im Chorion des *B. mori* gefunden habe, als Chorionin zu bezeichnen.

Dieses Chorionin unterscheidet sich bedeutend von dem dem Elastin ähnlichen Körper, den Hilger¹⁾ in der Schaafe von Schlängeneiern entdeckt hat, indem dieser Körper keinen Schwefel enthält. Diese Verschiedenheit in den Hauptbestandtheilen der Schaafe des Schlängens- und des Insectencies spricht nicht gegen meine eben erwähnte Vermuthung, da die Schaafe des Schlängeneies kein Chorion ist, nicht vom Follikelepithel (also nicht vom Ovarium) sondern vom Leitungsapparat abstammt.

Seiner chemischen Zusammensetzung nach steht vielleicht das Chorionin am nächsten dem Keratin, doch enthält es

1) Berichte der deutsch. Chem. Ges. 1873.

relativ wenig Kohlenstoff. Für einen Keratin-ähnlichen Körper würde ich doch das Chorionin deshalb nicht halten, weil das Keratin ein entschieden ectodermales Gebilde zu sein scheint, während Chorionin, wie gesagt, zum Ectoderm in keiner Beziehung steht. Ein weiteres Studium des Chorionins (besonders die Untersuchung der Zersetzungsprodukte) muss die Frage nach seinen chemischen Beziehungen zum Keratin entscheiden.

In concentrirter Natron- und Kalilauge löst sich Chorionin beim Kochen sehr leicht, indem es sich im ersten Momente der Einwirkung des Reagens gelb färbt. In kochender concentrirter Salpetersäure löst es sich beinahe momentan mit derselben Färbung, nicht so leicht in concentrirter Salzsäure, doch nach 10—15 Minuten löst es sich auch in dieser vollständig.

Gegen alle concentrirten Säuren ist das Chorionin sehr resistent, dagegen löst es sich in kalter Kalilauge, wenn nicht so schnell, wie in kochender, doch leicht.

Die Analyse des Dotters der überwinternden Eier wurde nach den §§ 263 und 321 von Hoppe-Seyler's Handbuch der Chemischen Analyse (fünfte Auflage) ausgeführt und es ergaben sich hier folgende Resultate:

Es war genommen im Ganzen 50,4482 gr. Eier. Davon bekam man

Nr. 1 In Wasser, Alkohol u. Aether unlösliche Substanzen	10,1834 gr.
Nr. 2 In siedendem Alkohol löslich, im Alkohol u. Aether unlösl.	0,7372 »
Nr. 3 In siedendem Wasser lösl. (im siedenden Alkohol unlösl.)	1,9814 »
Nr. 4 In Aether und Alkohol löslich (im Aether unlöslich)	0,2179
Nr. 5 In reinem Aether löslich	4,8059

Wenden wir uns jetzt zur Besprechung der einzelnen Bestandtheile. Die unter Nr. 1 bezeichneten Körper sind Chorionin, Eiweisskörper und Asche. Was die letztere anbetrifft, so habe ich sie hier zu 0,1650 gr. (1,62 %) gefunden. In der Asche wurden Schwefelsäure, Phosphorsäure, Calcium, Magnesium und Spuren von Natrium constatirt.

Von den Eiweisskörpern macht den grössten Theil der vitellinähnliche Körper aus. So nenne ich den Eiweisskörper der mit verdünnter Steinsalzlösung aus den zerriebenen Eiern des Seidenspinners extrahirt und nach dem Verdünnen mit destillirtem Wasser und Durchleiten von CO_2 gefällt wird. Es coagulirt dieser Körper schon bei 68°C . Dieser Coagulationspunkt ist für das echte Vitellin etwas zu niedrig. Es findet sich auch in den Eiern des *B. mori* ein Eiweisskörper, der mit Wasser extrahirt wird, also vielleicht das Eieralbumin darstellt. Dieser Körper coagulirt auch relativ sehr niedrig. Eine Trübung habe ich schon bei 64° , eine Coagulation bei 66° gefunden. Da in der Magensaftlösung des vitellinähnlichen Eiweisskörpers bei längerem Stehen ein Niederschlag sich bildete, der sich in Soda löste und wieder mit schwacher Salzsäure gefällt wurde, so kann man auch einen Nucleingehalt des Dotters vermuthen; leider wurde eine weitere Untersuchung desselben nicht ausgeführt. Von dem Kernnuclein¹⁾ werde ich noch später sprechen.

In Nr. 2 und 3 konnte man lösliche Salze, Glycogen und Pepton erwarten. Was die ersten anbelangt, so habe ich hier 0,4532 gr. (16,67 %) Asche gefunden. Die qualitative Analyse ergab Phosphorsäure, Kalium, Natrium, Calcium und Magnesium. Um über die Menge der Peptone zu urtheilen, war in der Mischung von 2 und 3 eine Stickstoffbestimmung ausgeführt und es war 10,32 % Stickstoff gefunden (die Asche abgerechnet — 12,38 % N).

Ueber den Glycogengehalt der überwinternden Eier werde ich später sprechen.

Was die Asche der Nr. 4 betrifft, so war hier 0,0150 gr. (6,88 %) Asche gefunden. Die qualitative Analyse zeigte Schwefelsäure, Salzsäure und Spuren von Phosphorsäure, dann Calcium und Natrium.

In der Nr. 5 waren Cholesterin, Lecithin und Fett gefunden und zwar Cholesterin 0,2027 gr. (0,40 %), Lecithin 0,5263 gr. (1,04 %) und Fett 4,0769 gr. (8,08 %).

¹⁾ Vergl. Kossel in Verhandlungen der physiol. Gesellschaft zu Berlin, Jahrg. 1884/85 Nr. 9 u. 10 S. 27.

Bevor wir zur Analyse der vollkommen entwickelten Eier übergehen, will ich einige Bemerkungen über den Gehalt an Glycogen, sowie an dem Nuclein der Zellkerne in den überwinternden Eiern machen.

Es wurden 19,3788 gr. unentwickelter Eier genommen und in ihnen 0,3838 gr. Glycogen (nach der Methode von Brücke) gefunden. Diese Quantität macht 1,98 % des Gesamtgewichts der Eier, oder 5,79 % ihrer Trockensubstanz aus. Denken wir nun, dass dieses Glycogen in solchen Eiern gefunden war, die einen Embryo enthalten, der noch keine Organe (nur definitive Keimblätter) besitzt, so sehen wir den Satz, dass nicht die Leberzellen allein die Bildungsstätten dieses Kohlenhydrats sind¹⁾ bestätigt (es sei hier bemerkt, dass in unserem Falle auch die erwachsene Raupe keine differenzierte Leber besitzt).

Um die überwinternden Eier auf das Nuclein der Zellkerne zu prüfen, wurden 24,6 gr. dieser letzten genommen und nach dem Verfahren von H. Dr. Kossel auf ihren Gehalt an stickstoffreichen Basen untersucht. In diesem Quantum der Eier wurden 0,0039 gr. (weniger als 0,02 %) Hypoxanthin, Guanin (und Adenin?) gefunden. Von Xanthin wurden nur Spuren nachgewiesen. Eine gewisse Quantität von Kernnuclein, resp. dieser stickstoffreichen Basen musste man schon von vorn herein erwarten, da die überwinternden Eier, wie erwähnt, einen Keimstreifen enthalten und da die grossen sogenannten Dotterzellen, die die Hauptmasse des Eies ausmachen, echte Kerne besitzen.

Jetzt gehen wir zu den entwickelten Eiern über. Um diese letzteren zu untersuchen war eine Portion der Eier bebrütet, d. h. in einem kleinen Schranke bei ungefähr 23 ° C. gehalten. Schon am 13. Tage waren zwei Räumchen ausgekrochen, die Bebrütung war dann unterbrochen und die Eier zur Analyse verwendet. Um aber zu wissen, was für ein Gewicht der entwickelten Eier einer gewissen Menge der überwinternden Eier entspricht, wurde eine specielle Untersuchung über den Gewichtsverlust der Eier während der Ent-

¹⁾ Vergl. Preyer, Specielle Physiologie des Embryo (1884) p. 272

wicklung unternommen. Dabei ergab sich ein vielleicht nicht ganz uninteressantes Resultat, das ich hier gleich mittheilen werde. Die folgende Tabelle, in der ich die Resultate von zwei Versuchen zusammenstelle, sind zwar nicht untereinander vergleichbar, da die Entwicklung in dem zweiten Falle schneller verlief, und die Eier aus anderer Quelle stammten, als im ersten. Man erkennt aber deutlich die progressive tägliche Gewichtsabnahme aus beiden.

1. Versuch.			2. Versuch.		
Tage.	Absolutes Gewicht.	Tägliche Abnahme.	Tage.	Absolutes Gewicht.	Tägliche Abnahme.
Anfang	1.0388 gr.		Anfang	0,6854 gr.	
8	1,0029 »	0,0359	3	0,6776 »	0,0078
9	0,9952 »	7	4	0,6739 »	2
11	0,9624 »	0,0077	5	0,6687 »	0,0037
12	0,9428 »	0,0328	6	0,6562 »	0,0052
13	0,9229 »	2	7	0,6490 »	0,01251)
		0,0196	8	0,6328 »	0,0072
		0,0199	9	0,6152 »	0,0162
					0,0176

Für Jemanden, der sich hauptsächlich mit der Morphologie beschäftigt, ist doch in erster Linie interessant, ob die morphologischen Aenderungen in einer gewissen Beziehung zu der Gewichtsabnahme der Eier während ihrer Entwicklung stehen oder nicht. Aus den Arbeiten von Baumgärtner einerseits und Pott und Preyer²⁾ andererseits, kann man, wie mir scheint, solche Beziehungen nicht ermitteln. Ja die letzteren Autoren glauben sogar gezeigt zu haben, dass beim Hühnerei »für jedes einzelne Ei der stündliche oder tägliche Gewichtsverlust eine Constante ist« und weiter: »die Gewichtsabnahme des bebrüteten normal entwickelten oder unbefruchteten Eies verläuft von der Mitte der ersten Brütwoche bis zur Mitte der letzten der Zeit proportional« (s. S. 329, 331).

Aus meiner Tabelle kann man sehen, dass bei den Eiern von *B. mori* die Sache sich folgendermassen verhält:

1) Diese Zahl ist relativ etwas zu gross; vielleicht waren die Eier diesen Tag zu spät gewogen.

2) Pflüger's Archiv f. d. g. Physiologie.

wir finden hier, dass während die Eier beim ersten Versuch im Ganzen 11,16 % ihres Totalgewichts verloren haben, der Verlust in den ersten 9 Tagen 4,20 %, in den letzten 4 Tagen 6,96 % betrug. Erinnern wir uns der morphologischen Vorgänge, die diesen zwei angeführten Perioden der Entwicklung entsprechen, so ergibt es sich, dass bis zum 9. Tage der Embryo seine Rückenwand noch ganz offen hat, dass in ihm zu dieser Zeit nur die ersten Anlagen des Mitteldarms und der Tracheen und keine Anlage des Herzens selbst existiren. Alle diese wichtigen Organe entwickeln sich in den letzten 4 Tagen (bei der oben erwähnten Temperatur). Daraus ziehe ich den Schluss, dass bei *B. mori* die Gewichtsabnahme in einer gewissen Beziehung zu den morphologischen Aenderungen steht, die im Inneren des Eies während der entsprechenden Zeit sich abspielten.

Wenden wir uns jetzt zu den Zahlen, die aus der chemischen Analyse der entwickelten Eier resultiren. Es wurden 40,0430 gr. Eier genommen. Davon habe ich erhalten:

Nr. 1	Im Wasser, Alkohol und Aether unlöslich	8,2386 gr.
Nr. 2	Im siedenden Alkohol lösl., im Alkohol u. Aether unlösl.	0,5524
Nr. 3	Im siedenden Wasser lösl. (im siedenden Alkohol unlösl.)	1,8137
Nr. 4	Im Aether und Alkohol löslich (im Aether unlöslich)	0,0850
Nr. 5	Im reinen Aether löslich	2,9113

Wenn wir jetzt auf einzelne Bestandtheile unsere Aufmerksamkeit lenken, so ist in erster Linie hervorzuheben, dass in allen angeführten Gruppen (Nrn. 1—4) der Procentgehalt der Asche gesteigert ist; so war es in Nr. 1 0,1492 gr. (1,81 %) in Nrn. 2 und 3 0,4716 gr. (19,93 %) und in Nr. 4 0,0085 gr. (10 %). Da es unmöglich ist, dass die absolute Menge der Asche ¹⁾ während der Entwicklung zugenommen

¹⁾ Rechnen wir die ganze Menge der Asche in den analysirten Eiern zusammen, so bekommen wir in den 50,4482 gr. überwinterten Eiern 0,6332 gr. und in 40,0430 gr. entwickelter Eier 0,6293 gr. Asche. Wenn wir uns erinnern, dass die Eier während ihrer Entwicklung 11,16 % ihres ursprünglichen Gewichts verloren haben, so ist hier die Verschiedenheit des Aschengehalt sehr leicht auf eine individuelle Verschiedenheit der genommenen Eier zu beziehen.

hat, so ist die Steigerung des Procentgehaltes der Asche hier so zu erklären, dass ein gewisser Verlust an organischer Substanz während der Entwicklung stattfindet.

Die Nr. 2 und Nr. 3 geben uns die Möglichkeit über die Menge der Peptone zu urtheilen. Vergleichen wir hier das Gesamtgewicht der Nrn. 2 u. 3 in den überwinternden Eiern und in den entwickelten, so sehen wir, dass die letzteren mehr Stoffe dieser Kategorie erhalten, da aber, wie wir es später sehen werden, das Glycogen in den entwickelten Eiern sehr stark abnimmt, die Asche aber ziemlich wenig zunimmt, so können wir sagen, dass die Summe der Peptone während der Entwicklung schon bedeutend zunimmt. Dementsprechend war die Menge des Stickstoffs in der Mischung von Nr. 2 und 3 zu 11,43 % bestimmt (die Asche abgerechnet 14,27 %).

Im Aether-Auszuge der entwickelten Eier habe ich gefunden Cholesterin 0,1567 gr. (0,35 %), Lecithin 0,7852 gr. (1,76 %), Fett 1,9694 gr. (4,42 %). Es ergibt sich also im Vergleiche mit überwinternden Eiern eine Verminderung von Cholesterin und Fett (letztere ist beträchtlich) und eine sehr geringe Steigerung des Lecithins.

Es ist wohl bekannt, dass F. W. Burdach bei seinen Untersuchungen über die Eier von *Limnaeus stagnalis* eine Steigerung des Fettgehalts während der Entwicklung gefunden hat. Wie wir sehen, bestätigen meine Untersuchungen diesen räthselhaften Fund von Burdach bei andern Wirbellosen nicht.

Es ist schon erwähnt, dass die entwickelten Eier von *Bombyx mori* viel weniger Glycogen enthalten, als die überwinternden. Hier habe ich folgende Resultate bekommen: es waren 19,6970 gr. Eier genommen, in denen 0,1643 gr. Glycogen gefunden wurden. Rechnen wir die Procente aus, so bekommen wir nur 0,83 % des Gesamtgewichts der Eier oder 2,26 % des Gewichts ihrer Trockensubstanz.

Es ist eine bekannte Sache, dass ebensowohl in jungen Embryonen, wie auch bei den erwachsenen Thieren während des Winterschlafes eine relativ grosse Menge von Glycogen

aufgespeichert wird, und dass der grösste Theil dieses Glycogens am Ende der Entwicklung resp. beim Erwachen vom Winterschlaf wieder verschwindet. Die Eier von *B. mori*, die junge Embryonen enthalten und im latenten Zustande den Winter verbringen, vereinigen in sich die zwei eben erwähnten biologischen Momente und deshalb könnte man schon von vornherein hier einerseits eine Aufspeicherung und dann später andererseits einen Verlust von Glycogen erwarten, was ich auch in der That gefunden habe. Es war aber noch hier die Frage aufzuwerfen, ob sich nicht eine Beziehung zwischen dem Verlust von Glycogen und der Bildung des Chitins findet. Zwar haben hier meine Untersuchungen nichts Entscheidendes ergeben; doch sprechen sie nicht gegen die Vermuthung von Claude Bernard, dass das Chitin vom Glycogen abstammt. In denselben 19,6907 gr. Eiern, die zur Bestimmung des Glycogengehalts verwendet wurden, habe ich auch quantitativ Chitin bestimmt und betrug diese Substanz 0,0471 gr., also 0,24% oder 0,70% der Trockensubstanz.

Um die entwickelten Eier auf das Kernnuclein zu prüfen, wurden 16,9214 gr. Eier genommen und daraus Silberverbindung von Hypoxanthin, Guanin (Adenin) 0,0509 gr. und Silberverbindung von Xanthin 0,0395 gr. erhalten. Berechnet man darauf die Menge dieser stickstoffreichen Basen selbst, so bekommt man Hypoxanthin (resp. Guanin oder Adenin) 0,0226 gr. (0,13%), Xanthin 0,0176 gr. (0,10%). Wir sehen also, dass gerade mit den weiteren Differenzirungen der Embryonalgewebe resp. mit der Steigerung der Menge der Zellkerne, auch die Menge der stickstoffreichen Basen zunimmt.

Fassen wir jetzt zum besseren Vergleich die Resultate der Analysen der überwinternden und der entwickelten Eier in einer Tabelle zusammen. Um einen wahren Vergleich zu haben, müssen wir zur Berechnung der Procent-Zahlen in den entwickelten Eiern nicht das absolute Gewicht derselben nehmen, sondern wir müssen zu diesem Gewicht diejenige Quantität zuzählen, welche die Eier während ihrer Entwicklung verloren haben (11,16% der feuchten Substanz).

100 gr. Eier geben:

	Vor der Bebrütung.	Am Ende der Bebrütung.
Feuchte Substanz	100,00	88,84
Feste Substanz	35,51	30,20
Eiweiss und unlösliche Salze	11,31	9,20
Wasserextract	5,81	5,46
Darin Glycogen	1,98	0,74
Aetherextract	9,52	6,46
Darin Fett	8,08	4,37
» Lecithin	1,04	1,74
» Cholesterin	0,40	0,35
Chorionin	8,87	(8,87)
Chitin	—	0,21
Stickstoffreiche Basen	0,02	0,21

Ich muss hier daran erinnern, dass in der Portion der Eier, die in unentwickeltem Zustande analysirt wurden, der Wassergehalt zu 64,60% bestimmt war. Bei der Analyse ist, wie man in der angeführten Tabelle sieht, die Summe der Trockensubstanz zu 35,51% gefunden. Also stimmen diese Zahlen sehr gut mit einander (von der kleinen Differenz kann man absehen). In der anderen Portion, von welcher die Eier zur Bebrütung verwendet waren, war der Wassergehalt (vor der Bebrütung) zu 65,82% bestimmt. Also müsste man erwarten, bei der Analyse ungefähr 34% Trockensubstanz zu bekommen. In der That wurden aber, wie man aus der Tabelle ersieht, nur 30,55% gefunden. Daraus kann man den Schluss ziehen, dass die Eier während ihrer Entwicklung 3,45% ihrer Trockensubstanz verloren haben. Da aber die Eier im Ganzen 11,16% ihres Gesamtgewichtes verloren haben, so sind die bleibenden 7,53% auf Wasserverlust zu beziehen.

In dieser Weise hat die Trockensubstanz der Eier während der Entwicklung derselben 10,62% (3,63 von 34,18) ihres Gewichtes, das Wasser 11,44% (7,53 von 65,82) verloren. Es müssen also die entwickelten Eier im Vergleich zu den überwinternden, wenn auch nicht viel, doch etwas ärmer an Wasser sein. Zur Controlle wurden 500 entwickelte Eier genommen und ihr Gewicht zu 0,2700 gr. bestimmt. Wenn

diese Eier bis zum constanten Gewicht getrocknet wurden, wogen sie 0,0945 gr. Rechnet man hier den Wassergehalt aus, so bekommt man nicht 65,82% wie bei den unentwickelten, sondern nur 65%.

Zum Schluss muss ich noch bemerken, dass bei ausgekrochenen Räupchen ein in salzsaurer Lösung peptonisirendes Ferment nachgewiesen werden konnte.

Aus den dargestellten Untersuchungen resultiren folgende Schlüsse:

1. Das Chorion des Insecteneies enthält kein Chitin, es besteht aus einer eigenthümlichen schwefelhaltigen Substanz (dem Chorionin).

2. Die Eier verlieren während ihrer Entwicklung mehr als 10% ihres Gesamtgewichts.

3. Die entwickelten Eier sind ärmer an Wasser, als die überwinternden.

4. Bei der Entwicklung verlieren die Eier einen Theil ihrer Trockensubstanz.

5. Die tägliche Gewichtsabnahme der Eier geht proportional der morphologischen Differenzirung.

6. Während der Entwicklung verlieren die Eier an unlöslichen Eiweisskörpern, Glycogen, Fett und Cholesterin, gewinnen aber an Lecithin und Peptonen.

Es sei mir hier noch gestattet, Herrn Dr. J. Bolle, Leiter der k. k. Seiden- und Weinbau-Versuchsstation in Görz für das Verschaffen eines beträchtlichen Theiles des Untersuchungsmaterials meinen besten Dank auszusprechen.

Berlin, im März 1885.

A. Tichomiroff.