

# Beobachtungen über die Oxydationsprozesse im Seeigelei.

Von  
**Otto Warburg.**

---

(Aus der chemisch-physiologischen Abteilung der zoologischen Station Neapel.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Juli 1908.)

---

Über die chemischen Vorgänge bei der Furchung ist sehr wenig bekannt. Die zahlreichen Untersuchungen der Entwicklungsprozesse in Eiern behandeln vorgeschrittenere Stadien der Ontogenese; denn sie sind meist an den Eiern der Meroblastier ausgeführt, deren Dotterreichtum eine genaue Messung von Veränderungen auf frühen Stufen unmöglich macht.

Im Seeigelei ist die Masse an lebender Substanz groß im Vergleich zur Dottermasse, und die Veränderungen nach der Befruchtung laufen in rapider Folge ab, sodaß in kurzer Zeit, in wenig Substanz, viel vor sich geht. Deshalb habe ich einige Studien an diesem Objekt angestellt und zwar zunächst über die Oxydationsvorgänge.

Den Gaswechsel sich furchender Eier behandeln zwei Arbeiten. Godlewski jun.<sup>1)</sup> erhielt in 79 Stunden aus 700 Froscheiern 3,5 ccm CO<sub>2</sub> (760 mm, 0°); die Versuchsdauer ist so groß und die Kohlensäuremenge so klein, daß Bakterien, in den Gallerthüllen gelöste Gase und andere Fehlerquellen nicht ausgeschlossen werden konnten. Lyon<sup>2)</sup> berichtet über «rhythmische» Ausscheidung von Kohlensäure während der Teilung der Eier von Arbacia, ohne jedoch numerische Angaben zu machen.

---

<sup>1)</sup> Archiv für Entwicklungsmechanik, Bd. XI, 1901.

<sup>2)</sup> Americ. Journ. of Physiol., Bd. XI, 1904. — Sciences N. S. Bd. XIX, 1904.

Die Furchung der Hühnereier läuft schon im Eileiter ab. Deshalb gehört die Arbeit von Hasselbalch über die Sauerstoffabgabe in den ersten Bebrütungsstunden nicht zum Thema.

### Methode.

Alle Versuche wurden mit den Eiern von *Arbacia pustulosa* ausgeführt. Um die Intensität der Oxydationsvorgänge zu messen, bestimmte ich den Sauerstoff, der in einer gewissen Zeit aus dem umgebenden Seewasser verschwand. Zu dem Zweck brachte ich die nach Lyon<sup>1)</sup> gewonnenen Eier in eine geräumige Schale, in der sie in wenigen Minuten zu Boden sanken. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgehebert, wieder Wasser, das durch Papier filtriert war, aufgegossen und die ganze Operation ca. 5 mal wiederholt. Hierdurch erreicht man, daß Ovarialflüssigkeit, unreife Eier, kleine Parasiten, Bakterien usw. entfernt werden. Dann gießt man Wasser auf, das im Thermostaten auf die Versuchstemperatur gebracht und dessen Sauerstoffgehalt direkt vorher ermittelt worden ist. Es ist zweckmäßig, daß das Wasser für die Versuchstemperatur und den herrschenden Druck mit Sauerstoff annähernd gesättigt ist. Nachdem sich die Eier dann gesenkt haben, hebert man möglichst vollständig ab und bringt sie in die Versuchsflasche, die mit Wasser von bekanntem Sauerstoffgehalt gefüllt wird. Um das Wasser an der Oberfläche der Eier beständig zu erneuern, spannte ich die Flasche auf eine Scheibe, die sich in einem Thermostaten, etwa einmal in 15 Sekunden, drehte. Die Temperatur bei allen Versuchen war 20,2—20,5°. Nach einer bestimmten Zeit wurde die Flasche bei gelockertem Glasstopfen ca. 2 cm tief in Eiswasser gesteckt. Die Eier hatten sich bald abgesetzt und genau nach einer halben Stunde wurde das Wasser, unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln wegen des Luftsauerstoffs, möglichst vollständig abgehebert, zunächst in die Bestimmungsflasche, bis sie gefüllt war. Die verwendeten Versuchsflaschen faßten 253 oder 257 ccm, die Bestimmungsflaschen 175 oder 180. Je nach dem Zweck des

---

<sup>1)</sup> Americ. Journ. of Physiol., Bd. IX, S. 308, 1903.

Versuchs wurde wieder Wasser von bekanntem Sauerstoffgehalt aufgegossen oder sofort verascht. Der Sauerstoff wurde nach Winkler<sup>1)</sup> bestimmt. Die verwendete Thiosulfatlösung war annähernd  $\frac{1}{100}$  normal. 1 ccm entsprach 1,35 mg Jod oder 0,085 mg Sauerstoff. Wenn organische Substanzen in Lösung sind, liefert die Methode zu niedrige Werte. Ich habe mich überzeugt, daß diese Fehlerquelle bei meiner Versuchsanordnung nicht in Betracht kam. Bestimmt man nämlich den Sauerstoff einmal im Seewasser, ein zweites Mal in der gleichen Menge Seewasser, in dem sich die Eier gefurcht haben, so findet man genau übereinstimmende Werte, falls man beide Flüssigkeiten auf den gleichen Sauerstoffgehalt gebracht hat. Zu dem Zweck braucht man sie nur auf die gleiche Temperatur zu bringen und einige Minuten mit Luft sehr kräftig durchzuschütteln (wobei der Druck durch mehrmaliges Öffnen der Stöpsel konstant gehalten wird).

Um die Intensität der Atmung unter verschiedenen Bedingungen vergleichen zu können, zählte ich die Eier nicht, sondern fand es genauer, sie nach Kjeldahl zu veraschen und die Sauerstoffwerte auf gleiche Stickstoffmengen zu beziehen. Die «Atmung» einer bestimmten Stickstoffmenge ist, wie zu erwarten war, nicht konstant; für die unbefruchteten Eier fallen die Abweichungen in die Fehlergrenzen; für die befruchteten ist die größte Differenz etwa 20%, und wenn es auf solche Unterschiede ankommt, darf man nur Stickstoffmengen der gleichen Eiportion als gleichwertig betrachten. Die Voraussetzung der Methode, daß während der Versuche eine meßbare Menge Stickstoff nicht in Lösung geht, trifft zu.

Gegenüber dem Stickstoffgehalt kommt dem «Gewicht» der Eier wohl weniger Bedeutung zu. Dieses variiert in weiten Grenzen mit der Temperatur, bei der man trocknet, sodaß ich darauf verzichtet habe, eine Wasserbestimmung auszuführen. Für *Strongylocentrotus lividus* finden sich übrigens Angaben darüber bei Wetzel.<sup>2)</sup>

---

<sup>1)</sup> z. B. Treadwell, Quant. Analyse, S. 505, 1902.

<sup>2)</sup> Engelmanns Archiv, 1907, S. 519.

## Fehlerquellen.

## A. Bakterien.

In Frage kommt nur der Sauerstoffverbrauch der unbefruchteten Eier; nicht die beobachtete Differenz nach der Befruchtung oder andern Operationen.

1. 180 ccm Seewasser aus der Leitung, die durch Papier filtriert waren, zeigten in 12 Stunden keine meßbare Sauerstoffzehrung.

2. Läßt man die Eier nach Beendigung des Versuchs sich senken, so sind die Bakterien in dem überstehenden Wasser. Innerhalb 2 Stunden hatte dieses keine meßbare Sauerstoffzehrung.

3. Der Sauerstoffverbrauch pro Stunde ist von der Versuchsdauer unabhängig.

## B. Sperma.

Wenn von den überschüssigen Spermatozoen pro Ei fünf zurückblieben, würde das einen Fehler von 1% ausmachen (siehe unten). Man kann es aber durch sorgfältiges Waschen dahin bringen, daß nur selten an einem Ei noch ein Samenfaden haftet.

## C. Sauerstoffdruck.

Die Versuche wurden so eingerichtet, daß die Konzentration des Sauerstoffs in der Regel nicht unter  $\frac{3}{4}$  des ursprünglichen Wertes sank. Ich habe mich aber überzeugt, daß bis auf eine Konzentration von  $\frac{1}{4}$  des ursprünglichen Wertes die Absorption regelmäßig erfolgt.

## D. Entwicklung.

Die Furchung in den rotierenden Flaschen geht normal vonstatten. Die Ausbeute an Larven ist so gut wie in ruhenden Schalen. Bekanntlich ist die Ausbeute an schwimmenden Larven nie 100%, sondern etwa 95%. Es ist möglich, daß die Ursachen für den Stillstand der Entwicklung

schon in den scheinbar normalen ersten Furchungsstadien liegen und daß z. B. auch die Oxydationen in solchen Eiern anders verlaufen. Wenn man aber annimmt, daß 5% der Eier gar nicht atmen oder doppelt so stark atmen, so würde diese Unregelmäßigkeit in die Fehlergrenzen der Sauerstoffbestimmung fallen.

Die späteste Entwicklungsstufe, deren Atmung ich bestimmte, ist das 32-Zellenstadium. Versuche, in denen aus irgend welchen Gründen die Furchung bis dahin nicht normal verlief, sind nicht mitgeteilt.

### Genauigkeit.

Die Fehler sind im wesentlichen die Ablesungsfehler der Büretten.

### Versuche.

#### I. Die unbefruchteten Eier.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $n/10$ -NH<sub>3</sub>.

N	Dauer des Versuchs	Sauerstoff in 180 ccm Wasser		Berechnete Gesamt-abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
14,6	180 Minuten	16,0	14,9	1,6	0,7
22,1	90 »	15,5	14,7	1,1	0,7
42,0	90 »	15,9	14,6	1,9	0,6
29,5	90 »	15,6	14,7	1,3	0,6

Es verbrauchen also 28 mg N pro Stunde 0,05 bis 0,06 mg Sauerstoff.

Diese Zahlen haben vielleicht einiges Interesse im Zusammenhang mit einer Beobachtung J. Loeb's,<sup>1)</sup> der fand, daß man die unbefruchteten Seeigeleier in sterilisiertem Wasser eine Woche lang und länger am Leben erhalten kann. In sieben Tagen werden  $168 \times 0,06$  mg = ca. 10 mg Sauerstoff auf 28 mg Stickstoff verbraucht; ohne über das Schicksal

<sup>1)</sup> Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, Seite 251 (1906).

des absorbierten Sauerstoffs etwas zu wissen, können wir daraus schließen, daß das Ei auch nach recht erheblichen qualitativen oder quantitativen chemischen Veränderungen noch imstande ist, sich zu entwickeln.

## II. Die befruchteten Eier.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $\frac{n}{10}$ -NH<sub>3</sub>.

N	Dauer	Sauerstoff in 180 ccm Wasser		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mgr N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
34,9	1. 60 Min.	15,9	11,0	7	4
	2. 60 >	15,6	10,4	7,4	4,2
16,4	1. 60 >	15,8	13,3	3,6	4,4
	2. 60 >	15,6	12,8	4,0	4,9
	3. 60 >	15,6	12,5	4,4	5,3
31,4	1. 60 Min.	15,9	11,5	6,3	4,0
	2. 60 >	15,9	10,6	7,6	4,8
	3. 60 >	15,9	10,2	8,1	5,2
20,2	1. 60 >	15,8	12,9	4,1	4,1
	2. 60 >	15,8	12,8	4,3	4,3
	3. 60 >	15,8	12,2	5,0	5,0
23,8	1. 60 >	15,8	11,8	5,7	4,8
	2. 60 >	15,8	11,4	6,3	5,3

Zu Anfang der Versuche waren die Eier noch nicht gefurcht oder bestanden schon aus 2 Blastomeren, je nachdem das Waschen, das eine Stunde dauerte, mit gekühltem Wasser oder Wasser von Zimmertemperatur vorgenommen wurde.

Aus den Zahlen geht hervor, daß der Sauerstoffverbrauch nach der Befruchtung auf das 6- bis 7-fache steigt.

Es fragt sich, welche Bedeutung die geringen Zunahmen haben, die die Fehlergrenzen immerhin deutlich überschreiten.

Eine Differenz von 0,2 cm Thiosulfat zwischen der ersten und zweiten Stunde ist in der Methode begründet, weil man

das Wasser der ersten Stunde nicht vollständig, sondern nur bis auf ca. 20 ccm abhebern kann.

Ferner ist die Atmung bis 0° vielleicht nicht ganz zu vernachlässigen. Würde die Steigerung nur diesen beiden Fehlerquellen entspringen, so sollte der Sauerstoffverbrauch der dritten Stunde keine Steigerung mehr zeigen, was aber nicht der Fall ist.

Es war auch daran zu denken, daß die Behandlung der Eier (Eiskühlung, Drehscheibe) eine Ursache für Beschleunigung der Oxydationen sein könnte. Um dies auszuschließen und die Ausschläge zu vergrößern, teilte ich die Eier eines Weibchens in 2 Teile. Für den einen wurde im 8-Zellenstadium der Sauerstoffverbrauch bestimmt. Der andere blieb einige Stunden in großen Schalen bei Zimmertemperatur stehen und wurde erst im 32-Zellenstadium in die Bestimmungsflasche gebracht.

### 8-Zellenstadium.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $\frac{n}{10}$ -NH<sub>3</sub>.

N	Dauer	Sauerstoff in 180 ccm Wasser		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuche		
24,1	60 Minuten	15,9	12,4	5	4,2

### 32-Zellenstadium.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $\frac{n}{10}$ -NH<sub>3</sub>.

N	Dauer	Sauerstoff in 180 ccm Wasser		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
17,6	60 Minuten	15,8	11,6	6	6,8

Die Differenz ist 2,6 ccm Thiosulfat, die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs somit sichergestellt.

Bei diesem Versuch sind in dem einen Stadium 8 Kerne, in dem andern 32 mit der gleichen Geschwindigkeit entstanden. Die Masse jedes neugebildeten Kerns ist gleich der des ersten Furchungskerns.<sup>1)</sup> Würde die Hauptmenge des Sauerstoffs zu dem Prozeß des Kernwachstums gebraucht, so müßte die «Atmung» des 32-Zellenstadiums die des 8-Zellenstadiums um etwa das 3-fache übertreffen. Wie man sieht, trifft diese, in der Literatur häufig geäußerte Vermutung in keiner Weise zu.

Die Differenzen aber wachsen offenbar mit den morphologischen Veränderungen. Doch finde ich sie zu klein, um den hier bestehenden quantitativen Zusammenhang übersehen zu können.<sup>2)</sup>

### III. Die befruchteten Eier, deren Furchung man verhindert.

J. Loeb<sup>3)</sup> hat gefunden, daß man die Teilung der befruchteten Eier verhindern kann, wenn man sie in Seewasser bringt, dessen osmotischer Druck um einen bestimmten Betrag erhöht ist. Wird diese Erhöhung passend gewählt, so setzt sich die Teilung des Kerns, obwohl langsamer als in normalem Seewasser, fort. Man kann also mit Hilfe dieser Ver-

---

<sup>1)</sup> Sehr wahrscheinlich war diese Tatsache schon nach den morphologischen Befunden (O. Hertwig, Morphol. Jahrbuch I, 406; Boveri, Zellenstudien, Heft 5). Sichergestellt wurde sie erst durch die entwicklungs-physiologischen Arbeiten von Boveri und Driesch (vgl. besonders: Die Zellenzahl der abgefurchten «amphikaryotischen» Halbeier und der abgefurchten Blastomere des 2-Zellenstadiums.

<sup>2)</sup> Für derartige Fragen wäre zuerst festzustellen, ob die Atmung, wie Lyon vermutet, tatsächlich diskontinuierlich ist. Ich selbst habe keine Anhaltspunkte dafür gewonnen, doch würde es sich auch nur um den kleinen Bruchteil der Atmung handeln, der die Folge der morphologischen Veränderungen ist. Mit der beschriebenen Methodik werden sich diese Verhältnisse leicht prüfen lassen; nur wird man, da es sich um kurze Perioden handelt, die Eier nicht sich senken lassen, sondern vorsichtig zentrifugieren.

<sup>3)</sup> Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese Leipzig 1906. Seite 1.

suchsanordnung die morphologischen Veränderungen teilweise verhindern (Zellteilung), teilweise verzögern (Kernteilung). Nach den obigen Resultaten sollte unter diesen Bedingungen der Sauerstoffverbrauch nicht wesentlich verändert sein.

In Neapel muß man 1 g NaCl auf 100 ccm Seewasser zusetzen, um die Furchung eben zu verhindern. Ich teilte nun eine Eiportion in ungefähr 2 Teile. Den einen brachte ich in normales Seewasser, den andern in die hypertonische Lösung und bestimmte den Sauerstoffverbrauch beider gleichzeitig.

### In normalem Seewasser.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $n/10$ -NH<sub>3</sub>.

Nr.	N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt-abnahme	28 mg N verbrauchen pro Stunde
			vor dem Versuch	nach dem Versuch		
1	17,6	120 Min.	175 ccm = 15,4	175 ccm = 10,7	6,8	3,9
2	23,8	60 >	180 > = 15,8	180 > = 11,8	5,7	4,8

### Gleichzeitig in hypertonischem Seewasser:

Nr.	N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt-abnahme	28 mg N verbrauchen pro Stunde
			vor dem Versuch	nach dem Versuch		
1	14,7	120 Min.	180 ccm = 15,2	180 ccm = 11,6	5,1	3,5
2	25,2	60 >	175 > = 14,5	175 > = 10,4	5,9	4,7

Anmerkung. Die Bedeutung dieser Zahlen erfährt eine Einschränkung durch eine noch unaufgeklärte Unregelmäßigkeit: Als ich, bei dem ersten Versuch am 28. V., die Eier aus der hypertonischen Lösung in normales Seewasser zurückbrachte, fand ich pro Stunde und 28 mg N einen Sauerstoffverbrauch von 6,5 ccm Thiosulfat. Erst einen Monat später kam ich dazu, den Versuch zu wiederholen. Jetzt absorbierten die Eier (28 mg N), in normales Seewasser zurückgebracht, eine

Sauerstoffmenge = 5,6 ccm Thiosulfat gegenüber 4,7 in der hypertonischen (Versuch 2). Während aber bei dem ersten Versuch sich fast alle Eier zu Larven entwickelten, war bei dem zweiten die Ausbeute sehr gering.

#### IV. Ei- und Samenzelle.

Nach sehr begründeten Anschauungen<sup>1)</sup> haben Ei- und Samenzelle die gleiche Kernmasse, die sich aber unter ganz verschiedenen physiologischen Bedingungen befindet und besonders ganz verschiedene Protoplasmamassen «beherrscht». Es schien mir nicht ohne Interesse, die Atmung dieser beiden Zellen zu vergleichen. Ich zählte die Spermatozoen in der Abbeschen Kammer (Fixierung mit Osmiumsäure, am besten so, daß man den Objektträger einige Minuten den Osmiumdämpfen aussetzt), die Eier, indem ich nach passender Verdünnung umschüttelte, schnell  $\frac{1}{2}$  ccm herauspipettierte und ihn auf ein bewegtes Filtrierpapier ausfließen ließ. Nach kurzer Zeit trockneten die Eier an, wurden nun durch Bleistiftstriche eingeteilt und waren mit Hilfe einer schwachen Lupe leicht zu zählen.

#### Sperma.

Versuch 1. Die Flüssigkeit enthielt 20 Millionen Samenzellen im Kubikzentimeter (gezählt 400); oder 3600 Millionen in 180 ccm.

180 ccm dieser Flüssigkeit ergaben nach Winkler sofort:<sup>2)</sup> 12,1 ccm Thiosulfat, nach 70 Minuten ( $20^{\circ}$ ): 10,4 ccm Thiosulfat.

Abnahme pro Stunde: 1,5 ccm Thiosulfat.

4000 Millionen Samenzellen pro Stunde: 1,7 ccm Thiosulfat.

Versuch 2. 33 Millionen Samenzellen im Kubikzentimeter. 5940 Millionen in 180 ccm (gezählt 400).

180 ccm sofort: 14,9 ccm Thiosulfat,

nach 55 Minuten bei  $20^{\circ}$ : 12,6 » »

Abnahme pro Stunde: 2,5 » »

4000 Millionen Samenzellen pro Stunde: 1,7 ccm Thiosulfat.

<sup>1)</sup> O. Hertwig, Handbuch der Entwicklungsgeschichte.

<sup>2)</sup> Der Fehler, den die organische Substanz verursachen könnte, ist so eliminiert.

Fehler bei der Zählung der Spermatozoen: ca. 4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, bei der Sauerstoffbestimmung: ca. 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

### Eier.

Versuch 1. Gesamtvolumen 1000 ccm. In 1/2 ccm 850 Eier; im Liter: 1 700 000.

N nach Abhebern des Wassers: = 9,8 ccm n/10 NH<sub>3</sub>.

Eine Million Eier = 5,8 ccm n/10 NH<sub>3</sub>

Versuch 2. Gesamtvolumen 1000 ccm. Darin 980 000 Eier. N = 6,1 n/10 NH<sub>3</sub>.

Eine Million Eier = 6,2 ccm n/10 NH<sub>3</sub>.

Fehler bei der Zählung: ca. 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

28 mg N verbrauchen pro Stunde: 0,6 bis 0,7 ccm Thio-sulfat (Fehler 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub>).

Demnach eine Million Eier pro Stunde: 0,2 ccm Thio-sulfat oder 0,017 mg Sauerstoff.

Eine Million Spermatozoen unter den gleichen Bedingungen: 0,0004 ccm Thiosulfat oder 0,000034 mg Sauerstoff, d. h.: eine Eizelle atmet 500 (± 100) mal so stark wie eine Samenzelle.

## V. Die Beeinflussung der Oxydationen im unbefruchteten Ei.

1. Hypertonische Lösungen. Im Laufe seiner Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese ist J. Loeb zu der Überzeugung gekommen, daß bei der Einwirkung schwach alkalischer hypertonischer Lösungen auf das unbefruchtete Seeigelei Oxydationsprozesse beschleunigt werden. Er schloß das im wesentlichen aus der Tatsache, daß hypertonische Lösungen, aus denen der Sauerstoff vertrieben ist, unwirksam sind.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschrift Bd. I, S. 183; Bd. II, S. 34.

Pflügers Arch., Bd. CXVIII, S. 30.

Untersuchungen über die künstl. Parthenogenese, Leipzig 1906, S. 491.

In der Tat nun läßt sich der Sauerstoffverbrauch unbefruchteter Eier in derartigen hypertonischen Lösungen bis auf das 10fache steigern.

Wenn man mit Seewasser arbeitet, dessen Zusammensetzung von dem normalen irgendwie erheblich abweicht, kommt es häufig vor, daß die Eier geschädigt werden; man sieht dies bei den pigmenthaltigen Eiern von *Arbacia* leicht an einer Färbung der überstehenden Flüssigkeit. Solche Versuche setzte ich niemals fort.

Ich bestimmte den Sauerstoffverbrauch in drei verschieden stark hypertonischen Lösungen:

Lösung I: 1 g NaCl auf 100 ccm Seewasser.

Lösung II: 2,3 > > > 100 > >

Auf 100 ccm 1,6 ccm  $n/10$  NaOH.

Lösung III: 4,3 g NaCl auf 100 ccm Seewasser,

dazu auf 100 ccm 3 ccm  $n/10$  NaOH.

Die günstigste Konzentration, um nach Zurückbringen in normales Seewasser Furchungen zu erhalten, lag etwa zwischen II und III. Doch kam es mir bei diesen Versuchen weniger auf die morphologischen Veränderungen an.

Der Zusatz des Alkalis geschah nach Loeb's Vorschrift. Es ging nicht an, Alkali- und Salzwirkung zu trennen, weil jedes Reagens, allein angewendet, die Eier zerstörte. Doch konnte Loeb durch Alkali allein<sup>1)</sup> nie Parthenogenese bewirken; auch andere Beobachtungen sprechen dafür, daß das Wirksame die Erhöhung des osmotischen Drucks ist und das Alkali in diesem Falle nur eine schützende Rolle spielt.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $n/10$ -NH<sub>3</sub>.

#### Lösung I.

N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
51,5	60 Min.	175 ccm = 14,8	175 ccm = 13,1	2,5	1,0

<sup>1)</sup> Pflügers Archiv, Bd. CXVIII, S. 30.

## Lösung II.

N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
11,4	80 Min.	180 ccm = 14,4	180 ccm = 12,8	2,3	3,0

## Lösung III. 2 Versuche

Dat.	N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
			vor dem Versuch	nach dem Versuch		
7. VI.	26,3	80 Min.	180 ccm = 14,1	180 ccm = 5,8	11,7	6,7
8. VI.	10,4	80 »	175 » = 13,1	176 » = 10,3	4,1	5,9

Der Sauerstoffverbrauch der unbefruchteten Eier beträgt für 28 mg N 0,6 bis 0,7 Thiosulfat pro Stunde. Die Zunahme in Lösung I übersteigt also nur eben die Fehlergrenze; in Lösung II ist der Sauerstoffverbrauch auf das vier- bis fünf-  
fache, in Lösung III auf das neun- bis zehnfache gestiegen. Die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs ist nicht proportional der Steigerung des osmotischen Drucks.

Steigerung des osmotischen Drucks ungefähr <sup>1)</sup>	in Lösung	Zunahme des Sauerstoff- verbrauchs
25 %	I	0,2 cm Thios.
50 %	II	2,3 » »
100 %	III	5,7 » »

Sie scheint oberhalb einer bestimmten Konzentration erst deutlich meßbar zu werden. Dies stimmt gut mit der soeben<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Ohne Berücksichtigung des Dissoziationsgrades.

<sup>2)</sup> Bioch. Zeitschrift, Bd. XI, S. 148.

von Loeb mitgeteilten Beobachtung, daß der osmotische Druck der hypertonschen Lösung einen Schwellenwert überschreiten muß, um eine Wirkung auf die Eier auszuüben.

## 2. Hypotonische Lösungen.

Bringt man die unbefruchteten Eier einige Zeit in hypotonisches Seewasser und dann' in normales zurück, so ist jetzt eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs zu konstatieren.

Versuch I. Die Eier wurden zunächst in üblicher Weise mit normalem Seewasser gewaschen, dann 3 mal innerhalb einer halben Stunde mit einer Mischung von  $\frac{3}{5}$  Seewasser und  $\frac{2}{5}$  dest. Wasser (bei  $24^{\circ}$ ). Dann kamen sie in normales Seewasser zurück.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $\frac{n}{10}$ -NH<sub>3</sub>.

N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
20,2	72 Min.	180 ccm = 15,6	180 ccm = 14,6	1,4	1,2

Gleichzeitiger Kontrollversuch mit nicht vorbehandelten Eiern aus derselben Eiportion ergab: 0,7 ccm (28 mg N pro Stunde).

Versuch II. Wie I; nur bestand das hypotonische Wasser aus gleichen Teilen Seewasser und dest. Wasser. Die Eier blieben 45 Minuten darin.

N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Berechnete Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
60,8	55 Min.	180 ccm = 15,5	180 ccm = 12,6	4,1	1,5

### 3. Temperatur.

Für die Geschwindigkeit der Entwicklung von Froscheiern<sup>1)</sup> und von Ringelnattereiern<sup>2)</sup> gilt der Temperaturkoeffizient chemischer Reaktionen. Wie zu erwarten war, gilt er auch für die Oxydationen im Seeigelei.

Sauerstoff in ccm Thiosulfat; Stickstoff in ccm  $\frac{n}{10}$ -NH<sub>3</sub>. Temperatur 28°.

N	Dauer	Sauerstoffgehalt		Gesamt- abnahme des Sauerstoffs	28 mg N verbrauchen pro Stunde
		vor dem Versuch	nach dem Versuch		
59,2	60 Min.	180 ccm = 13,8	180 ccm = 11,0	4	1,4

28 mg verbrauchen bei 20°: 0,7 ccm Thiosulfat  
 28 » » » 28°: 1,4 » »  
 Zunahme pro 10°: 0,9 » »

Als nach Beendigung des Versuchs einer Probe Sperma zugesetzt wurde, bildeten alle Eier Membranen.

Recht merkwürdig ist die Empfindlichkeit gegen erhöhte Temperatur. Hält man die Eier 20 Minuten bei 35°, so bilden sie, nach Zugabe von Sperma, keine Membranen mehr und furchen sich nicht. Bei 40° genügen schon 2 Minuten, um die Entwicklung, 3 Minuten, um auch die Membranbildung unmöglich zu machen.

### 4. Negative Versuche.

Ich dachte daran, daß vielleicht jede Bewegung im Ei die Oxydationsprozesse beschleunigen würde. Um diese Vermutung zu prüfen, änderte ich das Volumen der Eier im Laufe von 80 Minuten 8 mal, indem ich sie abwechselnd in normales und hypotonisches Seewasser brachte. Es konnte dann kein größerer Sauerstoffverbrauch konstatiert

<sup>1)</sup> O. Hertwig, Archiv f. mikroskop. Anatomie u. Entwicklungsgeschichte, Bd. LI, S. 319.

<sup>2)</sup> Bohr, Skand. Arch. für Physiologie, Bd. XV, S. 29.

werden, als wenn sie 40 Minuten in der hypotonischen Lösung gewesen wären.

Ich brachte die Eier ferner auf eine sehr lebhaft auf- und abgehende Schüttelmaschine. Bekanntlich kann man Seesterneier so zur Entwicklung bringen. Aber die Oxydationen im Arbacia-Ei wurden nicht beschleunigt.

---

Den Herren der zoologischen Station, besonders dem Leiter der Abteilung, Herrn Dr. M. Henze, bin ich für ihre stete Hilfsbereitschaft zu großem Dank verpflichtet; ebenso Herrn Prof. Herbst, der so freundlich war, mir die Behandlung des Materials zu zeigen.

Heidelberg, den 15. Juli.

---

---