

Ueber die Giftwirkung weiblicher Bonellia-Gewebe auf das Bonellia-Männchen und andere Organismen und ihre Beziehung zur Bestimmung des Geschlechts der Bonellienlarve

Autor(en): **Baltzer, F.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft Bern**

Band (Jahr): - **(1924)**

PDF erstellt am: **16.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-319320>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

F. Baltzer.

Ueber die Giftwirkung weiblicher Bonellia-Gewebe auf das Bonellia-Männchen und andere Organismen und ihre Beziehung zur Bestimmung des Geschlechts der Bonellienlarve.

(Mit Unterstützung des Theodor Kocher-Fonds in Bern).

In einer im Druck befindlichen grösseren Arbeit¹⁾ konnte sehr wahrscheinlich gemacht werden, dass bei Bonellia, einem marinen Wurm aus der Gruppe der Echiuriden, Entwicklungshemmung und Bestimmung zu männlichem Geschlecht in engem Zusammenhang stehen, indem die Larve der Bonellia durch entwicklungshemmende Einflüsse zu männlicher Differenzierung veranlasst wird. Bekanntlich sind die männlichen Individuen bei dieser Gattung im höchsten Grade Zwergformen, die im Uterus des Weibchens leben und viel eher einem kleinen Strudelwurm als dem Weibchen der eigenen Art ähnlich sehen.

Es wurden zwei Erscheinungen gefunden, die zugunsten einer solchen Auffassung sprechen. Einmal die Tatsache, dass das Bonellia-Männchen gegenüber dem Weibchen eine geschlechtsreif gewordene jugendliche, zum Teil noch larvale Entwicklungsstufe darstellt, die zwar über das Stadium der indifferenten schwärmenden Larve hinausgeht, hinter der Organisationshöhe des Weibchens jedoch weit zurückbleibt. Das Bonellia-Männchen ist demnach eine Hemmungsbildung und kann in mancher Hinsicht als progenetische, vorzeitig zur Reife gelangte²⁾ in mancher Hinsicht als neotenische Form betrachtet werden.

Ausser der jugendlich-larvalen Organisation des Männchens konnte als zweites Argument für den männlich bestimmenden Cha-

¹⁾ Pubblicazioni della Stazione zool. di Napoli 1925. Bd. 6.

²⁾ Vergl. J. Meisenheimer 1921. Geschlecht und Geschlechter im Tierreich. I. Band. G. Fischer, Jena.

rakter der Entwicklungshemmung die Tatsache herangezogen werden, dass in degenerierenden Hungerkulturen bei alten Larven, die nicht mehr imstande sind zu metamorphosieren, männliche Charaktere auftreten. Der Entwicklungsstillstand hängt in diesem Falle wohl mit dem Hunger- oder allgemeinen Degenerationszustand, vielleicht auch noch mit anderen Faktoren zusammen und führt oft, wenn auch nicht immer zu männlicher Differenzierung.

Unter normalen Umständen tritt jedoch bei *Bonellia viridis* die mit Entwicklungshemmung verbundene männliche Differenzierung nur ein, wenn sich die indifferente schwärmende Larve am Rüssel eines alten *Bonellia*-Weibchens ansetzt und für einige Tage an ihm «parasitiert». Es konnte früher¹⁾ von mir wahrscheinlich gemacht werden, dass die Larve während dieses parasitischen Lebens Stoffe aus der Rüsselunterlage aufnimmt.

Daraus ergab sich die Frage, welcher Art die Wirkung der Rüsselsubstanz ist, ob sich Eigenschaften an ihr finden lassen, die uns die entwicklungshemmende Wirkung verständlich machen können²⁾. Um hierüber Erfahrungen zu sammeln, führte ich eine ziemlich grosse Zahl von Zuchtversuchen aus, indem Vertretern verschiedener Tiergruppen Rüsselsubstanz als Futter oder als Zusatz zum Zuchtwasser beigegeben wurde. Alle Experimente hatten übereinstimmend das gleiche Resultat: sie zeigten, dass das oberflächliche Gewebe der *Bonellia*, ihres Rüssels oder Rumpfes, stark giftige Eigenschaften besitzt. Leider konnten diese Versuche zunächst nur im Binnenlande an leicht zugänglichen Tieren der marinen und der Süsswasserfauna, sowie an einer Anzahl lebender Männchen von

¹⁾ Die Bestimmung des Geschlechts nebst einer Analyse des Geschlechtsdimorphismus bei *Bonellia*. Mitt. d. Zool. Station zu Neapel; Bd. 22; 1914. Siehe auch Mitt. der Naturf. Ges. Bern, 1916.

²⁾ Es sei darauf hingewiesen, dass R. Goldschmidt (Mechanismus und Physiologie der Geschlechtsbestimmung, Bornträger, 1920, S. 121) meine Geschlechtsbestimmungs-Versuche an *Bonellia* in entgegengesetzter Richtung interpretiert. Nach seiner Ansicht nimmt die am Rüssel des Weibchens parasitierende Larve Stoffe auf, die das Entwicklungstempo beschleunigen und damit in die Wirkungsperiode männlich-differenzierender Hormone hineinrücken. Für die Auseinandersetzung mit Goldschmidts Hypothese muss ich auf die obenerwähnte in der Neapler Zeitschrift erscheinende Arbeit verweisen. Die hier beschriebenen Experimente sind der Goldschmidtschen Erklärung ebensowenig günstig, wie die dort mitgeteilten Ergebnisse.

Bonellia selbst ausgeführt werden¹⁾. Ich möchte hervorheben, dass der entscheidende Versuch nur an indifferenten Bonellia-Larven selbst gemacht werden kann, die mir nicht zur Verfügung standen. Die hier mitgeteilten Beobachtungen können also für die Beziehungen zwischen Giftwirkung, Entwicklungshemmung und Geschlechtsbestimmung nur eine vorläufige Orientierung geben. Sie mögen aber auch an und für sich einiges Interesse bieten als ein Beitrag zur biologischen Charakteristik der Bonellia, dieser Form, die so viele zoologische Merkwürdigkeiten in sich vereinigt. Es ist wohl anzunehmen, dass das Gift der äusseren Gewebe des Bonellia-Weibchens und speziell des gefährdeten langen Rüssels einen Schutzstoff darstellt.

1. Versuche mit Paramäcien und anderen Süßwasserprotozoen.

a) Vergiftung durch Zusatz von Rüsselgewebe. Es waren einem lebenden Bonellia-Weibchen Rüsselstücke abgeschnitten und bei 30 Grad C. getrocknet worden. Kleine Mengen des so gewonnenen Präparats wurden in einem Tropfen Süßwasser zerzupft und in verschiedener Dosis dem Wasserquantum mit Paramäcien und anderen Protozoen zugesetzt.

Bei einer Verdünnung von 1:1400 (1 Volumteil Trockensubstanz auf 1400 Volumteile Wasser mit den Probetieren²⁾) wurden die Tiere in 15 Minuten gelähmt. Sie kontrahierten sich, der Cilienschlag wurde eingestellt. Nur der Zellschlund zeigte noch Flimmerbewegung. Sehr bald danach starben die Tiere ab. — Lässt man die zerzupfte Rüsselsubstanz vor Zusatz der Paramäcien einige Zeit im Wasser liegen, so ist die Wirkung der Lösung auf die Versuchstiere stärker. Es ist dann offenbar mehr schädigende Substanz in das Wasser diffundiert.

Die Grenze der Wirkung liegt ungefähr bei 1:3000 oder 1:4000. Bei einer Konzentration von 1:2900 trat noch Lähmung und Abtötung ein. Bei einer Lösung von 1:4700 blieben die Tiere normal.

¹⁾ Ich benütze sehr gerne die Gelegenheit, den Herren Prof. R. Dohrn und Dr. J. Gross an der Neapler Station, sowie Herrn Dr. O. Mangold (Berlin-Dahlem z. Zt. ebenfalls in Neapel für die unentwegte freundschaftliche Hilfe bei der Uebermittlung von lebendem und getrocknetem Versuchsmaterial herzlich zu danken.

²⁾ Die Konzentrationsangaben beziehen sich stets auf Volumverhältnisse. Sie sind nur approximativ.

Hypotriche Infusorien sind widerstandsfähiger. Chilomonas, ein kleiner Flagellat verhält sich wie Paramäcium, ebenso Colpidium.

Die gleichen Versuche wurden statt mit getrockneter mit frischer zerzupfter Rüsselsubstanz wiederholt. Hier wurde allerdings die Konzentration nicht genauer bestimmt. Das intakte lebende Rüsselgewebe lässt keine Giftstoffe nach aussen diffundieren. Erst die Wirkung des Süßwassers schädigt allmählich das Gewebe. Man erkennt dies daran, dass das grüne Pigment des äusseren Rüsselgewebes ins Wasser übergeht, ein Zeichen, dass jetzt ein Stoffaustritt überhaupt beginnt. Die Konzentration der Lösung unterliegt naturgemäss je nach dem Zustand des Gewebes starken Aenderungen.

Auch solches in Süßwasser zerzupftes Rüsselmaterial führt rasch eine Lähmung und Abtötung der Protozoenprobe herbei. Ohne Rücksicht auf die soeben erwähnte Fehlerquelle sei eine Konzentration genannt. Der Zusatz von 1 Volumteil Rüsselsubstanz zu 450 Teilen Wasser führte bei Paramäcien in 11 Minuten völlige Lähmung und darauf folgendes Absterben herbei.

Der Versuch mit Paramäcien erlaubte auch die Beantwortung einer Frage, die für die Wirkungsmöglichkeit des Rüsselgiftes auf Bonellienlarven wichtig ist. Bei Paramäcien kann das Gift auf zwei verschiedenen Wegen in die Zelle eindringen: entweder durch den Zellmund mit der Nahrung oder osmotisch durch die Zellwand selbst. Der Versuch entschied zugunsten des Weges durch die Zellwand. Es zeigte sich, dass konjugierte Paramäcien ebenso schnell vergiftet werden wie Einzeltiere. Die Konjugationsstadien aber sind mit den Mundbereichen verschmolzen und nehmen keine Nahrung auf. Aus ihrem ebenso raschen Absterben geht also hervor, dass das Gift durch die Zellhaut eintreten kann.

Man könnte vielleicht gegenüber den Versuchen mit Paramäcien und denjenigen mit Süßwassertieren überhaupt den Einwand machen, das Absterben der Probetiere werde nicht durch Giftstoffe des Bonellia-Gewebes, sondern durch den Salzgehalt des verwendeten Präparats herbeigeführt. Diesem Einwand gegenüber kann erstens auf die im folgenden erwähnten Versuche mit marinen Protozoen und Nematoden verwiesen werden. Zweitens wurde festgestellt, dass die Lähmung der Probetiere auch eintritt, wenn man das Rüsselpräparat vor Versuchsbeginn in Süßwasser oder destilliertem Wasser auswäscht und damit die Meersalze entfernt. Drittens zeigte sich in Kontrollversuchen, dass auch viel grössere Salzmengen, als sie im Rüsselpräparat vorhanden sind, unschädlich bleiben.

b) Vergiftung durch Zusatz von Bonellia-Rumpfwandgewebe. Ausser den bisher erwähnten Versuchen mit Rüsselsubstanz wurden an Paramäcien einige ähnliche Experimente mit Substanz der oberflächlichen Gewebe der Rumpfwand angestellt. Der Erfolg ist der gleiche. Auch hier werden die Probetiere sehr rasch geschädigt und getötet. Bei einer Verdünnung von ungefähr 1:8—900 trat die Lähmung in zwei Minuten ein.

Von Interesse ist dabei ein besonderer Versuch dieser Art. Die Wandung der Bonellia besitzt in ihren oberflächlichen Gewebeschichten ein sehr auffallendes reichliches grünes Pigment, das in grossen Zellen tröpfchenförmig verteilt ist. Bei Uebertragung der Rumpfwand in Süsswasser diffundiert, wie bei Rüsselgewebe, das grüne Pigment als grüne Flüssigkeit ins Wasser. Die Giftwirkung tritt auch dann ein, wenn den Paramäcien nicht festes Gewebe, sondern lediglich dieser grüne Saft zugesetzt wird — eine Erfahrung, die sich auch bei den weiter unten erwähnten Vergiftungsversuchen an Bonellia-Männchen wiederholen wird. Ob nun das grüne Pigment selbst das Gift ist, wird freilich durch solche Versuche nicht bewiesen. Es können ebensogut auch andere Stoffe als Gift wirken, die gleichzeitig mit dem Pigment nach aussen ins Wasser diffundieren.

2. Versuche mit marinen Protozoen. Vergiftung durch Zusatz von Rüsselgewebe.

Ausser mit Süsswasserprotozoen wurden einige Vergiftungsversuche mit marinen Einzellern durchgeführt, die sich in den Seewasser-Aquarien vorfanden. Die Ergebnisse sind denjenigen mit Süsswasserprotozoen durchaus ähnlich und sollen daher nicht näher dargestellt werden. Drei Protozoenspezies wurden durch die Rüsselsubstanz sehr rasch geschädigt und getötet. Hypotriche Infusorien (Typus Stylonychia) zeigten auch hier eine grosse Widerstandsfähigkeit.

3. Parallelversuche: Zusatz von Bonellia-Darmwandgewebe zu Paramäcienkulturen.

Diese Versuche haben einiges Interesse, weil sie erlauben, den Giftgehalt des Bonelliakörpers näher zu lokalisieren. Es wurden bisher allerdings nur zwei solche Versuche mit Darmwand ausgeführt, die aber ein völlig klares Ergebnis hatten. Es zeigte sich, dass Darmwand-Substanz der Bonellia für Paramäcien ganz unschädlich ist.

Einer Bonellia wurde ein überlebendes Stück Mitteldarm entnommen, in Meerwasser und Süsswasser gewaschen, zerzupft und in grosser oder sehr grosser Menge eine Portion Paramäcien zugesetzt. Die Probetiere waren nach 24 Stunden noch ebenso normal, wie zu Beginn des Versuchs, obgleich sie bei dem einen Versuch geradezu in einem Brei von Darmwandmaterial schwammen.

Daraus ergibt sich die starke physiologische Verschiedenheit verschiedener Organe des Bonellia-Körpers. Das oberflächliche grün pigmentierte Gewebe des Bonelliarüssels und des Hautmuskelschlauches enthält giftige Substanzen, welche der nicht grün pigmentierten Darmwand fehlen.

Es sei schon hier daran erinnert, dass die Bonellia-Larve, die unter Umständen durch natürliche Aufnahme von Bonelliasubstanz in ihrer weiteren Entwicklung gehemmt und gleichzeitig männlich differenziert wird, gerade ein Parasit am äusseren Rüsselgewebe (*Bonellia viridis*) oder Rumpfgewebe (*Bon. fuliginosa*) ist. Der Ort des entwicklungshemmenden und männlich differenzierenden Parasitismus der Larve und die Verteilung des Giftes im Gewebe des Wirtstieres stimmen, soweit die Kenntnisse bisher reichen, überraschend gut miteinander überein. Ein Versuch mit Uterusgewebe wurde leider bisher nicht gemacht. (Vgl. Nachschrift.)

4. Versuche mit Tubifex. Vergiftung durch Zusatz von Bonellia-Rüsselgewebe.

Ich habe die Versuche mit Paramäcien etwas ausführlicher behandelt, da die Kleinheit und Handlichkeit dieser Reaktions-tiere ein Arbeiten mit kleinen Rüsselmengen und ein annähernd richtiges Abmessen der Konzentrationen erlaubte. Es ist aber von Interesse, auch eine der Bonellia näher verwandte Tierart zum Versuche heranzuziehen. Zu diesem Zweck wurde eine Anzahl Experimente mit Tubifex, einem unserer häufigen Süsswasser-Oligocheten durchgeführt. Die Versuchstiere bleiben auch in kleinen Wassermengen ohne Schlammgrund lange am Leben und waren damit ein brauchbares Versuchsobjekt.

Tubifex zeigt gegen Bonelliavergiftung eine sehr grosse Empfindlichkeit. Er wird schon bei sehr schwachen Konzentrationen getötet, und zwar sowohl bei Verwendung von getrocknetem wie von lebensfrisch zerzupftem Rüsselmaterial.

Versuche mit Trockensubstanz. Bei Zusatz von 1 Volumteil trockener Rüsselsubstanz zu 4700 Vol.-Teilen Wasser trat Läh-

mung und beginnende Zersetzung der Würmer in 1 Stunde 15 Minuten nach Versuchsbeginn ein. Auch eine viel geringere Konzentration — 1:15 000 — hatte noch einen sehr ähnlichen Erfolg. Die Würmer waren in diesem Fall nach 1½ Stunden deutlich anormal; sie zeigten übermässige Muskelkontraktionen und starke ringförmige Einschnürungen, Symptome, die der Lähmung vorausgehen. — Der Grenzwert eben noch wirksamer Konzentration ist offenbar bei 1:30 000 erreicht. Sieben kleine Tubifexen waren in solcher Lösung nach 14 Stunden noch ganz munter, nach 24 Stunden aber völlig zersetzt.

Kontrollversuche zeigten, dass der Salzgehalt des verwendeten Präparats ohne Einfluss ist. Der Zusatz einer Kochsalzmenge, die der verwendeten Rüsselsubstanzquantität an Volumen gleichkam, hatte keinen schädigenden Einfluss.

Ausser mit Tubifex wurden gleiche Vergiftungsversuche auch mit marinen und mit Süswasser-Nematoden gemacht, mit gleichem Erfolg. Diese Versuche sind als Kontrollen bei den Experimenten mit Bonellia-Männchen (S. 109 f.) erwähnt.

5. Vergiftungsversuche an Daphniden.

Mit diesem Objekt wurde nur ein Versuch ohne genaue Feststellung der Substanzkonzentration gemacht. Eine kleine Quantität Rüsselsubstanz wurde wie üblich zerzupft und dem Wasser, in dem sich neun grössere und kleinere Daphniden befanden, beigegeben. Nach 22 Stunden lebten noch alle Tiere. Die meisten hatten den Darm entleert und keine Rüsselsubstanz, die an ihrer grünen Farbe erkennbar wäre, aufgenommen. Nach 47 Stunden waren von den neun Tieren sieben tot oder sterbend. Bei fünf konnte die grüne Rüsselsubstanz im Darm festgestellt werden. Zwei Tiere waren noch am Leben. Sie blieben in der Flüssigkeit und starben am dritten Tag nach Versuchsbeginn. — Neun Daphniden wurden während der Versuchszeit als Kontrolltiere in einer gleichen Menge Wasser ohne Nahrung gehalten. Sie waren am vierten Tag nach Versuchsbeginn noch alle am Leben, die kleineren unter ihnen allerdings schon mit herabgesetzter Beweglichkeit. Die grösseren lebten auch noch am fünften Tag.

Nach diesem Versuch zeigt sich auch bei Daphniden eine Giftwirkung der Bonellia-Rüsselsubstanz; sie tritt hier allerdings nicht so schnell ein wie bei Tubifex. Offenbar muss die Substanz zuerst in den Darm aufgenommen werden.

6. Versuche mit Kaulquappen. Vergiftung und geringe Entwicklungshemmung durch Verfütterung von *Bonellia*-Rüsselsubstanz.

Die Verfütterung von *Bonelliasubstanz* an Amphibien-Kaulquappen schien mir ursprünglich ein besonderes Interesse zu haben, weil die Kaulquappen seit etwa einem Jahrzehnt als Reaktionstiere auf Inkrete benützt werden. Bekanntlich führt, in geringen Dosen verabreicht, Schilddrüsenfütterung bei Amphibienlarven eine verfrühte Metamorphose herbei, während Thymus eine gegensätzliche Wirkung hat und die Metamorphose verzögert. Es sind bei *Bonellia* verschiedene Parallelen zum Verhalten der Kaulquappen bei Thymusfütterung vorhanden. Wie wir oben erwähnt haben, unterbleibt in der Entwicklung des *Bonellia*-Männchens die Metamorphose. Die Differenzierung in männlicher Richtung ist mit Entwicklungshemmung verbunden, und diese gehemmte Entwicklung fällt zusammen mit dem Beginn der parasitischen Lebensweise der Larve am Rüssel eines alten Weibchens, wobei die Larve wahrscheinlich Stoffe aus der Rüsselunterlage aufnimmt.

Angesichts dieser Verhältnisse war es denkbar, dass die von der Larve aufgenommenen Rüsselstoffe als Inkret wirken und möglicherweise auch bei Kaulquappen eine Reaktion hervorrufen könnten. Die folgenden Versuchsergebnisse sprechen jedoch nicht für diese Erwartung. Entwicklungshemmung kann allerdings bei Kaulquappen, die mit *Bonelliasubstanz* gefüttert wurden, eintreten, ist aber ziemlich sicher auf die direkte Giftwirkung der gefressenen Substanz und eine damit zusammenhängende schlechtere Ernährung zurückzuführen. Ich gebe die Versuche, die nach dem Gesagten nur in beschränktem Mass weiterführen als die Versuche an wirbellosen Tieren und Protozoen, nur kurz wieder.

Für die Versuche wurden Larven von *Rana temporaria*, unserem Grasfrosch und von einer Krötenart (*Bufo*) verwendet. Die Froschlarven gehörten bei einem Teil der Experimente dem gleichen Laichmaterial an. Bei anderen Versuchen, ebenso bei allen *Bufo*-Zuchten musste Material verschiedener Eltern verwendet werden. Stets jedoch wurde sorgfältig darauf geachtet, gleiche Stadien zu benützen. — Im ganzen wurden 22 Zuchten mit *Bonellia*-Rüsselfütterung in verschiedenen Varianten und mit verschiedenen Dosen durchgeführt.

Die Larven wurden jeweilen zu 4—10 in Gläsern mit $\frac{3}{4}$ Liter Wasser gehalten. Trockenes Herzfleisch und *Elodea* bildete die

gewöhnliche Nahrung. Nur zur Verfütterung der Bonellia-Substanz wurden die Tiere in kleinere Schalen mit 200 ccm Wasser gebracht. Dann wurden natürlich auch die Kontrollen in entsprechende Schalen versetzt. Im übrigen verfuhr ich nach den Romeisschen Angaben in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.¹⁾

Wenn die Larven etwas hungrig waren, nahmen sie das fein zerzupfte Bonellia-Material ohne Schwierigkeit auf. Es ist mir aber unmöglich, die einverleibten Quantitäten genau anzugeben, erstens, weil eine so genaue Feststellung der dargebotenen Menge Rüsselsubstanz wie bei den Paramäcium- und Tubifexversuchen hier nicht durchgeführt wurde, zweitens, weil stets mehrere Larven in einer Schale gehalten wurden und endlich, weil die Kontrolle der nicht gefressenen Reste nur schätzungsweise gehandhabt wurde.

Trotz dieser Ungenauigkeiten zeigen die Versuche zwei Dinge. Mit völliger Sicherheit stellte sich heraus, dass auch für Kaulquappen die Rüsselsubstanz als Gift wirkt. Zweitens konnte eine inkretorische Wirkung im Sinne einer Entwicklungshemmung oder -Beschleunigung nicht nachgewiesen werden, auch nicht bei sehr verschieden dosierten schwächeren Fütterungen.

Die Vergiftung selbst zeigt, offenbar je nach der Menge der aufgenommenen Substanz einen verschiedenen Grad. Im schwächsten Fall ist die Fresslust der Larven bei den auf die Rüsselfütterung folgenden gewöhnlichen Fleischfütterungen herabgesetzt. Bei stärkerer Vergiftung schwimmen die Tiere ausserdem an der Wasseroberfläche. Bei noch höherem Vergiftungsgrade führen die Tiere bei Beunruhigung anormale schnelle Kreisbewegungen aus oder wirbeln um ihre Längsachse. Bei stärkster Vergiftung endlich gehen die Larven am zweiten oder dritten Tag nach der Aufnahme der Rüsselsubstanz zugrunde. Für diese starke Wirkung muss die Rüsselsubstanzaufnahme grösser sein als einer Tagesration gewöhnlichen Fleisches entspricht. — Dass die Vergiftung auf einer giftigen Besonderheit des Bonellia-Gewebes beruhen muss und nicht etwa am marinen Charakter schlechtweg liegt, geht schlagend aus Kontrollfütterungen mit anderen marinen Fleischprodukten hervor. Es wurde eine ganze Anzahl solcher Versuche angestellt; so wurde Schellfischfleisch verfüttert, ferner das muskulöse Fussende von *Cerianthus* (Anthozoa), weiter die Muskelmasse des Fusses einer

¹⁾ Abt. V. Methoden z. Studium der Funktionen der einzelnen Organe des tierischen Organismus. Teil 3 A, Heft 3 (Lieferung 69). 1922.

marinen Schnecke (*Murex*), endlich Ovarialsubstanz von Seeigel. Alle diese Materialien wirken wie gewöhnliche Herzfleischfütterung.

Einer besonderen Erörterung bedürfen nur noch die zahlreichen Fütterungsversuche mit mittleren, geringeren oder sehr geringen Rüsselsubstanzmengen, die entweder allein oder mit Beigabe gewöhnlichen Herzfleisches verabreicht wurden. Sie sind dadurch charakterisiert, dass die Wirkungen um so geringer wurden, je schwächer die gefütterte Rüsselmenge war.

War die verabreichte Rüsseldosis eine mittlere, so kam in einzelnen Fällen eine Verzögerung der larvalen Entwicklung bis zu drei Wochen zustande. Dann waren zugleich starke Vergiftungssymptome vorhanden (Schwimmen an der Oberfläche).

War die Rüsseldosis eine geringere, so betrug die Entwicklungsverzögerung nur wenige Tage. Dann fehlten schwere Vergiftungserscheinungen; die Larven waren untätig. Sie reagierten wenig oder gar nicht auf normales Fleischfutter und nahmen dementsprechend auch an den normalen Futtertagen, die zwischen den *Bonellia*-Fütterungen eingeschaltet wurden, weniger Fleischnahrung zu sich.

Es scheint mir, dass diese verminderte Fleischnahrung die Verzögerung der Entwicklung ganz hinreichend erklärt. Ein Kontrollversuch zeigte nämlich, dass die Entwicklungsgeschwindigkeit — wie zu erwarten — in sehr hohem Grade von der Quantität der aufgenommenen Fleischnahrung abhängt. Die Larven in «Magerkultur», die vom Stadium mit Hinterbeinknospen an nur etwa $\frac{1}{7}$ der normalen Fleischmenge erhielten, blieben nicht nur viel kleiner, sondern sie blieben auch in ihrer Entwicklung sehr stark, um ungefähr drei Wochen hinter den normal gefütterten Tieren zurück. Dieses Zurückbleiben liess sich sehr gut an der Ausbildung der Hinterbeine nachweisen. Im extremen Fall waren noch nicht einmal die ersten Zehenanlagen vorhanden, die als kleine Höckerchen erscheinen, als die Larven der normalen Fleischkontrolle fertige Hinterbeine besaßen und metamorphosierten.

Darnach genügt bei Anurenlarven eine geringere Fleischaufnahme, hervorgerufen durch eine schwache *Bonellia*-Vergiftung, vollauf, um ein Zurückbleiben in der Entwicklung zu erklären. Die Tatsache einer solchen Entwicklungshemmung mag immerhin von Interesse sein, weil, wie oben erwähnt, die *Bonellia*-Larve, die nach unserer Auffassung unter Substanzaufnahme am weiblichen Rüssel zu männlicher Entwicklung bestimmt wird, eine Hemmungsform darstellt.

An die Versuche mit geringer Bonellia-Verfütterung schliessen sich endlich diejenigen mit ganz schwacher Dosis an. Hier konnte überhaupt keine Wirkung festgestellt werden, weder eine Verzögerung, noch eine Beschleunigung der Entwicklung. Diese Larven verhielten sich wie normale Larven.

Dieser negative Versuchsausfall verdient hervorgehoben zu werden, weil sich damit die Wirkung der Bonellia-Substanz deutlich von inkretorischen Wirkungen unterscheidet. Inkrete wie Thyrioidea oder Thymus haben gerade in schwacher Dosis einen starken Effekt. Eine solche Wirkung ist jedoch bei unseren Bonellia-Fütterungen nicht vorhanden. Nur die starken Dosen wirken und dann im Sinne einer Vergiftung.

7. Versuche mit Bonellia-Männchen. Vergiftung durch Zusatz von weiblicher Rüsselsubstanz.

Alle bisher beschriebenen Versuche beweisen übereinstimmend, dass im äusseren Gewebe des weiblichen Bonellia-Rüssels und -Rumpfes giftige Substanzen enthalten sind, die auf Tiere der verschiedensten systematischen Gruppen tödlich wirken, und unter Umständen (bei Kaulquappen) zu Entwicklungshemmungen führen können. Es sind Substanzen, die «freiwillig» nur vom toten oder absterbenden Gewebe abgegeben werden, die aber für eine Wirkung auf Bonellialarven doch in Betracht kommen können, da diese Larven in einem gewissen Stadium Stoffe aus dem lebenden Rüsselgewebe, auf dem sie festsitzen, herausziehen können.

Angesichts dieser Resultate und bei der Unmöglichkeit, zur Zeit lebende indifferente Bonellialarven zu bekommen, war es von Interesse, wenigstens zu erfahren, wie die Rüsselsubstanz auf ausgewachsene Bonellia-Männchen, also auf Individuen der eigenen Art einwirkt.

Ich hatte für diese Versuche durch die Freundlichkeit Dr. O. Mangolds und der Neapler Stationsleitung eine grössere Anzahl lebender Bonellia-Männchen zur Verfügung. Zur Prüfung wurde frisch getrocknete Rüsselsubstanz verwendet, die zuerst auf 1—2 Minuten in destilliertes oder in Seewasser gelegt wurde, um die beim Trocknen auskristallisierten Meersalze zu entfernen. Mit der so vorbehandelten Substanz wurden dann die folgenden Versuche angestellt.

I. Vergiftungsversuche.

Versuch 1. Zu tausend Volumteilen Seewasser wurde 1 Volumteil Rüsselsubstanz zugesetzt. Die Menge genügte nicht, um dem Wasser eine deutlich grüne Farbe zu geben. Dann wurde ein gesundes lebhaft bewegliches Männchen hinzugefügt. Die Lösung wurde nach 8 Stunden durch eine gleiche frische ersetzt, um den Einwand auszuschliessen, es hätte Fäulnis beginnen und auf das Bonellia-Männchen nachteilig einwirken können.

Das Versuchstier war nach 16 Stunden gelähmt und starb 19 Stunden nach Versuchsbeginn unter Zersetzung seiner Epidermis.

Nach Beendigung dieses Versuches wurde die Lösung auf ihre Wirksamkeit durch einlegen von 6 kleinen marinen Nematoden weiter geprüft, die im Schlammgrund der Seewasseraquarien gefunden worden waren. Nach drei Stunden war bei zweien dieser Würmchen eine geringe, bei drei Tieren eine weit vorgeschrittene Lähmung zu beobachten. Ein Tier war noch voll beweglich. Einen Tag später waren 5 Individuen tot, eines stark anormal.

Versuch 2. Aehnlich dem vorigen, jedoch stärkere Konzentration der Versuchslösung. Sie hatte grünliche Farbe. Beginnende Lähmung des Versuchsmännchens und geringer Anfang der Zersetzung nach 4¹/₂ Stunden.

Versuch 3. Zu 1,7 mm³ Rüsseltrockensubstanz wurden 1000 mm³ Seewasser zugesetzt, das dadurch eine schwach grünliche Färbung erhielt. Nach 1³/₄—2 Stunden wurde das Wasser mit den gelösten Stoffen abgezogen (= Lösung A). Zum zurückbleibenden festen Rüsselgewebe wurden weitere 1000 mm³ reines Seewasser zugefügt. Von diesem Wasser wurden wiederum Stoffe aus dem Gewebe herausgelöst, sodass eine zweite Lösung (B) entstand, in der das feste Rüsselmaterial während des Versuches liegen blieb. Auch diese Flüssigkeit hatte einige Zeit nach der Herstellung eine grünliche, jedoch etwas weniger intensive Farbe als A. — Die Lösungen A und B wurden alle 12 Stunden frisch hergestellt.

Versuch 3 A. In die Lösung A und ihre gleich hergestellten Nachfolger wurden drei Bonellia-Männchen eingesetzt. Nach 12 Stunden waren die Tiere noch normal. 16 Stunden nach Versuchsbeginn zeigten sich Anfänge von Zersetzung an den Körperenden. Die Bewegungen und Kontraktionen der Tiere waren jetzt anormal. Nach 22 Stunden waren zwei Tiere zersetzt, ein Tier noch ziemlich munter, jedoch mit ersten Anfängen der Zersetzung am Vorder-

ende (Auflösung der Epidermis). 1 1/2 Stunden später hat die Zersetzung des dritten Tieres auch am Hinterende begonnen.

Versuch 3 B. In die Lösung B und ihre gleich hergestellten Nachfolger wurden 2 Bonellia-Männchen eingesetzt. Nach 24 Stunden, als die Tiere des Versuches A schon abgestorben waren, hatten die beiden Männchen noch normales Aussehen und die typische gleitende Fortbewegungsart. Nach 41 Stunden zeigten sich die ersten Anzeichen der Zersetzung; aber auch nach 63 Stunden waren die Tiere noch teilweise intakt und bewegungsfähig.

Versuch 4. Eine grössere Menge getrockneter Rüsselsubstanz wurde während 3 Minuten in Seewasser gelegt. Grünes Pigment diffundierte aus dem Gewebe in das Wasser über. Es entstand eine deutlich grüne Lösung. Dann wurde das Wasser ohne feste Rüsselsubstanz zum Versuch weiter verwendet und ein Bonellia-Männchen eingesetzt. 7 1/2 Stunden später wurde die Lösung erneuert. Das Versuchstier zeigte 12 Stunden nach Versuchsbeginn Lähmung, nach 14 Stunden Zersetzung.

Nach Beendigung des eigentlichen Versuchs wurde die Lösung auf ihre Giftigkeit weiter geprüft, und 5 kleine Nematoden eingesetzt. Zwei von ihnen waren nach 5 Stunden gelähmt und stark zersetzt. Ein Tier war noch beweglich. Am nächsten Tag waren alle 5 Tiere tot.

Versuch 5. Aehnlich Versuch 4. Doch wurde das Rüsselmaterial während 1 1/2 Stunden in Seewasser extrahiert. Dementsprechend wurde auch mehr grünes Pigment gelöst, die Lösung wurde stärker grün. Dann wurde die feste Rüsselsubstanz entfernt und ein Männchen beigegeben. Acht Stunden nach Versuchsbeginn wurde die Lösung durch frische ersetzt. Das Tier zeigte 11 1/2 Stunden nach Versuchsbeginn beginnende Lähmung und Zersetzung. Nach 13 1/2 Stunden war es stark zersetzt.

Aus den Versuchen 3 A und B, 4 und 5 geht hervor, dass die giftigen Substanzen des getrockneten Rüsselmaterials in Wasser leicht löslich sind. Sie müssen wohl auch, da eine Extraktion von drei Minuten schon zu einer tödlichen Wirkung ausreicht, recht oberflächlich im äusseren Rüsselgewebes liegen.

Versuch 6. Zu 3000 Volumteilen Wasser wurde 1 Teil Rüssel-trockensubstanz zugesetzt. Die Lösung blieb ungefärbt. Nach 6 Stunden wurde ein lebhaft bewegliches Bonelliamännchen hinzugefügt. Erneuerung der Lösung wie üblich. Das Versuchstier zeigte

19 Stunden nach Einsetzen ziemlich deutliche, nach 48 Stunden sehr deutliche, Lähmungserscheinungen, blieb aber doch während $2\frac{3}{4}$ Tagen in der Lösung am Leben. Dann wurde stärkere Lösung zugesetzt, in der das Tier nach 24 Stunden tot gefunden wurde.

Nach diesem Versuchsergebnis scheint die Konzentration 1:3000 ungefähr die Grenze der Wirksamkeit des Giftes auf das Bonellia-Männchen zu bezeichnen.

II. Kontrollexperimente

Neben den eigentlichen Vergiftungsversuchen wurden ziemlich viele Kontrollen durchgeführt. Zunächst liess sich feststellen, dass die Bonellia-Männchen, obgleich sie normaler Weise im weiblichen Uterus leben, gegen einen längeren Aufenthalt im freien Wasser nicht sonderlich empfindlich sind. Die Tiere, die mir von Neapel in kleinen Glastuben zugesandt wurden, hielten zum Teil bis über 5 Wochen in reinem Seewasser aus. Weiter wurde festgestellt, dass auch die kleinen Wassermengen, wie sie bei den Vergiftungsversuchen Verwendung fanden, die Tiere an und für sich nicht schädigen. Sie wurden in den entsprechend kleinen reinen Seewassermengen der Kontrollen 4 Tage lang gehalten, ohne anormal zu werden. Dann wurden diese Kontrollversuche abgebrochen.

Endlich wurden noch die beiden folgenden Experimente, die in verschiedener Richtung Bedeutung haben, ausgeführt.

1. Es liess sich gegenüber den Vergiftungsversuchen einwenden, dass die Bonellia-Männchen vielleicht nicht wegen des Bonellia-Giftes zugrunde gehen, sondern weil aus dem getrockneten Rüsselmaterial gelatineartige oder schleimige Substanzen in das Wasser übergehen, die an sich harmlos sind, aber doch die Viskosität oder die osmotischen Bedingungen des Zuchtwassers verändern und dadurch schädlich wirken. Dieser Einwand ist um so mehr zu berücksichtigen, als das Rüsselgewebe zahlreiche Drüsenzellen enthält, die bei der Nahrungsaufnahme Schleim absondern.

Gegen diesen Einwand spricht allerdings schon der Vergleich zwischen den Versuchen 3 A und 3 B, wo die Lösung, die nur die Substanzen einer kurzen Extraktionszeit enthält, giftiger wirkt als das Wasser, in dem das Rüsselgewebe dauernd liegen gelassen wurde. Ausserdem aber wurde der folgende Kontrollversuch mit einer harmlosen Muskelsubstanz eines wirbellosen marinen Tieres ausgeführt. Zu 1000 mm^3 Seewasser wurden $1,3\text{ mm}^3$ getrocknete Muskelmasse des Fusses von Murex, einer marinen Schnecke, zu-

gesetzt. Das Material erfuhr im Wasser eine starke Quellung, es treten auch wirklich, wie an der Schlierenbildung zu sehen ist, Stoffe in das umgebende Wasser aus. Zwei Stunden nach Ansetzen des Versuchs wurden 3 Bonelliamännchen zugefügt. Diese Murex-Lösung, die zunächst alle 12—16 Stunden erneuert wurde, ist für die Versuchstiere völlig unschädlich. Sogar als sie zuletzt 24 Stunden stehen gelassen wurde und in Fäulnis überging, blieben die Tiere normal.

Ein ähnlicher Murex-Versuch wurde übrigens auch mit Paramäcien und Colpidien ausgeführt. Auch bei diesen Probetieren verlief er völlig harmlos.

2. Einem Seewasser-Volumen von $2,5 \text{ cm}^3$ wurden zwei abgeschnittene, geheilte, lebende Rüsselstücke von zusammen 17 mm^3 zugesetzt und ausserdem 5 lebende Bonellien-Männchen beigegeben. Das Volumverhältnis des Wassers zur Rüsselsubstanz ist hier 150 : 1. Die Konzentration an Rüsselmaterial ist also hier mindestens so hoch wie bei den Vergiftungsversuchen, auch wenn man den Volumverlust durch das Trocknen in Anschlag bringt. Trotzdem aber wirkt das lebende Rüsselmaterial nicht giftig. Die Männchen waren nach drei Tagen, als der Versuch abgebrochen wurde, noch völlig normal. Das Rüsselgewebe, das bei Verwendung in totem getrocknetem oder in lebensfrisch zerzupftem Zustand unbedingt giftig wirkt, vermag also in lebendem Zustand die Männchen nicht zu schädigen. Mit anderen Worten: die giftigen Stoffe treten nur aus dem toten oder absterbenden Gewebe aus.

Darnach wäre zunächst zu vermuten, dass die giftige Eigenschaft des äusseren Bonellia-Gewebes auf andere Bonellia-Individuen, seien es nun Männchen oder Larven, keinen Einfluss ausüben und damit auch als entwicklungshemmender Faktor keine Bedeutung haben kann. Wir müssen uns aber daran erinnern, dass die Larve während ihres parasitischen Festsitzens am Rüssel Stoffe aus demselben herauszieht. Das konnte durch den 1914 von mir beschriebenen Versuch wahrscheinlich gemacht werden, bei dem sich Larven an einem mit Methylenblau oder Bismarkbraun intravital gefärbten Rüssel ansetzten. Das Rüsselgewebe hält den Farbstoff sehr hartnäckig fest und gibt ihn erst im Laufe einiger Wochen wieder ab. Die am Rüssel sitzenden Larven aber sind imstande, innerhalb ein bis zweier Tage beträchtliche Farbstoffmengen aus der Rüsselunterlage aufzunehmen. Die festsitzenden Larven können

somit aus dem Rüsselgewebe Stoffe beziehen, die an das Wasser nur viel schwächer abgegeben werden. Es ist darnach sehr wohl möglich, vielleicht sogar wahrscheinlich, dass die *Bonellien*-Larve während ihrer parasitischen Zeit aus dem Rüssel des Weibchens Giftstoffe erhält. Die Unschädlichkeit des lebenden Rüsselgewebes gegenüber frei im Wasser lebenden Tieren gibt für die parasitierende Larve keine Anhaltspunkte. Im Gegenteil: es ist sehr bemerkenswert, dass gerade dasjenige Larvenstadium, das die Entwicklungshemmung erfährt, zur Aufnahme des Rüsselgiftes aus der lebenden Unterlage besonders geeignet erscheint. — Weitere Versuche müssen hier Klarheit schaffen.

Ergebnisse: Die Vergiftungsversuche mit *Bonellia*-Männchen zeigen uns drei Dinge.

Es war nach den vorher berichteten Versuchen mit anderen Tierarten denkbar, dass das Gift des *Bonelliagewebes* zwar auf verschiedene Tierformen, nicht aber auf Angehörige der gleichen Art wirken könne. Der Ausfall der letzten Versuchsreihen zeigt im Gegenteil, dass sich die Giftwirkung auch auf die Männchen der *Bonellia viridis* selbst erstreckt.

Ausserdem zeigt sich mit voller Klarheit, dass die Giftwirkung von einem in Wasser löslichen Stoff ausgeht, der aus dem getrockneten Gewebe des *Bonellia*-Rüssels in das umgebende Wasser diffundiert und auf die hier vorhandenen Männchen einwirkt. Da die Giftigkeit der Lösung mit stärkerem Gehalt an grünem *Bonellia*-Pigment steigt, wäre denkbar, dass das Pigment selbst den Giftstoff darstellt. Beweise können für diese Möglichkeit, gegen die einige Bedenken bestehen, nicht gegeben werden.

Endlich zeigte sich, dass das lebende Rüsselgewebe Giftstoffe an seine Umgebung gar nicht oder nicht in schädlichem Grade abgibt, dass aber hier möglicherweise eine Ausnahme besteht: Es liegt im Bereich der Erwartung, dass die am *Bonellia*-Rüssel parasitierenden festsitzenden Larven neben anderen Stoffen auch Giftstoffe aufnehmen.

8. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen.

Im folgenden sind die erhaltenen Resultate kurz zusammengefasst und ist zugleich skizziert, in welcher Weise die Ergebnisse für die Frage der Geschlechtsbestimmung bei *Bonellia* von Bedeutung sein können.

a) Es liess sich zeigen, dass die äusseren Gewebe des Bonellia-rüssels und -Rumpfes einen Stoff enthalten, der auf Tiere der verschiedensten systematischen Gruppen, auf Vertreter des Süsswassers wie des Meeres, giftig wirkt. Die Gewebe der inneren Organe der Bonellia dagegen üben, wenn wir das mit Darmwand-Material gewonnene Resultat verallgemeinern dürfen, keine schädliche Wirkung aus. (Siehe Nachschrift.) Endlich wurde gezeigt, dass das Gift durch die Zellwand in das Innere der Zellen eintreten kann.

b) Die Vergiftung führt zu Lähmung, zum Tode, unter Umständen und wohl auf indirektem Wege bei Kaulquappen zu einer Verzögerung der Entwicklung.

c) Es liess sich zeigen, dass das Gift auch bei Angehörigen der eigenen Art wirksam ist, indem Bonellia-Männchen von ihm abgetötet werden. Die Grenze der wirksamen Konzentration scheint hier bei 1:3000 zu liegen. Da das Bonellia-Männchen von aussen keine Nahrung aufnimmt, muss hier das Gift direkt durch die Körperwand eintreten. — Lebendiges, intaktes Rüsselgewebe übt auf erwachsene Männchen keine schädliche Wirkung aus.

An diese Ergebnisse schliesst sich naturgemäss, da die Bonellia-Larve durch Parasitismus an einem weiblichen Rüssel zu männlicher Differenzierung veranlasst wird, die Frage an, ob die gefundene Giftwirkung des äusseren Rüssel- und Rumpfgewebes in Zusammenhang mit dem Modus der Geschlechtsbestimmung bei Bonellia gebracht werden kann, ob sich Argumente finden lassen, wonach die Vergiftung der Bonellialarve zu einer Entwicklungshemmung und weiter zur Bestimmung in männlicher Richtung führt. Hier soll in erster Linie der Zusammenhang zwischen Vergiftung und Entwicklungshemmung erörtert werden. Für die zweite Frage nach dem Zusammenhang zwischen Entwicklungshemmung und männlicher Differenzierung, sei auf die Arbeit in den *Pubbl. della stazione zoologica di Napoli* (1925, Bd. 6) verwiesen. — In der Tat bestehen zugunsten eines Zusammenhangs von Giftwirkung und Entwicklungshemmung einige bestrickende Parallelen.

1. Fast ohne Ausnahme beginnt die indifferente Bonellia-Larve ihre männliche Differenzierung erst von dem Moment an, wo sie sich als Aussenparasit am Rüssel eines alten Weibchens befindet. Wie schon erwähnt, konnte früher wahrscheinlich gemacht werden, dass die Larve während dieses Festsitzens Stoffe aus dem Rüssel aufnimmt. Da die Entwicklung der Larve mit Beginn der parasitischen Periode in vieler Hinsicht gehemmt wird, so ist zu er-

warten, dass die von der Larve dem Rüssel entnommenen Substanzen Hemmungsstoffe sind. Die vorliegenden Experimente geben dieser Erwartung realen Boden. Wir konnten giftige Stoffe feststellen, welche wohl geeignet sein können, die Entwicklung der am Rüssel sitzenden Larve zu hemmen. Dass das Bonelliagift als Hemmungssubstanz in Frage kommen kann, haben trotz der bedeutenden Verschiedenheit der Verhältnisse die Kaulquappenversuche gezeigt. Dort war die Vergiftung wenigstens indirekt imstande, eine Verzögerung der Entwicklung der Larven herbeizuführen.

Aber nicht nur die Tatsache des vorhandenen Giftes an und für sich ist von Bedeutung. Es muss weiter hervorgehoben werden dass diese Stoffe gerade in den äusseren Geweben des Bonelliarumpfes und -Rüssels ihren Sitz haben, d. h. eben dort, wo die Larven ihren Parasitismus vollziehen. Ort des Parasitismus und Sitz des Giftes stimmen ausserordentlich gut überein.

2. Wir müssen, da die parasitische Larve von aussen keine Nahrung aufnimmt, erwarten, dass die Hemmungsstoffe durch die Körperwand ins Innere der Larve eintreten können. Die Bonellia-Giftstoffe erfüllen diese Forderung. Es liess sich zeigen, dass sie die Wandung des erwachsenen Männchens und die Membran z. B. der Paramäcienzelle durchdringen können.

3. Die Versuche mit Methylenblau (1914) machten es wahrscheinlich, dass die Aufnahme der Hemmungsstoffe aus dem Rüssel speziell auf die Zeit des parasitischen Festsistens der Larve beschränkt ist. Damit stimmt überein, dass die erwachsenen Männchen auch bei ziemlich engem Kontakt mit lebendem Rüsselmaterial nicht geschädigt werden, ferner, dass sie einem intravital gefärbtem, lebendem Rüssel den Farbstoff nur in geringerem Grade oder gar nicht entnehmen. — Soweit unsere Kenntnisse hier reichen, tritt die Entwicklungshemmung gerade in demjenigen Stadium ein, das nach den Methylenblau-Versuchen als Rüsselstoffe aufnehmendes Stadium in Betracht kommt. — —

Wenn die dargestellten Versuche in dem hier versuchten Sinne als erster Schritt eines Beweises zu Gunsten einer Entwicklungshemmung der Bonellia-Larve durch Bonellia-Vergiftung gedeutet werden dürfen, so sind wir in der Aufklärung der Geschlechtsbestimmung und der Ausbildung der seltsamen Zwergmännchen bei Bonellia um eine Etappe weiter gekommen, denn es steht zweifellos die Hemmung der larvalen Entwicklung und die Bestimmug

zu männlichem Geschlecht bei diesem Wurm, wo die Männchen Hemmungsformen sind, in enger Beziehung.

Indessen mag noch einmal hervorgehoben werden, dass der entscheidende Versuch noch aussteht. Er konnte aus Mangel an Larvenmaterial nicht durchgeführt werden und wird zeigen müssen, ob indifferente *Bonellia*-Larven durch dosierte Rüsselsubstanzvergiftung in ihrer Entwicklung gehemmt und zugleich zu männlicher Differenzierung veranlasst werden können. In der gleichzeitig erscheinenden grösseren Arbeit (l. c.) ist darauf hingewiesen, dass neben dem männlich bestimmenden Faktor der Entwicklungshemmung noch andere Faktoren wirksam sein werden. Man darf angesichts der komplizierten biologischen Verhältnisse bei *Bonellia* wohl kaum an ein einfaches Geschlechtsbestimmungs-Schema denken und kann schwerlich erwarten, dass die Natur hier schematisch verfährt.

Nachschrift.

Die Versuche mit inneren und äusseren *Bonellia*-Geweben konnten inzwischen weiter vervollständigt werden, wobei die früher erhaltenen Resultate sehr gut bestätigt wurden.

Versuche mit Paramäcien.

1. Die Trockensubstanz der Uteruswand (Bereich, wo sich die Männchen aufhalten), ebenso das Trockenmaterial der im Uterus enthaltenen Eier selbst übt auf Paramäcien keinen schädlichen Einfluss aus, auch nicht bei Anwendung sehr starker Konzentration (1 : 500).

2. Die Trockensubstanz des Hautmuskelschlauches der weiblichen *Bonellia* nach Entfernung der grünen Epidermis ist ganz unschädlich (Konzentration 1 : 700).

3. Trockensubstanz der abgekratzten Rumpfepidermis allein zeigte die schon bekannte Giftigkeit und tötete die Probestiere in 2—5 Minuten (Konzentration 1 : 600).

Versuch mit *Bonellia*-Männchen.

Sechs *Bonellia*-Männchen wurden in eine Lösung von 700 Teilen Seewasser und ein Teil Hautmuskelschlauch ohne Epidermis (Trocken-

substanz) wie in Paramäcienversuch Nr. 2 eingesetzt. Die Männchen wurden nicht geschädigt, obschon die angewandte Konzentration die wirksame Giftkonzentration und obgleich die Versuchsdauer — 42 Stunden — diejenige der Giftversuche weit überstieg.

Ich möchte der Verwaltungskommission des Theodor Kocher-Fonds für die weitgehende Unterstützung aus den Mitteln dieser Stiftung den besten Dank aussprechen.

