



Title	Studien über die physikalische und chemische Beschaffenheit des Pferdespermas mit besonderer Berücksichtigung der Physiologie der Spermatozoen
Author(s)	YAMANE, Jinshin
Citation	Journal of the College of Agriculture, Hokkaido Imperial University, Sapporo, Japan, 9(2), 161-236
Issue Date	1921-02-28
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/12551
Type	bulletin (article)
File Information	9(2)_p161-236.pdf



[Instructions for use](#)

**Studien über die physikalische und chemische Beschaffen-
heit des Pferdespermas mit besonderer Berücksichtigung
der Physiologie der Spermatozoen**

VON

Jinshin Yamane

(Hierzu 27 Tabellen und 2 Tafeln)

Einleitung.

Bekanntlich stellt das Sperma beim Menschen und beim Säugetiere eine Suspension der Spermatozoen in einem Sekretgemisch der akzessorischen Geschlechtsdrüsen dar. Trotz der wichtigen Bedeutung des Spermas für die Zeugungsvorgänge sind seine physikalischen und chemischen Eigenschaften merkwürdigerweise bisher nur äusserst spärlich und wenig eingehend erforscht worden, sehr im Gegensatz zu den anderen Körperflüssigkeiten und Ausscheidungen wie Blut, Harn, Milch usw., deren Kenntnis in den letzten Jahrzehnten in erstaunlichem Masse erweitert worden ist. Auch in bezug auf die Physiologie der Spermatozoen, als den wichtigsten Formelementen des Spermas, finden wir, dass noch sehr divergierende Ansichten herrschen, obschon die Frage nach den physiologischen Prozessen, die sich zwischen der natürlichen und der künstlichen Suspendierflüssigkeit und den Spermatozoen abspielen, seit dem Erscheinen der klassischen Arbeit KÖLLIKERS oft Gegenstand vielseitiger Forschungen gewesen ist. Der Hauptgrund dieser Uneinigkeit liegt zweifellos darin, dass die physikalische und chemische Beschaffenheit des Spermas uns bisher wenig bekannt war, und dass man die physiologischen Experimente nicht rationell ausführen konnte. Man sollte die Beschaffenheit des Spermas kennen lernen, ehe man in die Physiologie der Spermatozoen einzudringen versucht.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass diese spermatologischen Untersuchungen heutzutage vom Standpunkte der Zeugungsphysiologie, sowie der allgemeinen Zellenphysiologie aus nicht mehr zu vernachlässigen

sind. Nicht minder ist ihre Bedeutung für die züchterische Praxis, die mit der Sterilität, der künstlichen Befruchtung usw. viel zu tun hat.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist nun, die physiologischen und chemischen Eigenschaften des Spermas zu studieren, ferner, darauf stützend, die Physiologie der Spermatozoen einer eingehenderen Betrachtung zu unterziehen.

Als Versuchstier habe ich das Pferd benützt, weil die Gewinnung einer relativ grossen Menge reinen Spermas sich bei diesem Tiere mit Leichtigkeit ausführen lässt, und weil die erhaltenen Ergebnisse für die Züchter von praktischer Bedeutung sind.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden vom Frühling 1916 bis zum Frühling 1919 im zootechnischen Institute der Hokkaido Universität zu Sapporo ausgeführt und werden immer noch fortgesetzt.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. H. ISHIKAWA, Direktor des physiologischen Institutes der kaiserlichen Universität zu Kyoto, welcher mir die Anregung zu dieser Arbeit gegeben hat, für die vielen Ratschläge, die er mir bei der Ausführung der Untersuchungen angedeihen liess, sowie für die liebenswürdige Gastfreundschaft, die er mir während meines Aufenthaltes im dortigen Institute im Winter 1917 erwies, meinen herzlichsten Dank aussprechen. Auch halte ich es für meine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern Herrn Prof. Dr. S. HASHIMOTO und Herrn Prof. Dr. K. OGURA am zootechnischen Institute der Hokkaido Universität zu Sapporo für die wohlwollende Freundlichkeit, mit der sie mir mit Rat und Tat zur Seite standen, meinen wärmsten Dank auszusprechen. Was den chemischen Teil der Arbeit anbelangt, so schulde ich Herrn Assist.-Prof. K. TAKEHARA an derselben Universität für freundliche Ratschläge meinen besten Dank.

Gewinnung des Spermas.

Die Gewinnung des ejakulierten Spermas kann beim Pferde auf verschiedene Weise erfolgen, nämlich :

1. durch das Aufsaugen des normal in die Scheide entleerten Spermas mittels einer Spritze,
2. durch Auffangen des durch Coitus interruptus ausser der Scheide ejakulierten Spermas in ein Gefäss,
3. durch die IWANOFFSche Methode, indem man vorher einen Schwamm in die Scheide einführt, das ejakulierte Sperma aufsaugen lässt und es dann herauspresst,
4. durch Auffangen des Spermas in ein Kondom bei Coitus condomatus.

Für unsere Untersuchungszwecke sind jedoch nicht alle Methoden anwendbar. Es ist ohne weiteres ersichtlich, dass die ersteren zwei Methoden wegen der Schwierigkeit der Manipulationen, des mangelhaften Auffangens des ganzen Quantums, sowie nicht zu vermeidender Verunreinigung des Spermas nicht zweckmässig sind. Die von IWANOFF (1907) vorgeschlagene Schwammethode bietet ohne Zweifel durch ihre leichte Anwendbarkeit und Sicherheit des Auffangens des Spermas gewisse Vorteile für die Praxis und dies nicht nur beim Pferde, sondern auch bei allen anderen Haussäugetieren. Wenn es sich aber um wissenschaftliches Untersuchungsmaterial handelt, so ist diese Methode nicht einwandfrei. Die Bestimmung des richtigen Quantums des ejakulierten Spermas ist schwer durchzuführen, weil nicht anzunehmen ist, dass der eingeführte Schwamm das Sperma restlos aufsaugt, und weil der Verlust einer gewissen Quantität auch beim Pressen unvermeidbar ist. Besonders in den Fällen, wo die Spermaentleerung in geringer Quantität stattfindet, wird der Prozentsatz des verlorenen Spermas ziemlich gross. Ferner verhält sich der mit Sperma erfüllte Schwamm beim Pressen einigermassen wie ein Filter, weil eine Unzahl von Spermatozoen in den Gerüsten des Schwammes zurückbleibt, während die Zwischenflüssigkeit herausfliesst. Aber noch schwerwiegender ist die Tatsache, dass die Spermatozoen durch diese Behandlung ihre Lebenskraft einbüßen können; bei meinen Untersuchungen kam es wiederholt vor, dass die durch die Schwammethode gesammelten Spermatozoen sehr häufig wenig energische Bewegungen ausführten oder abnorme Figuren (sogen. Ösenbildungen) zeigten. Alle diese Möglichkeiten können zu

falschen Ergebnissen führen. Ausserdem ist dabei keine Gewähr geboten, dass nicht Beimengungen von Scheidensekreten stattfinden.

Aus diesen Gründen habe ich in allen meinen Experimenten die Kondommethode benützt. Dadurch wird die ganze Manipulation einfach und bequem, und sowohl die Quantität als auch die Qualität des gewonnenen Spermas ist viel zuverlässiger als bei der vorigen Methode. Über die Kondommethode spricht sich IWANOFF (1907) folgendermassen aus: „Au commencement, pour recueillir du sperme, je me servais de préférence d'un condon en caoutchouc, ayant la forme d'un capuchon. Avec quelque habitude et quelque adresse des palméniers, on arrive sans difficulté à enfiler le condon sur le penis de l'étalon, le fixer avec un anneau de caoutchouc et l'enduire d'huile d'olive. Ce procédé a ses avantages, car dans ce cas, il n'y a aucune déperdition de sperme; cependant, ce procédé présente aussi ses inconvénients. Il faut que la matière dont est fait le condon, soit très mince et très solide, car il peut se déchirer. Enfin, tous les étalons ne se laissent pas mettre le condon; il est absolument non applicable aux étalons dont le penis est doué d'une grande sensibilité, car souvent il suffit du plus léger contact pour que l'érection disparaisse.“ Ein grosser Nachteil dieses Verfahrens besteht in der Tat darin, dass der Kondom, dessen Material recht weich bzw. dünn sein muss, leicht zerreissbar ist¹⁾. Dieser Nachteil aber kann durch Verbesserung des Kondoms beseitigt werden, indem man ihn folgenderweise aus einer Rindsblase herstellt.

Man nehme eine möglichst lange Harnblase des Rindes, die man im Schlachthof leicht bekommen kann. Wünschenswert ist, dass die Blase etwa 35–40 cm lang ist, denn der hergestellte Kondom muss mindestens über 20 cm lang sein. Vom untern Teil der frischen Blase wird etwa $\frac{1}{3}$ oder $\frac{1}{4}$ der ganzen Länge derart abgeschnitten, dass sie über die Glans des erigierten Penis gestülpt werden kann. Sie wird mit Wasser sorgfältig gewaschen, darnach in mittelstarke Kochsalzlösung gebracht, worauf die Schleimhaut mit einem Skalpell abgekratzt wird. Hierauf wird die Blase wieder mit Wasser tüchtig gewaschen. Schliesslich wird sie an ihrem Schnitttrande mit einem langen Zugband versehen, welches die Blase beim Deckakt in der richtigen Lage erhält und das Herausziehen erleichtert. Man versäume nicht, den Kondom nach der Herstellung, sowie auch nach dem Gebrauch in der Luft

1) Nach vielfachen Untersuchungen mit verschiedenen Materialien soll LEWIS (1911) die besten Erfolge mit Gummisäcken erzielt haben.

schnell trocknen zu lassen, um ihn vor dem Verfaulen zu bewahren. Eine zweckmässig behandelte Blase ist stark, dauerhaft und kann gewöhnlich etwa 5-6 mal gebraucht werden; eine Blase diente mir sogar 18 mal. Der getrocknete Blasenkondu wird vor dem Gebrauch in destilliertes Wasser getaucht. Nachdem er die volle Erweichung erreicht hat, wird er zuerst mit der Hand gepresst und dann mit Verbandwatte abgewischt. Was die Desinfektion des Kondoms anlangt, so ist zu sagen, dass sie hier nicht besonders notwendig ist; in meinen Untersuchungen, bei denen die Samengewinnung über 100 mal geschah, zeigte sich kein Fall von Ansteckung auf der weiblichen Seite. Wenn man aber mit einer wertvollen Stute arbeitet und der blossen Möglichkeit der Ansteckung aus dem Wege zu gehen wünscht, so ist es ratsam, die Aussenfläche des Kondoms mit Borsalbe zu bestreichen.

Beim Gebrauch ist starke Schnürung des Kondombandes zu vermeiden, weil dies beim Hengste die Schwächung der Decklust verursacht und überhaupt wegen des charakteristischen Baues der Glans penis unnötig ist.

Um die Samenflüssigkeit rein zu erhalten, ist es vor allem wichtig, den Penis mit warmem Wasser zu waschen und vom Smegma zu befreien. Dagegen ist die Reinigung der weiblichen Geschlechtsteile nicht so wichtig.

Der gewonnene Kondominhalt wird bis zum letzten Tropfen in ein Becherglas gegossen, dann in einer Flasche gesammelt und unter Vermeidung des direkten Sonnenlichtes ins Laboratorium transportiert. Bei meinen Versuchen dauerte der Transport des Spermas von der Farm bis zum Laboratorium nicht mehr als 5 Minuten. Hierauf werden die gelegentlichen Beimengungen wie z. B. Haare, Smegma usw. durch ein Seidentuch vom Sperma abfiltriert. Das so erhaltene Sperma wurde als Untersuchungsmaterial benützt.

Hinzuzufügen wäre noch, dass man erst durch das Zentrifugieren findet, wie schwierig die Gewinnung absolut reinen Spermas ist; denn trotz der angewandten Mühe liegt immer eine kleine grauliche Menge Smegma in der untersten Schicht des Bodensatzes.

Versuchstiere.

Für die Gewinnung des Spermas dienten mir als Versuchstiere hauptsächlich zwei Hengste von gleichem Alter und fast gleicher Grösse, nämlich "Shinden" und „Yunai.“ Diese beiden Hengste wurden bis

zu ihrem 7. Lebensjahre in einem staatlichen Gestüte als Beschäler benützt.

Um allfällige Variationen in bezug auf Individualität, Rasse, Alter usw. zu erkennen, kamen anfänglich 6 weitere Hengste und ein Esel zur Verwendung.

Bezüglich der Namen, des Alters, der Rasse, usw. gibt folgende Tabelle Aufschluss.

Zeichen und Namen der Hengste		Rasse	Höhe am Widerrist cm	Körpergewicht kg	Geboren im Jahre	Geburtsort
A	Shinden	Hackney-Kreuzung	150.5	392	1906	Ohu-Gestüt (Aomori-Provinz)
B	Yunai	Angloaraber-Kreuzung	154.5	422	1906	„ („)
C	Toruko	Araber	145.7	347	1893	Türkei
D	Seishi	Amerikanischer Traber	156.0	540	1909	Iwate-Provinz
E	Mormon VII.	Vollblut	156.0	450	1907	Makomanai-Gestüt(Hokkaido)
F	Ambition	Anglonormänner	157.5	427	1909	Hitaka-Gestüt („)
G	Acquill	Anglonormänner	161.0	619	1909	„ („)
H	Esashi	Hokkaido-Landrassen	136.0	300	1907	Hokkaido
I	Peking	Esel	128.0	204	1899	China

Der Bequemlichkeit halber werden die Tiere im Text nicht mit ihren Namen, sondern mit den in dieser Tabelle angegebenen Buchstaben bezeichnet. Dabei ist jedes Sperma noch mit einer Ziffer (Seriennummer) versehen.

TEIL I.

Physikalische und chemische Beschaffenheit des Spermas.

1. Das Sperma als ein Gemenge von Spermatozoen und Sekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen.

a) Allgemeine Beschaffenheit des Spermas.

Das Sperma ist bekanntlich ein Gemisch von Sekreten der Hoden, Nebenhoden, Samenleiter, Samenblasen, Prostata und COWPERSchen Drüsen, weshalb seine Qualität ziemlich grosse Variationen aufweist.

Obschon das Sperma, wie es von BROESIKE (1911) für den Menschen und von IWANOFF (1917) für Pferde und Hunde gezeigt worden ist, in verschiedenen, deutlich getrennten Akten ejakuliert wird, tritt der Kondominhalt gewöhnlich sehr homogen auf; er zeigt keine Selbständigkeit irgend eines Drüsensekretes. Das Sperma des Pferdes ist im allgemeinen dünnflüssig, bildet beim Schütteln mit Luft einen sehr schwer verschwindbaren Schaum und hat einen salzigen Geschmack. Das frische Sperma hat einen eigentümlichen, aber nicht unangenehmen Geruch, der an Pferdeharn erinnert; bei seiner Zersetzung wird jedoch der Geruch stechend und furchtbar unangenehm. Die Reaktion ist gegen Lackmus und Methylorange alkalisch, aber gegen Phenolphthalein neutral. Die Farbe des Spermas ist milchweiss; mit Beimengungen, wie Smegma, wird sie grauweiss oder bräunlichweiss. Daraus erkennt man schon, ob das vorliegende Sperma rein oder nicht rein ist. Dieses milchige Aussehen des Spermas rührt einerseits von den darin suspendierten Spermatozoen und andererseits von den Eiweissstoffen der Zwischenflüssigkeit her.

Beim Stehen des Spermas sinken die Spermatozoen allmählich zu Boden, und nach einigen Stunden trennt sich die weisse Spermatozoenmasse von der fluoreszenten Zwischenflüssigkeit ab. Daher ist es wichtig, dass man beim Arbeiten mit Sperma, sei es für die chemische Analyse oder sei es für die biologische Untersuchung, dieses zuerst sorgfältig durchschüttelt.

b) Menge des Spermas.

Die bei einer Ejakulation abgegebene Spermamenge schwankt innerhalb weiter Grenzen; nach IWANOFF (1907) soll sie im günstigen Falle bis zu 300 ccm betragen, aber gewöhnlich sind es nur 50–100 ccm.

Um dieses Verhältnis festzustellen habe ich die Mengen, welche von den zwei Hengsten A und B in einem Zeitraum von 3 Jahren gewonnen wurden, in der folgenden Tabelle zusammengestellt¹⁾:

1) Auf je 5 ccm auf- oder abgerundet.

TABELLE I.

Häufigkeit der Ejakulation	Hengst	Spermamenge in ccm																	Summa				
		30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110		115	120	125	130
A		1	5	7	6	5	4	4	4	1	0	4	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	45
B		0	0	2	5	6	7	11	6	9	2	6	1	3	2	5	0	0	1	0	0	1	67

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt, dass die zeitliche Variation bei verschiedenen Ejakulationen bei ein und demselben Individuum viel grösser ist als die individuellen Unterschiede.

Obgleich MISLAWSKY und BORMANN (1899) das Alter des Tieres als Hauptfaktor der Mengenvariation des Spermias vermuteten, so ist bei mir kein nennenswerter Unterschied zwischen jungen und alten Tieren wahrzunehmen¹⁾.

Einige Forscher beobachteten, dass die Spermamenge sich durch die kurz nacheinander wiederholten Deckungen verringert. So fand LEWIS (1911), dass ein Hengst, der täglich einmal deckte, 65 ccm am ersten Tage der Versuche und nur 5 ccm Sperma am neunten Tage und nach 18-tägiger Pause wieder 60 ccm produzierte. Nach Beobachtungen IWANOFFS (1907) produzierte ein Hengst, nach langer Ruheperiode, am ersten Tage 11 ccm Sperma, aber 3 Stunden darnach trat trotz Deckung keine Ejakulation ein. Am zweiten Tage gab dieser Hengst bei den in 3-stündiger Zwischenzeit nacheinander erfolgten Ejakulationen 33, 30 und 28 ccm Sperma, am dritten Tage mit einem Intervall von $3\frac{1}{2}$ Stunden 20, 30, und 18 ccm, und am vierten Tage mit einem Intervall von 2 Stunden 30, 30, 25 und 40 ccm.

In verschiedenen Reihen meiner Versuche, bei denen die Hengste A und B einmal täglich und zwar mit einem Intervall von gerade 24 Stunden 5-8 Tage lang zur Deckung benützt wurden, konnte jedoch festgestellt werden, dass die Spermamenge trotz aufeinander folgenden Deckungen in solchen Zwischenräumen nicht beträchtlich sinkt (A_4 - A_{11} , B_4 - B_{11} in der Tabelle II, A_{35} - A_{39} , B_{35} - B_{42} in der Tabelle VII, und B_{31} - B_{36} in der Tabelle X), und ferner, dass selbst eine lange Pause nicht immer die Steigerung der Spermamenge bewirkt. Dieses Ergebnis steht wohl mit den Beobachtungen von LODE (1891) am Hunde und Menschen in Übereinstimmung, wornach die Menge des

1) Die Menge der Spermatozoen wird hierbei nicht betroffen, wie später bestätigt wird.

Spermas bei den an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführten Samenentziehungen ohne erkennbare Gesetze variiert. Darüber vergleiche man die Spermamenge und die Data der Spermagewinnung in der Tabelle II.

Selbst bei täglich zweimaliger Deckung wurde die Menge des Spermas auch noch nicht merkbar vermindert; doch ergab jeweils die erste Ejakulation die grössere Menge. Eine Versuchsreihe mit dem Hengste B zeigt dieses Verhältnis; so produzierte dieser Hengst zuerst 70 ccm, 7 Stunden darnach 45 ccm, 17 Stunden darnach 95 ccm, wieder 7 Stunden darnach 50 ccm, und wieder 17 Stunden später 90 ccm, zuletzt 10 Minuten darnach 40 ccm Sperma (vergleiche B₃₀-B₃₅ in der Tabelle XIII).

Jedenfalls ist soviel sicher, dass die Spermamenge bei Deckungen von solcher Häufigkeit, wie sie in der Praxis die Regel bildet, nicht wesentlich beeinflusst wird.

c) Spezifisches Gewicht des Spermas und sein Gehalt an Trockensubstanz.

SLOWTZOFF (1902 und 1917) ist wohl der einzige Autor, der über die chemische Zusammensetzung des Spermas vom Menschen und einigen Haussäugetieren eingehende Studien angestellt hat.

Um die physiologisch wichtige Frage nach der Wirkung der in der Zwischenflüssigkeit des Spermas vorhandenen Substanzen zu beantworten, haben die Analysenresultate des Spermas im ganzen wenig Bedeutung; man muss vielmehr die Spermatozoen und die Zwischenflüssigkeit getrennt behandeln. Aus diesem Grunde gebe ich hier nur die Bestimmung des spezifischen Gewichtes und des Gehaltes an Wasser und die Trockensubstanz des Spermas.

Das spezifische Gewicht wurde mittels des Pyknometers von 25 oder 10 ccm Inhalt bei 18°C ermittelt. Die Bestimmung der Trockensubstanz geschah mittels einer kleinen Porzellanschale, die mit Wasser, dann Alkohol und zuletzt mit Äther gereinigte Ziemssteinchen enthielt. Die Ergebnisse der Bestimmungen sind in der folgenden Tabelle angeführt:

TABELLE II.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Sperma- menge ccm	Spezifisches Gewicht (18° C)	Sperma		Trocken- substanz %	Wasser %
				frisch g	getrocknet g		
A ₁	15. Mai '16.	115	1.0124	5.0878	0.1302	2.5591	97.4409
A ₂	5. Juni „	100	1.0139	5.5920	0.1736	3.1044	96.8956
A ₄	1. Juli „	50	1.0130	5.3116	0.1600	3.0123	96.9877
A ₅	2. „ „	45	1.0117	4.6370	0.1210	2.6095	97.3905
A ₆	3. „ „	55	1.0108	5.2020	0.1148	2.2068	97.7932
A ₇	4. „ „	65	1.0100	4.6248	0.0828	1.7860	98.2140
A ₈	5. „ „	65	1.0104	4.1816	0.0842	2.0136	97.9864
A ₉	6. „ „	65	1.0109	5.0140	0.1106	2.2059	97.7941
A ₁₀	7. „ „	45	1.0111	6.3666	0.1520	2.3874	97.6126
A ₁₁	8. „ „	55	1.0107	5.5860	0.1458	2.6101	97.3899
A ₁₂	23. „ „	70	1.0127	4.9136	0.1398	2.8452	97.1548
A ₁₄	14. Aug. „	80	1.0142	4.9240	0.1784	3.6230	96.3770
*B ₁	24. Mai „	45	1.0184	6.8780	0.3526	5.1262	94.8738
*B ₂	6. „ „	50	1.0167	7.8150	0.3484	4.4581	95.5419
B ₄	1. Juli „	115	1.0131	6.7254	0.2234	3.3217	96.6783
B ₅	2. „ „	60	1.0129	9.6398	0.2970	3.0810	96.9190
B ₆	3. „ „	100	1.0108	4.9950	0.1086	2.1741	97.8259
B ₇	4. „ „	60	1.0116	5.1166	0.1286	2.5134	97.4866
B ₈	5. „ „	65	1.0122	3.5270	0.0960	2.7218	97.2782
B ₉	6. „ „	75	1.0124	5.0024	0.1370	2.7387	97.2613
B ₁₀	7. „ „	85	1.0114	4.9980	0.1218	2.4369	97.5631
B ₁₁	8. „ „	50	1.0121	7.5660	0.2334	3.0848	96.9152
B ₁₂	24. „ „	50	1.0134	4.7606	0.1552	3.2601	96.7399
B ₁₃	26. „ „	55	1.0145	10.3166	0.3776	3.6631	96.3399
B ₁₄	14. Aug. „	65	1.0155	4.9488	0.1872	3.7827	96.2173
B ₁₈	4. Okt. „	80	1.0129	4.8280	0.1298	2.6884	97.3116
**C ₁	6. Mai „	45	—	19.9464	0.5480	2.7474	97.2526
**C ₂	16. Juni „	180	1.0139	10.3200	0.3280	3.1783	96.8217
D	18. Mai „	125	1.0129	14.3218	0.3852	2.6896	97.3104
*E	25. „ „	60	1.0206	6.4770	0.3504	5.4099	94.5901
F	16. „ „	40	1.0144	5.1010	0.2016	3.9522	96.0478
*G	16. „ „	30	—	8.7514	0.4560	5.2106	94.7894
H	26. „ „	55	—	8.4952	0.3414	4.0187	95.9813
Eselsperma	2. Juni „	60	1.0167	17.4740	0.7484	4.2829	95.7171

* Diese Proben waren mit Smegma vermengt, sehr bräunlich und daher nicht bei der Bestimmung des Durchschnittwertes verwendbar.

** Die Beschaffenheit dieser beiden Proben ist von den anderen etwas verschieden, sodass sie später als abnormes Sperma getrennt beschrieben werden.

Das spezifische Gewicht bei 18°C schwankt demnach beim Hengste A zwischen 1.0100–1.0142, beim Hengste B zwischen 1.0108–1.0155 und beträgt im Durchschnitt beim Hengste A 1.0118, beim Hengste B 1.0127. Die Menge der Trockensubstanz schwankt beim Hengste A von 1.7860 bis 3.6230 und beim Hengste B von 2.1741 bis 3.7827; sie ist im Mittel beim Hengste A 2.5803, beim Hengste B 2.9553. Die beträchtliche Beimengung von Smegma, welches dem Sperma ein bräunliches Aussehen gab, liess das spezifische Gewicht über 1.0167 und die Trockensubstanz über 4.4581 ansteigen. Die bei den anderen Hengsten sowie bei einem Esel gefundenen Werte stimmen im grossen und ganzen mit den obigen überein.

Die zeitliche Variation des spezifischen Gewichtes sowie der Trockensubstanz ist viel grösser als die individuelle Variation. Bei den mit 24-stündigem Intervall wiederholten Deckungen, nämlich bei A₄–A₁₁ und B₄–B₁₁, vermindern sich sowohl das spezifische Gewicht als auch die Trockensubstanz am 3. oder 4. Tage deutlich, um nachher etwas zuzunehmen. Diese erniederten Werte des spezifischen Gewichtes und der Trockensubstanz, die durch aufeinander folgende Deckungen verursacht worden sind, können nach mehrtägiger Pause sich wieder erhöhen.

Bemerkenswert ist noch, dass die Spermamenge mit dem spezifischen Gewicht sowie mit dem Gehalt an Wasser nicht viel zu tun hat.

d) Zentrifugierung.

Zur Trennung der Spermatozoen von der Zwischenflüssigkeit wurde zuerst versucht, die Spermatozoen durch ruhiges Stehenlassen allmählich sinken zu lassen, oder durch ein Filter abzufiltrieren. In beiden Fällen war die Trennung zeitraubend und unvollständig. Dagegen erwies sich die Zentrifugierung als sehr zweckmässig, da die Spermatozoen durch 2-stündiges Zentrifugieren bei 2,500 Umdrehungen in der Minute aus dem Sperma vollständig abgeschleudert werden, wie es unter dem Mikroskop festgestellt werden konnte. Durch dieses Verfahren werden sowohl die Spermatozoen als auch die anderen Formelemente abgetrennt; doch bleibt immer noch eine geringe Menge der Prostatakörner im flüssigen Teile zurück. Die so gewonnene Flüssigkeit möchte ich bequemlichkeitshalber Spermaserum nennen.

2. Spermaserum.

a) Allgemeine Beschaffenheit.

Das Spermaserum des Pferdes ist normalerweise dünnflüssig, weisslich getrübt und deutlich fluoreszierend. Seine Farbenintensität läuft in der Regel mit der Konzentration der Eiweisskörper parallel; wird also die Ejakulation in kurzem Zeitabschnitte wiederholt, so fällt, wie später bewiesen wird, der Gehalt an Eiweisskörpern erheblich ab, und dementsprechend wird das Serum hell.

Der Geruch, Geschmack und die Reaktion des Serums stimmen selbstverständlich mit denjenigen des Spermas vollständig überein. Bei längerem Stehen scheidet sich im Serum ein leichtes Wölkchen ab.

b) Spezifisches Gewicht des Spermaserums und sein Gehalt an Trockensubstanz.

Diese Bestimmungen wurden an 11 Proben für je einen Versuchshengst vorgenommen und zwar in derselben Weise, wie dies beim Sperma als ganzem beschrieben wurde.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

TABELLE III.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Spezifisches Gewicht (18°C)	Spermaserum		Trockensubstanz %	Wasser %
			frisch g	getrocknet g		
A ₄	1. Juli '16.	1.0118	5.2188	0.1312	2.5140	97.4860
A ₅	2. „ „	1.0102	4.8156	0.1170	2.4296	97.5704
A ₆	3. „ „	1.0106	3.1236	0.0676	2.1642	97.8358
A ₇	4. „ „	1.0099	4.0810	0.0670	1.6417	98.3583
A ₈	5. „ „	1.0103	5.0472	0.1008	1.9971	98.0029
A ₉	6. „ „	1.0107	5.0394	0.1098	2.1788	97.8212
A ₁₀	7. „ „	1.0110	3.8270	0.0908	2.3726	97.6274
A ₁₁	8. „ „	1.0104	4.4446	0.1146	2.5784	97.4216
A ₁₂	23. „ „	1.0124	4.8592	0.1276	2.6258	97.3742
A ₁₃	25. „ „	1.0121	4.5124	0.1142	2.5308	97.4692
A ₁₄	14. Aug. „	1.0138	4.8590	0.1616	3.3258	96.6742
Im Durchschnitt		1.0112			2.3963	97.6037

B ₄	1. Juli '16.	1.0124	5.0128	0.1434	2.8607	97.1393
B ₅	2. „ „	1.0120	4.6288	0.1268	2.7394	97.2606
B ₆	3. „ „	1.0106	3.4730	0.0750	2.1596	97.8404
B ₇	4. „ „	1.0112	4.3202	0.1078	2.4953	97.5047
B ₈	5. „ „	1.0120	3.6572	0.0944	2.5812	97.4188
B ₉	6. „ „	1.0122	3.2088	0.0872	2.7176	97.2824
B ₁₀	7. „ „	1.0113	5.8710	0.1378	2.3472	97.6528
B ₁₁	8. „ „	1.0119	4.5830	0.1258	2.8089	97.1911
B ₁₂	24. „ „	1.0127	4.8840	0.1384	2.8337	97.1663
B ₁₃	26. „ „	1.0143	5.0444	0.1726	3.4216	96.5784
B ₁₈	4. Okt. „	1.0125	4.8786	0.1256	2.5745	97.4255
Im Durchschnitt		1.0121			2.6854	97.3146

Das spezifische Gewicht des Spermaserums bei 18° C schwankt also beim Hengste A zwischen 1.0099–1.0138, beim Hengste B zwischen 1.0106–1.0143, und ist im Durchschnitt beim Hengste A mit 1.0112 und beim Hengste B mit 1.0121 anzunehmen. Der Gehalt an Trockensubstanz schwankt beim Hengste A zwischen 1.6417–3.3258, beim Hengste B zwischen 2.1596–3.4216, und beträgt im Durchschnitt beim Hengste A 2.3963 und beim Hengste B 2.6854.

c) Anorganische Bestandteile des Spermaserums.

Da nur eine Probemenge für die Bestimmung der anorganischen Bestandteile zu gering ist, so wurden je 30 ccm von den 11 Proben, deren spezifisches Gewicht und Trockensubstanz schon oben bestimmt worden sind, unter Zusatz von Toluol¹⁾ in eine Flasche mit gut geschliffenem Pfropf gegossen. Das Misch-Serum dürfte demnach beim Hengste A das spezifische Gewicht von 1.0112 und die Trockensubstanz von 2.3963%, und beim Hengste B das spezifische Gewicht von 1.0121 und die Trockensubstanz von 2.6854% besitzen.

Jedes Misch-Serum wurde in zwei gleiche Teile (I und II) geteilt und jede Hälfte in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade unter häufigem Umrühren zur Trockne eingedampft, hierauf wurde die Substanz im Trockenschrank bei 100°C getrocknet, mit der Spatel von der Schale genommen, in einem Quarzmörser zu Pulver gestossen und in einer gut schliessenden Flasche aufbewahrt.

1) 10 Tropfen Toluol pro 100 ccm Serum.

Die Analysen wurden bei diesen zwei Teilen getrockneter Substanz parallel ausgeführt. Die so gewonnene Substanz ist gelblich, hygroskopisch und besitzt einen geröstetem Krebsfleisch ähnlichen Geruch.

Jede zur Untersuchung dienende Substanzmenge wurde in einer Platinschale zuerst im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, um endlich verascht zu werden. Die Veraschung erfolgte stets bei kleiner Flamme, bis die ganze Substanz völlig verkohlt war. Nachher wurden die löslichen Stoffe mit kochendem Wasser wiederholt extrahiert, der kohlige Rückstand bei einer stärkeren Flamme verascht, und dann die mit Wasser aufgenommene lösliche Portion wieder in die Platinschale zurückgegeben, abgedampft und nochmals gegläht und gewogen.

Die Ergebnisse der Bestimmung der Aschenmenge sind in folgender Tabelle angeführt:

TABELLE IV.

	Teile der Mischung	Trockensubstanz g	Asche g	Aschenmenge, auf 100 Teile Trockensubstanz bezogen	
Misch-Serum vom Hengste A (Spezifisches Gewicht 1.0112, Trockensubstanz 2.3963%)	Ia	1.1067	0.4206	38.005	Im Durchschnitt 37.719
	Ib	2.0102	0.7613	37.872	
	IIa	0.8668	0.3258	37.586	
	IIb	1.9905	0.7447	37.411	
Misch-Serum vom Hengste B (Spezifisches Gewicht 1.0121, Trockensubstanz 2.6854%)	Ia	1.0836	0.3785	34.930	Im Durchschnitt 34.443
	Ib	2.1640	0.7385	34.126	
	IIa	2.1308	0.7377	34.621	
	IIb	1.9272	0.6571	34.096	

Die Aschenmenge beträgt also beim Hengste A auf die Trockensubstanz berechnet 37.719% und auf das frische Serum berechnet 0.904%, und beim Hengste B auf die Trockensubstanz berechnet 34.443%, auf das frische Serum berechnet 0.925%. Daraus kann man schliessen, dass die Aschenmenge des Spermaserums ziemlich konstant ist, und dass der Hauptfaktor, der die Zusammensetzung des Spermaserums so stark schwanken lässt, in den organischen Bestandteilen zu suchen ist.

Die so erhaltene Aschensubstanz ist reinweiss und löst sich ohne Rückstände in Salzsäure und Salpetersäure; ihre qualitative Analyse zeigte, dass die wasserlösliche Aschenportion Na, K, Mg, Ca, Cl, SO₃, und PO₄ enthält, während die wasserunlösliche Aschenportion Mg, Ca, CO₂, SO₃ und PO₄ enthält.

Für die quantitative Bestimmung der einzelnen anorganischen Bestandteile wurde ein Teil der Aschensubstanz (a) in Salpetersäure, der andere (b) in Salzsäure gelöst.

In dieser salpetersauren Lösung wurde zuerst das Chlor mit Silbernitrat als Chlorsilber gefällt; das Filtrat wurde zuerst mit Salzsäure versetzt, um das übermässig zugesetzte Silbernitrat zu befreien, und die Salzsäure abgedampft; hierauf wurde die Phosphorsäure nach dem Molybdänverfahren als Magnesiumpyrophosphat bestimmt. Der eine aliquote Teil der salzsauren Lösung wurde mit Ammoniak neutralisiert, dann mit Eisenchlorid und Ammoniumazetat versetzt, gelinde erwärmt und das ausgeschiedene Eisenphosphat abfiltriert. In diesem Filtrat wurde der Kalk durch Zusatz von Ammoniumoxalat ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit heissem Wasser gut gewaschen, geglüht und als Calciumoxyd gewogen; die Magnesia in diesem eingeengten Filtrat wurde als phosphorsaure Ammoniakmagnesia ausgefällt und die Pyrophosphorsäuremagnesia gewogen. In der anderen salzsauren Aschenlösung wurde die Schwefelsäure mittels Bariumchlorid gefällt und das Bariumsulfat bestimmt. Im Filtrat wurden die Alkalien, nachdem die Phosphorsäure und die Erdalkalien resp. mit Ammoniak, Ammoniumoxalat und Ammoniumkarbonat gefällt worden waren, zunächst als Chloralkalien bestimmt. Das Kali wurde als Kaliumplatinchlorid in eine gewogene Uhrschale gesammelt und gewogen, daraus das Chlorkalium berechnet und das berechnete Chlorkalium von den Gesamtchloralkalien abgezogen, um Chlornatrium zu erhalten.

Die diesbezüglichen Resultate sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt. Die Zahlen beziehen sich auf 100 Teile Asche.

TABELLE V.

	Misch-Serum vom Hengste A			Misch-Serum vom Hengste B		
	I _{ab}	II _{ab}	Im Durchschnitt	I _{ab}	II _{ab}	Im Durchschnitt
K ₂ O	13.258	13.567	13.413	13.221	13.574	13.398
Na ₂ O	38.086	35.968	37.027	38.308	37.913	38.111
CaO	3.941	4.745	4.343	3.611	3.805	3.708
MgO	1.333	2.417	1.875	1.718	1.416	1.567
SO ₃	2.432	2.118	2.275	1.962	1.774	1.868
Cl	48.931	47.841	48.386	48.834	48.933	48.884
P ₂ O ₅	3.638	4.071	3.855	3.908	3.872	3.890

Es ergibt sich daraus, dass auch die Aschenzusammensetzung ungeachtet der Herkunft des Spermas von einzelnen Individuen ziemlich konstant ist. Das Verhältnis von K und Na beträgt 1 : 2.5. Das Verhältnis von Ca zu Mg ist 3 : 1; dasselbe von P₂O₅ zu CaO 1 : 1. Die grösstmögliche Konzentration von NaCl beträgt 0.672 g pro 100 ccm frischen Serums.¹⁾

In der Samenzwischenflüssigkeit des Lachses fehlen nach MIESCHER (*zit.* in OPPENHEIMERS Handbuch, Bd. III. S. 349.) Erdalkalien und Phosphorsäure, was vom Spermaserum des Pferdes gründlich verschieden ist.

Wenn man diese Aschenzusammensetzung auf 1000 ccm frischen Serums berechnet, so erhält man :

TABELLE VI.

	Hengst A	Hengst B
K ₂ O	1.2259 g	1.2541 g
Na ₂ O	3.3843 „	3.5672 „
CaO	0.3970 „	0.3471 „
MgO	0.1714 „	0.1467 „
SO ₃	0.2079 „	0.1748 „
Cl	4.4225 „	4.5755 „
P ₂ O ₅	0.3523 „	0.3641 „

1) NaCl wurde aus Na₂O beim Hengste B berechnet, bei dem die Resultate der Doppelanalyse miteinander gut übereinstimmten.

Analytische Belege für die Aschenbestandteile
des Spermaserums.

Misch-Serum vom Hengste A.

I_a 0.21030 g Asche

0.4162 g	AgCl0.102902 g	Cl48.931%
0.0120 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.007651 g	P ₂ O ₅ 3.638%

I_b 0.30452 g Asche

0.0216 g	BaSO ₄0.007407 g	SO ₃ 2.432%
0.2080 g	K ₂ PtCl ₃0.040375 g	K ₂ O13.258%
0.218519 g	NaCl0.115982 g	Na ₂ O38.086%
		0.30452 g	Asche	
		0.012000 g	CaO 3.941%
0.0112 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.004059 g	MgO 1.333%

II_a 0.32580 g Asche

0.6304 g	AgCl0.015586 g	Cl47.841%
0.0208 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.013262 g	P ₂ O ₅ 4.071%

II_b 0.29788 g Asche

0.0184 g	BaSO ₄0.006310 g	SO ₃ 2.118%
0.2082 g	K ₂ PtCl ₃0.040414 g	K ₂ O13.567%
0.201857 g	NaCl0.107140 g	Na ₂ O35.968%
		0.44682 g	Asche	
		0.021200 g	CaO 4.745%
0.0298 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.010801 g	MgO 2.417%

Misch-Serum vom Hengste B.

I_a 0.37850 g Asche

0.7476 g	AgCl0.184842 g	Cl48.834%
0.0232 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.014792 g	P ₂ O ₅ 3.908%

I_b 0.29540 g Asche

0.0169 g	BaSO ₄0.005796 g	SO ₃ 1.962%
0.2012 g	K ₂ PtCl ₃0.039055 g	K ₂ O13.221%
0.213207 g	NaCl0.113162 g	Na ₂ O38.308%
		0.44310 g	Asche	
		0.016000 g	CaO 3.611%
0.0210 g	Mg ₃ P ₂ O ₇0.007611 g	MgO 1.718%

	II _a	0.36885 g Asche	
0.7300 g	AgCl	0.180487 g Cl	48.933%
0.0224 g	Mg ₂ P ₂ O ₇	0.014283 g P ₂ O ₅	3.872%
	II _b	0.26284 g Asche	
0.0136 g	BaSO ₄	0.004664 g SO ₃	1.774%
0.1838 g	K ₂ PtCl ₃	0.035678 g K ₂ O	13.574%
0.187750 g	NaCl	0.099650 g Na ₂ O	37.913%
		0.39426 g Asche	
		0.015000 g CaO	3.805%
0.0154 g	Mg ₂ P ₂ O ₇	0.005581 g MgO	1.416%

d) Organische Bestandteile des Spermaserums.

Über die organischen Bestandteile werden vorderhand nur die Ergebnisse der allgemeinen Analysen gegeben.

(A) Nachweis der Eiweisskörper.

1. Das mit Wasser 10 mal verdünnte Serum wurde unter Zusatz von Essigsäure bis zur neutralen oder minimal sauren Reaktion zum Sieden erhitzt¹⁾, filtriert und mehrmals mit verdünnter Essigsäure gewaschen. Dieser Rückstand war unlöslich im Überschuss von Essigsäure und gab nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure eine positive Furfurolreaktion von MOLISCH. *Muzin*.

Das Filtrat wurde mit Natriumkarbonatlösung neutralisiert und mit dem gleichen Volumen von kaltgesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt. Es fand deutlich eine Ausflockung statt, welche nach 24 Stunden abfiltriert wurde. Der Rückstand wurde zuerst mehrmals mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und dann mit Wasser aufgenommen. Diese Lösung zeigte beim Erhitzen unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Essigsäure eine leichte Trübung. . . . *Globulin*.

Das Filtrat der mit Ammoniumsulfat halbgesättigten Lösung wurde eingengt und halbiert; der eine Teil trübte sich beim Erhitzen mit einigen Tropfen von Essigsäure, der andere wurde durch Sättigung mit Ammoniumsulfat ausgefällt *Albumin*.

2. 5 ccm Serum wurden, wie oben ausgeführt, zuerst von Muzin befreit, mit Natriumkarbonat neutralisiert, und mit Ammoniumsulfat

1) Die Menge der zuzusetzenden Essigsäure ist unter Umständen sehr variabel. Gewöhnlich ist 0.5 ccm von 1%iger Essigsäure genug für 100 ccm Serum von 10maliger Verdünnung.

gesättigt, auf dem Wasserbade einige Sekunden gekocht und dann zentrifugiert. Nachdem die Flüssigkeit abgegossen worden war, wurde der Niederschlag in Alkohol aufgeschwemmt und von neuem ausgeschleudert; nach mehrmaliger Wiederholung dieses Auswaschens wurde der weisse flockige Niederschlag mit ein wenig Wasser zum Sieden erhitzt. Das koagulierte Eiweiss wurde nach 24 Stunden abfiltriert und das Filtrat eingengt. Diese Lösung gab eine positive Biuret- und Xanthoproteinreaktion, trübte sich beim Zusatz von verdünnter Essigsäure, aber löste sich im Überschuss derselben. Sie trübte sich auch bei der Sättigung mit Natriumchlorid, nachdem sie mit Essigsäure angesäuert worden war, und wurde mit Sublimat, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure ausgefällt.....Albumosen.

Aus diesen qualitativen Analysen geht hervor, dass als Eiweisskörper im Spermaserum nicht nur Muzin, Globulin und Albumin, sondern auch Albumosen zu finden sind.

Auf das Vorkommen der Albumosen im Sperma hat POSNER (1888, *zit.* in NEUBERGS Handbuch) zuerst beim Menschen aufmerksam gemacht und später auch SLOWTZOFF (1902). Der letztere Autor hat neulich dieselbe Substanz auch im Hunde- und Pferdesperma nachgewiesen und ihre Menge beim Pferde als 0.537% des frischen Spermas angegeben (1916).

(B) Nachweis des Zuckers.

10 ccm Serum wurden mit 100 ccm Wasser verdünnt, nach RITTHAUSEN ausgefällt¹⁾ und abfiltriert. Das ganz klare Filtrat wurde bis auf etwa 10 ccm eingedampft und auf TROMMERSche, ALUMEN-NYLANDERSche und MOLISCHSche Reaktionen geprüft; das Resultat blieb aber immer negativ.

Es ist nämlich kein Zucker im Spermaserum nachweisbar.

(C) Quantitative Bestimmung des Gesamtstickstoffes und des Ätherextraktes.

Um das Verhalten der Eiweisskörper im Spermaserum bei täglich aufeinanderfolgenden Deckungen annähernd zu erkennen, wurde der Gesamtstickstoff in je 10 ccm Serum nach der KJELDAHLSchen Methode bestimmt. Auch hier wurde die Bestimmung der Ätherextrakte in der anderen Portion derselben Probe mittels des SOXHLETschen Apparates

1) Die zuzusetzende Menge von Kupfersulfatlösung ist auch bei den verschiedenen Proben sehr verschieden, aber 5 ccm derselben ist gewöhnlich passend.

vorgenommen, nachdem je 10 ccm der Probe in der vorher abgewogenen, zerkleinerte Ziemsteinchen enthaltenden Porzellanschale zur Gewichtskonstanz getrocknet worden waren.

Die Resultate der Bestimmungen zeigen folgende Werte :

TABELLE VII.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Sperma- menge ccm	Frisches Serum g	Trocken- substanz g	Gesamt- stickstoff g pro 100 ccm Serum	Äther- extrakt g	Trocken- substanz %	Gesamt- stickstoff %	Äther- extrakt %
A ₃₅	2. Okt. '17	35	10.1068	0.3582	0.2746	0.0096	3.544	0.2717	0.0950
A ₃₆	3. " "	40	10.0604	0.2788	0.1919	0.0092	2.771	0.1907	0.0915
A ₃₇	4. " "	50	10.0678	0.2344	0.1527	0.0090	2.328	0.1517	0.0894
A ₃₈	5. " "	30	10.0510	0.2086	0.1205	0.0086	2.075	0.1199	0.0855
A ₃₉	6. " "	60	10.0408	0.1972	0.1010	0.0080	1.964	0.1006	0.0797
B ₃₈	2. Okt. '17	60	10.0940	0.3306	0.2628	0.0088	3.275	0.2623	0.0872
B ₃₉	3. " "	65	10.0702	0.2544	0.2144	0.0122	2.526	0.2129	0.1215
B ₄₀	4. " "	60	10.0640	0.2086	0.1975	0.0108	2.073	0.1963	0.1073
B ₄₁	5. " "	55	10.0392	0.2020	0.1135	0.0084	2.012	0.1131	0.0837
B ₄₂	6. " "	45	10.0472	0.1726	0.0981	0.0090	1.718	0.0976	0.0896

Die Eiweisskörper sind also relativ spärlich vorhanden und werden bei aufeinanderfolgenden Deckungen immer spärlicher. Da die Farbenintensität des Serums durch Eiweisskörper veranlasst wird, nimmt sie bei täglich wiederholten Deckungen dementsprechend ab; so bestand ein wesentlicher Unterschied in der Farbenintensität zwischen den Proben vom ersten und fünften Versuchstage.

Die Menge der Ätherextrakte ist ganz minimal; ihre Schwankungen scheinen auch von der Häufigkeit der Deckungen abhängig zu sein.

e) Alkaleszenz des Spermaserums.

Es ist schon seit langem bekannt, dass das menschliche Sperma deutlich alkalisch reagiert. Nach SLOWTZOFF (1902) entspricht die Menge des titrierbaren Alkalis 0.147–0.148% NaOH (Rosolsäure als Indikator). HIROKAWA (1909) fand dieselbe ziemlich schwankend; sie entspricht 0.20–0.45% NaOH (Lackmus als Indikator).

Wie oben angeführt, reagiert das Sperma, bzw. das Spermaserum des Pferdes gegen Lackmus und Methylorange alkalisch und gegen Phenolphthalein neutral. Um die Alkaleszenz des Spermaserums kennen zu lernen, wurde die Titration an zahlreichen Proben mit $N/20 \text{ H}_2\text{SO}_4$ unter Verwendung von Methylorange als Indikator ausgeführt, und zwar sogleich nach 2-stündiger Zentrifugierung des frischen Spermas.

Die Ergebnisse der Bestimmungen sind im Folgenden angegeben:

TABELLE VIII.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Die für 10 ccm Spermaserum verbrauchten ccm $N/20 \text{ H}_2\text{SO}_4$	Gesamtalkaleszenz entsprechend % NaOH
A ₂₄	19. Juni '17	6.33	0.127
A ₂₅	24. „ „	7.20	0.144
A ₂₆	26. „ „	4.05	0.081
A ₂₇	27. „ „	4.30	0.086
A ₂₈	17. Juli „	7.65	0.153
A ₂₉	19. „ „	4.89	0.098
A ₃₀	20. „ „	4.72	0.094
A ₃₁	21. „ „	4.89	0.098
A ₃₂	10. Aug. „	7.76	0.155
A ₃₃	11. „ „	5.00	0.100
A ₃₄	13. „ „	5.75	0.115
B ₂₃	7. Juni '17	7.19	0.144
B ₂₄	8. „ „	6.04	0.121
B ₂₅	9. „ „	5.80	0.116
B ₂₇	24. „ „	6.35	0.127
B ₂₈	25. „ „	4.90	0.098
B ₂₉	26. „ „	4.90	0.098
B ₃₀	27. „ „	4.30	0.086
B ₃₁	17. Juli 17	5.18	0.104
B ₃₂	18. „ „	4.19	0.084
B ₃₃	19. „ „	4.03	0.081
B ₃₄	20. „ „	6.67	0.133
B ₃₅	21. „ „	6.90	0.138
B ₃₆	10. Aug. „	4.66	0.093
B ₃₇	11. „ „	4.03	0.081

Die titrierbare Alkalimenge des Spermaserums schwankt also innerhalb weiter Grenzen; beim Hengste A entspricht diese 0.081–0.155% NaOH, beim Hengste B 0.081–0.144% NaOH. Allerdings ist diese Menge überhaupt niedriger als beim menschlichen Sperma.

Das Resultat zeigt überdies, dass das titrierbare Alkali durch die täglich aufeinanderfolgenden Deckungen sich erheblich verringert.

HENDERSON (1909) fand, dass das Blutserum trotz der Beseitigung der Bikarbonate und Phosphate durch Dialyse eine ziemlich reichliche Menge von NaOH benötigt, um die Farbe der Rosolsäure zu verändern. Es fragt sich nun, ob ein analoges Verhältnis auch im Spermaserum zu finden ist. Dazu wurden 20 ccm Spermaserum unter Toluolzusatz und unter gelegentlicher Beigabe von 1%iger Kochsalzlösung¹⁾ dialysiert, bis das Dialysat keine Reaktion von Phosphorsäure mehr zeigte. Die nichtdialysierbare Portion wurde wie das normale Serum mit N/20 H₂SO₄ gegen Methylorange titriert, die gefundene Zahl für 10 ccm Serum umgerechnet und mit der Gesamtalkaleszenz verglichen.

TABELLE IX.

Nummer vom Sperma	Volumen des Spermaserums ccm	Verbrauchte ccm N/20 H ₂ SO ₄ für die Gesamtalkaleszenz	Verbrauchte ccm N/20 H ₂ SO ₄ für	
			die nichtdialysierbare Portion des Serums	die dialysierbare Portion des Serums
B ₄₅	10	7.70	2.35	5.35
B ₄₈	„	5.95	1.98	3.97
A ₄₃	„	4.90	1.58	3.32

Aus dem Vorstehenden erfolgt, dass ein beträchtlicher Teil der Säure für die nichtdialysierbare Portion, nämlich Eiweisskörper verbraucht wird, um die Farbe des Methylorange zu ändern. Diese Menge beträgt etwa 1/2–1/3 vom Gesamtalkali.

Es ist nun nicht mehr verwunderlich, dass die titrierbare Alkalimenge sich bei aufeinanderfolgenden Deckungen nach und nach erniedrigt, da diese vom Gehalt an Eiweisskörpern in hohem Grade beeinflusst wird, und da, wie schon erwähnt, die Eiweisskörper durch häufige Deckungen sich verringern.

1) Zusatz von 1%iger Kochsalzlösung bezweckt, den Inhalt des Dialysators immer in löslicher Form zu halten.

Da die titrimetrische Methode bekanntlich für die Bestimmung der aktuellen Alkaleszenz nicht zulänglich ist, sollte hier die quantitative Bestimmung des Wasserstoffions ausgeführt werden. Leider konnte ich die diesbezüglichen Untersuchungen noch nicht anfangen. Man kann aber so weit als richtig annehmen, dass die Reaktion des Spermaserums von der absoluten Neutralität nicht weit entfernt ist, weil die Versuche mit zwei Indikatoren, Neutralrot und *p*-Nitrophenol zeigten, dass die Wasserstoffionkonzentration immer in der Stärke von $N \times 10^{-7}$ sich befindet.

f) Gefrierpunktserniedrigung des Spermaserums.

Die Gefrierpunktserniedrigung des Spermas beträgt nach SLOWTZOFF (1916) für den Menschen 0.550° , für das Pferd 0.557° und für den Hund 0.603° . Beim Hunde ist sie nach POYARKOFF (1917) 0.59° .

Da diesbezügliche Untersuchungen vom physiologisch-experimentellen Standpunkte aus sehr wichtig sind, wurden zahlreiche Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigungen des Spermaserums mittels des BECKMANNschen Apparates vorgenommen. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten:

TABELLE X.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Gefrierpunktserniedrigungen des Spermaserums
A ₁₃	25. Juli '16	0.64°
A ₁₄	14. Aug. "	0.64°
A ₂₆	26. Juni '17	0.58°
A ₂₇	27. " "	0.57°
A ₂₈	17. Juli "	0.64°
A ₂₉	19. " "	0.60°
A ₃₀	20. " "	0.58°
A ₃₁	21. " "	0.63°
A ₃₂	10. Aug. "	0.61°
A ₃₃	11. " "	0.59°
A ₃₄	13. " "	0.61°
Im Durchschnitt		0.608°

B ₁	26. Juli '16	0.67°
B ₁₄	14. Aug. „	0.65°
B ₂₀	6. Okt. „	0.62°
B ₃₀	27. Juni '17	0.60°
B ₃₁	17. Juli „	0.61°
B ₃₂	18. „ „	0.63°
B ₃₃	19. „ „	0.60°
B ₃₄	20. „ „	0.61°
B ₃₅	21. „ „	0.63°
B ₃₆	10. Aug. „	0.58°
B ₃₇	11. „ „	0.64°
Im Durchschnitt		0.622°

Die Gefrierpunktserniedrigung des Spermaserums schwankt also zwischen 0.57°–0.64° beim Hengste A, und zwischen 0.58°–0.67° beim Hengste B, und beträgt durchschnittlich 0.608° beim Hengste A und 0.622° beim Hengste B. Somit ist der osmotische Druck des Spermaserums unter Umständen ziemlich variabel. Da aber die minimalen Werte bei beiden Hengsten stets höher als diejenigen des Blutes sind¹⁾, so lässt sich schliessen, dass das Sperma eine dem Blute gegenüber konstant hyperosmotische Flüssigkeit darstellt.

g) Kristallbildung des Spermas.

Es ist hier vielleicht der geeignetste Platz, über die im Pferdesperma vorkommenden Kristalle zu reden.

Wenn man einen Tropfen des Spermas auf dem Deckglas in der Luft trocknen lässt, so bekommt man ausnahmslos zahlreiche, schon mit unbewaffnetem Auge erkennbare, farblose farnblattartige Kristalle, die wegen ihrer ausserordentlich hygroskopischen Eigenschaft in der Feuchtigkeit leicht zerfallen. Diese Kristallbildung ist nicht an die Anwesenheit von Spermatozoen geknüpft, weil sie auch im Spermaserum

1) Der Durchschnittswert für das Blutserum des Pferdes ist nach HAMBURGERS Tabelle $\lambda = 0.564^\circ$.

auftritt, und zwar besitzen hier die Kristalle eine viel grössere Form (Fig. 5, Tafel V).

Dieselben Kristalle fand ich auch im Rinds- und Kaninchensperma, aber nicht im Katzensperma.¹⁾ Man kann sie ohne Schwierigkeit in der Weise rein darstellen, dass man das Spermaserum unter gelegentlichem Toluolzusatz dialysiert und das erhaltene Dialysat abdampft und trocknet.

Die so gewonnene Substanz zeigte gleichfalls farnblattartige Form und wurde beim Verbrennen auf Platinblech nicht verkohlt; sie ist nämlich anorganischer Natur. Weitere qualitative Nachweise zeigten, dass die vorliegenden Kristalle nichts anderes sind als die wasserlösliche Aschenportion des Spermaserums; sie besteht aus Na, K, Mg, Ca, Cl, SO₃, und P₂O₅. Ihre grosse Hygroskopizität ist zweifellos von CaCl₂ und MgCl₂ bedingt.

Es ist eine bekannte Tatsache, dass beim langsamen Eintrocknen des menschlichen Spermas die sog. BÖTTCHERSchen Spermakristalle sich bilden. Trotz der Ähnlichkeit des Bildungsmodus sind die vorliegenden Kristalle von den BÖTTCHERSchen gründlich verschieden, weil die letzteren nach FÜRBRINGER (1881) dem monoklinischen System angehören und prismatische und pyramidale, meist gewölbte flächige Formen darstellen und nach SCHREINER (*zit.* nach HAMMARSTEN) eine kristallisierte Verbindung von Phosphorsäure mit einer Base, dem Spermin C₂H₅N, sein sollen.

Ausser den kristallisierten Salzen treten keine, den BÖTTCHERSchen ähnliche Kristalle im Pferdesperma mehr auf. Bei seinen chemischen Untersuchungen des Pferdespermas konnte SLOWTZOFF (1916) das Spermin nicht finden. Auch angenommen, dass die BÖTTCHERSchen Kristalle dem Pferdesperma fehlen, kann man sagen, dass das Spermin sich im Pferdesperma nicht vorfindet.

Es erübrigt, noch etwas über die FLORENCEsche und die BARBERIOsche Reaktion hinzuzufügen. Die erste Reaktion besteht darin, dass man bei Zusatz von Jodjodkalilösung²⁾ zum menschlichen Sperma braun gefärbte mikroskopische Kristalle erhält, welche von vielen schon mit den TEICHMANNschen Kristallen verglichen, und von RICHTER (1897) und BOCARIUS (1902) als eine Verbindung von Cholin erkannt worden

1) Ob diese Kristallbildung für die Herbivoren charakteristisch ist, ist noch eine offene Frage.

2) Die Lösung wird derart hergestellt, dass man 1.65 g Jod und 2.56 g Jodkalium in 30 ccm Wasser löst.

sind. Bei der zweiten Reaktion treten durch Zusatz von Pikrinsäure kleine nadelförmige Kristalle auf, doch sind nach BARBERIO (1911) bezüglich ihres Vorkommens im Pferdesperma die Forscher noch uneinig.

Meiner Untersuchung nach tritt weder die FLORENCEsche, noch die BARBERIOSche Reaktion im Pferdesperma auf, und zwar ohne Rücksicht auf den frischen oder verdorbenen Zustand des Materials.

Es ist also wenigstens in einem Punkte der Kristallbildung eine grosse Verschiedenheit zwischen dem menschlichen und dem Pferdesperma zu erkennen.

3. Spermatozoen.

Die mikroskopische Untersuchung des ejakulierten Spermas zeigt, dass es normalerweise folgende morphologische Elemente führt:

- 1) Spermatozoen.
- 2) Prostatakörner.¹⁾
- 3) Leukozyten.
- 4) Epithelzellen.

Hier werden jedoch nur die Spermatozoen berücksichtigt.

a) Spezifisches Gewicht der Spermatozoen.

Die Spermatozoen sind schwerer als das Spermaserum und sinken deshalb in dieser Flüssigkeit unter. Es fragt sich zunächst, was das spezifische Gewicht der Spermatozoen ist. Dieses Studium ist natürlich nur insofern möglich, als man das spezifische Gewicht von Spermatozoenklumpen untersucht, da das einzelne Spermatozoon dafür viel zu klein ist. Der Spermatozoenklumpen wurde aus dem Absatz des zen-

1) Die Prostatakörner sind runde, farblose und homogene Gebilde, welche kaum die halbe Grösse eines roten Blutkörperchens zeigen. Sie kommen in ziemlich reichlicher Menge im Pferdesperma vor und bewegen sich tänzelnd und glitzernd im Gesichtsfelde umher; doch fehlt ihnen die Eigenbewegung. Über das Wesen der Prostatakörner ist beim Menschen vieles ausgesagt worden. Soweit meine mikrochemischen Untersuchungen reichen, bestehen die Prostatakörner des Pferdes nicht, wie FÜRBRINGER, POSNER und RAPPORT annahmen, aus Lecithin, weil sie in Alkohol und Äther nicht löslich sind und durch Osmiumsäure und Sudan III nicht gefärbt werden; ferner stellen sie weder Kalziumkarbonat noch Corpora amylacea dar, wie BERING (1905) meinte, weil sie weder beim Trocknen auskristallisiert werden, noch gegen die Jodschwefelsäure positiv reagieren. Doch gehe ich vor der Hand nicht soweit wie BJÖRING (1910), der sagt, dass viele Prostatakörner, vielleicht alle, Teilchen von Leukozyten im Prostatasekrete sind. BJÖRING bringt ein ausführliches Literaturverzeichnis über die Prostatakörner.

trifugierten Spermata in der Weise hergestellt, dass man die Spermatozoen der obersten Drittelsschicht des Absatzes mittels eines kleinen Löffels zusammenreicht, auf das Filtrierpapier bringt und darauf zu einem gerstenkorngrossen Klümpchen rollt. Da die anderen Formelemente wie Leukozyten und Epithelzellen bei der Zentrifugierung gewöhnlich viel schneller als die Spermatozoen abgeschleudert werden, und infolgedessen die meisten von ihnen in der Unterschicht bleiben, kann der so gewonnene Spermatozoenklumpen praktisch als rein angesehen werden.

Zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes von diesem Klumpen wurde das folgende von HAMMERSCHLAG herrührende Verfahren angewandt. Ein Spermatozoenklumpen wurde in ein Gemisch von Chloroform und Benzol von etwa dem spezifischen Gewichte 1.050 gebracht und die Mischung durch weiteren Zusatz von Chloroform oder Benzol derart kontrolliert, dass der Klumpen gerade in der Mitte der Mischlösung schweben konnte. Hierauf wurde das spezifische Gewicht der Mischung mit einem Aräometer bestimmt. Während des ganzen Versuches wurde die Mischung bei 18°C gehalten.

Die auf diese Weise an drei verschiedenen Präparaten gefundenen Zahlenwerte waren 1.096, 1.098 und 1.099. Daraus kann man schliessen, dass das spezifische Gewicht der Spermatozoen bei 18°C ungefähr zwischen 1.096-1.099 liegt.

b) Volumen- und Zahlenverhältnisse der Spermatozoen.

Die Feststellung der Zahlenverhältnisse der Spermatozoen im Sperma wurde zuerst von LODE (1891) beim Hunde und Menschen mittels des THOMA-ZEISSschen Blutkörperchenzählapparates vorgenommen. Nach seinen Ermittlungen sinkt die Zahl der Spermatozoen stetig, wenn die Spermaentziehungen an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt werden; dieselbe beträgt am 3. Tage kaum mehr als die Hälfte der Zahl vom 1. Versuchstage. Ferner wurde gefunden, dass der Gehalt an Spermatozoen bei den innerhalb weniger Stunden vorgenommenen Spermaentziehungen viel schneller sinkt und schon in der 3. Periode verschwindend klein wird. In der 4. Periode finden sich überhaupt keine Spermatozoen mehr.

Derartige Beobachtungen machte IWANOFF (1907) auch an einem Hengste, wornach bei häufig aufeinanderfolgenden Deckungen die Anzahl der Spermatozoen in einem Gesichtsfeld von über 50 bis auf 2 oder 3

herabsinkt (Vergrößerungsgrad ist jedoch nicht gegeben).

LEWIS (1911), dem wir die erste numerische Bestimmung der Spermatozoen beim Pferdegeschlecht verdanken, teilt mit, dass die Zahl der Spermatozoen in einem cmm bei einem Hengste, der täglich einmal deckte, am 1. Versuchstage 131,750 betrug, welche Zahl am 9. Tage bis auf 5,840 sich verminderte. Bei an aufeinanderfolgenden Tagen täglich zweimal wiederholten Deckungen, betrug die Zahl der Spermatozoen pro cmm Sperma zuerst 68,500 und im 20. Versuchsfalle 23,000.

Trotz der Angaben dieser genannten Autoren sind unsere Kenntnisse über die Zahlenverhältnisse der Spermatozoen im Sperma immer noch lückenhaft, auch sind die Volumenverhältnisse gar nicht berührt. Aus diesem Grunde habe ich zweierlei Bestimmungen angestellt.

i) Volumetrische Bestimmung.

10 ccm Sperma wurden in einem gut geeichten Reagensröhrchen 2 Stunden lang in der Zentrifuge, die 2,500 Umdrehungen in der Minute zeigte, zentrifugiert und dann das Volumen des Absatzes abgelesen. Falls die Absatzmenge zu gering war, um ihr Volumen zu messen, wurde dieselbe aus 2 bis 4 Reagensröhrchen in einem Röhrchen zusammengemischt und wieder in derselben Zeitdauer bei derselben Tourenzahl zentrifugiert, abgelesen und auf 10 ccm Sperma bezogen.

Da die abgeschleuderte Spermatozoenmasse, wie schon gesagt, von anderen Formelementen und Smegma, obschon sehr wenig, unvermeidlich begleitet ist, kann der so erhaltene Zahlenwert natürlich nicht absolut genommen werden. Trotzdem ist das Resultat für praktische Zwecke ausreichend, sodass man die Volumenverhältnisse der Spermatozoen in einem Ejakulat und dessen Veränderungen durch die häufigen Deckungen annähernd erfahren kann.

Für diesen Zweck wurden die Hengste A und B zuerst an 8 aufeinanderfolgenden Tagen und zwar mit 24-stündigen Ruhepausen decken gelassen, dann nach halbmonatlichem Unterbruch wieder an 2 Tagen. Die Resultate der volumetrischen Bestimmungen sind zum Vergleich mit der Spermamenge und dem spezifischen Gewichte in der folgenden Tabelle angegeben:

TABELLE XI.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Sperma- menge ccm	Spez. Gewicht (18° C)	Volumen der Spermatozoen pro 10 ccm Sperma in ccm	Gesamtvolumen der Spermatozoen in einem Ejakulate in ccm
A ₄	1. Juli '16.	50	1.0130	0.20	1.000
A ₅	2. " "	45	1.0117	0.13	0.585
A ₆	3. " "	55	1.0108	0.09	0.495
A ₇	4. " "	65	1.0100	0.07	0.455
A ₈	5. " "	65	1.0104	0.08	0.520
A ₉	6. " "	65	1.0109	0.08	0.520
A ₁₀	7. " "	45	1.0111	0.12	0.540
A ₁₁	8. " "	55	1.0107	0.09	0.495
A ₁₂	23. " "	70	1.0127	0.22	1.540
A ₁₃	25. " "	45	1.0125	0.20	0.900
B ₄	1. Juli '16.	115	1.0131	0.15	1.725
B ₅	2. " "	60	1.0129	0.22	1.320
B ₆	3. " "	100	1.0108	0.09	0.900
B ₇	4. " "	60	1.0116	0.09	0.540
B ₈	5. " "	65	1.0122	0.10	0.650
B ₉	6. " "	75	1.0124	0.13	0.975
B ₁₀	7. " "	85	1.0114	0.09	0.765
B ₁₁	8. " "	50	1.0121	0.09	0.450
B ₁₂	24. " "	50	1.0134	0.35	1.750
B ₁₃	26. " "	55	1.0145	0.23	1.265

Bei einmaliger Deckung pro Tag schwankt das Volumenverhältnis zwischen Spermatozoen und Sperma als ganzem innerhalb 0.007–0.020 beim Hengste A, und 0.009–0.035 beim Hengste B. Das absolute Volumen der Spermatozoen, welches bei einer Ejakulation abgegeben wird, schwankt beim Hengste A zwischen 0.455–1.540 ccm, und beim Hengste B zwischen 0.450–1.750 ccm.

ii) Numerische Bestimmung.

Für die numerische Bestimmung wurde 1 ccm Sperma in einem ca. 25 ccm fassenden Glaskölbchen auf 10 ccm verdünnt und gründlich, aber ohne Schaumbildung, geschüttelt. Als Verdünnungsflüssigkeit diente mir eine Kochsalzsublimatlösung, welche folgendermassen rezeptiert war :

Aqua dest.	1000 ccm
Kochsalz	6.5 g
Sublimat	2.5 g

Diese Lösung wirkt für die Spermatozoen nicht nur als Fixierungsmittel, sondern auch als Suspendiermittel, da die Spermatozoen darin trotz momentanen Aufhörens ihrer Bewegungsfähigkeit sich nur sehr langsam niederschlagen.

Nachdem das Sperma mit der Verdünnungsflüssigkeit recht gut gemischt ist, wird ein Tropfen der Mischung auf die THOMA-ZEISSsche Zählkammer gebracht und wie bei der Blutkörperchenzählung verfahren. In der Regel wurde jede Probe bei 3 verschiedenen Präparaten ausgezählt und eine Durchschnittszahl berechnet.

Zur Zahlenbestimmung der Spermatozoen, die in einem 24-stündigen Zeitabschnitte ausgeschieden wurden, wurde der Hengst A 4 Tage lang zur Deckung benützt und nach 36-tägiger Pause wieder 2 Tage lang, während der Hengste B zuerst 2 Tage lang und nach 28-tägiger Pause wieder 4 Tage lang zum Decken gebraucht wurde. Dieses Programm war nur durch das spärliche Vorhandensein von Versuchsstuten bedingt.

Die gefundenen Durchschnittszahlen sind zu Vergleichszwecken mit der Spermamenge und dem spezifischen Gewichte auf beifolgender Tabelle zusammengestellt :

TABELLE XII.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Spermamenge ccm	Spez. Gewicht (18° C)	Zahl der Spermatozoen pro 1 ccm Sperma	Gesamte Zahl der Spermatozoen in einem Ejakulate
A ₁₉	9. Mai '17.	50	1.0137	152,800	7,640·10 ⁶
A ₂₀	10. " "	60	1.0125	114,600	6,876·10 ⁶
A ₂₁	11. " "	40	1.0123	107,400	4,296·10 ⁶
A ₂₂	12. " "	40	1.0117	92,600	3,704·10 ⁶
A ₂₃	17. Juni "	100	1.0137	144,600	14,460·10 ⁶
A ₂₄	19. " "	45	1.0141	253,000	11,385·10 ⁶
B ₂₁	9. Mai '17.	80	1.0141	283,400	22,672·10 ⁶
B ₂₂	10. " "	65	1.0146	231,600	15,054·10 ⁶
B ₂₃	7. Juni "	70	1.0149	267,400	18,718·10 ⁶
B ₂₄	8. " "	60	1.0135	228,200	13,692·10 ⁶
B ₂₅	9. " "	130	1.0138	168,000	21,840·10 ⁶
B ₂₆	10. " "	55	1.0128	125,600	6,908·10 ⁶

Die Zahl der Spermatozoen pro ccm Sperma schwankt beim Hengste A zwischen 92,600-253,000 und beim Hengste B zwischen 125,600-283,400. Die Gesamtzahl der Spermatozoen in einem Ejakulat schwankt beim Hengste A zwischen $3,704 \cdot 10^6$ - $14,460 \cdot 10^6$ und beim Hengste B zwischen $6,908 \cdot 10^6$ - $22,672 \cdot 10^6$. Der Gehalt an Spermatozoen und das spezifische Gewicht des Spermas verlaufen, wie schon LODE (1891) bemerkt hat, überhaupt nicht parallel.

Der Gehalt an Spermatozoen sowohl in einem cmm Sperma, als auch in der ganzen Menge vom Sperma steht in sehr inniger Wechselbeziehung zur Häufigkeit der Deckungen; so zeigte sich die Tatsache, dass der Spermatozoengehalt volumetrisch und numerisch schon am 3. oder 4. Versuchstage um ca. die Hälfte sich verringert. Nach einer mehrtägigen Pause wird jedoch die frühere Zahl wiedererlangt. Trotz dieser umfangreichen Schwankungen bei demselben Individuum war noch eine gewisse individuelle Verschiedenheit vorhanden; der Hengst B übertraf immer den Hengst A.

Wie verhält es sich nun bei den innerhalb weniger Stunden ausgeführten Deckungen? Dies beantwortet ein Versuch, bei dem der Hengst B täglich zweimal und zwar um 9 Uhr vormittags und 4 Uhr nachmittags zur Deckung verwendet wurde.

TABELLE XIII.

Nummer vom Sperma	Datum der Gewinnung	Zeitdauer seit der letzten Ejakulation	Spermamenge	Zahl der Spermatozoen pro ccm Sperma	Gesamtzahl der Spermatozoen in einem Ejakulate
B ₆₀	4. Okt. '18.	24 Stunden	70 ccm	182,400	$12,768 \cdot 10^6$
B ₆₁	" " "	7 "	45 "	97,800	$4,401 \cdot 10^6$
B ₆₂	5. " "	17 "	95 "	55,000	$5,225 \cdot 10^6$
B ₆₃	" " "	7 "	50 "	92,000	$4,600 \cdot 10^6$
B ₆₄	6. " "	17 "	90 "	84,600	$7,614 \cdot 10^6$
B ₆₅	" " "	10 Minuten	40 "	37,400	$1,496 \cdot 10^6$

Sowohl die Spermamenge, als auch die Zahl der Spermatozoen für ein ccm Sperma zeigte in diesem Versuche beträchtliche Schwankungen. Einen annähernd parallelen Verlauf zeigten die Werte für die Zeiträume zwischen den Ejakulationen und die Gesamtzahl der Spermatozoen in diesen Ejakulaten; so sank der Gehalt an Spermatozoen in einem

Ejakulate 7 Stunden nach der ersten Deckung schon auf $1/3$, 17 Stunden darnach vermehrte er sich etwas, nach weitem 7 Stunden sank er wieder, 17 Stunden später war er etwa aufs doppelte angestiegen, fiel aber 10 Minuten darnach auf $1/5$.

Die zur Reproduzierung der Spermatozoen erforderliche Zeit schätzte LODE (1891) beim Hunde auf 3-4 Tage. Nach dem obigen Versuche jedoch scheint es mir, dass die „Regenerationszeit“ der Spermatozoen nicht immer so lang ist; denn bei zweimaliger Deckung pro Tag zeigt schon 17 Stunden nach der letzten Deckung die Zahl immer eine Zunahme.

c) Chemische Beschaffenheit der Spermatozoen.

Die chemischen Reaktionen der Pferdespermatozoen gegen verschiedene Reagentien wie Alkaliën, Säuren, Farbstoffe und Pepsinsalzsäure ergeben eine so deutliche Übereinstimmung mit den schon von KÖLLIKER (1856), MIESCHER (1874) ZACHARIAS (1910) u. a. in bezug auf die Stierspermatozoen gemeldeten Tatsachen, dass es unnötig ist, hier wieder von neuem darauf zurückzukommen. Die Behauptung MIESCHERS, dass die gewebbildende Grundlage der Stierspermatozoen zu den resistentesten Gewebssubstanzen gehöre, hat auch hier bei den Pferdespermatozoen ihre Gültigkeit.

Was die chemische Zusammensetzung der Pferdespermatozoen anlangt, so ist sie von KÖLLIKER (1856) für die Spermatozoen aus den Nebenhoden und den Samenleitern folgendermassen angegeben worden:

Wasser	81.940%
Feste Substanz	18.060%
Organische Substanz	16.449%
Anorganische Substanz	1.611%

Da die Gewinnung reiner Spermatozoen mit grossen Schwierigkeiten verknüpft ist, und die erhaltenen Quantitäten sehr gering sind, so konnte ich leider KÖLLIKERS Angaben nur wenig Neues zufügen.

Die Spermatozoenmasse wurde aus dem oberen Teil des bei der Zentrifugierung entstandenen Absatzes gesammelt und ihre Trockenbestimmung sofort ausgeführt. Die Bestimmung der Aschenzusammensetzung wurde erst nach der Sammlung verschiedener Proben vorgenommen. Die qualitative Analyse der Aschensubstanz zeigte, dass sie aus Na, K, Mg, Ca, Fe, Cl, SO_4 , und PO_4 besteht; aber wegen der minimalen Menge der verwendeten Substanz gelang es mir nicht, Eisen und Alkaliën quantitativ zu bestimmen. Die Analysenmethoden sind gleich jenen, die schon beim Spermaserum beschrieben worden sind.

TABELLE XIV.

Probeteil	Frische Probe g	Trockensubstanz		Wasser %
		g	%	
I	0.1860	0.0360	19.358	80.642
II	0.2534	0.0536	21.152	78.836

TABELLE XV.

Probeteil	Trocken- substanz g	Gesamt- asche g	Gesamtasche auf 100 Teile Trockensub- stanz bezogen	Auf 100 Teile Asche				
				CaO	MgO	SO ₃	Cl	P ₂ O ₅
I	0.7207	0.0648	8.992	9.568	4.139	—	—	—
II	0.8056	0.0710	8.813	—	—	4.540	—	—
III	0.7290	0.0664	9.108	—	—	—	0.596	64.622

Demnach stimmen meine Ergebnisse in der Trocken- und Aschenbestimmung mit KÖLLIKERS Angaben im grossen und ganzen überein. Unter den anorganischen Substanzen sind Kalzium- und Magnesiumphosphat vorherrschend, während die Alkalichloride in verschwindend kleiner Menge auftreten. Das Verhältnis zwischen Mg und Ca beträgt 1 : 2.7, und dasselbe zwischen CaO und P₂O₅ 1 : 6.5. Die überwiegende Menge der Phosphorsäure ist natürlich auf die Nukleoproteide, dem Hauptbestandteile der Spermatozoenköpfe, zurückzuführen.

Analytische Belege für die Aschenzusammensetzung der Spermatozoen.

- I. 0.0648 g Asche.
 CaO 0.0062 g = CaO 9.568%
 Mg₂P₂O₇ 0.0074 g = MgO 0.002682 g = MgO 4.139%
- II. 0.0710 g Asche.
 BaSO₄ 0.0094 g = SO₃ 0.003224 g = SO₃ 4.540%
- III. 0.0664 g Asche.
 AgCl 0.0016 g = Cl 0.000396 = Cl 0.596%
 Mg₂P₂O₇ 0.0673 = P₂O₅ 0.042909 = P₂O₅ 64.622%

4. Ein abnormes Sperma.

Obwohl das Sperma, wie schon erwähnt, in bezug auf gewisse Einzelheiten zeitlich Schwankungen aufwies, herrschte bei den untersuchten 7

Hengsten und bei einem Esel in einem Punkte insofern vollständige Übereinstimmung, als es immer eine dünnflüssige, homogene Flüssigkeit darstellte. Die einzige Ausnahme bildete das Sperma vom Hengste C.

Das Spermäserum dieses Hengstes ist fadenziehend und dicker als bei den anderen Hengsten; die Trockensubstanz, gestützt auf zwei Analysen, beträgt 2.747–3.178% (Sperma C₁ und C₂ in der Tabelle II). Ausser den normalen Formelementen findet man in diesem Sperma noch gallertige Massen und Steine. Die gallertige Masse ist weisslich, geruchlos; ihr Volumen erreicht Taubenei- bis Faustgrösse; sie sinkt im Serum unter. In der Luft zeigt sie Neigung, sich mehr oder weniger zu verflüssigen. Abgesehen von den oberflächlich anhaftenden Spermatozoen, enthält diese Gallerte keine Spermatozoen. 5.9336 g Koagulum lieferte 0.1916 g oder 3.2291% Trockensubstanz. Dieselbe zeigte alle Farbenreaktionen der Eiweisskörper.

Die Steine sind weiss oder leicht gelblich, hart und amorph; ihre Grösse schwankt von feinem Pulver bis zum Stecknadelkopf (*Fig. 6, Tafel V*). Sie sind in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, wohl aber in Salzsäure, Salpetersäure und Essigsäure und zwar unter lebhaftem Aufbrausen, wobei aber weisse unlösliche Flocken zurückbleiben. Das dabei sich entwickelnde Gas erwies sich als Kohlensäure, da es auf Barytlösung positiv reagierte. Die salpetersaure Lösung des Steines wird bei Zusatz von Ammonmolybdat deutlich gefällt, somit ist PO₄ vorhanden. Versetzt man ihre salzsaure Lösung mit Ammoniak und setzt nun Ammonoxalat hinzu, so scheidet sich Kalziumoxalat ab. Aus dem Filtrat entsteht bei Zusatz von Natriumphosphat ein Niederschlag von Ammoniummagnesiumphosphat. Erhitzt man die grossen Steine auf dem Platinblech, so werden sie deutlich geschwärzt. Da aber diese Schwärzung nicht nur oberflächlich, sondern auch im Innern auftritt, was mikroskopisch feststellbar ist, so ist es klar, dass auch organische Substanzen an der Bildung dieser Steine beteiligt sind. Diese organischen Substanzen bleiben in den erwähnten Säuren flockenartig unlöslich, zeigen deutlich Xanthoprotein- und MILLONs Reaktionen.

Die Reaktionen auf Na, K, Fe, SO₃, Oxalsäure und Hippursäure sind vollkommen negativ.

Aus den obigen Ergebnissen der qualitativen Analysen geht hervor, dass diese Steine als Komplexe von einer eiweissartigen organischen Grundlage und verschiedenen Salzen, nämlich von Karbonaten und Phosphaten von Kalzium und Magnesium, aufzufassen sind.

Bekanntlich kommen in den Drüsensämen der Prostata unter dem

Namen Corpora amylacea gewisse Gebilde vor. Dass die vorliegenden Steine aber mit diesen Körpern nicht identisch sind, ist nicht nur durch die oben angegebenen Eigenschaften, sondern auch dadurch leicht verständlich, dass dieselben niemals geschichtete Bildung zeigen und durch Behandlung mit Jodjokalilösung keinen braunen Farbenton annehmen. Der Umstand, dass dieser Hengst in seinem Harn nie derartige Steine abgab, zeigt ferner, dass diese als verirrte Harnsteine nicht angesehen werden können. Man ist daher wohl berechtigt, diese Steine als Spermasteine zu bezeichnen.

Was nun den Entstehungsort von derartigen Gallerten und Steinen betrifft, so hat man vorderhand keinen direkten Anhaltspunkt. Da aber unter den akzessorischen Geschlechtsdrüsen die Samenblase allein ein genügend geräumiges Organ ist, das eine faustgrosse Gallerte in sich enthalten kann, so scheint es mir richtig, ihre Entstehung in dem betreffenden Organe zu suchen. Nachträglich fand ich bei der Sektion eines andern 20-jährigen Hengstes dieselbe Gallerte in den beiden Samenblasen, was die Richtigkeit dieser Auffassung zu bestätigen scheint. Die Tatsache, dass die Steine überwiegend um die Gallerte herum vorkamen, lässt es als sehr wahrscheinlich erscheinen, dass sie aus dem gleichen Organe abgeschieden werden. Da aber beim zweiten Hengste die Gallerte allein zu finden war, so muss die Steinbildung nur eine Begleiterscheinung und nicht eine Folgeerscheinung sein.

Noch schwieriger zu erklären ist die Ursache der gallertigen Gerinnung des Sekretes und der Steinbildung; ob diese Erscheinungen von der Senilität bedingt sind oder nicht, da unter allen Versuchshengsten nur diese zwei in sehr hohem Alter stehenden sie aufwiesen, lasse ich hier dahingestellt.

TEIL II.

Physiologie der Spermatozoen.

Material und allgemeine Untersuchungsmethode.

Die Autoren, welche sich mit physiologischen Untersuchungen der Spermatozoen der Säugetiere beschäftigt haben, benützten meistens als Untersuchungsmaterial das sog. „reine Sperma“ d. h. die Spermatozoen aus der Cauda epididymidis oder aus dem Vas deferens. Nur GÜNTHER (1907) und SATÔ (1916) haben allein das ejakulierte Sperma verwendet. Dies ist dem reinen Sperma darum vorzuziehen, weil man einerseits ohne das Tier zu verderben, wiederholt lebensfrische Spermatozoen

von demselben Individuum gewinnen kann, anderseits, weil man mit einer Pipette eine messbare Menge derselben willkürlich benützen kann. Wie schon KÖLLIKER (1856) behauptet, „ist letzteres unumgänglich notwendig, wenn man sichere Resultate erhalten will, da die einzelnen Stellen der Samenmasse, je nachdem die Fäden lockerer oder dichter liegen, die Bewegungen länger oder minder lang bewahren.“ Nachteilig ist nur, dass sie mit den Sekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen gemischt sind. Dieser Nachteil kann jedoch durch starke Verdünnung mit irgend einer Lösung, deren Wirkung man versuchen will, beseitigt werden. So hat GÜNTHER einen Tropfen Sperma mit neun ebensogrossen Tropfen Untersuchungsflüssigkeit in einem Glas gemischt, während SATÔ 1 ccm Sperma mit 2 ccm Untersuchungsflüssigkeit in einem Reagensröhrchen suspendierte.¹⁾

Was aber das ganze Volumen der Spermatozoen-Suspension betrifft, so findet man es bei den erwähnten Autoren als zu gering angegeben, da eine ziemliche Menge bei der langen Versuchsdauer durch Manipulation und Verdunstung verloren geht. Aus diesem Grunde wurde bei mir die Mischung des Spermas in der Weise vorgenommen, dass genau 1 ccm Sperma aus der Messpipette in ein 9 ccm Untersuchungsflüssigkeit enthaltendes Reagensröhrchen von etwa 16 cm Länge und 2 cm Weite gegossen, vorsichtig geschüttelt und recht gut emulsiert wurde. Übrigens wurden in den meisten Fällen 10 ccm vom natürlichen Sperma zur Vergleichung kontrolliert.

Alle Reagentien, insofern nicht besonders bezeichnet, wurden aus MERCK'schen reinsten Präparaten hergestellt.

Bei den mikroskopischen Untersuchungen wurde ein Tropfen Spermagemisch aus einem Reagensröhrchen, das vorher vorsichtig aber gründlich geschüttelt worden war, mittels eines keulenförmig verdickten Glasstabes herausgenommen, auf das Deckglas gebracht und als ein hängender Tropfen untersucht. Zu diesem Zwecke wurde ein eigener Objektträger benützt, auf dessen Mitte ein Glasring von 1.8 cm Durchmesser und 0.5 cm Höhe festgeklebt war. Um vergleichbare Resultate der verschiedenen Untersuchungsflüssigkeiten zu erhalten, ist es vor allem wichtig, die Spermatozoen möglichst lange lebendig zu erhalten, und die Zeitdifferenzen möglichst zu vergrössern. Da, wie schon IWANOFF (1907) und SATÔ (1916) bestätigten, die Lebensdauer der

1) Nur 3-fache Verdünnung, wie in SATÔ's Angaben, ist jedoch noch nicht genügend, um die Wirkung des Spermaserums zu vermeiden. Dies wird im nächsten Kapitel eingehend erörtert.

Pferdespermatozoen bei Zimmertemperatur viel länger als bei Körpertemperatur erhalten bleibt, so wurden alle meine Versuche bei gewöhnlicher Zimmertemperatur des Laboratoriums ausgeführt. Wegen den Schwankungen in der Zimmertemperatur ist es natürlich, dass die so erhaltenen Ergebnisse bei den verschiedenen Versuchsreihen nicht direkt vergleichbar sind; für ein und dieselbe Versuchsreihe ist dies aber zulässig.

In den meisten früheren Arbeiten sind die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit der Bewegung der Spermatozoen als Kennzeichen der physiologischen Erscheinungen betrachtet worden. Meine langen Erfahrungen zwangen mich jedoch, ausserdem noch eine merkwürdige Erscheinung, d. h. die Haufenbildung, in Betracht zu ziehen. Diese Erscheinung besteht darin, dass sich mehr als zwei Spermatozoen an ihren Kopfsenden vereinigen und mit ihren radiär gestellten Schwänzen frei bewegen wobei der ganze Haufen ballenartig herumschwimmt. Je nach den Untersuchungsflüssigkeiten findet man diese Erscheinung bald gar nicht, bald stellenweise und bald ganz durchgreifend. Der Zeitpunkt, wo diese Erscheinung zuerst auftritt, ist auch bei verschiedenen Präparaten verschieden.

Von nicht geringer Wichtigkeit ist es also, die zur Verwendung gelangenden Ausdrücke und Bezeichnungen zuerst genau zu definieren, da nur auf diesem Wege eine einheitliche Vergleichsbasis geschaffen werden kann. Aus diesem Grunde wurden die Beobachtungen in meinen Experimenten gewöhnlich stündlich vorgenommen und die Resultate in nachfolgender Weise bestimmt, was von einem geübten Auge mit ziemlicher Genauigkeit ausgeführt werden kann.

1) Unter der Lebensdauer verstehe ich die maximale Zeitdauer der Bewegung, oder die für alle Spermatozoen eines Reagensröhrchens bis zum Erlöschen der Bewegung erforderliche Zeit. Obgleich der Stillstand der Bewegung der Spermatozoen nicht immer mit dem Tode derselben gleichbedeutend ist, und unter Umständen nach einem kurzen Zeitabschnitte die bewegungslosen Spermatozoen wieder zur Bewegung gebracht werden können, so ist diese Zeitdifferenz recht gering, sodass man in der Praxis die Bewegung als Indikator der Lebensdauer der Spermatozoen betrachten kann, insofern die Zimmertemperatur nicht so niedrig ist, dass sie bewegungslähmend wirkt. Die Lebensdauer wird in Stunden ausgedrückt.

2) Die Lebhaftigkeit der Bewegung wird einerseits gestützt auf die Intensität der Schwanzvibration der überwiegenden Mehrzahl der

Spermatozoen gerade nach der Herstellung der Spermamischung, andererseits in bezug auf die Zeitdauer der lebhaftesten Vibration beurteilt. Die Lebhaftigkeit der Schwanzvibration geht natürlich normalerweise mit der lebhaften lokomotorischen Veränderung parallel, aber bei der Haufenbildung sind die beiden zu unterscheiden, deshalb habe ich die Schwanzvibration als ein Augenmerk gewählt. Der Zustand der Schwanzvibration lässt etwa 3 Klassen unterscheiden, nämlich

lebhafteste (+++),
lebhaft (++) und
schwache (+) Bewegung.

Mit der Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung meine ich die Zeitdauer, worin die lebhafteste Bewegung fortgesetzt wird; diese Bestimmung ist deshalb sehr wichtig, da einige Reagentien nur augenblicklich die Bewegung erregen, um dann schnell zu lähmen.

3) Die Beurteilung der Haufenbildung geschieht von zwei Gesichtspunkten aus, nämlich der Zeitdauer bis zu ihrem Eintritt und dem Zustande der höchsten Intensität. Wenn die angegebene Stundenzahl null ist, so war die Haufenbildung sofort nach der Herstellung der Spermatozoen-Suspension vorgekommen. Bezüglich der Intensität der Haufenbildung werden die folgenden Ausdrücke gebraucht:

sehr stark (***) , wenn diese Erscheinung in einer Untersuchungsflüssigkeit allgemein ist,
stark (**), wenn die Haufen in der Mehrzahl vorkommen,
schwach (*), wenn die Haufen sich nur vereinzelt zeigen, und
keine Haufenbildung (-).

Die zu jeder Stunde während des Tages und der Nacht ausgeführten Untersuchungen waren natürlich eine äusserst mühevoll Arbeit; aber sie war unerlässlich, um die von Zeit zu Zeit in der Untersuchungsflüssigkeit sich abspielenden Veränderungen nicht zu übersehen. Da ich für die Untersuchung eines jeden Präparates gerade eine Minute benötigte¹⁾, so konnte ich alle Präparate im gleichen Intervall von einer Stunde untersuchen, wobei ich oft auf einmal 30-40 Reagensröhrchen unter meiner Aufsicht hatte.

Da die Untersuchungen in einstündigen Intervallen ausgeführt wurden, so müssen die Befunde so verstanden werden, dass, wenn z. B. die Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung mit 3 angegeben wird, die lebhafteste Bewegung über 2 Stunden dauerte, aber nicht mehr als 3 Stunden.

1) Unter Mithilfe eines Assistenten zur schriftlichen Aufzeichnung.

Schliesslich dürfte noch eine Bemerkung über den Einfluss der Bakterien am Platze sein. Trotz aller angewandten Mühe, gelang es mir bis jetzt noch nicht, die Bakterieninfektion zu beseitigen, die die Lebensdauer der Spermatozoen mehr oder weniger abkürzt. Da aber die Spermatozoen gegen die Bakterien bzw. ihre Produkte ziemlich widerstandsfähig sind, sodass sie in sich schon zersetzenden, unangenehm riechenden Spermamischungen noch lebensfähig sind, so scheint es mir, dass die Bakterieninfektion die Versuchsergebnisse nicht wesentlich beeinflusst, insofern die Untersuchungen bei nicht allzuhoher Zimmertemperatur ausgeführt werden.

1. Wirkungen des osmotischen Druckes.

Wenn man bei den physiologischen Untersuchungen des osmotischen Druckes nach der allgemein üblichen Methode nur eine Lösung von Elektrolyten wie NaCl-Lösungen verwendet, so sind die eigentlichen osmotischen Wirkungen von den Ionenbeeinflussungen nicht zu trennen. Deshalb sind hier Dextrose- und NaCl-Lösungen zur parallelen Verwendung gekommen. Die Berechnungen der Konzentration einer Untersuchungsflüssigkeit, die eine beliebige Gefrierpunkterniedrigung gibt, wurden aus der Formel

$$C = \frac{\Delta}{k} \cdot M$$

abgeleitet, worin C die gesuchte Konzentration, Δ die Gefrierpunkterniedrigung, k die Molekularniedrigung, und M das Molekulargewicht der gelösten Substanz ist. Die Werte von k wurden den LANDOLT-BÖRNSTEINSchen „Physikalisch-chemischen Tabellen“ (3. Aufl. 1905) entnommen.

Die unter gleichen äusseren Bedingungen bei den zwei Hengsten A und B erhaltenen Ergebnisse können wie folgt zusammengestellt werden:

TABELLE XVI.

Wirkungen des osmotischen Druckes.

Nr. vom Sperma		Menge des Spermas		Beginn des Versuches				Zimmertemperatur				
A ₄₄		35 ccm		26. Mai 1918				11°-20°C				
B ₄₉		60 ccm		19. Mai 1918				11°-20°C				
J	Natur der Untersuchungsflüssigkeiten	Lebensdauer		Lebhaftigkeit				Haufenbildung				
				Dauer der lebhaftesten Bewegung		Lebhaftigkeit sofort nach der Mischung		Zeitdauer bis zu ihrem Eintritt		Höchste Intensität		
	$\frac{g \text{ anhyd. Subst.}}{100 g H_2O}$	A ₄₄	B ₄₉	A ₄₄	B ₄₉	A ₄₄	B ₄₉	A ₄₄	B ₄₉	A ₄₄	B ₄₉	
0.50°	Dextrose	4.84	31	33	4	4	+++	+++			-	-
	NaCl	0.85	12	13	2	2	+++	+++	I	I	*	*
0.52°	Dextrose	5.04	33	35	4	4	+++	+++			-	-
	NaCl	0.88	13	15	2	2	+++	+++	I	I	*	*
0.54°	Dextrose	5.23	34	35	4	5	+++	+++			-	-
	NaCl	0.92	13	12	2	2	+++	+++	I	I	*	*
0.56°	Dextrose	5.42	36	38	5	6	+++	+++			-	-
	NaCl	0.95	12	12	2	2	+++	+++	0	I	*	*
0.58°	Dextrose	5.62	39	38	6	7	+++	+++			-	-
	NaCl	0.98	12	12	2	2	+++	+++	0	0	*	*
0.60°	Dextrose	5.81	45	42	7	9	+++	+++			-	-
	NaCl	1.02	11	11	2	2	+++	+++	0	0	*	*
0.62°	Dextrose	6.00	50	43	9	9	+++	+++			-	-
	NaCl	1.05	11	11	2	2	+++	+++	0	0	*	*
0.64°	Dextrose	6.20	47	41	8	9	+++	+++			-	-
	NaCl	1.09	10	11	1	1	+++	+++	0	0	*	*
0.66°	Dextrose	6.39	43	36	6	8	+++	+++			-	-
	NaCl	1.12	9	10	0	0	++	++	0	0	**	**
0.68°	Dextrose	6.59	38	35	6	8	+++	+++			-	-
	NaCl	1.15	8	9	0	0	++	++	0	0	**	**
	Natürliches Sperma		21	19	1	1	+++	+++			-	-

Überblicken wir zunächst die Wirkungen der Dextroselösungen! Obwohl alle Dextroselösungen, deren J-Wert zwischen 0.50°-0.68° liegt, die Lebensdauer und die Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung immer verlängern können, sind die Wirkungsgrade bei den verschiedenen Konzentrationen verschieden. Es zeigt sich nämlich, dass die Pferdespermatozoen für die Änderung des osmotischen Druckes verhältnismässig empfindlich sind, was mit GALLEOTTIS Beobachtung

gut übereinstimmt, wornach „die Spermatozoen der Säugetiere und Vögel, bei denen die Begattung sich in der Art vollzieht, dass die Sexualzellen direkt von einem Organismus in den anderen, ohne Veränderung des osmotischen Druckes übergehen, sich sehr wenig widerstandsfähig gegen Änderungen des osmotischen Druckes zeigten“ (*zit.* nach HAMBURGER).

Die optimale Konzentration ist die derjenigen Dextroselösung, deren $\Delta=0.62^\circ$ ist, indem die Lebensdauer darin $2\frac{1}{2}$ mal, und die Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung etwa 10 mal grösser ist als im natürlichen Sperma. Sehr beachtenswert ist, dass die Säugetierspermatozoen in so salzarmen Lösungen lange beweglich bleiben. Hinzu-
zufügen ist noch, dass die Lebensdauer und die Dauer der lebhaftesten Bewegung in den Dextroselösungen parallel geht, während die beiden sonst in den meisten Fällen in reziproker Beziehung stehen.

Der Wert $\Delta=0.62^\circ$ bei der optimalen Dextroselösung steht mit den bei denselben zwei Hengsten kryoskopisch erhaltenen Durchschnittswerten in guter Übereinstimmung (vergl. Tabelle X). Deshalb können keine Schwierigkeiten für die Annahme vorhanden sein, dass die für die Pferdespermatozoen isosmotische Lösung diejenige ist, welche $\Delta=0.62^\circ\text{C}$ gibt. In seiner Untersuchung hat SATÔ (1916) die optimale Konzentration der Dextroselösung für die Verlängerung der Lebensdauer der Pferdespermatozoen als 5.0-5.25% angegeben, was von der von mir gefundenen viel abweicht. Dieser Widerspruch ist zweifellos aus der Verschiedenheit des Mengenverhältnisses zwischen der Dextroselösung und dem Sperma verursacht worden. Da SATÔ das Sperma mit nur zweifacher Dextroselösung verdünnte, so konnte er dabei die Wirkungen des Spermamaserums, höchstwahrscheinlich wegen der darin reichlich befindlichen Salze, nicht beseitigen, infolgedessen wurde eine niedrigere Konzentration der Dextroselösung als optimal gefunden. Die Richtigkeit dieser Auffassung wird schon durch seine Ergebnisse des Verdünnungsversuches mit 5.25%iger Dextroselösung wesentlich gestützt, wornach drei- oder vierfache Verdünnung für die Lebensdauer am günstigsten sei. Hätte das Spermamaserum dabei nicht mitgewirkt, so würde die Lebensdauer vom Verdünnungsgrade unabhängig sein. Auch meine eigenen Versuche über die Verdünnung bestätigen dieses Verhältnis. Das Sperma wurde mit 6%iger Dextroselösung und mit Spermamaserum¹⁾ 3- und 10-fach verdünnt und die Lebensdauer und die Dauer der lebhaftesten Bewegung der Spermatozoen bestimmt²⁾.

1) Dies war durch Zentrifugierung vom Sperma B₄₆ sofort nach der Ejakulation gewonnen und etwa 18 Stunden bis zum Experimente in einer Eiskammer aufbewahrt worden.

2) Diese Bestimmungen geschahen in Zwischenräumen von zwei Stunden.

TABELLE XVII.

Wirkungen der Verdünnungsgrade.

Nr. vom Sperma	Menge des Spermas	Beginn des Versuches	Zimmertemperatur			
A ₄₂	40 ccm	27. Mai '18	11°-20°C			
B ₁₇	60 ccm					
Natur der Spermamischungen	Grad der Verdünnung	Lebensdauer		Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung		
		A ₄₂	B ₄₇	A ₄₂	B ₄₇	
3.3 ccm Sperma + 6.6 ccm 6 %ige Dextroselösung	3	68	72	8	10	
1.0 ccm Sperma + 9.0 ccm 6 %ige Dextroselösung	10	56	60	8	10	
3.3 ccm Sperma + 6.6 ccm Spermaserum	3	18	22	2	2	
1.0 ccm Sperma + 9.0 ccm Spermaserum	10	18	24	2	2	
10.0 ccm natürliches Sperma	0	20	24	2	2	

Während nun das Spermaserum ungeachtet der Verdünnungsgrade keine Veränderung der Lebensdauer der Spermatozoen bewirkt, erscheint bei Dextroselösung die 3-fache Verdünnung günstiger als die 10-fache. Daher ist die 5.25%ige Dextroselösung nicht als eine isosmotische, sondern eine bei dreifacher Verdünnung am günstigsten wirkende Lösung anzusehen¹⁾.

Die von J. LOEB (1908) gefundene Erscheinung, dass die mit Seewasser isosmotische Rohrzucker- und Dextroselösung auf das Seeigelei nicht isotonisch, sondern hypertonisch wirkt, kommt bei den Pferdespermatozoen mit Dextroselösung nicht vor.

Ganz anders als Dextroselösungen wirken die Kochsalzlösungen. Sie wirken bei allen Konzentrationen immer giftig, indem sie die Lebensdauer der Spermatozoen unter die des natürlichen Spermas herunterdrücken. Die für die Spermatozoen isosmotische Lösung wirkt hier nicht optimal, indem eine Verschiebung der Kurve nach der hypotonischen Seite erfolgt; die optimale Konzentration für die Lebhaftigkeit liegt viel niedriger als die isosmotische, und diejenige für die Lebensdauer noch niedriger. Es zeigt sich also, dass bei der Konzentrationserhöhung nicht nur die osmotischen Wirkungen, sondern auch die Ionenwirkungen eine grosse Rolle spielen.

HIROKAWA (1909) fand, dass die physiologische Kochsalzlösung für die Rattenspermatozoen „nicht nur nicht ,physiologisch,‘ sondern in hohem Grade different ist, insofern starke Verdünnung die Lebensdauer

1) Daher ist es ratsam bei der künstlichen Befruchtung eine 3-fache Verdünnung mit 5.25%iger Dextroselösung zu nehmen, denn die möglichst lange Lebensdauer ist hier wünschenswert.

der Spermatozoen herabsetzt.“ Neuerdings hat POYARKOFF (1917) die Gefrierpunktserniedrigung des Hundespermas als 0.59° gefunden, was mit derjenigen der 1%igen NaCl-Lösung identisch ist; trotzdem fand er, dass die Spermatozoen in den hyposmotischen Lösungen (0.7–0.8%) länger beweglich sind als in den isosmotischen. Alle diese Erscheinungen mit NaCl-Lösungen sind, wie in meinem Versuche, ausser den osmotischen Wirkungen noch den Ionenwirkungen zuzuschreiben.

Die Haufenbildung kam in den Dextroselösungen niemals vor, insofern das Probesperma frisch war und diese Erscheinung noch nicht zeigte (*Fig. 1, Taf. IV*). Dagegen war die Haufenbildung in allen Kochsalzlösungen innerhalb der in Betracht kommenden Konzentrationsgrenzen mehr oder weniger anzutreffen, und ihr Auftreten scheint mit zunehmender Konzentration beschleunigt zu werden. Die Umstände, dass die Haufenbildung nicht in den Dextroselösungen verschiedener Konzentration, sondern nur in Kochsalzlösungen vorkommt, und dass ihr Auftreten in den Kochsalzlösungen von Zeit und Konzentration bedingt ist, legen den Gedanken nahe, dass diese Erscheinung von den osmotischen Wirkungen unabhängig ist, und ferner nicht durch Nichtelektrolyte, sondern durch eine Elektrolytlösung von gewisser Konzentration verursacht werden kann.

Diese letztere Möglichkeit wurde wieder dadurch bestätigt, dass die Spermatozoen in der Urealösung oder in der Rohrzuckerlösung, deren $\Delta = 0.62^\circ$ ist¹⁾, ohne Haufenbildung blieben.

Zusammenfassung.

1) In der 6%igen Dextroselösung, welche $\Delta = 0.62^\circ$ gibt, leben die Spermatozoen am günstigsten, indem sie etwa $2\frac{1}{2}$ mal länger leben, und ihre lebhafteste Bewegung 10 mal länger dauert²⁾ als im natürlichen Sperma.

2) Aus den kryoskopischen Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigungen an zahlreichen Spermäsera und sowie aus den obigen biologischen Untersuchungen der Spermatozoen geht hervor, dass die für die Pferdespermatozoen isosmotische Lösung diejenige ist, welche $\Delta = 0.62^\circ$ gibt.

3) Das Natriumchlorid wirkt auf die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit ungünstiger in isosmotischen Lösungen als in hyposmotischen, was den Ionenwirkungen zuzuschreiben ist.

1) Konzentration der Urealösung = 2.01 g anhyd. Substanz pro 100 g H_2O . Konzentration der Rohrzuckerlösung (Ph. jap. III.) = 11.28 g anhyd. Substanz pro 100 g H_2O .

2) Diese Verhältnisse sind natürlich unter Umständen mehr oder weniger schwankend.

4) Die Haufenbildung der Spermatozoen ist ganz unabhängig von der Veränderung des osmotischen Druckes.

5) Die Haufenbildung wird nicht durch Nichtelektrolyte, wie Traubenzucker, Rohrzucker und Urea, sondern durch Natriumchlorid hervorgerufen.

2. Wirkungen der Reaktionen.

Die schädliche Wirkung von Säuren und die günstige Beeinflussung der Spermatozoen durch Alkalien waren schon vor KÖLLIKERS Zeit bekannt. Nach HIROKAWA (1909) beträgt die optimale Alkalimenge für die Lebensdauer der Rattenspermatozoen 0.002–0.004% NaOH, was von OCHI (1916) wieder bestätigt worden ist. Der letztgenannte Autor fand auch, dass schon 0.02% HCl momentane Bewegungshemmung herbeiführt. Für die Pferdespermatozoen wurde von SATÔ (1916) die Alkalinität entsprechend 0.001–0.002% KOH als optimal angegeben. Diese Verlängerung oder Abkürzung der Lebensdauer ist jedoch nicht die einzige Reaktionswirkung auf die Lebenserscheinungen der Spermatozoen; wir müssen daher auch mit anderen Wirkungen rechnen.

Soviel meine Analysenresultate des Spermaserums zeigen konnten, muss das basische Alkaliphosphat den Hauptteil an der alkalischen Reaktion haben. In seinen Untersuchungen „über den Einfluss des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit auf die Vitalität der Spermatozoen“ fand HIROKAWA (1909), dass der auf die Spermatozoen wirksame Bestandteil im anorganischen Alkali der durch Alkohol fällbaren Portion des Prostatasekretes zu suchen sei. Obwohl dieser Autor das Wesen dieser Substanz nicht feststellen konnte, unterliegt es keinem Zweifel, dass sie auch das basische Alkaliphosphat war. Dies ist der Grund, dass ich, von allen früheren Autoren abweichend, in den Untersuchungen der Reaktionswirkungen auf die Spermatozoen das primäre und sekundäre Natriumphosphat gebraucht habe.

Eine gewisse Menge der m/10 Lösungen von Di- und Mononatriumphosphaten wurde zu der isosmotischen Dextroselösung¹⁾ hinzugefügt, um je 9 ccm Untersuchungsflüssigkeit bzw. nach Hinzufügung von 1 ccm Sperma, je 10 ccm Spermatozoen-Suspension von einer gewissen Molekularkonzentration der Phosphate zu erhalten.

Die Versuchsergebnisse können tabellarisch folgendermassen wiedergegeben werden:

1) Gestützt auf die vorigen Resultate betrachte ich eine 6%ige Dextroselösung als die isosmotische.

TABELLE XVIII.

Wirkungen der Reaktionen.

Natur der Untersuchungsflüssigkeiten	Konzentration von Na_2HPO_4 oder NaH_2PO_4 in Spermamischungen	Lebensdauer		Lebhaftigkeit				Haufenbildung					
		A ₄₁	B ₄₃	Dauer der lebhaftesten Bewegung		Lebhaftigkeit sofort nach der Mischung		Zeitdauer bis zum Eintritt		Höchste Intensität			
				A ₄₁	B ₄₃	A ₄₁	B ₄₃	A ₄₁	B ₄₃	A ₄₁	B ₄₃		
8.5 ccm Dextroselösung + 0.5 ccm m/10 Na_2HPO_4	5/1000 m Na_2HPO_4	62	31	1	1	+++	+++			-	-		
8.4 ccm " + 0.6 ccm "	6/1000 m "	44	29	0	0	++	++			-	-		
8.3 ccm " + 0.7 ccm "	7/1000 m "	41	26	0	0	++	++			-	-		
8.2 ccm " + 0.8 ccm "	8/1000 m "	29	25	0	0	++	++			-	-		
8.1 ccm " + 0.9 ccm "	9/1000 m "	28	21	0	0	++	++			-	-		
8.0 ccm " + 1.0 ccm "	1/100 m "	27	18	0	0	++	++			-	-		
7.0 ccm " + 2.0 ccm "	1/50 m "	27	16	0	0	++	++	1	1	*	*		
6.0 ccm " + 3.0 ccm "	1/33 m "	21	13	0	0	+	+	1	0	**	**		
5.0 ccm " + 4.0 ccm "	1/25 m "	18	10	0	0	+	+	1	0	**	**		
4.0 ccm " + 5.0 ccm "	1/20 m "	11	8	0	0	+	+	1	0	**	**		
8.5 ccm " + 0.5 ccm m/10 NaH_2PO_4	5/1000 m NaH_2PO_4	40	16	2	1	+++	+++	5	7	*	*		
8.4 ccm " + 0.6 ccm "	6/1000 m "	35	14	1	1	+++	+++	5	6	*	*		
8.3 ccm " + 0.7 ccm "	7/1000 m "	29	13	1	1	+++	+++	5	5	*	*		
8.2 ccm " + 0.8 ccm "	8/1000 m "	25	13	1	1	+++	+++	2	5	*	*		
8.1 ccm " + 0.9 ccm "	9/1000 m "	25	8	1	1	+++	+++	2	4	*	*		
8.0 ccm " + 1.0 ccm "	1/100 m "	25	7	0	0	++	++	2	3	*	*		
7.0 ccm " + 2.0 ccm "	1/50 m "	2	6	0	0	++	++	1	2	**	**		
6.0 ccm " + 3.0 ccm "	1/33 m "	1	2	0	0	++	++	0	1	**	***		
5.0 ccm " + 4.0 ccm "	1/25 m "	1	2	0	0	++	++	0	0	***	***		
4.0 ccm " + 5.0 ccm "	1/20 m "	1	1	0	0	++	++	0	0	***	***		
9.0 ccm Dextroselösung	0	47	28	3	2	+++	+++			-	-		

Studien über die physikalische und chemische etc.

Es ist ohne weiteres ersichtlich, dass sowohl die Lebensdauer als auch die Dauer der lebhaftesten Bewegung der Spermatozoen bei der vorliegenden Konzentrationsstärke von Na_2HPO_4 in der 5/1000 m-Lösung am längsten erhalten wird.¹⁾ Und ferner, dass die betreffende Lösung im Vergleiche mit der neutralen Lösung auf die Lebensdauer günstiger, aber auf die Lebhaftigkeit deletär wirkt. Überschreitet die Alkalinität aber die Grenze von 5/1000 m Na_2HPO_4 , so nehmen die Lebensdauer und die Dauer der lebhaftesten Bewegung allmählich ab, und in 1/33 m-Lösung von Na_2HPO_4 wird die Lebensdauer erheblich abgekürzt, und die Bewegung ist schon sofort nach der Versuchsanstellung sehr schwach.

Was die Wirkung von NaH_2PO_4 -Lösungen anbetrifft, so findet man im Vergleiche mit der neutralen Lösung eine Abkürzung der Lebensdauer in allen Konzentrationen. Sehr auffällig ist nun die Wirkung auf die Lebhaftigkeit, indem die Spermatozoen innerhalb einer gewissen Konzentration für kurze Zeit sehr lebhaft erscheinen, um schnell zu erlahmen. So bewegten sich z. B. beim Sperma A₄₁ alle Spermatozoen sofort nach Zubereitung einer 5/1000–9/1000 m-Konzentrationsmischung sehr energisch, und zwar in höherem Masse als in der neutralen Lösung, obschon diese Unterschiede in der Tabelle mit Zeichen nicht bezeichnet werden können. Schon eine Stunde darnach wurde jedoch die Bewegung sehr schwach und nach 3 Stunden nur zuckend, wenn auch alle Spermatozoen beweglich waren. Dagegen bewegten sich die Spermatozoen in den äquimolekularen Na_2HPO_4 -Lösungen in diesem Zeitpunkte noch lebhaft, obschon sich die beweglichen Spermatozoen auf ca. 80% vermindert hatten. In diesem Punkte findet man eine grosse Übereinstimmung mit COHNS Auffassung (1918) über die Beziehung zwischen der Lebhaftigkeit und der Lebensdauer der Seeigelspermatozoen, welche lautet: „Increase in the activity of spermatozoa leads to a decrease in the length of time during which spermatozoa exhibit activity.“

In höheren Konzentrationen als 1/100 m NaH_2PO_4 sind die Bewe-

1) Ich hatte einmal Gelegenheit, Spermatozoen aus den Nebenhoden zu untersuchen. Die reinen Spermatozoen aus den Nebenhoden von zwei Hengsten, welche man an demselben Tage im Tierhospital der hiesiger Universität kastrierte, wurden in einer Uhrschale aufgefangen, davon mit einer Pipette 0.1 ccm eingesaugt und in 5 ccm nebenstehender Lösung (8.5 ccm isosmotische Dextroselösung + 0.5 ccm/10 Na_2HPO_4 -Lösung) suspendiert. Bei 10–19°C Zimmertemperatur erwies sich die Lebensdauer der Spermatozoen bei einem Hengste 120 Stunden, und bei dem anderen 98 Stunden, die grösste Lebensdauer der Pferdespermatozoen, die man bisher in vitro erzielen konnte.

gungen überhaupt schwach und die Lebensdauer ganz kurz; trotzdem kam die Schwanzvibration sofort nach der Versuchsanstellung in $1/33$, $1/25$ und $1/20$ NaH_2PO_4 -Lösungen lebhafter zum Vorschein als in den äquimolekularen Na_2HPO_4 -Lösungen.

Die Haufenbildung kommt in den NaH_2PO_4 -Lösungen fast immer vor, und zwar je höher die Konzentration ist, desto schneller und intensiver tritt sie auf. Bei $1/25$ und $1/20$ ist diese Erscheinung ganz allgemein, und einzelne Haufen bestehen aus mehr als 10 Spermatozoen. Auch die Na_2HPO_4 -Lösungen können diese Erscheinung einigermaßen verursachen, wenn ihre Konzentration die Schwelle von $1/50$ überschreitet; doch ist die Intensität der Erscheinung nicht besonders stark.

Zusammenfassung.

1) Die alkalische Reaktion wirkt bei geringer Konzentration auf die Lebensdauer der Spermatozoen günstiger als die neutrale, aber auf die Dauer der lebhaftesten Bewegung ungünstiger. Bei höherer Konzentration als $5/1000$ oder $1/200$ Na_2HPO_4 wirkt sie immer ungünstig. Die Haufenbildung tritt bei geringer Konzentration nicht auf, erst bei der Konzentration von $1/50$ Na_2HPO_4 findet man diese Erscheinung.

2) Die saure Reaktion wirkt bei allen Konzentrationen ungünstig sowohl auf die Lebensdauer, als auch auf die Dauer der lebhaftesten Bewegung der Spermatozoen und zwar um so ungünstiger, je stärker die Konzentration ist. Bei geringer Konzentration wirkt die saure Reaktion äusserst bewegungserregend, um aber nachher schnell einen lähmenden Einfluss auszuüben. Die Haufenbildung wird durch NaH_2PO_4 bei allen Konzentrationsgraden herbeigeführt, und ihre Intensität und Eintrittszeit sind eine Funktion der Konzentrationsstärke.

3. Wirkungen einzelner Salze.

Die Wirkungen verschiedener Salze auf die Spermatozoen sind schon von einigen Forschern studiert worden, doch gehen die Meinungen nicht selten in den wichtigsten Punkten auseinander, sodass sie noch eingehender geprüft werden müssen.

Die hier zunächst in Betracht kommenden Salze beschränken sich hauptsächlich auf diejenigen Neutralsalze, welche normalerweise im Spermaserum vorhanden sind, nämlich NaCl , KCl , MgCl_2 , CaCl_2 , und Na_2SO_4 . Um die Wirkungen des osmotischen Druckes zu beseitigen,

wurden für jedes Salz die isosmotischen Lösungen ($\Delta=0.62^\circ$) und die hypotischen Lösungen ($\Delta=0.62^\circ \times \frac{2}{3}$) als Untersuchungsflüssigkeiten benützt.

Folgende Tabelle bietet eine Übersicht der dadurch erzielten Ergebnisse :

TABELLE XIX.
Wirkungen einzelner Salze. I.

		Nr. vom Sperma	Menge des Spermas		Beginn des Versuches				Zimmertemperatur				
		A ₄₅	80 ccm		15. Juni 1918				18°-15°C				
		B ₅₁	55 ccm		13. Juni 1918				14°-16°C				
		Natur der Untersuchungsflüssigkeiten		Lebensdauer		Lebhaftigkeit				Haufenbildung			
		<i>g anhyd. Subst.</i> <i>100 g H₂O</i>				Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung		Zustand der Lebhaftigkeit sofort nach der Mischung		Zeitdauer bis zu ihrem Eintritt		Höchste Intensität	
		A ₄₅	B ₅₁	A ₄₅	B ₅₁	A ₄₅	B ₅₁	A ₄₅	B ₅₁	A ₄₅	B ₅₁	A ₄₅	B ₅₁
Isosmotische Lösungen	NaCl	1.05	13	11	2	1	+++	+++	I	I	*	*	
	KCl	1.35	6	6	1	1	+++	+++	o	I	*	*	
	CaCl ₂	1.43	15	16	o	o	++	++	o	o	***	***	
	MgCl ₂	1.17	28	20	o	o	++	++	o	o	***	***	
	Na ₂ SO ₄	2.01	27	17	o	o	++	++	o	o	**	**	
Hypotische Lösungen	NaCl	0.70	15	13	2	2	+++	+++	I	I	*	*	
	KCl	0.90	7	7	1	1	+++	+++	o	I	*	*	
	CaCl ₂	0.95	18	17	o	o	+	+	o	o	***	***	
	MgCl ₂	0.78	27	20	o	o	++	++	o	o	***	**	
	Na ₂ SO ₄	1.34	27	19	o	o	++	++	o	o	**	**	
	Natürliches Sperma		25	18	3	1	+++	+++			-	-	

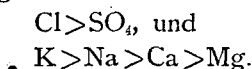
Obschon die isosmotischen Lösungen auf die Lebhaftigkeit und die hypotischen Lösungen auf die Lebensdauer mehr oder weniger günstig wirken, so ergibt sich, dass die Einflüsse der verschiedenen Salze im allgemeinen miteinander übereinstimmen, ohne Rücksicht darauf, ob es sich um isosmotische oder hypotische Lösungen handelt.

Wenn wir zunächst die Lebensdauer berücksichtigen, so sehen wir, dass verschiedene Salze auf die Lebensdauer der Spermatozoen sehr

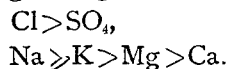
ungleich wirken; es bewegen sich nämlich die Spermatozoen in Na_2SO_4 - und MgCl_2 -Lösungen ebenso lang oder etwas länger als im natürlichen Sperma, während dagegen in CaCl_2 - und KCl - und NaCl -Lösungen die Bewegung früher als im natürlichen Sperma erlöscht. Dabei wirken nicht nur die Anionen, sondern auch die Kationen untereinander sehr verschiedenartig. Daher muss die einseitige Ansicht GÜNTHERS (1907), dass die Wirkung der Alkalisalze auf die Spermatozoen hauptsächlich durch die Anionen bestimmt werde, berichtigt werden. Unter den Anionen wirkt SO_4 günstiger als Cl , und unter den Kationen wirkt K am giftigsten und Mg am günstigsten, während Na und Ca dazwischen liegen.

Sehr bemerkenswert ist hier die Wirkung der K -Ionen. Hinsichtlich dieser gibt HIROKAWA (1909) für die Rattenspermatozoen an, dass „das KCl ebensogut befähigt ist, wie das NaCl , die Bewegung der Samenfäden zu unterhalten,“ und auch OCHI (1916) schreibt, dass „ K ions are not very poisonous, though their effect is not the same as Na ions,“ während SATÔ (1916) bei Pferdespermatozoen die K -Ionen nächst den Li -Ionen giftig findet. Es ist jedoch noch nicht angängig zu behaupten, dass dieser Unterschied zwischen Ratten- und Pferdespermatozoen in der Widerstandsfähigkeit gegen die K -Ionen wirklich von der Artverschiedenheit des Tieres bedingt sei; meiner Ansicht nach ist die Differenz vielmehr im Unterschied zwischen dem Nebenhodensperma und dem ejakulierten Sperma zu suchen, denn die Giftwirkung der K -Ionen wird, wie es im nächsten Kapitel bewiesen werden wird, durch andere entgiftend wirkende Ionen paralyisiert, solche entgiftend wirkende Ionen mögen wohl im Nebenhodensperma vorhanden sein, da die erwähnten Autoren das Nebenhodensperma mit Untersuchungsflüssigkeit nicht genügend verdünnten.

Jedenfalls wirken auf die Lebensdauer der Spermatozoen die einwertigen Ionen schädlicher als die zweiwertigen. Diese Ionen können nach ihrer Schädlichkeit folgenderweise angeordnet werden:

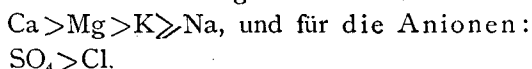


Für die Erregung der Bewegung ist die Reihenfolge ganz anders. Ordnet man die Anionen und Kationen nach dem Grade an, in dem sie die Bewegung erregen, so ergibt sich folgendes Bild:



Während nun die Anionen hier eine geringe Rolle zu spielen scheinen, zeigen die Kationen überwiegende Bedeutung. Sehr charakteristisch ist der Einfluss der K-Ionen, sie wirken augenblicklich äusserst erregend und dann schnell lähmend.

Die Haufenbildung trat in allen gebrauchten Salzlösungen ein und zwar momentan. Hierbei kommt den Anionen geringere Bedeutung zu; für die Kationen gilt folgende Reihe in bezug auf die Beschleunigung der Haufenbildung:



Während die Haufenbildung bei den Na- und K-Ionen nur schwach auftritt, ist diese bei den Mg-Ionen mittelstark und bei den Ca-Ionen äussert intensiv und so allgemein, dass etwa eine Stunde nach der Versuchsanstellung einzeln umherschwimmende Spermatozoen nicht mehr nachweisbar sind. Auf der *Tafel V* ist ein Zustand der Haufenbildung abgebildet, der gerade eine Stunde nach der Mischung des Spermas mit der isosmotischen CaCl_2 -Lösung eintrat.

Die Schwellenkonzentration der CaCl_2 -Lösung für die momentane Haufenbildung wurde durch folgendes Experiment als 4/1000m oder 1/250m bestimmt.

TABELLE XX.

Schwellenkonzentration der CaCl_2 -Lösung für die momentane Haufenbildung der Spermatozoen.

Nr. vom Sperma	Menge des Spermas	Datum des Versuches	Zimmertemperatur		
B ₀₈	50 ccm	9. Mai 1919	15°C		
Natur der Untersuchungsflüssigkeiten				Konzentration von CaCl_2 in den Spermamischungen	Zustand der Haufenbildung sofort nach der Mischung
9.0 ccm isosmotische Dextroselösung				0	-
8.9 ccm isosmotische Dextroselösung + 0.1 ccm m/10 CaCl_2 -Lösung				1/1000 m	-
8.8	"	"	"	2/1000 "	-
8.7	"	"	"	3/1000 "	-
8.6	"	"	"	4/1000 "	*
8.5	"	"	"	5/1000 "	*
8.4	"	"	"	6/1000 "	*
8.3	"	"	"	7/1000 "	*
8.2	"	"	"	8/1000 "	*
8.1	"	"	"	9/1000 "	**
8.0	"	"	"	1/100 "	**
7.0	"	"	"	2/100 "	***
6.0	"	"	"	3/100 "	***
5.0	"	"	"	4/100 "	***
4.0	"	"	"	5/100 "	***

Es fragt sich nun, ob die oben angegebene Tatsache auch bei den anderen Alkalisalzen sich geltend macht. Zu diesem Zweck wurden die Wirkungen der isosmotischen LiCl -, CaCl_2 -, SrCl_2 -, und BaCl_2 -Lösungen verglichen, und die Resultate bestätigten dies.

TABELLE XXI.

Wirkungen einzelner Salze. II.

Nr. vom Sperma	Menge des Spermas	Beginn des Versuches	Zimmertemperatur		
Bos	60 ccm	2. Okt. 1918	9°-25°C		
Natur der Untersuchungsflüssigkeiten <i>g anhyd. Subst.</i> <i>100 g H₂O</i>	Lebensdauer	Lebhaftigkeit		Haufenbildung	
		Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung	Zustand der Lebhaftigkeit sofort nach der Mischung	Zeitdauer bis zu ihrem Eintritt	Höchste Intensität
LiCl 0.75	I	o	+		-
CaCl_2 1.43	17	o	++	o	***
SrCl_2 2.04	26	o	++	o	***
BaCl_2 2.64	14	o	++	o	***
Natürliches Sperma	23	3	+++		-

Wie schon von HIROKAWA, OCHI und SATÔ vielfach bestätigt worden ist, ist die Schädigung durch Li-Salze unter den Alkalisalzen am grössten; denn schon sofort nach der Mischung zeigen nur etwa 3% der Spermatozoen noch sehr schwache Bewegung, und eine Stunde darnach kommen alle Spermatozoen zum Stillstand. Die Ba-Ionen hemmen die Bewegung und setzen die Lebensdauer mehr als die Ca-Ionen herab, während die Sr-Ionen sowohl an der Bewegungshemmung, als an der Verlängerung der Lebensdauer die Ca-Ionen übertreffen; die Ba-Ionen wirken noch stärker bewegungshemmend als die Sr-Ionen. Somit sind die Ba-Ionen unter den Erdalkalien am giftigsten. Über die Reaktionen der Muskeln und Cilien der *Arenicola*-Larven gegen Erdalkalien schreibt R. S. LILLIE (1909):

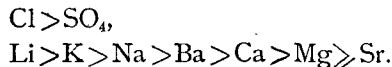
„All (the alkali-earth chlorides) produce muscular contractions except magnesium chloride; in solutions of this salt the larvae remain stiff and extended although the cilia remain active; the characteristic anaesthetic action is thus shown. With calcium chloride sluggish muscular contractions, lasting sometime, are typical; in solutions of strontium chloride similar contractions are seen, but they cease much sooner. Cilia also cease sooner in strontium than in calcium chloride, and last longest in magnesium chloride. Barium is rapidly destructive to both ciliary and muscular movement, and after the initial muscular contraction no further movement is seen in solutions of its chlorides.“

Demnach ähneln die Spermatozoen in bezug auf ihr Verhalten gegen die Erdalkalien mehr den Cilien als den Muskeln.

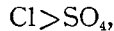
Für die Haufenbildung sind die Li-Ionen indifferent, hingegen reagieren die Sr- und Ba-Ionen etwas stärker als die Ca-Ionen, was nur an dem Umfang der Haufen zu erkennen ist. Diese Tatsache zeigt, dass eine innige Beziehung zwischen der Haufenbildung und der Wertigkeit der Ionen vorhanden sein muss.

Zusammenfassung¹⁾.

1) Die einwertigen Ionen setzen die Lebensdauer der Spermatozoen mehr herab als die zweiwertigen. Dabei besteht nachstehende Reihenfolge für die Herabsetzung der Lebensdauer :



2) Für die Erregung der Bewegung ergibt sich die Anionenreihe :



doch ist dieser Unterschied sehr gering. Dagegen sind die Kationen sehr verschieden; davon wirken die einwertigen, mit Ausnahme der Li-Ionen, bewegungserregend und die zweiwertigen hemmend, und zwar in der Reihenfolge :



3) Bei der Haufenbildung spielt die Wertigkeit der Ionen eine grosse Rolle, und zwar in der Reihenfolge :



Die Anionen sind jedoch überhaupt von geringem Einfluss, während die Kationen vorherrschen.

4. Antagonistische Wirkungen zwischen bestimmten Salzen, sowie physiologisches Äquilibrium der im Spermaserum vorhandenen Salze.

Es ist eine schon bekannte Tatsache, dass eine reine Lösung von gewissen Salzen für die lebendigen Organismen giftig ist, und dass diese Giftwirkung durch den Zusatz von anderen Salzen beseitigt werden kann. Unsere Kenntnis darüber ist in den letzten Jahrzehnten sowohl in

1) In der Zusammenfassung der Resultate in den Tabellen XIX und XXI wurde das natürliche Sperma als Masstab der Vergleichung benützt.

bezug auf das Pflanzenreich, als auch das Tierreich vielseitig erweitert worden. Noch nicht erforscht worden ist jedoch diese Erscheinung für die Spermatozoen; HIROKAWA (1909) behauptet sogar, dass antitoxische Salzwirkungen bei den Spermatozoen nicht bemerkbar sind. Da eine relativ reichliche Menge verschiedener Salze im Spermaserum vorhanden ist, und da die einzelnen Salze auf die Spermatozoen sehr verschiedenartig wirken, so ist es nicht ohne Interesse zu wissen, ob antagonistische Salzwirkungen auch im ejakulierten Sperma zu finden sind.

Zu diesem Zweck wurden zunächst die normalerweise im Spermaserum befindlichen Ionen, nämlich Na, K, Mg, Ca, Cl und SO_4 ausgewählt, und die Kationen als Chloride und die Anionen als Na-Salze geprüft. Je zwei isosmotische Lösungen von diesen Salzen wurden in allen möglichen Kombinationen und zwar in den nachfolgenden Volumenverhältnissen gemischt:

A-Lösung 9.0 ccm

A-Lösung 7.5 ccm + B-Lösung 1.5 ccm

A-Lösung 6.0 ccm + B-Lösung 3.0 ccm

A-Lösung 4.5 ccm + B-Lösung 4.5 ccm

A-Lösung 3.0 ccm + B-Lösung 6.0 ccm

A-Lösung 1.5 ccm + B-Lösung 7.5 ccm

B-Lösung 9.0 ccm.

Die Spermatozoen als Indikator waren von ein und derselben Ejakulation. Die Ergebnisse der Versuche sind die folgenden:

TABELLE XXII.

Antagonistische Wirkungen zweier Salze.

Nr. vom Sperma B ₅₂	Menge des Spermas 80 ccm	Beginn des Versuches 21. Juni 1918	Zimmertemperatur 13°-18°C		
Natur der Untersuchungs- flüssigkeiten	Lebens- dauer	Lebhaftigkeit		Haufenbildung	
		Zeitdauer der leb- haftesten Bewegung	Lebhaftig- keit sofort nach der Mischung	Zeitdauer bis zum Eintritt	Höchste Intensität
9.0 ccm NaCl	22	3	+++	I	*
7.5 ccm NaCl + 1.5 ccm KCl	21	2	+++	I	*
6.0 ccm NaCl + 3.0 ccm KCl	17	1	+++	0	*
4.5 ccm NaCl + 4.5 ccm KCl	10	1	+++	0	*
3.0 ccm NaCl + 6.0 ccm KCl	8	1	+++	0	*

1.5 ccm NaCl+7.5 ccm KCl	5	1	+++	0	*
9.0 ccm KCl	4	1	+++	0	*
9.0 ccm NaCl	22	3	+++	1	*
7.5 ccm NaCl+1.5 ccm CaCl ₂	26	1	+++	0	**
6.0 ccm NaCl+3.0 ccm CaCl ₂	27	1	+++	0	**
4.5 ccm NaCl+4.5 ccm CaCl ₂	30	0	++	0	***
3.0 ccm NaCl+6.0 ccm CaCl ₂	31	0	++	0	***
1.5 ccm NaCl+7.5 ccm CaCl ₂	27	0	++	0	***
9.0 ccm CaCl ₂	24	0	++	0	***
9.0 ccm NaCl	22	3	+++	1	*
7.5 ccm NaCl+1.5 ccm MgCl ₂	21	1	+++	1	**
6.0 ccm NaCl+3.0 ccm MgCl ₂	25	1	+++	0	**
4.5 ccm NaCl+4.5 ccm MgCl ₂	31	1	+++	0	**
3.0 ccm NaCl+6.0 ccm MgCl ₂	34	0	++	0	***
1.5 ccm NaCl+7.5 ccm MgCl ₂	35	0	++	0	***
9.0 ccm MgCl ₂	35	0	++	0	***
9.0 ccm KCl	4	1	+++	0	*
7.5 ccm KCl+1.5 ccm CaCl ₂	7	1	+++	0	***
6.0 ccm KCl+3.0 ccm CaCl ₂	7	1	+++	0	***
4.5 ccm KCl+4.5 ccm CaCl ₂	8	1	+++	0	***
3.0 ccm KCl+6.0 ccm CaCl ₂	12	0	++	0	***
1.5 ccm KCl+7.5 ccm CaCl ₂	29	0	++	0	***
9.0 ccm CaCl ₂	24	0	++	0	***
9.0 ccm KCl	4	1	+++	0	*
7.5 ccm KCl+1.5 ccm MgCl ₂	5	1	+++	1	**
6.0 ccm KCl+3.0 ccm MgCl ₂	5	0	++	1	**
4.5 ccm KCl+4.5 ccm MgCl ₂	6	0	++	0	**
3.0 ccm KCl+6.0 ccm MgCl ₂	7	0	++	0	***
1.5 ccm KCl+7.5 ccm MgCl ₂	9	0	++	0	***
9.0 ccm MgCl ₂	35	0	++	0	***
9.0 ccm CaCl ₂	24	0	++	0	***
7.5 ccm CaCl ₂ +1.5 ccm MgCl ₂	24	0	++	0	***
6.0 ccm CaCl ₂ +3.0 ccm MgCl ₂	26	0	+	0	***
4.5 ccm CaCl ₂ +4.5 ccm MgCl ₂	26	0	+	0	***
3.0 ccm CaCl ₂ +6.0 ccm MgCl ₂	28	0	+	0	***
1.5 ccm CaCl ₂ +7.5 ccm MgCl ₂	29	0	+	0	***
9.0 ccm MgCl ₂	35	0	++	0	***
9.0 ccm NaCl	22	3	+++	1	*
7.5 ccm NaCl+1.5 ccm Na ₂ SO ₄	24	2	+++	1	*
6.0 ccm NaCl+3.0 ccm Na ₂ SO ₄	25	1	+++	1	*
4.5 ccm NaCl+4.5 ccm Na ₂ SO ₄	26	1	+++	1	**

3.0 ccm NaCl+6.0 ccm Na ₂ SO ₄	26	1	+++	o	**
1.5 ccm NaCl+7.5 ccm Na ₂ SO ₄	31	1	+++	o	**
9.0 ccm Na ₂ SO ₄	31	1	+++	o	**
Natürliches Sperma 10 ccm	35	3	+++		-

Wie aus der obigen Tabelle zu ersehen ist, bestanden bei der Haufenbildung unter den Ionen keine merkbaren antagonistischen Erscheinungen; ihre Intensität stand vielmehr unter der Herrschaft der zweiwertigen Kationen. Ein gewisser Antagonismus bestand bei der Erregung der Bewegung zwischen Na und Ca, Na und Mg, K und Ca; und K und Mg. Die grösste Lebhaftigkeit zeigte sich jedoch in der Mischung von 7.5 ccm NaCl+1.5 ccm KCl¹⁾; demgemäss ist anzunehmen, dass die Na-Ionen bei Gegenwart einer geringen Menge von K-Ionen die Lebhaftigkeit noch erhöhen können. Bei der Verlängerung der Lebensdauer verhielten sich die Ionenkombinationen, wie Na und K, K und Mg, Ca und Mg, und Cl und SO₄, gegenseitig indifferent; dagegen war ein gewisser Antagonismus zwischen Na und Mg vorhanden. Sehr ausgesprochen trat die antitoxische Wirkung zwischen Na und Ca, K und Ca auf, indem die Spermatozoen in den Lösungen von NaCl+CaCl₂ und KCl+CaCl₂ länger als in der reinen NaCl-bezw. KCl- oder CaCl₂-Lösung lebten. Dabei zeigte sich im allgemeinen, dass die antitoxische Wirkung zwischen Na und Ca ausgeprägter ist, als diejenige zwischen K und Ca. Die K-Ionen können nur bei geringer Konzentration das Ca-Gift neutralisieren. Die längste Lebensdauer wurde in der Lösung von 3.0 ccm NaCl+6.0 ccm CaCl₂, und von 1.5 ccm KCl+7.5 ccm CaCl₂ erzielt, woraus zu schliessen ist, dass das Entgiftungsvermögen der Na- und K-Ionen gegenüber dem der Ca-Ionen stärker ist.

Wir haben nun gelernt, wie die reinen Salzlösungen auf die Spermatozoen wirken, und wie durch Zusatz von einem anderen Salze ihre Wirkungsweise modifiziert wird. Unsere nächste Frage ist nun, ob und wie die Wirkung der Lösung von zwei Salzen durch Zusatz von einem dritten Salze weiterhin beeinflusst werden kann.

Zu diesem Behufe habe ich der für die Lebensdauererlängerung günstigsten Mischung zweier Salze ein drittes Salz stufenweise zugesetzt. Die Spermatozoen als Indikator waren für jedes System von ein und derselben Ejakulation.

1) Dabei besteht die Tatsache, die aber in der Tabelle nicht zum Ausdruck kommt, dass diese Mischung eine stärkere Wirkung auf die Lebhaftigkeit ausübt als ihre Einzelbestandteile.

TABELLE XXIII.

Antagonistische Wirkungen dreier Salze.

I. NaCl+KCl+CaCl₂ System.

Nr. vom Sperma	Menge des Spermas	Beginn des Versuches	Zimmertemperatur		
B ₆₃	70 ccm	30. Juni 1918	20°-24°C		
Natur der Untersuchungsflüssigkeiten	Lebensdauer	Lebhaftigkeit		Haufenbildung	
		Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung	Lebhaftigkeitszustand sofort nach der Mischung	Zeitdauer bis zum Eintritt	Höchste Intensität
(A) NaCl+KCl <i>versus</i> CaCl ₂					
NaCl 7.5 ccm + KCl 1.5 ccm....(a)	18	2	+++	0	*
(a) 7.5 ccm + CaCl ₂ 1.5 ccm	24	3	+++	0	**
(a) 6.0 ccm + CaCl ₂ 3.0 ccm	21	2	+++	0	**
(a) 4.5 ccm + CaCl ₂ 4.5 ccm	17	1	+++	0	**
(a) 3.0 ccm + CaCl ₂ 6.0 ccm	16	0	++	0	***
(a) 1.5 ccm + CaCl ₂ 7.5 ccm	16	0	++	0	***
(B) NaCl+CaCl ₂ <i>versus</i> KCl					
NaCl 3.0 ccm + CaCl ₂ 6.0 ccm....(b)	23	0	++	0	***
(b) 7.5 ccm + KCl 1.5 ccm	23	0	++	0	***
(b) 6.0 ccm + KCl 3.0 ccm	21	0	++	0	***
(b) 4.5 ccm + KCl 4.5 ccm	13	0	++	0	***
(b) 3.0 ccm + KCl 6.0 ccm	8	0	++	0	**
(b) 1.5 ccm + KCl 7.5 ccm	7	1	+++	0	*
(C) KCl+CaCl ₂ <i>versus</i> NaCl					
KCl 1.5 ccm + CaCl ₂ 7.5 ccm....(c)	16	0	++	0	***
(c) 7.5 ccm + NaCl 1.5 ccm	18	0	++	0	***
(c) 6.0 ccm + NaCl 3.0 ccm	19	0	++	0	***
(c) 4.5 ccm + NaCl 4.5 ccm	19	0	++	0	**
(c) 3.0 ccm + NaCl 6.0 ccm	22	0	++	0	**
(c) 1.5 ccm + NaCl 7.5 ccm	23	1	+++	0	*
NaCl 9.0 ccm	18	2	+++	0	*
KCl 9.0 ccm	5	1	+++	0	*
CaCl ₂ 9.0 ccm	11	0	++	0	***
Natürliches Sperma 10 ccm	25	2	+++		-

TABELLE XXIV.

Antagonistische Wirkungen dreier Salze.

II. NaCl+KCl+MgCl₂ System.

Nr. vom Sperma Menge des Spermas Beginn des Versuches Zimmertemperatur
 B₆₄ 55 ccm 2. Juli 1918 20°-24°C

Natur der Untersuchungs- flüssigkeiten	Lebens- dauer	Lebhaftigkeit		Hautenbildung	
		Zeitdauer der leb- haftesten Bewegung	Zustand sofort nach der Mischung	Zeitdauer bis zum Eintritt	Höchste Intensität
(A) NaCl+KCl <i>versus</i> MgCl ₂					
NaCl 7.5 ccm+KCl 1.5 ccm....(a)	12	1	+++	0	*
(a) 7.5 ccm+MgCl ₂ 1.5 ccm	17	1	+++	0	*
(a) 6.0 ccm+MgCl ₂ 3.0 ccm	13	1	+++	0	*
(a) 4.5 ccm+MgCl ₂ 4.5 ccm	12	1	+++	0	**
(a) 3.0 ccm+MgCl ₂ 6.0 ccm	10	0	++	0	**
(a) 1.5 ccm+MgCl ₂ 7.5 ccm	9	0	++	0	***
(B) NaCl+MgCl ₂ <i>versus</i> KCl					
NaCl 1.5 ccm+MgCl ₂ 7.5 ccm....(b)	14	0	++	0	***
(b) 7.5 ccm+KCl 1.5 ccm	8	0	++	0	***
(b) 6.0 ccm+KCl 3.0 ccm	7	1	+++	0	***
(b) 4.5 ccm+KCl 4.5 ccm	7	0	++	0	***
(b) 3.0 ccm+KCl 6.0 ccm	7	1	+++	0	**
(b) 1.5 ccm+KCl 7.5 ccm	7	1	+++	0	**
(C) KCl+MgCl ₂ <i>versus</i> NaCl					
KCl 1.5 ccm+MgCl ₂ 7.5 ccm....(c)	9	0	++	0	***
(c) 7.5 ccm+NaCl 1.5 ccm	9	0	++	0	**
(c) 6.0 ccm+NaCl 3.0 ccm	12	0	++	0	**
(c) 4.5 ccm+NaCl 4.5 ccm	13	1	+++	0	**
(c) 3.0 ccm+NaCl 6.0 ccm	13	1	+++	0	**
(c) 1.5 ccm+NaCl 7.5 ccm	14	1	+++	0	**
NaCl 9.0 ccm	12	1	+++	1	*
KCl 9.0 ccm	4	0	++	0	*
MgCl ₂ 9.0 ccm	16	0	++	0	***
Natürliches Sperma 10 ccm	16	2	+++		-

Aus den obigen Versuchsreihen sieht man :

1) Ein geringer Zusatz von CaCl_2 oder MgCl_2 zu der günstigsten Lösung vom $\text{NaCl} + \text{KCl}$ System verlängert die Lebensdauer.

2) Ein Zusatz von KCl zu der günstigsten Lösung vom $\text{NaCl} + \text{CaCl}_2$ oder $\text{NaCl} + \text{MgCl}_2$ System setzt die Lebensdauer immer herab; bewegungsirregend ist er jedoch bei höherer Konzentration.

3) Ein Zusatz von NaCl zu der günstigsten Lösung vom $\text{KCl} + \text{CaCl}_2$ oder $\text{KCl} + \text{MgCl}_2$ System wirkt sowohl auf die Lebensdauer, als auch auf die Bewegung günstig, und zwar je höher ihre Konzentration ist, desto günstiger ist die Wirkung.

Daraus ergibt sich, dass die Beeinflussung durch das dritte Salz nicht gering ist. Die längste Lebensdauer und grösste Lebhaftigkeit sind in den Mischungen von (a) 7.5 ccm + 1.5 ccm $\text{CaCl}_2 = 6.25$ ccm $\text{NaCl} + 1.25$ ccm $\text{KCl} + 1.5$ ccm CaCl_2 und (a) 7.5 ccm + 1.5 ccm $\text{MgCl}_2 = 6.25$ ccm $\text{NaCl} + 1.25$ ccm $\text{KCl} + 1.50$ MgCl_2 gefunden worden. Diese Lösungen wirkten günstiger als die reinen Lösungen einzelner Salze, oder auch als eine Mischung von zwei Salzen. Soweit es sich um die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit handelt, nähern sie sich also der „physiologisch-äquilibrierten Salzlösung.“

Demnach ist das sonst sehr giftig wirkende K-Salz bei gleichzeitiger Gegenwart einer grossen Menge von Na-Salzen und einer kleinen Menge vom Mg-oder Ca-Salze nicht mehr giftig, sondern es spielt bei der Bewegung eher eine erregende Rolle¹⁾. Die Verhältnisse der Konzentration dieser Salzmischung sind dabei :

0.1125 Mol $\text{NaCl} : 0.0226$ Mol $\text{KCl} : 0.0192$ Mol CaCl_2 oder
0.0182 Mol MgCl_2 .

Wenden wir nun unser Augenmerk auf die Aschenzusammensetzung des Spermaserums ! Wenn man annimmt, dass alle gefundenen Oxyde als Chloride vorhanden sind, so erhält man beim Hengste B²⁾ aus der Tabelle VI folgende Konzentration dieser Salze :

0.1149 Mol $\text{NaCl} : 0.0266$ Mol $\text{KCl} : 0.0044$ Mol CaCl_2 :
0.0036 Mol MgCl_2 .

Vergleicht man diese Verhältnisse mit denjenigen, welche ex-

1) Dies findet sein Analogon in einer Beobachtung von F. R. LILLIE (1913), wonach das KCl für die Spermatozoen von *Nereis* giftig ist, aber bei Gegenwart von anderen Salzen grosse Lebhaftigkeit erzeugt.

2) Die Resultate der Doppelanalyse ergaben beim Hengst B die beste Übereinstimmung

perimentell als die günstigsten gefunden wurden, so versteht man, dass ein zweckmässiger Antagonismus der Salze im Spermaserum vorhanden sein muss. Das NaCl, welches im Spermaserum überwiegend vorkommt und für die Erhaltung der osmotischen Beziehungen zwischen den Spermatozoen und der betreffenden Flüssigkeit eine grosse Bedeutung besitzt, kann allein die Bewegung der Spermatozoen beschleunigen und diese ziemlich lang unterhalten. Bei Gegenwart einer gewissen Menge vom K-Salze wird aber die Lebhaftigkeit der Bewegung noch erhöht, und in der Tat befinden sich die Na- und K-Salze im Spermaserum in fast gleichem Verhältnisse, welches experimentell für die Spermatozoen die grösste Lebhaftigkeit produziert. Somit kann man leicht verstehen, warum das Spermaserum, im Unterschiede zu den meisten Körperflüssigkeiten, so hohen Kaliumgehalt zeigt. Während die Lebhaftigkeit durch gemeinsame Wirkung von Natrium und Kalium erheblich erhöht wird, wird die Lebensdauer dagegen herabgesetzt. Die im Spermaserum befindlichen Ca- und Mg-Salze wirken dabei als Hemmungsfaktoren auf die die Lebensdauer herabsetzende Wirkung der Na- und K-Salze, wobei die Hemmungskraft der Mg-Salze geringer ist als die der Ca-Salze.

Die Wahrscheinlichkeit dieser Auffassung wird auch durch folgendes Experiment gestützt. Eine Reihe von Salzlösungen wurde nach der obigen Molekularkonzentration der Spermaserumsalze isomerisch hergestellt, alle Salze als Chloride angenommen, und zwar in der Weise :

- (a) 0.661 g NaCl in 100 ccm Lösung,
- (b) 0.661 g NaCl + 0.195 g KCl in 100 ccm Lösung,
- (c) 0.661 g NaCl + 0.195 g KCl + 0.068 g CaCl₂ in 100 ccm Lösung,
- (d) 0.661 g NaCl + 0.195 g KCl + 0.068 g CaCl₂ + 0.034 g MgCl₂ in 100 ccm Lösung,

worauf die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit der Spermatozoen in diesen Lösungen bestimmt wurden.

TABELLE XXV.

Antagonistische Salzwirkungen.

Nr. vom Sperma	Menge des Spermas	Beginn des Versuches	Zimmertemperatur		
B ₆₆	70 ccm	2. Sept. 1918	17°-24°C		
Untersuchungsflüssigkeiten	Lebensdauer	Lebhaftigkeit		Haufenbildung	
		Zeitdauer der lebhaftesten Bewegung	Lebhaftigkeitszustand sofort nach der Mischung	Zeitdauer bis zum Eintritt	Höchste Intensität
(a)	17	1	+++		-
(b)	14	1	+++	1	*
(c)	20	1	+++	0	**
(d)	22	1	+++	0	**
Natürliches Sperma	25	1	+++		-

Gestützt auf die Analysenresultate der Aschenzusammensetzung des Spermaserums, sowie auf das physiologische Verhalten der Spermatozoen gegen die verschiedenen im Spermaserum befindlichen Salze ist man berechtigt anzunehmen, dass das Spermaserum eine physiologisch-äquilibrierte Salzlösung darstellt, soweit es sich auf die Lebensdauer und Lebhaftigkeit der Spermatozoen bezieht.

Zusammenfassung.

1) Die spezifischen Wirkungen einzelner Salze auf die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit der Spermatozoen werden durch Zusatz von einem anderen Salze modifiziert; durch Zugabe eines dritten Salzes werden diese Wirkungen weiterhin beeinflusst.

2) Bei der Haufenbildung der Spermatozoen tritt keine merkbare antagonistische Wirkung unter den verschiedenen Salzen auf; ihre Intensität steht vielmehr unter der Herrschaft der zweiwertigen Ionen.

3) Im Spermaserum scheint ein zweckmässiger Antagonismus der Salze vorhanden zu sein, sodass, soweit Lebensdauer und Lebhaftigkeit der Spermatozoen in Frage kommt, das Spermaserum als eine physiologisch-äquilibrierte Salzlösung bezeichnet werden darf.

5. Haufenbildung der Spermatozoen.

Die Erscheinung der Haufenbildung der Spermatozoen, wie schon kurz erwähnt, besteht darin, dass mehrere Spermatozoen mit den Kopfsenden sich zu einem Haufen vereinigen und mit radial gestellten Schwänzen sich herumbewegen. Die Zahl der Spermatozoen, die einen Haufen bilden, ist sehr schwankend; manchmal besteht dieser nur aus zwei oder drei, manchmal aus mehr als zehn Spermatozoen. Oft vereinigt sich ein Haufen mit einem anderen, um einen grösseren Ballen zu bilden. Die gebildeten Haufen sind so fest, dass sie durch Schütteln nicht zu trennen sind.

Die Haufenbildung der Spermatozoen kommt im Sperma sofort nach der Ejakulation nicht vor, wohl aber bei langem Stehen in dicht geschlossenem Gefässe. Wenn ferner die Dichtigkeit der Spermatozoen im Sperma abnorm gross ist, tritt diese Erscheinung selbst sofort nach der Ejakulation auf.

Sehr ausgeprägt ist diese Erscheinung, wie man schon gesehen hat, in einigen künstlichen Medien.

Obwohl die Haufenbildung in den meisten Fällen nur mit Spermatozoen stattfindet, sieht man dann und wann in der Mitte dieser Haufen die im normalen Sperma sich befindlichen Epithelzellen oder Leukozyten liegen, als wenn die Spermatozoen gegen diese Formelemente eine positive Chemotaxis hätten. Da aber die Beteiligung dieser Formelemente an der Haufenbildung trotz ihrer konstanten Beimengung zu den Spermatozoen nicht immer zu finden ist, und die meisten von ihnen in der Suspension freiliegen, so ist diese nicht als notwendig, sondern als zufällig anzusehen.

Über die Haufenbildung der Säugetierspermatozoen ist sehr wenig bekannt; soweit ich die Literatur kenne, sind DEWITZ (1902), LOEW (1903) und BALLOWICZ (1906) die alleinigen Forscher, die darauf aufmerksam gemacht haben. DEWITZ (*zit.* nach LOEW) schreibt über diese Erscheinung wie folgt:

„Wenn man den Hoden einer weissen Maus in wenig Kochsalzlösung mit einer Schere fein zerkleinert, so bilden die Spermatozoen in der Flüssigkeit nach einiger Zeit sogen. Medusenköpfe. Eine grosse Anzahl von Spermatozoen ist mit den Kopfsenden vereinigt. Diese Vereinigung kommt dadurch zustande, dass in der Flüssigkeit aus dem Hoden stammende rundliche Zellelemente auf Spermatozoen eine gewisse Anziehung auszuüben scheinen, sodass die Spermatozoen beim Vorüberschwimmen an einem solchen Stücke stillhalten und mit ihren schnabelförmigen Kopfsenden in dasselbe hineinhaken. ***** Oft ist nur ein ganz kleines Stückchen Substanz vorhanden, welches als Bindeglied für mehrere Spermatozoenschnäbel dient.“

In LOEWS Angabe über die Rattenspermatozoen heisst es weiterhin :

„An einem kleinen Hodengewebstückchen hingen viele Spermatozoen mit den Köpfen zusammen, die Schwänze jedoch bewegten sich auf das lebhafteste, und man hatte so das schöne Bild eines tänzelnden Sternes. Manchmal schwand das Bild, indem sich die Spermatozoen auseinanderreissen, um jedes seine eigenen Wege zu wandeln, manchmal erlahmten sie in dieser Vereinigung.“

BALLOWICZs Beschreibung über die Haufenbildung der Spermatozoen einer Gürteltierart (*Dasypus villosus*, Desm.) lautet folgenderweise :

„Schon im ersten Präparat, welches ich von dem frischen Sperma aus dem Nebenhoden nach Verdünnung derselben mit physiologischer Kochsalzlösung anfertigte, fiel mir auf, dass bei weitem die meisten sich lebhaft bewegenden Spermien paarweise mit den Köpfen zusammensassen. Die beiden Köpfe lagen dabei je mit einer ganzen Fläche aneinander und zwar so, dass die Ränder der blattartig dünnen Köpfe zusammenfielen oder nur wenig gegeneinander verschoben waren. Hier und da war die Verschiebung grösser, sodass die voneinander entfernten Ränder schon bei schwächerer Vergrösserung deutlich voneinander abgegrenzt werden konnten. Bisweilen waren auch 3 Spermien mit den Köpfen kopuliert. Nicht selten hingen Spermienpaare mit den Köpfen zusammen, sodass Gruppen von 4, ja noch mehr Samenkörpern angetroffen wurden. Hier und da sah ich je 2 Spermien auch irregulär mit den Köpfen kopuliert, sodass die Geisseln nach entgegengesetzten Seiten gerichtet waren.“

Diese Erscheinung bezeichnet BALLOWICZ als „Syzygie.“ Wenngleich die ersteren beiden Autoren diese Erscheinung als eine positive Chemotaxis der Spermatozoen gegen die Gewebszellen zu erklären versucht haben, so scheint es mir aus diesen Zitaten hervorzugehen, dass dieselbe mit unserer Haufenbildung identisch ist. Der Hauptgrund, der diese Autoren zu dieser Annahme führte, liegt wahrscheinlich darin, dass sie mit dem Nebenhodensperma arbeiteten, bei dem sich öfters Gelegenheit der Beimischung von Gewebszellen in der Spermatozoen-Suspension bot, weshalb die Aufmerksamkeit der Autoren sich nur auf die Gewebszellen aufweisenden Spermatozoenhaufen richtete. Ich konnte auch beim Nebenhodensperma vom Kaninchen, Schweine und Pferde feststellen, dass die Spermatozoen in 1%iger NaCl-Lösung mit Gewebstückchen vom Nebenhoden Haufen bildeten oder auch ohne diese typische Haufenbildung blieben. Ferner wurden einer Stute frisch entnommene Gewebstückchen von Lunge, Leber, Niere, Ovarium, Darmschleimhaut und Uterusschleimhaut in einer Mischung von 9 ccm isosmotischer Dextroselösung + 1 ccm Sperma suspendiert, aber keine chemotaktische Neigung der Spermatozoen gegen diese Gewebszellen kam zum Vorschein. Demnach ist die Vermutung, dass es sich bei der Haufenbildung der Spermatozoen um eine positive Chemotaxis gegen die Gewebszellen handelt, vollkommen ausgeschlossen.

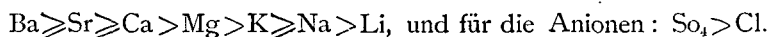
Vor einigen Jahren wurde von F. R. LILLIE (1912, 1913, 1915), und J. LOEB (1914) eine unserem Falle sehr ähnliche Erscheinung bei den Seeigelspermatozoen mitgeteilt und über deren Wesen viel gestritten. Die Bezeichnung dieser Erscheinung heisst nach F. R. LILLIE „sperm agglutination“ und nach J. LOEB „cluster formation.“ Während nun der erstere Autor die Erscheinung dem von den Eiern abgeschiedenen „sperm agglutinin“ zuzuschreiben versucht, deutet der letztere an, dass sie eine negative Chemotaxis gegen die spezifischen Substanzen aus der gallertigen Hülle der Eier, nämlich dem Chorion, sei. Da die Haufenbildung bei den Seeigelspermatozoen sich stets beim Vorhandensein von Eiern vollzieht, was bei meinen Versuchen nicht der Fall ist, so bleibt es fraglich, inwieweit sich zwischen der Haufenbildung der Spermatzoen und der „cluster formation“ der Seeigelspermatozoen ein Parallelismus ziehen lässt. Daher beschränke ich mich vorderhand hauptsächlich auf meine eigenen Beobachtungen.

Aus den obigen Versuchen haben wir bezüglich der Haufenbildung der Spermatozoen eine Anzahl Daten kennen gelernt, welche etwa wie folgt zusammengestellt werden können.

1) Die Haufenbildung der Spermatozoen wird nicht vom Nichtelektrolyten, sondern vom Elektrolyten herbeigeführt; dabei zeigt der osmotische Druck keine Beeinflussung (*Fig. 1, Taf. IV*).

2) Die Reaktion der Lösungen ist von grosser Bedeutung. Die H-Ionen wirken immer beschleunigend, während die OH-Ionen nur in einer bestimmten hohen Konzentration wirksam sind: so z. B. veranlasst das NaH_2PO_4 die Bildung der Haufen schon in der 1/200m Lösung, während die Na_2HPO_4 -Lösung erst bei 1/50m diese Erscheinung hervorruft. Auch in der Stärke der Haufenbildung besteht ein grosser Unterschied zwischen den NaH_2PO_4 - und Na_2HPO_4 -Lösungen in den äquimolekularen Lösungen.

3) In den Lösungen vom Neutralsalze sind die Kationen von überwiegender Bedeutung, während die Anionen eine untergeordnete Rolle zu spielen scheinen. Diese Reihenfolge ist für die Kationen:



Daraus ist auch zu schliessen, dass die Wertigkeit der Ionen von grosser Bedeutung ist.

4) Die Zeitdauer bis zum Eintritt der Haufenbildung und deren Stärke sind eine Funktion der Konzentration der Elektrolytlösung. Das beste Beispiel dafür fanden wir in der Wirkung der NaH_2PO_4 -Lösungen

von verschiedener Konzentration in der Tabelle XVIII. Als Schwellenwert der CaCl_2 -Lösung für die momentane Haufenbildung erwies sich $1/250\text{m}$.

5) Bei der Haufenbildung war kein Antagonismus zwischen den verschiedenen Salzen bemerkbar. Ihre Stärke wurde vielmehr durch die überwiegend vorhandenen Salze bestimmt.

Soviel kann man aus diesen verschiedenen Daten erkennen, dass die Haufenbildung der Spermatozoen, sei es direkt oder sei es indirekt, durch die Wasserstoff- und Hydroxylionen und durch die verschiedenen Salze herbeigeführt werden kann.

Ausserdem füge ich noch die folgenden wichtigen Beobachtungen darüber hinzu.

6) Zur Haufenbildung ist die Eigenbewegung der Spermatozoen eine notwendige Vorbedingung. Die Spermatozoen, die von selbst gestorben oder in Kochsalzsublimatlösung oder über Osmiumdampf frisch abgetötet worden waren, zeigten trotz des Zusatzes von adäquaten Reagentien niemals Haufenbildung; selbst die NaCl - und CaCl_2 -Lösungen, die bei isosmotischer Konzentration eine deutliche Haufenbildung veranlassen können, sind nicht imstand, diese Erscheinung hervorzurufen, selbst bei so hoher Konzentration wie 10%, wobei die Spermatozoen augenblicklich abgetötet werden. 5 Minuten langes Schütteln lässt keinen Erfolg erzielen.

7) Die Reaktion der Haufenbildung ist reversibel. Die schon gebildeten Haufen werden mit absteigender Bewegungsenergie der Spermatozoen allmählich gelockert; so z. B. bei B_{51} in der Tabelle XIX verschwand diese Erscheinung in CaCl_2 -Lösungen 13 Stunden nach der Versuchsanstellung und in MgCl_2 -Lösungen 16 Stunden nachher. Die Ursache, dass die Ca-Ionen trotz ihrer stärkeren Beschleunigungsfähigkeit der Haufenbildung diese Erscheinung früher als die Mg-Ionen auslöschten, ist dadurch erklärlich, dass die ersteren die Herabsetzung der Lebensdauer der Spermatozoen mehr bewirken als die letzteren, und die Haufenbildung, wie oben angeführt, von der Eigenbewegung der Spermatozoen abhängig ist.

8) Die Haufenbildung der Spermatozoen ist nicht artspezifisch, d. h. selbst artfremde Spermatozoen können sich zu ein und demselben Haufen ansammeln. Die Kaninchenspermatozoen übertreffen in der Kopfgrösse etwa zweimal die Pferdespermatozoen, so sind die beiden

unter dem Mikroskop leicht unterscheidbar.¹⁾ Wenn man auch die Spermatozoen der beiden Tiere in der isosmotischen Dextroselösung zusammenmischt, so tritt keine Haufenbildung ein. Aber Zusatz von einem gleichen Volumen der isosmotischen CaCl_2 -Lösung zu dieser Spermamischung ruft augenblicklich eine starke Haufenbildung hervor, und die Spermatozoen der beiden Tiere vereinigen sich ganz gemischt zu ein und demselben Haufen.

9) Die Erscheinung der Haufenbildung ist nicht als eine einfache Ausflockung zu betrachten. Da eine Spermamischung eine organisierte Suspension darstellt, die Spermatozoen bekanntlich anodisch wandern, also negativ geladen sind, und da die Haufenbildung hauptsächlich durch die H-Ionen und die anderen Kationen zustandekommt, so liegt der Gedanke nahe, die Haufenbildung der Spermatozoen als eine Ausflockungserscheinung aufzufassen, wie sie MINES (1912 *zit.* nach BAYLISS) bei der Agglutination der Blutkörperchen von *Scyllium* mit Ceriumchlorid erzielen konnte. Man sieht jedoch bald, dass dies keineswegs der Fall ist. Die Spermatozoen-Suspension kann natürlich durch geeignete Reagentien ausgeflockt werden, aber das Resultat ist ganz anders als bei der vorliegenden Haufenbildung. Setzt man 0.2–0.3 ccm einer 10%-igen Eisenchloridlösung zu einer Spermamischung von 9 ccm isosmotischer Dextroselösung + 1 ccm Sperma hinzu, so entsteht fast augenblicklich eine Ausflockung, die man schon makroskopisch im Reagensröhrchen erkennen kann. Während die Suspendierflüssigkeit bei der Haufenbildung keine Veränderung des Farbentons erfährt, wird sie beim Ausflocken schon nach einigen Minuten ganz durchsichtig. Das mikroskopische Bild zeigt, dass die Spermatozoen im Unterschiede zur Haufenbildung sich zu einer unregelmässigen, netzförmigen Masse ansammeln (*Fig. 2, Taf. IV*). Diese Reaktion ist für die Spermatozoen vernichtend, indem ihre Bewegungen nach einigen Minuten aufhören, und irreversibel; das ganze Phänomen scheint also mit demjenigen, welches von J. LOEB unter dem Namen von „agglutination“ und von LILLIE (1915) als „mass coagulation“ beschrieben worden ist, identisch zu sein.

Was ist nun das Wesen der Haufenbildung? Oberflächlich scheint es, dass die Haufenbildung eine positive Chemotaxis der Spermatozoen gegen die anderen Spermatozoen darstellt. Selbst wenn man das

1) Die Kaninchenspermatozoen wurden aus den Nebenhoden gewonnen, indem man frisch mit einer Schere zerkleinerte Nebenhodenstückchen mit isosmotischer Dextroselösung extrahierte und mit Seidentuch filtrierte.

Vorkommen einer chemotaktisch wirkenden Substanz in den Spermatozoen zugeht, so ist doch unerklärlich, wie ein und dieselbe, von allen Spermatozoen gleichmässig diffundierende Substanz die Bewegungsrichtung der Spermatozoen bestimmen kann. Auf jeden Fall ist es klar, dass die Elektrolyte stets bei der Haufenbildung eine wichtige Rolle spielen. Es fragt sich nun, ob die Wirkung der Elektrolyte bei dieser vitalen Erscheinung der Spermatozoen indirekt oder direkt ist, in anderen Worten, ob es dabei eine spezifische Substanz gibt, welche die Spermatozoen derart verändert, dass sie durch Elektrolyte zusammengehäuft werden. Weitere Untersuchungen, die nun im Gange sind, werden darüber Aufschluss zu geben haben.

Vorderhand kann man sagen, dass die Haufenbildung der Spermatozoen eine vitale, nichtartspezifische Erscheinung ist, die mit den Elektrolyten in inniger Beziehung steht.

6. Beeinflussung der Lebensdauer und Lebhaftigkeit der Spermatozoen durch die Häufigkeit der Deckungen.

Auf den Einfluss der Häufigkeit der Deckungen auf die Lebensdauer der Pferdespermatozoen hat LEWIS (1911) zuerst aufmerksam gemacht. Nach ihm zeigte ein schweres Zugpferd, welches täglich einmal und zwar 9 Tage lang zur Deckung benützt wurde, dass von den Spermatozoen von der ersten Deckung nach $9\frac{1}{2}$ Stunden noch 20% lebten, bei der 5. Deckung waren nach 9 Stunden alle Spermatozoen tot, und bei der 6. Deckung waren nach 5 Stunden nur noch 5% aller Spermatozoen lebendig, und $4\frac{1}{2}$ Stunden nach der 9. Deckung bewegten sich keine Spermatozoen mehr.

In neuerer Zeit haben LLOYD-JONES und HAYS (1918) mit Kaninchen noch ausführlichere Versuche gemacht, indem sie Kaninchenböcke mit einem kurzen Zeitintervall (durchschnittlich 10-20 Minuten) bis 20 mal decken liessen. Dabei fanden die Autoren bei einem Bocke, dass von den beweglichen Spermatozoen bei der ersten Deckung sofort nach der Gewinnung 97%, nach 4 Stunden noch 95%, nach 8 Stunden 40%, nach 16 Stunden 35%, nach 20 Stunden 32%, nach 28 Stunden nur noch 10% Bewegung aufwiesen, die erst nach 32 Stunden ganz aufhörte, während von den Spermatozoen bei der 20. Deckung sofort nach der Gewinnung 90%, nach 4 Stunden 50%, nach 8 Stunden 10% beweglich waren, und schon nach 16 Stunden alle tot waren. Daraus sind die Autoren zur Annahme gekommen: „there is a well-marked

tendency for the sperm in semen from the higher service groups to show less , vitality ' or , potential energy,' as measured by the duration of motion which they will display."

Da beim Pferdehengste es unmöglich ist, in so kurzen Zeitabschnitten so häufig wie beim Kaninchen decken zu lassen, bezweckt nun der vorliegende Versuch die Beantwortung der Frage, ob die Lebensdauer und die Lebhaftigkeit der Spermatozoen durch täglich 2 malige Deckung, also die gewöhnliche Deckungshäufigkeit unserer Staatsbeschäler, beeinflusst wird. Als Untersuchungsmaterial dienten mir 10 ccm von natürlichem Sperma. Die eine Probe enthaltenden Reagensröhrchen wurden mit Wattebausch in einen mit Wasser von 25°C vorher gefüllten Thermos gebracht und mit einem einen Thermometer haltenden Gummistöpsel geschlossen. Sobald die Wassertemperatur im Thermos sank, wurde sie immer zur konstanten Temperatur von 25°C korrigiert; somit kann man die äusseren Bedingungen wie Temperatur, Licht, Verdunstung usw. gleichmässig erhalten, was für die Vergleichung der Lebensdauer der zeitverschiedenen Spermatozoen-Präparate unbedingt notwendig ist. Folgendes ist das Ergebnis:

TABELLE XXVI.

Einfluss der Deckungshäufigkeit.

Nr. vom Sperma	Zeit der Gewinnung	Zeit der Beobachtung (Stunden nach der Gewinnung)	Prozentsatz der beweglichen Spermatozoen	Lebhaftigkeit
B ₃₀	9 Uhr 4. Okt. '18.	0	100	+++
		2	70	++
		4	30	+
		6	3	+
		8	0	
B ₃₁	16 Uhr 4. Okt. '18.	0	98	+++
		2	80	++
		4	50	++
		6	40	+
		8	10	+
		10	0	

B ₃₂	9 Uhr 5. Okt. '18.	0	95	+++
		2	80	++
		4	50	++
		6	50	++
		8	40	+
		10	30	+
		12	5	+
		14	3	+
		16	1	+
		18	0	
B ₃₃	16 Uhr 5. Okt. '18.	0	95	+++
		2	80	++
		4	70	++
		6	40	++
		8	5	+
		10	3	+
		12	0	
B ₆₄	9 Uhr 6. Okt. '18.	0	100	+++
		2	90	++
		4	60	++
		6	50	++
		8	30	+
		10	30	+
		12	20	+
		14	10	+
		16	1	+
		18	0	
B ₆₆	9 Uhr 10. Min. 6. Okt. '18.	0	95	++
		2	60	+
		4	30	+
		6	25	+
		8	20	+
		10	5	+
		12	1	+
		14	0	

Vergleicht man zunächst die Lebensdauer der Spermatozoen bei B_{30} und B_{31} mit derjenigen bei B_{32} bis B_{66} , so sieht man, dass die Lebensdauer in den ersten zwei Fällen kürzer erscheint als in den anderen Fällen, d.h. also, dass eine Beschädigung der Lebensdauer der Spermatozoen durch täglich 2malige Deckungen bei mässiger Zwischenzeit nicht zu konstatieren ist. Wenn die Lebensdauer der Spermatozoen durch die Deckungshäufigkeit so deutlich wie bei LEWIS geschädigt würde, so müsste die Erscheinung gerade das Gegenteil beweisen, und zwar mit grösseren Zeitdifferenzen um so deutlicher sein, da die Deckungshäufigkeit bei mir zweimal so gross ist wie bei dem genannten Autor. Die Lebhaftigkeit der Spermatozoen wird dabei auch nicht beträchtlich beeinflusst. Obgleich die chemische Beschaffenheit des Spermas, wie wir schon gesehen haben, bei aufeinanderfolgenden Deckungen erheblich schwankt, so beschränkt sich diese Variation hauptsächlich auf die organischen Bestandteile, die mit den Lebenserscheinungen der Spermatozoen nicht viel zu tun haben; die Zusammensetzung der Aschenbestandteile, die für die Spermatozoen von grosser Bedeutung ist, bleibt dagegen ziemlich konstant. Aus dieser Tatsache dürfen wir schon schliessen, dass die Lebensdauer der Spermatozoen trotz aufeinanderfolgenden Deckungen bei adäquater Zwischenzeit nicht deutlich geschädigt wird.

Etwas anders ist jedoch das Verhältnis beim Sperma B_{35} , welches nur 10 Minuten nach der vorhergehenden Deckung gewonnen wurde. In diesem Falle zeigten trotz ihrer verhältnismässig längeren Lebensdauer die Spermatozoen schwache Lebhaftigkeit, und viele von ihnen bewegten sich mit gebogenen Schwänzen im Kreise herum. Demnach scheint, wie bei LLOYD-JONES und HAYS, die nach einer allzukurzen Zwischenzeit ausgeführte Deckung der Lebhaftigkeit der Spermatozoen schädlich zu sein, auch wenn diese täglich nur zweimal stattfindet. Ob es sich aber dabei direkt um „less vitality or potential energy“ der Spermatozoen (im Sinne von LLOYD-JONES und HAYS) selbst, oder um die Folgeerscheinung der Veränderung des Spermaserums handelt, ist eine offene Frage.

Jedenfalls ist daraus zu schliessen, dass weder Lebensdauer noch Lebhaftigkeit der Spermatozoen durch täglich zweimalige Deckung bei adäquater Zwischenzeit beschädigt wird, wohl aber bei so kurzer Zwischenzeit wie 10 Minuten.

7. Befruchtungsfähigkeit des verdünnten Spermas.

Bei seinen Versuchen zwecks künstlicher Befruchtung benützte IWANOFF (1907) das mit 1%iger NaHCO_3 -Lösung oder physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Sperma; dabei fand er, dass 8 Stuten von den behandelten 15 Stuten befruchtet wurden (53%). In unseren Staatsgestüten braucht man bei der künstlichen Befruchtung immer mit 5.0-5.2 %iger Dextroselösung oder 10 %iger Rohrzuckerlösung verdünntes Sperma, gestützt auf die Befunde von SATÔ (1916), der für die Verlängerung der Lebensdauer der Spermatozoen diese Lösung als die am günstigsten wirkende gefunden hat. Nach einer Mitteilung,¹⁾ die kürzlich von unserem Gestütsbureau veröffentlicht worden ist, haben von den 38 so behandelten gesunden Stuten 27 im Zeitraum von 1913 bis 1917 Fohlen gehabt (71%).

Daraus sieht man, dass man bei der künstlichen Befruchtung mit viel dünnerem Sperma eine Stute befruchten kann, als mit demjenigen, welches die Natur liefert. Da aber eine Verdünnung des Spermas selbstverständlich die Zahl der Spermatozoen herabsetzt, habe ich einmal eine numerische Feststellung der Spermatozoen bei der künstlichen Befruchtung vorgenommen.

Zuerst wurde das wie gewöhnlich gewonnene Sperma mit 5.2 %iger Dextroselösung 3-fach verdünnt und dann 10 ccm dieses verdünnten Spermas mit einem IWANOFFSchen Gummischlauch ins Collum uteri einer Stute tief eingespritzt. Die Operation geschah am 3. Tage der Brunstperiode. Gleichzeitig wurde die Zahlbestimmung der lebhaften Bewegung zeigenden Spermatozoen in dieser Spermaprobe vorgenommen. Nach 339 Tagen gebär diese Stute ein gesundes weibliches Fohlen. Somit ist es erwiesen, dass selbst so dünnes Sperma, bei dem der Gehalt an Spermatozoen im ganzen $619 \cdot 10^6$ und pro cmm 61,900 betrug, eine Stute zur Befruchtung bringen kann.

Wie verhält sich nun noch dünneres Sperma in bezug auf die Befruchtungsfähigkeit?

Im folgenden Jahre wurde eine Spermaprobe, bei der vorher der Gehalt an Spermatozoen berechnet worden war, mit 5.2 %iger Dextroselösung derart verdünnt, dass die Zahl der Spermatozoen im ganzen über $619 \cdot 10^6$ und pro ccm weniger als die Hälfte von 61,900 betrug. Die Einspritzung des Spermas wurde gleicherweise wie oben bei einer ganz gesunden Stute ausgeführt, und zwar am 3. Tage der Brunstperiode. Die Ergebnisse blieben jedoch beidemal negativ.

1) *Basuikyoku-Hô* (Mitteilung vom japanischen Gestütsbureau). Nr. 13. 1919.

TABELLE XXVII.

Befruchtungsfähigkeit des verdünnten Spermas.

		Versuch I.	Versuch II.	Versuch III.
Stuten		„Taisui“, Vollblut, 4-jährig, im Besitz vom Gestüt der Hokkaido-Regierung, im vorigen Jahre nicht befruchtet.	Hokkaido-Landstute, 4-jährig, im Besitz der Universitätsfarm, dieses Jahr gefohlt.	Dieselbe Stute wie beim Versuche II.
Hengste		„Mormon VII“, Vollblut, 10-jährig, im Besitz vom Gestüt der Hokkaido-Regierung.	„Shinden“ (A), 11-jährig, Hackney-Kreuzung, im Besitz der Universitätsfarm.	„Yunai“ (B), 11-jährig, Angloaraber-Kreuzung, im Besitz der Universitätsfarm.
Natürliches Sperma	Menge des Spermas ccm	60	40	70
	Zahl der Spermatozoen pro cmm	185,600	92,600	267,400
	Gesamtzahl der Spermatozoen	11,136·10 ⁶	3,704·10 ⁶	18,718·10 ⁶
Verdünntes Sperma	Verdünnung	3:1	3:1	10:1
	Zahl der Spermatozoen pro ccm	61,900	30,870	26,740
	Injizierte Menge ccm	10	30	40
	Gesamte Zahl der injizierten Spermatozoen	619·10 ⁶	926·10 ⁶	1,070·10 ⁶
Datum der Injektion		18. Mai 1916	12. Mai 1917	7. Juni 1917
Resultate		Ein gesundes weibliches Fohlen namens „Kabain“ wurde am 22. April 1917 geboren.	Am 5. Juni 1917 zeigte diese Stute Rossigkeit, daher wurde der Versuch III angestellt.	19. Mai 1918 wieder rossig.

Es erfolgt daraus, dass ein übertrieben verdünntes Sperma für die Befruchtung untauglich ist, obschon die gesamte Zahl der Spermatozoen dazu genügte. Selbst beim Frosche, bei dem die Spermatozoen direkt auf die Eier ejakuliert werden, wurde schon von PREVOST und DUMAS (1824) und LEUCKART (1849) experimentell gezeigt, dass ein Spermatozoon nicht genügt, um ein Ei zu befruchten

(zit. nach LODE). Neuerdings hat F. R. LILLIE (1915) die Befruchtungsfähigkeit des verdünnten Spermas bei *Arbacia* studiert; gestützt darauf nahm der genannte Autor an, dass die Spermatozoen eine spezifische, bei Verdünnung mehr oder weniger leicht verschwindbare Substanz in sich enthalten, welche für den Befruchtungsvorgang sehr wichtig ist. Selbst wenn man von LILLIES Befruchtungstheorie absieht, ist es kaum zweifelhaft, dass eine gewisse Dichtigkeit der Spermatozoen in einem Ejakulate für die Befruchtung notwendig ist, besonders bei einem so grossen Säugetiere wie beim Pferde, dessen weiblicher Genitaltrakt aus geräumigen und komplizierten Organen besteht.

Wie schon erwähnt, kann auch auf natürlichem Wege die Dichtigkeit der Spermatozoen in einem Sperma ziemlich tief sinken, ja bisweilen unter die experimentell bewiesene Grenze der Befruchtungsfähigkeit, was z. B. beim Sperma B₆₅ der Fall war. Demnach scheint es überhaupt vergeblich zu sein, wenn ein Züchter sehr oft den Hengst nach einer Deckung sofort wieder aufspringen lässt, um die Befruchtung sicher zu stellen.¹⁾ Besonders erfolglos scheint mir eine solche Doppeldeckung bei einem Beschäler zu sein, der während einer Deckperiode fast ununterbrochen arbeiten muss.

Die praktischen Tierzüchter, die heutzutage die Sterilität bekämpfen, müssen daher auch auf die Oligospermie aufmerksam gemacht werden, die nicht nur pathologisch, sondern auch physiologisch eintreten kann.

1) Umsoweniger als die Lebhaftigkeit der Spermatozoen des zweiten Sprunges erheblich herabgesetzt ist, wie es im vorigen Versuche bewiesen worden ist.

Literaturverzeichnis.

- BALLOWICZ, E., Über Syzygie der Spermien bei den Gürteltieren, ein Beitrag zur Kenntnis der Edentaten-Spermien. *Anat. Anz.*, Bd. 29. 1906.
- BARBERIO, M., Neuer Beitrag zu meiner Spermareaktion. *Deutsch. med. Wochenschr.*, Jahrg. XXXVII. Nr. 5. 1911.
- BAYLISS, W. M., *Principles of general physiology*. 1915.
- BERING, F., Untersuchungen über Prostatasekret, insbesondere die Corpora amyloidea. *Arch. f. Dermat. u. Syphil.*, Bd. 75. 1905.
- BJÖRLING, E., Woraus bestehen die Prostatakörner? *Arch. f. Dermat. u. Syphil.*, Bd. 103. 1910.
- BOCARIUS, N., Zur Kenntnis der Substanz, welche die Bildung von FLORENCESchen Kristallen bedingt. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, Bd. 34. 1902.
- BROESKE, G., Über die Entleerung und Beschaffenheit der menschlichen Samenflüssigkeit. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 78. 1911.
- COHN, J. E., Studies in the physiology of Spermatozoa. *Biol. Bull.*, Vol. 34. No. 3. 1918.
- FÜRBRINGER, P., Untersuchungen über die Herkunft und klinische Bedeutung der sogen. Spermakristalle usw. *Zeitschr. f. klin. Med.*, Bd. 3. 1881.
- GÜNTHER, G., Über Spermengifte. *Arch. f. d. ges. Physiol.*, Bd. 118. 1907.
- HAMBURGER, H. J., *Osmotischer Druck und Ionenlehre*. Bd. 3. 1904.
- HAMMARSTEN, O., *Lehrbuch der physiologischen Chemie*. 8. Aufl. 1914.
- HENDERSON, L. J., Das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren im tierischen Organismus. *Ergeb. Physiolog.*, Bd. 8. 1909.
- HIROKAWA, W., Über den Einfluss des Prostatasekretes und der Samenflüssigkeit auf die Vitalität der Spermatozoen. *Biochem. Zeitschr.* Bd. 19. 1909.
- IWANOFF, E., De la fécondation artificielle chez les mammifères. *Arch. Sci. Biol.*, T. 12. No. 4 et 5. 1907.
- , Le processus d'éjaculation du Sperme chez les animaux domestiques (cheval, chien). *Compt. rend. de la Soc. de Biol.*, T. So. No. 4. 1917.
- KÖLLIKER, A., Physiologische Studien über die Samenflüssigkeit. *Zeitschr. f. wiss. Zool.* Bd. 7. 1856.
- LEWIS, L. L., The vitality of reproductive cell. *Oklahoma Stat. Bull.*, No. 96. 1911.
- LILLIE, F. R., Studies of fertilization. V. The behaviour of the spermatozoa of *Nereis* and *Arbacia* with special reference to egg-extractives. *Journ. Exp. Zool.*, Vol. 14. 1913.
- , The fertilizing power of sperm dilutions of *Arbacia*. *Proc. Nat. Acad. Science*, Vol. 1. 1915.
- , Sperm agglutination and fertilization. *Biol. Bull.*, Vol. 28. 1915.
- LILLIE, R. S., The relation of ions to contractile process. IV. The influence of various electrolytes in restoring muscular contractility after its loss in solution of sugar and of magnesium chloride. *Amer. Journ. Physiol.*, Vol. 24. 1909.
- LODE, A., Untersuchungen über die Zahlen- und Regenerationsverhältnisse der Spermatozoiden bei Hund und Mensch. *Arch. f. d. gesam. Physiol.*, Bd. 50. 1891.
- LOEB, J., Über den Unterschied zwischen isosmotischen und isotonischen Lösungen bei der künstlichen Parthenogenese. *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 11. 1908.
- , Cluster formation of spermatozoa caused by specific substances from eggs. *Journ. Exp. Zool.* Vol. 17. 1914.

- LOEW, O., Die Chemotaxis der Spermatozoen im weiblichen Genitaltrakt. *Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wissensch., Bd. CXI. Heft VII. Abt. III.* 1903.
- LLOYD-JONES, O. and HAYS, F. A., The influence of excessive sexual activity of male rabbits. I. On the properties of the seminal discharge. *Journ. Exp. Zool. Vol. 25.* 1918.
- MISLAWSKY, N. und BORMANN, W., Die Sekretionsnerven der Prostata. *Centralbl. f. Physiol., Bd. 12. No. 6.* 1899.
- NEUBERG, C., *Der Harn, sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten. II. Teil.* 1911.
- OCHI, S., Physiological studies on spermatozoon, especially its life-duration, *Acta scholae med. Universit. Imp. in Kioto. Vol. I. Fasc. III.* 1916.
- OPPENHEIMER, C., *Handbuch der Biochemie des Menschen und der Wirbeltiere. Bd. III.* 1910.
- POYARKOFF, E., Le rôle de la pression osmotique et les phénomènes d'adaptation élémentaire dans la biologie des spermatozoïdes. *Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 80. No. 15.* 1917.
- RICHTER, M., Der mikroskopische Nachweis von Sperma. *Wien. med. Wochenschr.* 1897. (Ref. in *Centralbl. f. Physiol., Bd. 12. No. 6.*)
- SATÔ, S., On the life duration of the horse spermatozoon outside of the body. *Acta scholae med. Universit. Imp. in Kioto. Vol. I. Fasc. III.* 1916.
- SLOWTZOFF, B., Zur Chemie des menschlichen Sperma. *Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 35* 1902.
- , Sur la composition biochimique du liquide spermatique. *Compt. rend. de la Soc. de Biol., T. 79. No. 5.* 1916.
- ZACHARIAS, E., Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. *Progressus rei botanicae. Bd. 3.* 1910.
-

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung

Gewinnung des Spermas

Versuchstiere

Teil I. Physikalische und chemische Beschaffenheit des Spermas

1. Das Sperma als Gemenge von Spermatozoen und Sekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen
 - a. Allgemeine Beschaffenheit des Spermas
 - b. Menge des Spermas
 - c. Spezifisches Gewicht des Spermas und sein Gehalt an Trockensubstanz
 - d. Zentrifugierung des Spermas
2. Spermaserum
 - a. Allgemeine Beschaffenheit des Spermaserums
 - b. Spezifisches Gewicht des Spermaserums und Gehalt an Trockensubstanz
 - c. Anorganische Bestandteile des Spermaserums
 - d. Organische Bestandteile des Spermaserums
 - e. Alkaleszenz des Spermaserums
 - f. Gefrierpunktniedrigung des Spermaserums
 - g. Kristallbildung des Spermas
3. Spermatozoen
 - a. Spezifisches Gewicht der Spermatozoen
 - b. Volumen- und Zahlenverhältnisse der Spermatozoen
 - c. Chemische Beschaffenheit der Spermatozoen
4. Ein abnormes Sperma

Teil II. Physiologie der Spermatozoen

Material und allgemeine Untersuchungsmethode

1. Wirkung des osmotischen Druckes
2. Wirkungen der Reaktionen
3. Wirkungen einzelner Salze
4. Antagonistische Wirkungen zwischen bestimmten Salzen, sowie physiologisches Äquilibrium der im Spermaserum vorhandenen Salze
5. Haufenbildung der Spermatozoen
6. Beeinflussung der Lebensdauer und Lebhaftigkeit der Spermatozoen durch die Häufigkeit der Deckungen
7. Befruchtungsfähigkeit des verdünnten Spermas

Literaturverzeichnis

Erklärung der Abbildungen.

Alle Ausstrichpräparate wurden durch Osmiumdampf fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt.

Tafel IV.

Fig. 1 Verteilung der Spermatozoen in der isosmotischen Dextroselösung.

Fig. 2 Ausflockung der Spermatozoen durch Eisenchlorid.

Tafel V.

Fig. 3 Haufenbildung der Spermatozoen nach einstündiger Suspension in der isosmotischen CaCl_2 -Lösung.

Fig. 4 Dasselbe Bild in stärkerer Vergrößerung.

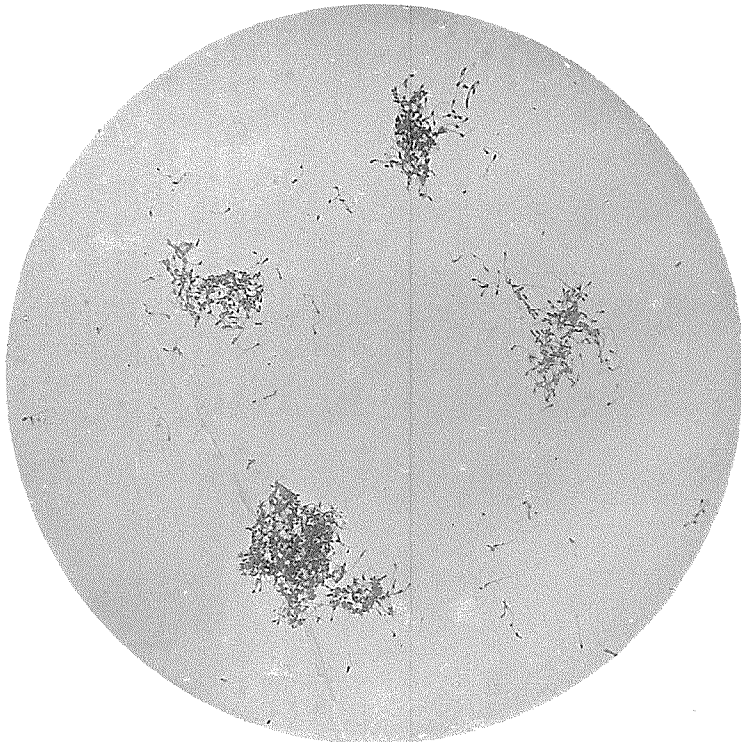
Fig. 5 Spermakristalle aus dem Spermaserum.

Fig. 6 Spermasteine von einem alten Hengste. Etwa $\frac{2}{3}$ natürlicher Grösse.

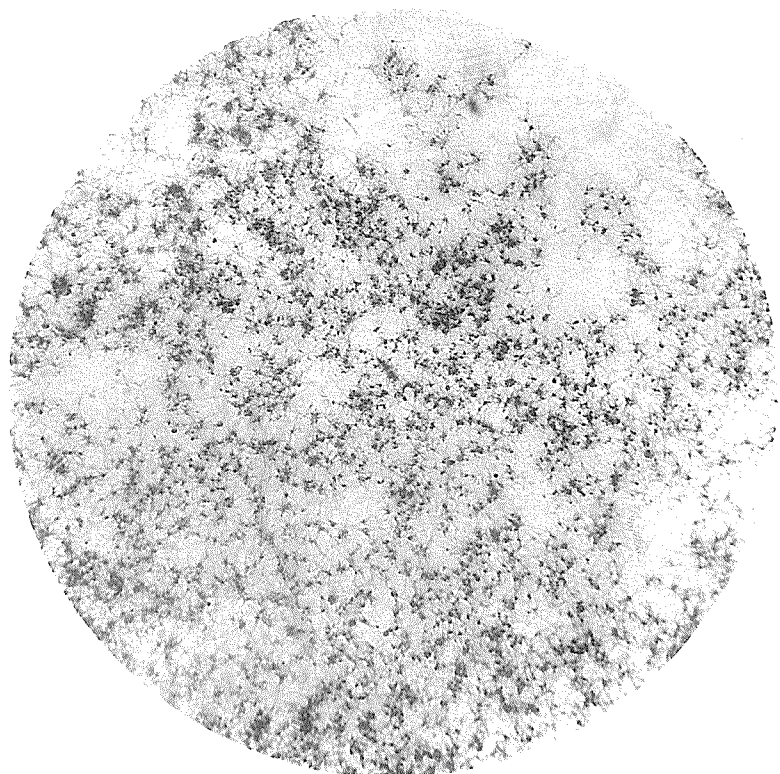




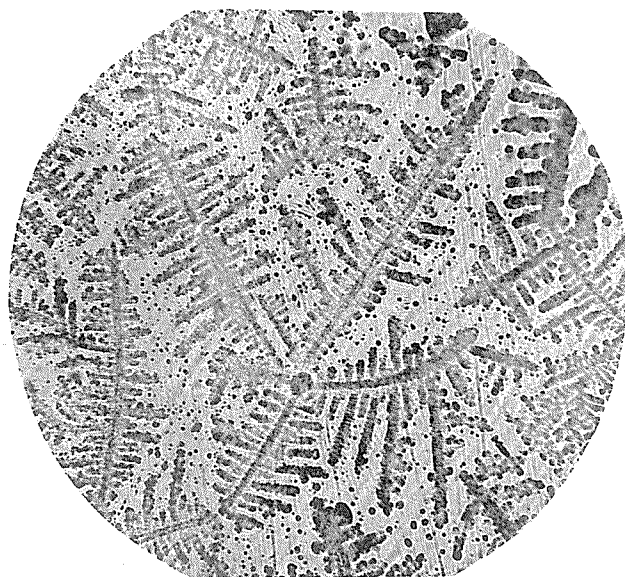
1



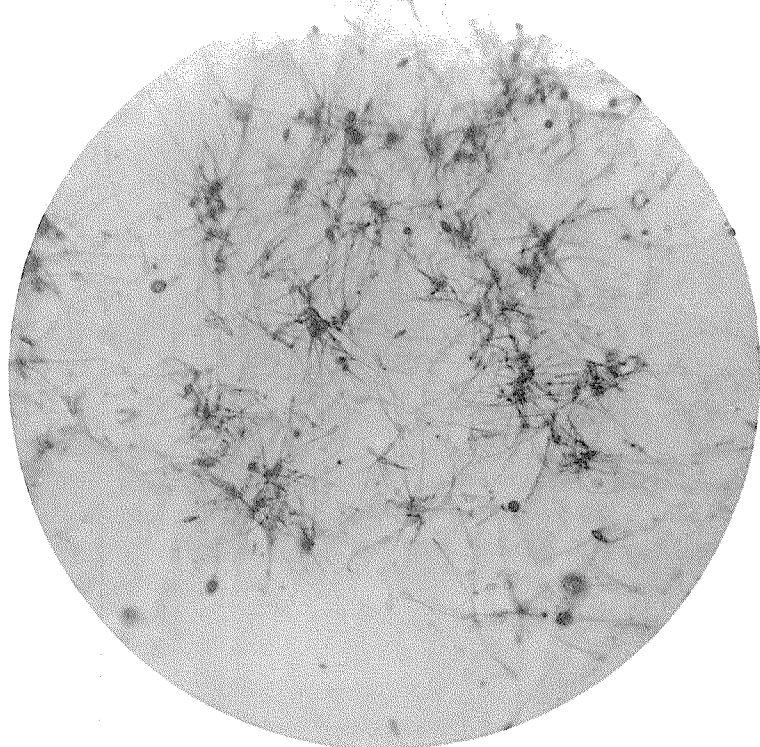
2



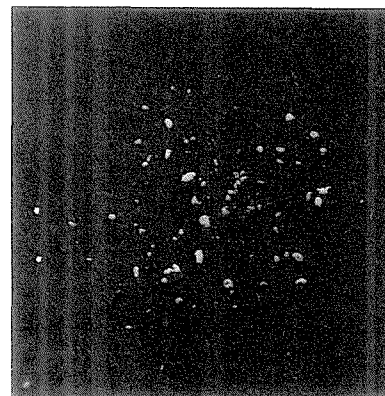
3



5



4



6