

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. B. HASSENSTEIN)

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER STOCKENTWICKLUNG, POLYPENDIFFERENZIERUNG
UND SEXUALCHIMÄREN BEI *HYDRACTINIA ECHINATA**

Von

WERNER MÜLLER

Mit 43 Textabbildungen (81 Einzelbilder)

(Eingegangen am 19. Dezember 1963)

Inhalt

	Seite
A. Einleitung	182
I. Die Organisation des Stockes.	182
II. Fragestellung	184
B. Versuchskulturen und Arbeitsmethoden	185
I. Zuchtmethode	185
II. Histologische Technik.	185
III. Vitalfärbung	186
IV. Operations- und Transplantationstechnik	187
C. Entwicklung und Struktur des Stockes und seiner Individuen	187
I. Stolone und Stolonenplatte	187
1. Stolone	187
2. Stolonenplatte.	189
a) Grundstruktur	189
b) Natur und Entwicklung der Stacheln	190
3. Verteilungsmuster und Funktion der J-Zellen	192
4. Die Entwicklung neuer Polypenknospen.	195
II. Morphologisch-histologischer Bau der Polypen	198
III. Materialwanderungen in den Polypenkörpern	204
D. Faktoren der Polypendifferenzierung.	205
I. Die Differenzierung der Spiralzooide	205
II. Die Ausbildung der Tentakulozooide	206
III. Die Determination der Geschlechtspolypen.	209
1. Zeitpunkt der Determination	209
2. Umdetermination von Nährpolypenknospen durch implantierte Blastostylköpfchen	210
3. Das Schicksal, in ältere Knospen implantierter Blastostylköpfchen	214
4. Umstimmung regenerierender Nährpolypen	216
5. Die Determination der Polypenanlagen	218
IV. Längsgradient der Induktionsfähigkeit bei Blastostylen	219
V. Parallelität von Induktions- und Regenerationsfähigkeit bei Blastostylen	223
VI. Die Regulation der polaren Struktur durch Doppelbildungen bei experimenteller Störung.	227

* Angeregt von Herrn Prof. C. HAUENSCHILD.

	Seite
1. Doppelbildungen bei Blastostylen	228
2. Doppelbildungen bei Nährpolypen	233
VII. Diskussion der Ergebnisse (von Kap. D III—VI)	235
E. Versuche zur Frage der Geschlechtschimären	238
I. Voruntersuchungen	239
1. Versuche zur Gewebeverträglichkeit	239
2. Die Frühentwicklung der Keimzellen und der Gonophore	243
3. Die Längsverteilung der J-Zellen	248
II. Entstehen und Verhalten der Geschlechtschimären	250
1. Wechselseitiger Austausch von Blastostylen verschiedener Entwicklungsstufen	254
2. Implantation von Keimzonenmaterial in gegengeschlechtliche Blastostyle	256
3. Umstimmung von Nährpolypenknospen mit gegengeschlechtlichen, induzierenden Implantaten	257
4. Regeneration von Blastostylteilen in gegengeschlechtlichen Stöcken	259
5. Implantation von Stolonenmaterial in gegengeschlechtliche Blastostyle und Stolonenplattenbezirke	259
6. Die Ursache der Dominanz des männlichen Geschlechts	262
III. Diskussion der Ergebnisse	263
Zusammenfassung	264
Literatur	267

A. Einleitung

I. Die Organisation des Stockes

Das marine, stockbildende Hydrozoon *Hydractinia echinata* Flemm. ist durch den ausgeprägten Polymorphismus seiner Einzelindividuen ausgezeichnet. Mit der morphologischen Aufgliederung der Polypen in verschiedene Formtypen ist eine funktionelle Differenzierung verbunden. Jeder Polypenform ist eine bestimmte Aufgabe zugeordnet, die sie im Dienste des Stockganzen wahrnimmt und auf die sie spezialisiert ist. Vier solcher morphologisch-funktioneller Differenzierungsformen des *Hydractinia*-Cormus können bei Wildstöcken, die vorzugsweise von Einsiedlerkreben bewohnte Schneckenschalen bewachsen, auftreten: Die tentakeltragenden Nährpolypen (Gastrozooiden), die Geschlechtspolypen (Blastostyle, Gonozooiden) deren Tentakeln zu knopfförmigen Tentakuloiden verkürzt sind; die in ihrer Ruhelage spiralig aufgerollten Wehrpolypen (Spiralzooiden) und die fadenförmigen, mundlosen Tentakulozooiden. Sie entspringen einer gemeinsamen, dem Substrat aufliegenden Hydrorhiza, die aus einer zentralen, mit Peridermsubstanz verfestigten Stolonenplatte und peripheren, von dieser geschlossenen Platte ausstrahlenden Stolonen besteht. Die Stolonenplatte trägt dem Schutz dienende, harte Stacheln, die den Artnamen gaben und häufig als eine weitere, stark abgewandelte Modifikationsform des *Hydractinia*-Cormus angesehen und als Stachelpolypen (Acanthozooiden) bezeichnet worden sind. Den morphologisch ursprünglichsten Polypenmodus, von

dem sich die anderen Polypenformen ableiten lassen, repräsentieren die Nährpolypen. Sie allein sind zum Verschlingen von Beutetieren fähig. Durch die Entodermkanäle der Hydrorhiza versorgen sie die anderen Polypen mit vorverdauter Nahrung. Die Blastostyle stehen ausschließlich im Dienste der sexuellen Fortpflanzung. Sie erzeugen sessile Gonophore, in denen die Geschlechtsprodukte heranreifen.

Die gastrale Kommunikation der Einzelzooide gab dem Stockverband die Möglichkeit, nicht allein die Funktion der Nahrungsaufnahme und der sexuellen Fortpflanzung auf zwei verschiedene Zooidgruppen aufzuteilen, sondern auch spezifisch modifizierte Polypen mit besonderen Aufgaben zu betrauen. Solche Sonderfunktionen nehmen die Spiralzooide wahr, die den Mündungsrand des Schneckengehäuses umstehen und meistens als Schutzorgane gedeutet werden. Als Abwehrorgane und als Angeln dienen die Tentakulozooide. Diese fadenförmigen, mit Nesselzellen besetzten Zooide übertreffen in ausgestrecktem Zustand die übrigen Polypen an Länge weit und ragen ins freie Wasser. Durch Kontraktion ziehen sie hängengebliebene Beutetiere in die Reichweite der Nährpolypen.

Im Zuge der Arbeitsteilung haben die Einzeltiere ihre individuelle Lebensfähigkeit verloren. Von der Hydrorhiza losgetrennt, verkümmern sie und zerfallen. Auch Nährpolypen sind isoliert nur lebensfähig, wenn an ihrer Basis ein Stück Hydrorhizamaterial belassen bleibt. Mit ihrer irreversiblen Spezialisierung auf spezifische Funktionen sind sie unselbständige Teile eines übergeordneten Ganzen geworden. Der Stockverband als Ganzes ermöglicht die Lebensfähigkeit seiner Glieder und sichert den Arterhalt.

In seiner überindividuellen Struktur kann ein Stock von *Hydractinia echinata* mit dem Begriff „Kolone“ kaum mehr sinngerecht erfaßt werden. Mit diesem Begriff verbindet sich die Vorstellung eines Zusammenschlusses weitgehend selbständig bleibender Organismen. Ein Stockverband von *Hydractinia* kann, wie auch der Verband einer Staatsquelle, bei dem die Abwandlung und Differenzierung der Einzelorganismen zu „Organen“ des Ganzen noch weiter fortgeschritten ist, als ein „Organismus höherer Ordnung“ bezeichnet werden. Dieser Begriff ist für *Hydractinia* um so mehr gerechtfertigt, als wichtige Funktionen der Hydrorhiza, die keinem Einzelindividuum zugeschrieben werden kann, übertragen worden sind. So ist die vegetative Fortpflanzung ausschließlich Aufgabe der Stolone und der Stolonenplatte geworden. Die Hydrorhiza besitzt allein die morphogenetische Potenz zur Bildung neuer Polypenknospen. Isolierte Einzelpolypen ohne Hydrorhizamaterial sind nicht in der Lage, sich fortzupflanzen. Die Hydrorhiza ist weiterhin, wie in dieser Arbeit gezeigt werden wird, Bildungsort und Reserve-lager der interstitiellen Zellen und deren Derivate, der Cnidozyten. Die interstitiellen Zellen — im weiteren J-Zellen genannt — bewahren auch einem gealterten Stock die Möglichkeit zur blastogenetischen Aktivität und zu regenerativen Leistungen. Aus ihrem reichen Vorrat liefert die Stolonenplatte den zunächst J-Zellen-freien Geschlechtspolypen fortlaufend diese embryonalen, omnipotenten Elemente, aus denen die Geschlechtszellen hervorgehen. Schließlich bildet die Stolonenplatte

spezifische Organe zum Schutze des Stockes aus. Es sind dies die charakteristischen, durch Peridermsubstanz verfestigten Stacheln, die, wie meine Untersuchungen zeigten, keine Polypenderivate, sondern Strukturen der Stolonenplatte sind (MÜLLER 1961).

II. Fragestellung

1. Die interindividuelle Arbeitsteilung hat die Einzeltiere zu „Organen“ einer komplexen Einheit werden lassen. Von diesem Aspekt her gewinnt die Frage nach den realisierenden Faktoren der Stockdifferenzierung besonderes Interesse und Bedeutung. Inwieweit sind die Determinationsprozesse, welche die Entwicklungsrichtung der einzelnen Individuen bestimmen, mit den Determinationsvorgängen bei der Form- und Organbildung höherer Tiere vergleichbar?

Diese Frage drängte sich auf und erforderte eine nähere Untersuchung vor allem auf Grund von Beobachtungen von C. HAUENSCHILD (1953) und eigener Feststellungen: Auf Stöcken, die im Laboratorium vom befruchteten Ei aufgezogen worden waren, traten niemals Spiralzooide, Tentakulozooide und die in freier Natur nie fehlenden Stacheln auf. Sind zu deren Entwicklung spezifische, äußere Faktoren nötig, die als Auslöser sonst latent bleibende Entwicklungspotenzen realisieren? Diese Fragen zu klären und mit entwicklungs-physiologischen Methoden eine erste Kausalanalyse der Stockentwicklung und Polypendifferenzierung zu versuchen, war ein Ziel meiner Arbeit.

2. Nach Untersuchungen von HADZI (1910) an Hydren und von WEILER-STOLT (1960) an *Cladonema radiatum* und *Eleutheria dichotoma* kommt den J-Zellen bei den blastogenetischen und morphogenetischen Vorgängen der Polypen- und Medusenknospung eine entscheidende Bedeutung zu. Meine Untersuchungen über die Entwicklung des *Hydractinia*-Stockes sind mit als Beitrag zur Frage gedacht, ob allgemein bei den Formbildungsprozessen der Hydrozoen die Bildung neuer Blasteme eine Leistung der J-Zellen ist. Histologische Analysen sollten zeigen, ob die Orte der Bildung von Polypenknospen und von Stachelanlagen durch ein Verteilungsmuster und die örtliche Dichte der J-Zellen in der Stolonenplatte bestimmt werden.

3. Die Kultur von *Hydractinia echinata* im Laboratorium durch C. HAUENSCHILD (1952, 1953, 1954) und seine Versuche an den Zuchtstöcken hatten interessante Fragen aufgeworfen, welche die Entwicklung des Geschlechtes betreffen. Ableger verschiedener Klone verwachsen unabhängig von ihrem geschlechtlichen Charakter miteinander, sofern die Ausgangsklone unter sich gewebeverträglich sind, und entwickeln einen einheitlichen Stock. Bei der paarweisen Kombination gegengeschlechtlicher Ableger entstehen Stöcke, die meistens eingeschlechtlich reif werden. Mitunter gehen aus solchen Kombinationen auch Stöcke hervor, die in einem Areal das ♂, in einem anderen das ♀ Geschlecht

verwirklichen. Bei solchen Sexualchimären treten entlang der Grenzlinie beider gegengeschlechtlicher Bezirke transitorisch intersexe Blastostyle auf.

Hydractinia echinata ist im Normalfalle streng getrenntgeschlechtlich. Ein Geschlechtsumschlag konnte nie beobachtet werden. Es stellte sich daher die Frage, ob in diesen Fällen ein echter Geschlechtsumschlag, d. h. eine Umstimmung der Differenzierungsrichtung der J-Zellen des einen Partners durch das Gewebe des anderen, vorlag. Diese Frage experimentell zu klären, hatte ich mir zur Aufgabe gestellt.

B. Versuchskulturen und Arbeitsmethoden

I. Zuchtmethode

Als Ausgangsmaterial für die Laboratoriumszuchten dienten männliche und weibliche Wildstöcke aus dem Wattenmeer bei List/Sylt. Kolonien von *Hydractinia echinata* finden sich vor allem auf Buccinum- oder Littorinaschalen, die von Einsiedlerkrebsen bewohnt werden. Von diesen Wildstöcken sind nur selten gut wachsende Ablager zu gewinnen. Auch junge Polypen vom Rande der Kolonie degenerieren meist, wenn sie vom Stock isoliert werden. Da auch die genetische Einheitlichkeit der Wildstöcke infolge der Möglichkeit interklonaler Verwachsung nicht gewährleistet ist, verwendete ich für meine Untersuchungen nur Kulturen, die ich unter Kontrolle im Laboratorium aus befruchteten Eiern gezüchtet hatte. Nur für die Untersuchungen über die Entwicklungsbedingungen der Spiralzooide mußte ich auf Wildstöcke zurückgreifen.

Zunächst zog ich 120 Klone bis zur Geschlechtsreife hoch, um eine genügend große Anzahl von Kombinationsmöglichkeiten miteinander voll gewebeverträglicher, gut wachsender männlicher und weiblicher Stöcke zu erhalten. Von diesen 120 Klonen wählte ich einige wenige zur Weiterzucht aus. Von jedem Klon wurden je nach Versuchsziel 2—15 Stöcke getrennt weitergeführt. Meine Zuchtmethode entsprach weitgehend der von C. HAUENSCHILD (1954) erprobten und beschriebenen. Die Stammkulturen der einzelnen Klone hielt ich in Boverischalen, die zu je neun in größeren, mit sterilem, natürlichem Nordseewasser gefüllten Kunststoffbehältern standen. Ableger kultivierte ich auf Glasstäbchen oder Objektträgern. Die Seewassermenge von 1 Liter pro Schale wurde wöchentlich gewechselt. Um ein Stagnieren des Wassers zu vermeiden, standen die Zuchtschalen auf einem Tablett, das durch einen Elektromotor ständig hin und her bewegt wurde. Zur Fütterung verwendete ich 3 Tage alte Larven von *Artemia salina*, zermörsertes Fischfleisch sowie gezüchtete Harpacticiden der Gattung Tisbe. Diese aus Misaki/Japan stammenden Copepoden stellte mir Prof. HAUENSCHILD freundlicherweise zur Zucht zur Verfügung. Soweit ich die Versuche in der Biologischen Anstalt Helgoland durchführen konnte, verwendete ich als Futter planktisches Tiermaterial.

II. Histologische Technik

Die für die histologischen Untersuchungen bestimmten Polypen wurden mit einem Augenskalpell gemeinsam mit einem Stückchen Stolonenplattenmaterial vom Stock isoliert, kurze Zeit zur Narkose in mit Seewasser isotonische Mg Cl₂-Lösung gebracht und mit dem Gemisch nach BOUIN oder HELLY fixiert. Diese Fixierungsflüssigkeiten brachten für alle angewandten Färbemethoden befriedigende Ergebnisse. Da die ausgesprochen basophilen J-Zellen elektiv kenntlich gemacht

werden sollten, eigneten sich für ihre Darstellung nur basische Farbstoffe. Ich verwendete folgende Farbgemische:

Orange-Eosin-Toluidinblau nach DOMINICI (Romeis § 726).

Orange-Erythrosin-Toluidinblau nach TISCHUTKIN (Romeis § 727).

Methylgrün-Pyronin-Orange nach GROSSE (Romeis § 725).

Gallocyanin-Chromalaun nach EINARSON (Romeis § 1749).

Eosin-Methylenblau nach MAY-GRÜNWARD (Romeis § 1352).

Azur-Eosin-Methylenblau nach GIEMSA (Romeis § 1401).

Panoptisches Gemisch nach PAPPENHELM (Romeis § 1367).

Sehr gute histologische Bilder liefert die panoptische Färbung nach PAPPENHELM, einer kombinierten May-Grünwald- und Giemsa-Färbung. Die J-Zellen erscheinen im Gegensatz zu den meisten anderen basophilen Gewebestandteilen

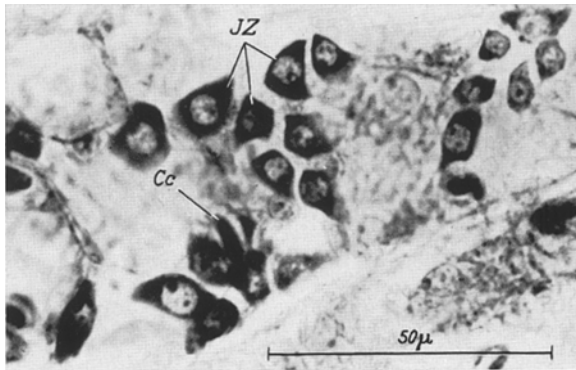


Abb. 1. J-Zellen in der Stolonenplatte; Fix.: Bouin; Azur-Eosin-Methylenblau. JZ J-Zellen; Cc Cnidozyten; Ganzpräparat

in reinem, tiefem Blau und treten so im Präparat außer durch ihre charakteristische Form auch durch ihre Farbe gut hervor. Das Pappenheim Gemisch eignet sich daher sowohl für Übersichtsbilder wie für ein elektives Kenntlichmachen der J-Zellen. Die Zeichnungen fertigte ich nach so gefärbten Präparaten an.

Zur Untersuchung der Struktur und des histologischen Aufbaues der Stolone und der Stolonenplatte und vor allem zur Untersuchung des Verteilungsmodus der J-Zellen in der Stolonenplatte eignet sich die Schnitttechnik nicht. Überraschend gute Resultate lieferte mir folgende, sehr einfache Methode: Ich ließ die Stücke auf Objekträgern wachsen, wo sie fixiert und mit Pappenheims-Gemisch gefärbt wurden. Nach dem Hochführen durch Aceton-Xylol-Gemische in reines Xylol entfernte ich die Polypen und schnitt die Stellen mit hoher Krustenbildung aus. Im eingebetteten Totalpräparat lassen sich durch die weitgehend durchsichtig gewordene, obere Ektodermlage hindurch die Endodermkanäle und die J-Zellen auch in Einzelheiten recht gut erkennen (Abb. 1). Stellen starker Krustenbildung geben allerdings keine übersichtlichen Bilder. Sie mußten an Stöcken, die auf einem schneidbaren Substrat herangewachsen waren, mit der üblichen Schneidetechnik untersucht werden.

III. Vitalfärbung

Meine Versuche, eine vitale, elektive Anfärbung der J-Zellen zu erreichen, schlugen ebenso fehl wie die Versuche von W. TESSENOW (1959). Vital gefärbte Stücke boten jedoch die Möglichkeit, Materialverschiebungen und Stellen starker

physiologischer Aktivität sichtbar zu machen, vor allem Stellen starker Drüsen- und Exkretionstätigkeit und Stellen neu entstehender Blasteme. Als günstigste Färbeflüssigkeit erwies sich überraschenderweise Eosin-Methylenblaulösung nach MAY-GRÜNWALD, die für histologische Zwecke zusammengestellt ist. Bei einer Konzentration von 6—10 cm³ Stammlösung (von Merck) auf 50 cm³ Seewasser wurden die Stöcke 5—20 min gefärbt und anschließend ausgewaschen. Die Farbe hielt sich in günstigsten Fällen 2—4 Monate. Die Stöcke wuchsen weiter und wurden geschlechtsreif. Die Farbstoffe Eosin und Methylenblau wurden vorzugsweise von Zellen des Entoderms, Drüsenzellen und Exkretzellen, aufgenommen. Zellen des Ektoderms nehmen nur vereinzelt Farbe auf. Die Farbstoffe werden in der Regel in Vakuolen gespeichert, wobei es vielfach zur Entmischung von Eosin und Methylenblau kommt. Neben größeren, tiefblau gefärbten Vakuolen sind im Quetschpräparat bei mikroskopischer Betrachtung kleinere, eosinhaltige Bläschen zu sehen. Die farbstoffhaltigen Vakuolen können so stark anschwellen, daß das Zellplasma zu einem schmalen Saum zusammengepreßt wird. Gelegentlich platzen Vakuolen; der Farbstoff fließt aus und gelangt durch die Entodermkanäle in Stockteile, die erst nach dem Zeitpunkt der Färbung herangewachsen sind. Dort werden die Farbstoffe besonders von den physiologisch aktiven und teilungsbereiten Zellen des Entoderms aufgenommen. So erscheinen vor allem junge Stockteile, entstehende Polypknospen und meristematische Zonen tiefblau.

IV. Operations- und Transplantationstechnik

Transplantationen, Implantationen und ähnliche experimentelle Eingriffe unternahm ich stets mit freier Hand unter dem Leitz-Stereomikroskop bei 25-, 50- oder 64facher Vergrößerung. Als Operationsinstrumente dienten die üblichen Geräte der Entwicklungsphysiologie: Glasnadeln und mundbediente Mikropipetten. Für gröbere Arbeiten verwendete ich feine Augenskalpelle. Sofern ein Narkotisieren der Tiere unumgänglich war, wurden sie in eine mit dem Seewasser isotonische Mg Cl₂-Lösung gebracht. Meist arbeitete ich ohne Narkose, da mir dies für verschiedene Zwecke günstiger erschien. Soweit nötig, ist bei den einzelnen Versuchen die verwendete Technik näher beschrieben.

C. Die Entwicklung und Struktur des Stockes und seiner Individuen

I. Stolone und Stolonenplatte

1. Stolone

Bereits während der Metamorphose der Planularlarve zum Primärpolypen sprossen von der Basis des flachen Kegels, zu dem sich die langgestreckte, mit ihrem Vorderende auf dem Substrat festgeheftete Larve verkürzt, die ersten Stolone aus. Bei den histogenetischen Vorgängen der Metamorphose sondert sich im Bereich der Haftscheibe Zellmaterial ab, das dem Determinationsgeschehen bei der Differenzierung des Primärpolypen nicht unterworfen ist und meristematische Eigenschaften gewinnt. Diese teilungsaktiven Zellen liefern das Stolonenmaterial. Durch zentripetale Proliferation schieben sie sich vom Primärpolypen weg. Ihre Abkömmlinge besitzen potentiell noch meristematischen Charakter, stellen aber ihre Teilungstätigkeit vorübergehend ein. Stets teilungsbereit bleiben allein die Zellen an der Spitze der auswachsenden Stolone. Die schmalen zylindrischen Zellen des Meristems

sind in zwei Lagen geordnet, einer inneren Lage, deren Derivate sich zu Entodermzellen differenzieren, und einer äußeren Lage, deren Abkömmlinge die ektodermale Hülle des Entodermrohres bilden. Zwischen die Meristemzellen an der Stolonspitze drängen sich oft Cnidozyten mit ausgebildetem, funktionsfähigem Nesselapparat, die im Ektoderm der Stolone peripherwärts wandern und mit der weiterwachsenden Stolonspitze vordringen.

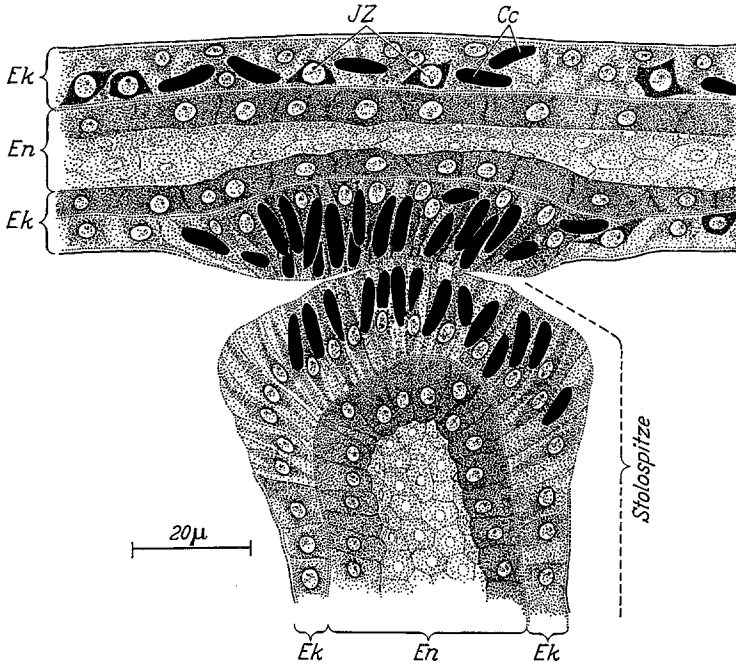


Abb. 2. Eine meristematische Stolospitze trifft seitlich auf einen älteren Stolo und löst an der Berührungsstelle die Bildung eines gleichartigen Meristems aus. Zwischen die Meristemzellen schieben sich Cnidozyten. *Ek* Ektoderm; *En* Entoderm. Ganzpräparat

Unter fortgesetzter Verzweigung breiten sich die Stolone auf dem Substrat aus und heften sich auf diesem durch Ausscheiden erhärtender Peridermsubstanz fest. Die Verzweigungen gehen in unregelmäßigen Abständen von Zellen aus, die ihre Teilungsbereitschaft wiedergewinnen. Die Faktoren, die den Bildungsort eines lateralen Meristems bestimmen und die latente Teilungsfähigkeit wieder aktivieren, sind mir unbekannt geblieben. Bei der Anastomosenbildung gibt sich jedoch eine bemerkenswerte Eigenschaft der teilungsaktiven Stolospitze kund: Trifft ein wachsender Stolo mit seiner meristematischen Spitze seitlich auf einen älteren Stoloteil oder auf eine Meristem-freie Zone des Stolonenplattenrandes, so entwickelt das getroffene Gewebe an der berührten Stelle ein gleichartiges Meristem (Abb. 2 u. 34). Von der Stolonspitze geht

offenbar eine Induktionswirkung aus, die das ruhende, differenzierte Gewebe zur Reaktivierung der latent noch vorhandenen Teilungspotenz anregt. Junge, jedoch bereits differenzierte Zellen des Ektoderms und des Entoderms sind noch zu mitotischer Teilung fähig. Bei älteren Stolonen kann der Aufbau eines Meristems von J-Zellen geleistet werden (s. Kap. C I, 5).

Auf die Bedeutung dieser Erscheinung für den Stockaufbau weisen bei Transplantationsexperimenten gewonnene Erfahrungen hin: Gewebestücke verwachsen, sofern sie sich nur mit ihren Ektodermflächen berühren, nicht oder nur sehr schwer miteinander. Material zweier Stolospitzen, deren Zellen meristematischen Charakter haben, kann weit leichter zum Verwachsen gebracht werden.

Beide sich gegenüberstehende Meristeme, das Meristem der Stolospitze und das induzierte Meristem verschmelzen miteinander. Die Entodermzellen formieren sich so, daß ein durchgehender Kanal frei wird. Um die Primärpolypen und die ersten Tochterpolypen entsteht ein Stolonennetz, das sich peripherwärts auf dem Substrat ausbreitet und sich zentral durch Anastomosenbildung verdichtet.

Die Bildung der geschlossenen Stolonenplatte geht von einem bandförmigen Meristem aus, welches das Ektoderm der Stolone in den zentralen, engmaschigen Teilen des Stolonennetzes entwickelt. Durch die Proliferation dieses Meristems breitet sich das Ektoderm in den Zwischenräumen des Stolonennetzes als Doppellamelle flächig aus. Bei Berührung verschmelzen die Ränder der sich ausbreitenden Ektoderm-lagen, so daß schließlich eine geschlossene Stolonenplatte entsteht.

2. Die Stolonenplatte

a) *Die Grundstruktur der Stolonenplatte.* Die Stolonenplatte ist in ihrem Grundaufbau sehr einfach strukturiert. Zwischen einer unteren und einer oberen flächenhaften Ektoderm-lage verlaufen netzförmig verzweigte, röhrenförmige Entodermkanäle. Unteres und oberes Ektoderm stellen ein Plattenepithel dar. Das Entoderm weist neben Nährzellen zahlreiche Drüsenzellen mit wabig angeordneten, basophilen Strukturelementen auf. Gleichartige Drüsenzellen finden sich im Entoderm der basalen Bereiche der Nähr- und der Geschlechtspolypen. Dies weist darauf hin, daß die Entodermkanäle der Stolonenplatte nicht allein der Nahrungsverteilung dienen, sondern Teil eines komplexen Verdauungssystems sind. Das Netz der Entodermkanäle bildet mit den Gastralräumen der Polypen ein geschlossenes, überindividuelles Funktionssystem. Der Transport, die Verteilung und der Austausch der von den Nährpolypen vorverdauten Nahrung wird durch die abwechselnde Kontraktion und Expansion der Polypen und durch den Geißelschlag in den Entodermkanälen bewerkstelligt.

Die Stolonenplatte breitet sich zentrifugal durch die Teilungstätigkeit eines Randmeristems aus. Wie beim Spitzenmeristem der Stolone leiten sich beide somatischen Gewebeschichten, das Ektoderm und das Entoderm, von meristematischen Zellen ab, die durch eine Stützlamelle bereits in zwei Lagen gesondert sind. Zentripetal schreitet das Zellenwachstum und die Zelldifferenzierung fort.

Die dem Außenrand naheliegenden, kleinen Zellen sind noch teilungsbereit. Mitosefiguren lassen sich in ihnen noch verhältnismäßig oft finden. Mit wachsender Entfernung vom Außenrand nimmt die Anzahl der Mitosen, die ich auffinden konnte, stark ab. In einer Entfernung von 0,5 mm vom Rande sind kaum mehr Mitosen zu sehen.

Mitosen sind bei der Kleinheit der Zellkerne und der großen, noch unbestimmten Zahl der Chromosomen auch bei Betrachtung mit Ölimmersion nicht leicht zu finden. Die Chromosomen sind von der frühen Metaphase bis zur späten Anaphase stark zusammengeballt. Besonders in den J-Zellen, die meist in dichten Nestern zusammenliegen, ist das Erkennen und Auffinden von Mitosefiguren schwierig. Bei der Kleinheit der Zellen rücken die Chromosomen in der Anaphase nur geringfügig auseinander. Da nach dem Auflösen der Kernmembran die ganze Zelle einheitlich blau färbbar ist, heben sich die Chromosomen von dem blauen Hintergrund nur durch ihren violetten Farbton ab.

Ein tagesperiodisches Schwanken der Mitosehäufigkeit konnte ich nicht feststellen. Da nach den Untersuchungen von BALLARD (1942) über die Abblanchperiodik bei *Hydractinia*, der nach meinen eigenen Belichtungsversuchen (1961) eine endogene Rhythmik zugrunde liegt, in den Oozyten die Meiosis durch den morgendlichen Dunkel-Lichtwechsel ausgelöst wird, hatte der Gedanke an eine allgemeine Periodizität der Kern- und Zellteilungsaktivität nahegelegen.

b) *Die Natur und die Entwicklung der Stacheln.* Der strukturelle Aufbau der Stolonenplatte ist in der geschilderten, einfachen Art nur in den jungen Randbezirken des Stockes verwirklicht. In den inneren Stockbereichen verdickt und verfestigt sich die Stolonenplatte durch Ausscheiden von Peridermsubstanz zu einer harten Kruste. Wildstöcke in der freien Natur entwickeln in den Bereichen der Krustenbildung spitze Stacheln, die etwa die halbe Höhe eines Nährpolypen erreichen. Die Stacheln geben dem Polypen Schutz, wenn sich diese hinter den Wall der hervorstehenden harten und unbeweglichen Spitzen zurückziehen.

Die Entwicklung der Stacheln steht in Zusammenhang mit den Vorgängen, die zur Bildung einer über 1 mm dicken, in den oberen Schichten noch von Kanälen durchzogenen Skelettrinde führen. Dieses Peridermskelett wird in zwei Sekretionsphasen vom unteren Ektoderm — und nur von diesem — aufgebaut. In der ersten Sekretionsphase scheiden die Zellen dieses Epithels nach Abschluß des Zellwachstums eine dünne Kutikula aus, die als Bindemittel zwischen der Hydrorhiza und dem Substrat dient. Später treten sie, beginnend im Zentralteil des Stockes, in eine zweite, andauernde Aktivitätsphase ein,

die den Aufbau einer mehrstöckigen Stolonenplatte einleitet (W. MÜLLER 1961). Zu dieser Aufbauleistung tragen alle Zellen des unteren Epithels bei, wobei vor allem die nicht von Entodermkanälen überdeckten Zellen eine rege Sekretionstätigkeit entfalten. Sie sind alle als Drüsenzellen tätig und enthalten zahlreiche, eosinophile Sekretgranula, die in der

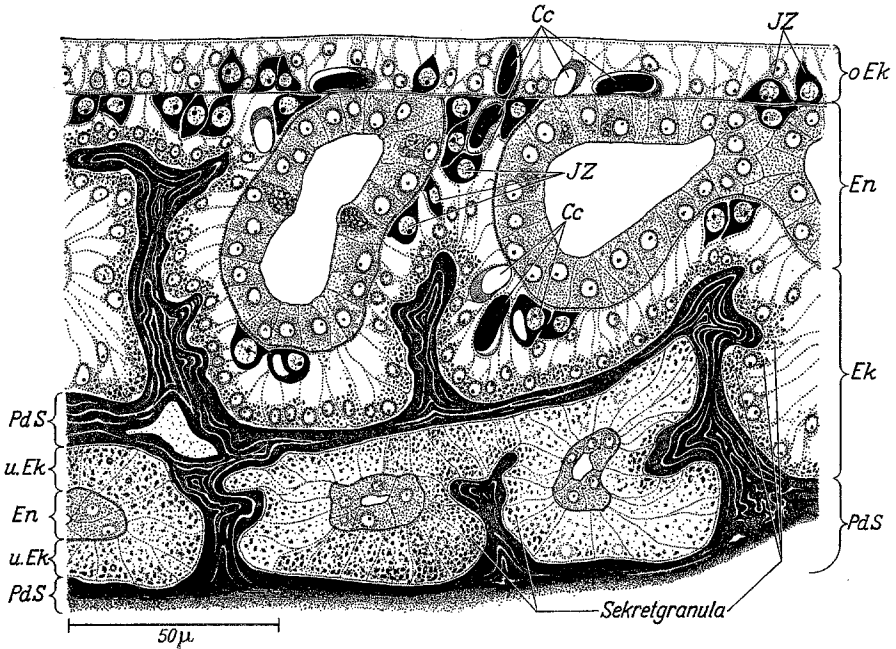


Abb. 3. Schnitt durch Stolonenplatte in einem Bereich, in dem das Peridermskelett aufgebaut wird. Kombiniert nach mehreren Schnitten; vereinfacht. Im unteren, von der Peridermsubstanz ganz umschlossenen Ektoderm keine Kerne mit Sicherheit erkennbar. *oEk* oberes Ektoderm; *uEk* unteres Ektoderm; *En* Entoderm; *Pds* Peridermsubstanz

Nähe der äußeren, der Unterlage aufliegenden Zellmembran um den dort befindlichen Kern angehäuft sind (Abb. 3).

Die Stachel„polyphen“ sind das Ergebnis lokal verstärkter Produktion von Peridermsubstanz. Sie stellen emergente Strukturen eines allen Einzelzoiden zugehörigen Materials, der Stolonenplatte, dar. Sie können zwar größere Hohlräume enthalten, ein einheitlicher Gastralraum tritt jedoch nicht auf. Im histologischen Schnitt wird mehrfach Ektoderm und Entoderm in isolierten, von Peridermsubstanz umhüllten Röhren angetroffen. Im Inneren schwindet die lebendige Substanz fortschreitend. Das lebende Gewebe des Außenbezuges ist anatomisch gleich aufgebaut wie die Stolonenplatte: Über der obersten Peridermschicht liegen zwei flächenhafte Ektoderm-lagen, die Entodermkanäle einschließen.

Als wirksamen Auslösereiz für die Stachelbildung erweisen sich Traumen, wobei der stärkste Effekt durch Einreiben von staubfeinen Mineralpartikeln in die Stolonenplatte erzielt werden kann (W. MÜLLER 1961). Da sowohl die Bildung einer Stachelanlage wie auch deren beschleunigtes Wachstum von einer überdurchschnittlichen Sekretionsleistung der Epithelzellen des unteren Ektoderms abhängt, ergibt sich der Schluß, daß durch Verletzungen direkt oder indirekt die Produktion und die Ausscheidung von Peridermsubstanz angeregt wird. Auf diese Aussage werde ich bei den Untersuchungen über die Rolle der J-Zellen bei der Regeneration zurückkommen.

3. Verteilung und Funktion der J-Zellen in der Stolonenplatte

a) Die Verteilung der J-Zellen in der Stolonenplatte

Für die Untersuchungen über die J-Zellenverteilung verwendete ich die unter „Histologische Technik“ beschriebene Methode zur Herstellung von Totalpräparaten. Diese Methode eignet sich nur bei relativ jungen Stöcken, deren Stolonenplatte noch keine umfangreichen Krustenbildungen aufweist. Bei der Fragestellung, die diesen Untersuchungen zugrunde lag, war dies keinesfalls nachteilig. Bereits bei schwacher Vergrößerung zeigen sich im Totalpräparat Konzentrationsunterschiede im Gehalt an J-Zellen durch verschiedene Intensitätsgrade des Blau.

Die J-Zellen zeigen die bei anderen Hydrozoen beschriebene Form und Struktur. Ihre Zellgestalt ist meist spindelförmig oder tropfenförmig. Ihr heller Kern, der einen größeren Durchmesser (ca. $6\ \mu$) als der differenzierter, somatischer Zellen und einen deutlichen Nukleolus besitzt, ist von einem schmalen, stark basophilen Plasmamantel mit hohem RNS-Gehalt umhüllt.

In der Stolonenplatte enthalten nur diejenigen Ektodermflächen, die nicht von Entodermkanälen unter- oder überlagert sind, J-Zellen. In diesen Bereichen berühren sich unteres und oberes Ektoderm direkt. Die J-Zellen beider Epithellagen liegen der gemeinsamen Stützlamelle beidseitig auf. Im Totalpräparat scheinen sie daher in den von Entodermkanälen umgrenzten Bezirken zwischen den beiden Ektodermplatten zu liegen.

Der Gehalt der Stolonenplatte an diesen embryonalen Elementen ist außerordentlich hoch. Ihre Dichteverteilung zeigt ein von der Stockmitte zur Peripherie abnehmendes Konzentrationsgefälle. Sehr dicht liegen die J-Zellen in den Gewebeteilen, die das Gerüst des Peridermskeletts aufzubauen beginnen. Sie sind hier zu Haufen zusammengeschart, vergesellschaftet mit den aus ihnen hervorgegangenen Cnidoblasten und Cnidozyten.

Ihre Dichte in diesen Bereichen übersteigt häufig 375 Zellen pro $10000\ \mu^2$ und ist damit etwa zwölfmal so hoch wie die Zelldichte der differenzierten, epithelialen Ektodermzellen selbst. Bei diesem Vergleich ist berücksichtigt, daß die J-Zellen zwei Ektodermplatten angehören: Die gezählte Menge ist daher halbiert worden.

Orte besonders starker Ansammlung von J-Zellen und Cnidoblasten sind auch die Gewebeteile rings um die Basis der Polypen. Dort gruppie-

ren sich J-Zellen und Cnidoblasten zu einem dichten Ring. Der Peripherie zu vermindert sich die Anzahl der J-Zellen pro Flächeneinheit und fällt in der Nähe des Randes der Stolonenplatte auf Null ab. Hier finden sich nur noch eingewanderte Cnidozyten, doch keine J-Zellen mehr. Bei rasch wachsenden Stöcken kann die J-Zell-freie Randzone eine Breite von 0,8 mm erreichen.

b) Die Funktion der J-Zellen in der Stolonenplatte

J-Zellen als Ersatzzellen. J-Zellen befinden sich gehäuft dort, wo ein hoher Verschleiß an differenziertem, somatischem Material stattfindet und wo eine hohe Produktion von Nesselkapseln notwendig ist. In den Bereichen starker Ausscheidung von Peridermsubstanz sind alle Zellen des unteren Ektoderms als Drüsenzellen tätig. Diese Funktion bedingt den Verlust der Teilungsfähigkeit und ein frühzeitiges Altern der Zelle. Die hohe Konzentration gerade in diesem Bereich fügt sich in das allgemeine Bild, das sich von diesem eigenartigen Besitztum der Hydroiden immer deutlicher abzeichnet und in dem ihre Bedeutung als embryonale Reserveelemente für hochspezialisierte Zellen besonders hervorsteht. Stellen mit Krustenbildungen sind weiterhin, weil sie über die anderen Stockbereiche hinausragen, der Gefahr der Verletzung besonders stark ausgesetzt. Da in differenzierten Zellen der inneren Stockteile keine Mitosen mehr zu finden sind, diese Zellen ihre Teilungsfähigkeit daher wohl eingebüßt haben, dürfte den J-Zellen auch bei den histogenetischen Vorgängen der Wundheilung und der Regeneration eine entscheidende Rolle zukommen.

Die Rolle der J-Zellen bei der Regeneration und der Stachelbildung. Auslösend für die Entwicklung der Schutzorgane des Stockes, der Stacheln, sind Verletzungen und eingedrungene Fremdkörper. Es ist anzunehmen, daß regenerative Vorgänge der Wundheilung der Phase erhöhter Sekretion von Peridermsubstanz vorausgehen.

Im Zusammenhang mit den Regenerationsleistungen der Hydroiden ist schon früh auf die Bedeutung der J-Zellen hingewiesen worden (ZAWARZEN 1929, STRELIN 1929). Eine quantitative Korrelation zwischen dem Regenerationspotential und dem J-Zellengehalt eines Gewebestückes hat als erster TARDENT (1954, 1956) bei *Tubularia* nachgewiesen. Für die Annahme, die Bildung der Regenerationsblasteme sei vor allem Aufgabe der J-Zellen, läßt sich ein experimenteller Nachweis indirekt erbringen, wenn während der Blastembildung im umgebenden Gewebe eine Abnahme des J-Zellengehaltes festgestellt werden kann.

Versuch. In verschiedenen Zeitabständen vor der geplanten Fixierung wurden aus der Stolonenplatte kleine quadratische Stücke von einer durchschnittlichen Größe von 0,04 mm² ausgeschnitten. Die Gesamtkantenlänge der Wundränder, die ein Loch begrenzten, belief sich auf je $780 \mu \pm 12\%$. Zur Bestimmung der Zelldichte in der Umgebung maß ich mit dem Netzkokular fünf parallel zu den Kanten

der quadratischen Ausschnitte verlaufende Zonen aus. Diese Zonen beinhalten bei einer Breite von 22μ jeweils eine Fläche von etwa $17000 \mu^2$. Da die ausgezählten Zonen in ihrem Flächeninhalt stets gleich groß waren, geben die Gesamtzahlen der in ihnen bestimmten J-Zellen direkt vergleichbare Dichten an.

Die Auswahl der Versuchsbezirke in der Stolonenplatte traf ich unter Berücksichtigung folgender Kriterien:

1. Sollte im auszuzählenden Bereich die Zahl der J-Zellen überschaubar sein. Daher schnitt ich die Stücke in einer Entfernung vom Rand aus, wo erfahrungsgemäß J-Zellen bereits vorhanden, aber noch nicht zu unübersichtlichen Konglomeraten zusammengeballt sind.

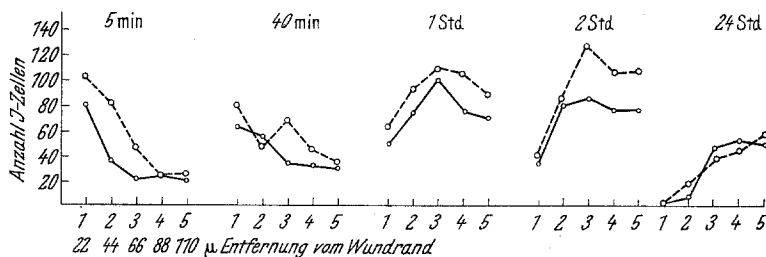


Abb. 4. Abnahme der J-Zellendichte in der Nähe des Wundrandes während der Regenerationshistogenese. Die beiden Kurven beziehen sich jeweils auf zwei parallel laufende Versuche in derselben Stolonenplatte. Über den Kurven ist jeweils die zwischen Wundsetzung und Fixierung verstrichene Zeit angegeben

2. Sollten die einzelnen Versuchsfelder einen etwa vergleichbaren J-Zellengehalt aufweisen.

3. Sollten keine Zentren ungewöhnlich hoher J-Zellen-Konzentration in einer Entfernung vorhanden sein, aus der eine Wanderung zum Verbrauchsort während der Regenerationszeit möglich erschien.

Erwies sich, daß eine dieser Forderungen nicht erfüllt war, so wurde dieses Versuchsfeld nicht ausgewertet.

Ergebnis. Die graphische Darstellung Abb. 4 zeigt ein charakteristisches Ergebnis dieser fünfmal wiederholten Versuche bei einem Versuchsstock. In Zeitabständen von 24 Std, 2 Std, 1 Std, 40 min, 5 min vor dem Zeitpunkt der Fixierung wurden jeweils an zwei Stellen Gewebestücke der angegebenen Größe ausgeschnitten. Wie die Abbildung zeigt, ist kurz nach der Wundsetzung die Anzahl der J-Zellen am Wundrand sehr hoch und fällt mit wachsender Entfernung rasch ab. Die Konzentrierung der J-Zellen am Wundrand ist auf folgenden Umstand zurückzuführen: Das Gewebe der Stolonenplatte steht stets unter Spannung. Bei einem Schnitt klaffen die Wundränder infolge der Zugwirkung des benachbarten Gewebes sofort weit auseinander. Durch die Kontraktion des Gewebes in der Umgebung des Wundrandes werden auch die in diesem Gewebe enthaltenen J-Zellen auf einen engeren Bereich zusammengedrängt.

Nach 40 min nimmt die Steilheit der Dichtekurve bereits deutlich ab. Nach 1 Std zeigt die Dichteverteilung ein umgekehrtes Verhältnis.

In der Randzone ist die Anzahl der J-Zellen unter den Wert der benachbarten Zonen gesunken. In der Zone 4 ist allerdings der J-Zellengehalt noch überdurchschnittlich hoch. Nach 24 Std fällt die Konzentration von der Zone 5 bis zum Rande kontinuierlich ab. In der Randzone selbst liegen keine J-Zellen mehr.

Diese Befunde belegen, daß beim Regenerationsprozeß J-Zellen der Umgebung in starkem Maße verbraucht werden. Während der Regenerationszeit von 2 Std bildet sich am Wundrand ein Randmeristem, wie es in gleicher Art den Stolonenplattenrand umgürtet. (Ob es sich allein von J-Zellen ableitet, erscheint fraglich.) Dieses Randmeristem ist nach 24 Std lückenlos formiert und bereits um etwa eine Zellbreite vorgewachsen.

Bedeutsam für unsere Fragestellung ist nun, daß die Zellen, die sich von diesem Regenerationsmeristem ableiten, in besonderem Maße befähigt sind, Peridermsubstanz zu bilden. Ist die ausgeschnittene Fläche wieder ganz durch das konzentrisch vorgedrungene Regenerationsmeristem ausgefüllt worden, so scheiden seine ektodermalen Zellabkömmlinge merklich mehr Peridermsubstanz als die Zellen der Umgebung ab. Die Stellen einstiger Ausschnitte sind daher nicht selten noch lange Zeit deutlich markiert.

4. Die Entwicklung neuer Polypenknospen

Da aus interstitiellen Zellen geschlossene Meristeme hervorgehen können, lag der Gedanke nahe, das regellos verstreute Entstehen von Blastemen, die sich zu Polypenknospen entwickeln, könnte auf ein entsprechendes Verteilungsmuster der J-Zellen zurückgeführt werden.

Für eine solche Annahme sprachen auch die Ergebnisse der Untersuchungen von WEILER-STOLT (1960) über die Entwicklung der Medusenknospen bei *Cladonema radiatum* und *Eleutheria dichotoma*. WEILER-STOLT stellte fest, „daß die allererste Anlage einer Knospe aus einer ungeordneten Ansammlung von J-Zellen im Ektoderm des Polypen besteht, die sich zwischen die Ektodermzellen schieben und durch ihre weitere Vermehrung das Ektoderm an dieser Stelle verdicken“. Die angesammelten J-Zellen waren das Ausgangsmaterial der Knospenbildung. Auch für Hydra beschreibt HADZI (1910) und MCCONNELL (1936) das Entstehen neuer Knospen aus J-Zellen.

Es fragt sich, ob diese Beobachtungen auch für *Hydractinia* gelten.

Um diese Frage zu klären, hatte ich zunächst Gewebestücke mit Polypenknospen aus der Stolonenplatte ausgeschnitten und mit der Schnitttechnik histologisch untersucht. Niemals konnte ich eine stärkere Ansammlung oder gar eine zusammenhängende Schicht von J-Zellen im meristematischen Gewebe der Knospe feststellen. Es war daher nötig, allererste Stadien der Knospenbildung für die Untersuchungen zu finden. Hierbei leistete die Methode der Vitalfärbung mit Eosin-Methylenblau nach MAY-GRÜNWARD gute Dienste. Orte erster Blastembildung nehmen Farbstoff verstärkt auf und sind daher deutlich zu erkennen. Lebende J-Zellen selbst sind nicht färbbar. Einige ausgewählte, auf Objektträgern gewachsene Stöcke mit mehreren Polypenanlagen führte ich in Dauerpräparate über.

Das Ergebnis der Untersuchungen war:

Polypenknospen entstehen bei *Hydractinia* prinzipiell völlig unabhängig vom Verteilungsmuster der J-Zellen. In Stockbereichen, wo die somatischen Gewebezellen selbst noch teilungsfähig sind, sind J-Zellen zum Aufbau des Knospenblastems nicht nötig. Die höchste Anzahl von Polypenanlagen entwickelt sich im Randbereich der Stolonenplatte, wo noch keine oder nur sehr wenige J-Zellen von den zentralen Stockbereichen eingewandert sind.

Da die J-Zellen-freie Randzone neben Nährpolypen auch Blastostyle hervorbringt, ist weiterhin zu folgern, daß die Differenzierungsrichtung einer Polypenanlage

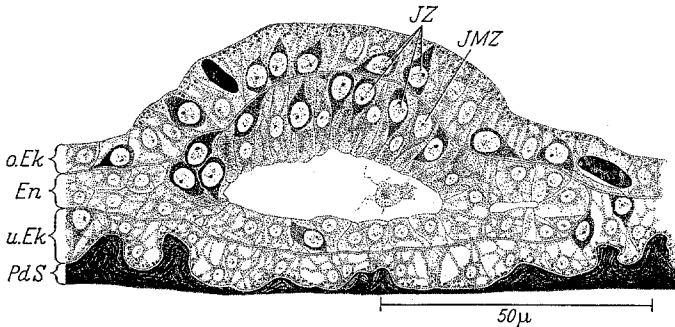


Abb. 5. Schnitt (7μ) durch eine Polypenknospe aus dem Stockinnern. In den zentralen Stockbereichen beteiligen sich J-Zellen am Aufbau des Knospenblastems. *o.Ek* oberes Ektoderm, *En* Entoderm, *u.Ek* unteres Ektoderm, *PdS* Peridermsubstanz, *JZ* J-Zellen, *JMZ* sich zu einer Meristemzelle umwandelnde J-Zelle

nicht von der Quantität der in ihnen enthaltenen J-Zellen, potentieller Urgeschlechtszellen also, bestimmt werden kann.

Im Gegensatz zu den peripheren Bereichen beteiligen sich im Stockinnern J-Zellen durch Umwandlung zu Meristemzellen am Aufbau des Polypenblastems (Abb. 5). Hier müssen die J-Zellen einspringen, da die Zellen der zwei somatischen Gewebeschichten, des Ektoderms und des Entoderms, ihre Teilungsfähigkeit weitgehend oder ganz verloren haben. Ausgangszentren der Knospenbildung scheinen jedoch auch im Stockinnern keine lokalen Nester von J-Zellen zu sein. Örtliche Verdichtungen dieser embryonalen, omnipotenten Elemente lösen als solche noch keine Blastembildung aus. In solchen Zusammenballungen ist die Zahl der Cnidoblasten besonders hoch. Übergänge zu Meristemzellen konnte ich nie beobachten. Von wo die Blastembildung in den zentralen Stockbereichen ihren Ausgang nimmt, konnte ich nicht feststellen. Dies gelang mir jedoch bei Polypenblastemen der äußeren, J-Zellen-armen bzw. J-Zellen-freien Randbezirke:

Erste Bildungsstadien von Polypenanlagen in den peripheren Stockbezirken haben in wenigen Entodermzellen der oberen Kanalwandung,

die eine hohe Teilungsaktivität aufnehmen, ihren Ursprung. In Abb. 6a und b sind ein Kanalabschnitt und die darüberliegende Ektodermfläche getrennt aufgezeichnet. In einem geschlossenen Areal der oberen Kanalwandung, dem Zentrum der zukünftigen Aufwölbung, lassen die Zellen durch ihre Form und ihre Struktur den wiedergewonnenen meristematischen Charakter erkennen (Abb. 6a): Sie sind kleiner als die benachbarten Entodermzellen, sind nahezu isodiametrisch und besitzen dichtes

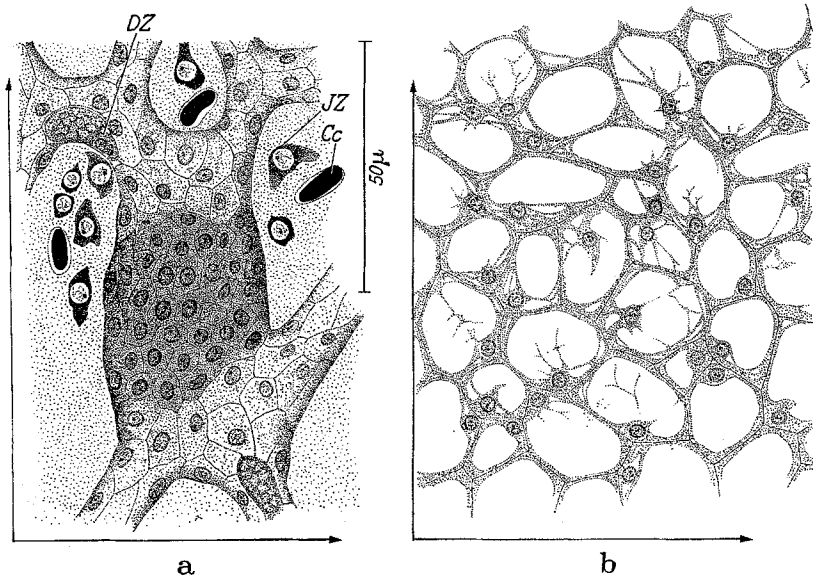


Abb. 6a u. b. Anlage einer Polypenknospe; links (a) Ausschnitt aus dem entodermalen Kanalsystem; rechts (b) das darüberlagernde Ektoderm (Zellen stark vakuolisiert). Im Dach eines Kanalabschnittes (Bildmitte a) fanden bereits Zellteilungen statt; im Ektoderm (b) noch nicht. Ganzpräparat. *DZ* Drüsenzelle, *JZ* J-Zelle, *Cc* Cnidocyte

Plasma und untereinander gleichartige, runde Kerne. Das Ektodermepithel zeigt über der entodermalen Knospenanlage dagegen noch die gleiche Zellgröße und Zelldichte wie in der Umgebung (6b). Im weiteren Lauf der Entwicklung breitet sich im Entoderm das Feld der kleinen Meristemzellen weiter aus, und die Kanäle erscheinen jetzt dick angeschwollen. Währenddessen setzen auch im Bereich des prospektiven Oralpols der Knospe Zellteilungen ein. Das wachsende Meristem wölbt sich nach oben blasenartig auf, wobei Wasser und Nahrungsbrei aus der Umgebung in den gastralen Binnenraum der Blase gepreßt werden. Aus einer angestochenen Blase quillt Wasser; sie sackt in sich zusammen.

Zur Frage nach den auslösenden Faktoren der Blastembildung

Welches die auslösenden Faktoren der Blastembildung sind, ist mir völlig unbekannt geblieben. Neben einem spezifischen Faktor, der die Stellen der Entwicklung bestimmt und den Start setzt, müssen Faktoren wirksam sein, die im

allgemeinen physiologischen Zustand des Stockes begründet sind. Es war mir jedoch nicht möglich, eine genaue Korrelation zwischen dem Vorhandensein oder Fehlen bestimmter Umweltsbedingungen und der Knospenbildung festzustellen. Phasen der Ausbreitung des Stockes, vor allem des Stolonenwachstums, sind keineswegs immer identisch mit Zeiten starker Knospenentwicklung. Häufig bewachsen Stolone weite Gebiete des Substrates, ohne einen einzigen Nährpolypen zu erzeugen. Bemerkenswert ist, daß die Stolone fast stets zur Knospenbildung übergingen, wenn ihnen ein weiteres Vordringen verwehrt und die Besiedlungsfläche begrenzt wurde. So sproßten die Stolone in Boverischälchen, wenn sie bis zum Wasserspiegel hochgewachsen waren, unterhalb des Wasserrandes regelmäßig einen dichten Kranz von Nährpolypen aus. Möglicherweise ist diese Erscheinung auf trophische Ursachen zurückzuführen. In den Stolonen wird durch den Geißelschlag der Entodermzellen und die Pumpbewegungen der Polypen Nahrung peripherwärts getrieben. Kommt das Spitzenwachstum zum Stillstand, so staut sich unverbrauchte Nahrung in den äußeren Stolobereichen. Das erhöhte Nahrungsangebot könnte dort eine Blastembildung fördern.

Allein ausschlaggebend dürfte jedoch ein solcher Effekt nicht sein. Mehrfach pflanzte ich polypenfreien Stolonen in weiten Abständen zur besseren Nahrungsversorgung Nährpolypen auf, die von anderen Stockbereichen stammten. Eine deutliche Erhöhung der Knospenbildung konnte ich aber dadurch nicht erreichen.

II. Der morphologisch-histologische Bau der Polypen

Während die Ausgangsbedingungen für eine Blastembildung noch unbekannt sind, haben meine Versuche, die determinierenden Faktoren zu finden, welche die Differenzierungsrichtung einer Polypenanlage bestimmen, erste Erfolge gebracht. Bevor die Ergebnisse dieser Versuche dargelegt werden können, muß kurz auf den morphologischen und histologischen Bau der einzelnen Polypenformen eingegangen werden.

1. Die Nährpolypen (Abb. 7)

Die Gastrozoide stehen der Polypengrundform am nächsten. Ihr wenig abgewandelter morphologisch-histologischer Bau entspricht weitgehend dem von TESSENOW (1958) für *Cordylophora caspia* beschriebenen. Im Bereich der Proboscis bis unterhalb des Tentakelkranzes hinabreichend springen 5—7 Entodermwülste in den Gastralraum vor. Sie verlaufen parallel zur Längsachse des Polypen und begrenzen zwischen sich schmale Längsrinnen. Diese Polster werden von zwei sich unregelmäßig abwechselnden Drüsenzelltypen aufgebaut, den Schleimdrüsen und den „Eiweißdrüsen“. Das Vorkommen der Schleimdrüsen ist auf die Proboscis beschränkt. Sie enthalten ihr muköses Sekret, das bei der histologischen Präparation herausgelöst wird, in einer großen Vakuole, die basal von einem schmalen, basophilen Plasmasaum umhüllt ist. Die azidophilen „Eiweißdrüsen“ speichern ihr fixierbares, eosinophiles Sekret in Tropfenform zwischen dem wabig strukturierten, basophilen Plasma. Zur Spitze der Proboscis hin enthalten die „Eiweißdrüsen“ nur kleine Sekrettröpfchen und zeigen eine langgestreckte Form. Im Gegensatz zu den Schleimzellen kommen Eiweißdrüsen in geringer Zahl auch in der unteren Hydranthenhälfte vor, eingebettet zwischen Nährzellen. Sie besitzen hier keulenförmige oder elliptische Gestalt. Drüsenzellen mit gleicher zytologischer Struktur sind auch im Entoderm der Stolone und der Stolonenplatte zu finden. In der unteren Hydranthenhälfte vor allem jüngerer Polypen treten daneben Drüsenzellen mit einer oder mehreren Vakuolen auf, deren Inhalt sehr stark Methylenblau annimmt.

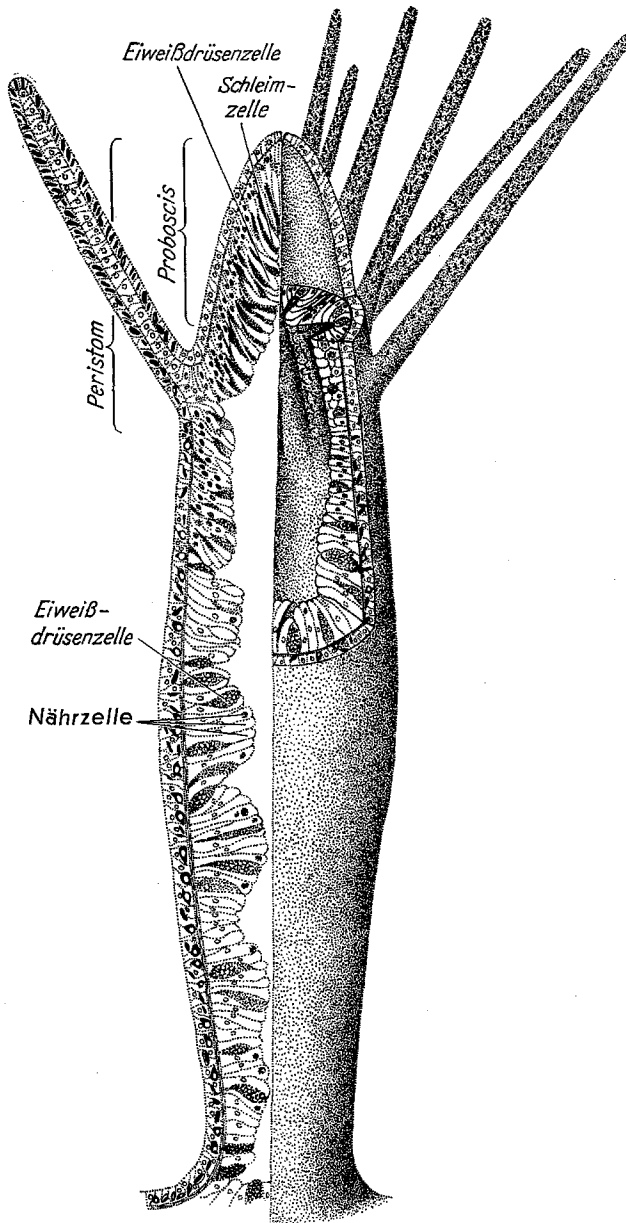


Abb. 7. Nährpolyp (Gastrozooid); nat. Größe ca. 1,5 mm. Helle Entodermzellen im Bereich des Peristoms = Schleimdrüsen. Dunkle Entodermzellen = „Eiweißdrüsen“. Helle Entodermzellen im mittleren und basalen Rumpfbereich = Nährzellen. Dunkle Entodermzellen = „Eiweißdrüsen“

Histologisch nicht auffallend charakterisiert und keineswegs scharf abgegrenzt ist die Wachstumszone unterhalb des Tentakelkranzes. Ihr Vorhandensein konnte ich nur aus den Wanderungsbewegungen farbmarkierter Zellen und implantierter Gewebestücke erschließen (s. Kap. C III). Die dichtgedrängten Entodermzellen dieses Bereiches sind von den Zellen der benachbarten Regionen nur durch ihre geringe Höhe unterschieden. Bemerkenswert ist, daß der J-Zellengehalt des Ektoderms in dieser Zone in oraler Richtung stark abfällt. Quantitativ erfaßt habe ich die J-Zellen-Verteilung nur bei Blastostylen im Zusammenhang mit den Versuchen zur experimentellen Erzeugung von Geschlechtsschmären.

2. Die Geschlechtspolypen (Abb. 8)

Das Vorkommen der 0,5—1,5 mm großen Blastostyle (Abb. 8) ist auf die Stolonenplatte beschränkt. Morphologisch sind die Gonozooide in drei deutliche Abschnitte gegliedert, die ich als Köpfehen, Hals und Rumpf bezeichnen möchte. Bei Eintritt der Geschlechtsreife schiebt sich als vierte Region zwischen Hals und Rumpf die Gonophorenzone ein. Der äußeren Gliederung entspricht eine histologische Differenzierung.

Das Köpfehen trägt in mehreren Reihen knopfförmige, mit Nesselbatterien dicht besetzte Tentakelrudimente, sog. Tentakuloide. Ihre Abkunft von Tentakeln verrät sich deutlich im Schnittpräparat: Einige wenige, stark turgeszente Entodermzellen, die wie bei den Tentakeln der Nährpolypen geldrollenartig aufeinandergeschichtet sind, bilden das stützende Polster für die Nesselbatterien. Die kleine Proboscis ist von einer Mundöffnung durchbrochen, durch die von Zeit zu Zeit feste, rötliche Exkretstoffe ausgestoßen werden. Nahrung vermögen die Blastostyle nicht zu verschlingen.

Die kurzen, gedrungenen Entodermzellen des Köpfehens sind mit rötlichen Exkretstoffen dicht beladen. Im blasenartig erweiterten Gastralraum des Köpfehens werden die Exkretstoffe zu Klumpen zusammengeballt, bevor sie durch den Mund in das freie Wasser abgegeben werden. Durch die Wimperflamme (Abb. 9) der Halsregion werden vom Gastralraum des Rumpfes beständig Nahrungspartikel, Abfallstoffe, abgestoßene Zellteile und Wanderzellen in den Gastralraum des Köpfehens hochgetrieben.

Die charakteristischen, rötlichen Exkretballen weisen auf eine spezifische Exkretfunktion der Köpfehen hin. Die dichte Füllung ihrer entodermalen Zellen mit festen Partikeln deutet an, daß ein Teil der hochbeförderten Stoffe phagozytiert und weiterverarbeitet wird. Auch wenn die Blastostylköpfehen keinen geschlossenen Organkomplex darstellen, können sie funktionell als Defäkations- und als Exkretionsorgane aufgefaßt werden. Da Exkretionsorgane bei Hydroidpolypen unbekannt sind, wäre ein genaues Verfolgen des Weges der Partikel und eine Analyse der Stoffwechselvorgänge interessant.

Ihre exkretorische Funktion hat zur Folge, daß die Zellen rasch erschöpft sind, resorbiert werden und durch neue ersetzt werden müssen.

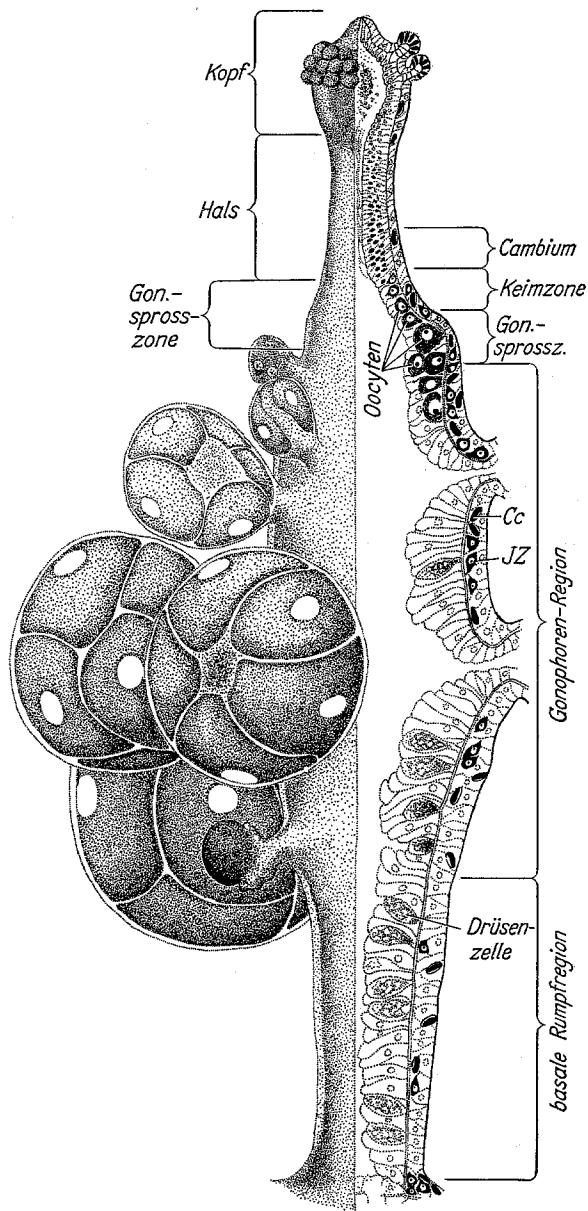


Abb. 8. ♀ Blastostyl (Gonozooid); nat. Größe ca. 1 mm. In der Keimzone und Gonophorensprossungszone liegen Oocyten. Das Entoderm der Gonophorenregion und der basalen Rumpfregion enthält Nährzellen (helle Zellen) und Drüsenzellen (dunkle Zellen). Im Ektoderm liegen verstreut J-Zellen und Cnidozyten

Der Nachschub wird von den orad wandernden Zellen der Halsregion geliefert, die sich sukzessiv zu Köpfchenzellen umdifferenzieren. Die entodermalen Zellen der Halsregion sind außerordentlich dicht zusammengedrängt, sehr schmal und langgestreckt und besitzen kleine, elliptische Kerne. Ihre langen Geißeln ordnen sich in dem engen, kanalförmigen Gastralraum zu einer lockeren Wimperflamme zusammen. Im unteren Teil der Halsregion, nahe dem Übergang zum Rumpf des Polypen, besitzen die Halszellen meristematischen Charakter (Wach-

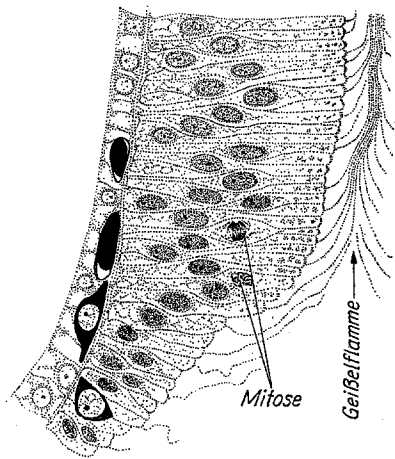


Abb. 9. Längsschnitt durch die Bildungzone (Cambium) eines Blastostyls. Schematisiert. Beachte zwei Mitosefiguren!

tumszone, Bildungszone, Cambium). Ihre dichten Kerne sind stark basophil. Nicht selten können Mitosefiguren entdeckt werden (Abb. 9). Apikalwärts und basalwärts von dieser Wachstumsregion lockert sich die Kernstruktur.

In basaler Richtung schließt sich die Rumpfreion an. Hier sind die Entodermzellen kürzer; ihr Plasma ist stark vakuolisiert; ihre Kerne sind rund und nur schwach basophil; ihre kurzen Geißeln schlagen isoliert. Das Übergangsfeld zwischen Hals- und Rumpfreion stellt die Keimstätte der Geschlechtszellen dar. Zwischen den Entodermzellen

eingebettet entwickeln sich hier, wie später ausgeführt wird, aus eingewanderten J-Zellen die Geschlechtszellen. Die Keimzone geht unmittelbar in die Sprossungszone über, aus der sich in fortschreitender Folge Gonophorenknospen als kleine Bläschen herauswölben. Die heranwachsenden Gonophore rücken basalwärts. Ein neues Gonophorprimordium erscheint stets über der nächst älteren Styloidknospe in seiner Lage am Rumpf so versetzt, daß eine schraubige Anordnung der Gonophore resultiert. Sind im ältesten Gonophor die Geschlechtsprodukte herangereift, so platzt er, und zwar stets frühmorgens, kurz nach der ersten Belichtung (BALLARD 1942, HAUENSCHILD 1953, YOSHIDA 1959, W. MÜLLER 1961), wobei Eier bzw. Spermia ins freie Wasser gelangen.

Bevor der Gonophorrest resorbiert wird, stößt er ein orangefarbenes Exkret ab. Das untere Rumpfdrittel trägt keine Gonophore mehr. Der histologische Bau der Rumpfreion ist bei geschlechtsreifen Gonozoiden recht einförmig. Das Entoderm enthält fast ausschließlich

Nährzellen, die in lockeren Falten und Polstern in den Gastralraum vorspringen. Unterhalb der Sprossungszone treten daneben in individuell stark schwankendem Maße Drüsenzellen auf, die alle einem Typ zugehören. Es sind Drüsenzellen mit mukösem Sekret, deren stark basophiles Plasma wabenartig angeordnet ist. In ihrer Form und Struktur gleichen sie den „Eiweißdrüsenzellen“ der Nährpolypen. Das Entoderm jüngerer Blastostyle, die noch keine Gonophore entwickelt haben, enthält in der Rumpffregion diese Drüsenzellen in großer Zahl, vor allem im basalen Abschnitt.

3. Spiralzooide (Abb. 10)

Die in ihrer Ruhelage spiralförmig aufgerollten, bis 5 mm langen Wehrpolypen sind histologisch wenig differenziert. Die gleichförmigen, stark vakuolisierten Entodermzellen, deren Kerne dem Gastralraum zu in die Zellperipherie verlagert sind, sind stark turgeszent. Der Entodermschlauch der Spiralzooide dient als elastisches Widerlager für die Kontraktion der kräftigen Muskelfibrillen. Vor allem die Fibrillen der ektodermalen Epithelmuskelzellen sind außerordentlich

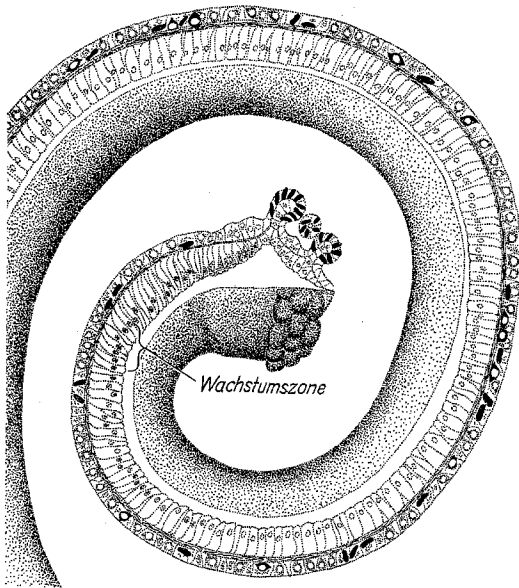


Abb. 10

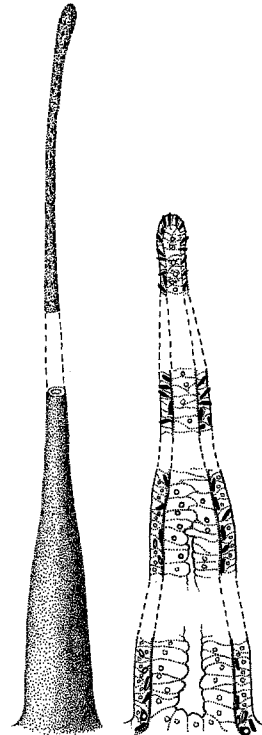


Abb. 11

Abb. 10. Spiralzooide, orale Hälfte; nat. Größe des ganzen Zooids ca. 2 mm

Abb. 11. Tentakulozooide; nat. Größe ca. 1,5 mm

lang und kräftig. Die Schicht der Längsmuskelfibrillen kann in kontrahiertem Zustand mit einer Dicke von 10μ die Höhe der Ektodermzellen selbst erreichen. Die Kerne der Ektodermzellen sind von einem Hof basophilen Plasmas umgeben.

Bei oberflächlicher Betrachtung können die Kerne mit ihrem Plasmamantel leicht mit interstitiellen Zellen verwechselt werden.

Das Köpfchen der Wehrpolypen ist gleich gebaut wie das der Geschlechtspolypen. Eine kleine Mundöffnung ist entgegen der bisherigen Beschreibung ebenfalls vorhanden. Die exkretorische Tätigkeit der Entodermzellen des Köpfchens ist gering. Die Exkretionszellen gehen kontinuierlich in die Meristemzellen der Wachstumszone über, die sich dem Köpfchen dicht anschließt. Die Meristemzellen sind nur wenig von ihren Abkömmlingen unterschieden. Sie sind dichter zusammengedrängt und weniger vakuolisiert. Ein Geißelschopf fehlt. Drüsenzellen, die denen der Blastostyle gleichen, können bei sehr jungen Tieren vereinzelt angetroffen werden.

4. *Tentakulozooid*e (Abb. 11)

Tentakulozooiden sind mundlose Polypen, die zu einem langen, mit Cnidozyten besetzten, kontraktilem Faden ausgezogen sind. Das Lumen ihres Gastralraumes verengt sich oral, bis schließlich die in der Mitte zusammenstoßenden Entodermzellen den Gastralraum ganz verschließen und blind endigen lassen. Die Entodermzellen schieben sich spitzwärts ineinander und ordnen sich in einer Reihe an. Der Nessel faden gleicht in seiner Struktur den Nährpolypententakeln. Er kann im ausgestreckten Zustand die fünffache Länge eines Nährpolypen überschreiten. Tentakulozooiden kommen, sofern sie überhaupt auftreten, vor allem auf Stolonen und in den jungen Stockbereichen vor, sehr selten in den zentralen Stockbezirken.

III. Die permanente Materialwanderung in den Polypen

Die interkalare Bildungszone der Polypen erzeugt andauernd neues Zellmaterial; dieses wandert kontinuierlich beiden Polen der Körperachse zu, wo es sukzessive resorbiert wird. Die Bewegung des Materials kann durch implantierte Marken, die vom Fluß des Materials mitgetragen werden, veranschaulicht werden.

Die übliche Markierungsmethode mit Vitalfarbstoffen ist bei den Polypen von *Hydractinia* nicht brauchbar. Bei der Kleinheit der Tiere und ihrer aufrechten Stellung sind begrenzte Farbmarken nur sehr schwer anzubringen. Die Unschärfe der Marken infolge der unvermeidlichen Diffusion fällt vor allem bei jungen, noch gonophorlosen Blastostylen, deren Größe bei 0,2—0,5 mm liegt, sehr störend ins Gewicht. Die Ektodermzellen nehmen nur sporadisch Farbe auf, die zudem häufig bald den Entodermzellen übergeben wird. Nach wenigen Stunden bereits ist der Farbstoff auf aufnahmebereite Entodermzellen im ganzen Polypenbereich verteilt und in Exkretionszellen angehäuft. Diese Methode scheidet deshalb aus. Lediglich einzelne Zellen, die Farbstoff in auffallend großen Vakuolen gespeichert hatten, konnten in vereinzelt Fällen als Marken dienen. Diese Zellen mußten über mehrere Tage fortlaufend verfolgt werden, zumal die Vakuolengröße nicht konstant ist und Verwechslungen daher leicht möglich sind. Diese mühsame Methode wandte ich nur bei den Tentakeln der Nährpolypen an.

Günstigere Marken liefern eingepflanzte Gewebestücke aus der Stolonenplatte, die Skelettelemente enthalten. Diese Implantate müssen möglichst klein bemessen werden, da größere Gewebestücke, wie später dargelegt wird, Doppelbildungen auslösen. Das mitimplantierte, kleine Skelettstückchen kann, sofern es beim Einpflanzen nicht ins Entoderm gerät, über lange Zeit verfolgt werden.

Abb. 12 faßt die Einzelbeobachtungen zusammen. Die Pfeile geben die Richtung der Materialbewegung an; die Breite des Pfeilschaftes symbolisiert ihre Geschwindigkeit. Bei Blastostylen ist die Geschwindigkeit

keit in basaler Richtung anfänglich besonders groß, nimmt aber kontinuierlich ab, um im unteren Polypendrittel fast völlig zum Stillstand zu kommen. Der Weg von der Bildungszone bis zu dieser Zone wird bei jungen, noch gonophorenlosen Blastostylen in 3—5 Tagen durchlaufen, bei Blastostylen mit 7—12 Gonophoren in 10—15 Tagen. Die fortlaufende Geschwindigkeitsabnahme läßt darauf schließen, daß nicht allein an den Körperenden Zellen resorbiert werden, vielmehr während des ganzen Weges ein Zellverbrauch stattfindet. Die Geschwindigkeit der Materialbewegung ist bei Nährpolypen geringer als bei Blastostylen, die fortwährend Material für die aussprossenden Gonophore bereitstellen müssen. Bei den Tentakeln findet ein starker Zellverschleiß vor allem in den äußersten Spitzen statt. Die Entodermzellen verfallen dort; der gespeicherte Farbstoff fließt aus. Nachschub wird von der Wachstumszone unterhalb des Tentakelkranzes geliefert.

Die regionale Geschwindigkeitsverminderung, die durch die abnehmende Pfeilbreite symbolisiert ist, wurde nicht genau gemessen, da eine solche Ermittlung für die vorliegende Fragestellung nicht von Belang ist. Bei Spiralzooiden erschloß ich die Richtung der Materialwanderung aus der Lage der Wachstumszone.

Die Bildungszone liefert zeitlebens neues Zellmaterial. Ein Abschluß des Längenwachstums des Polypen wird erreicht, wenn Proliferation und Verbrauch von Zellen sich die Waage halten. Auf ihrem Weg muß jede Zelle verschiedene Differenzierungszustände durchlaufen. Wie der jeweils zonengemäße Form- und Funktionswechsel gewährleistet wird, darüber geben später behandelte Versuche einen ersten Aufschluß.

D. Die Faktoren der Polypendifferenzierung

Von den beschriebenen Polypenformen traten bislang bei den im Laboratorium gezüchteten Stöcken nur die Nährpolypen und die Geschlechtspolypen auf. Spiralzooide und Tentakulozooide dagegen kamen nie zur Ausbildung. Diese Feststellung warf die Frage auf, inwieweit die differentielle Entwicklung der Polypen von inneren und inwieweit sie von äußeren Faktoren gesteuert wird.

I. Die Differenzierung der Spiralzooide

Spiralzooide treten in freier Natur nur an bestimmten Stellen auf. Sie umstehen den Mündungsrand von Schneckenschalen, die von Einsiedlerkrebsen bewohnt werden. Spiralgig eingekrümmt verharren sie in Ruhe, um bei einem plötz-

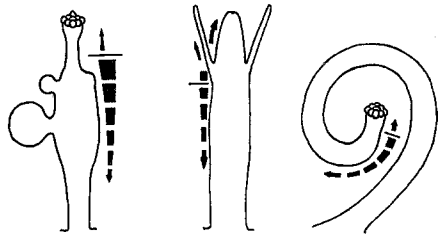


Abb. 12. Richtung und Geschwindigkeit der Materialwanderung bei einem Blastostyl, einem Nährpolypen und einem Spiralzooide. Die Bewegungsrichtung ist durch die Richtung der Pfeilspitzen, die Geschwindigkeit durch die Breite des Pfeilschaftes gekennzeichnet

lichen Rückzug des Krebses sich schlagartig wie eine gespannte Feder zu entrollen und mit ihren Nesselknöpfchen in die Schalenmündung hineinzuschlagen. Bei starker Reizung wiederholen sie diese Bewegung ein- bis dreimal. Aus dieser Beobachtung hatte sich der Gedanke ergeben, daß es zu ihrer Ausbildung eines spezifischen, vom Einsiedlerkrebis ausgehenden Auslösereizes bedarf. In der Tat erwies sich die einseitige mechanische Inanspruchnahme durch den Einsiedlerkrebis als wirksamer modifizierender Faktor (W. MÜLLER 1961).

Die Spiralzooide weisen sich deutlich als Modifikationsformen der Geschlechtspolypen aus. Ihre Abkunft verrät sich im Bau ihres Köpfchens und in ihrer Fähigkeit, sich, dem Einfluß des Krebses entzogen, häufig noch zu normalen Blastostylen mit fertilen Gonophoren umzuwandeln (W. MÜLLER 1961). Insbesondere junge Zooide, die durch ihre Lage am Rande des Gehäuses und ihre schlagende Bewegungsweise bereits eindeutig als Spiralzooide charakterisiert sind, besitzen noch die Fähigkeit zur Umdifferenzierung. Die prospektive Potenz der jungen Blastostyle muß demzufolge größer sein als ihre Normalentwicklung verrät. Ihre Reaktionsnorm umfaßt eine Entwicklungspotenz, die sich ohne einen *beständigen*, äußeren Auslösereiz nicht manifestieren kann. Beim Fehlen des spezifischen Einflusses des Krebses schränkt sich die Entwicklungspotenz auf die Bedeutung als Gonozooide ein. Diese Folgerung ergibt sich daraus, daß allein sehr junge Blastostyle die Reaktionsbreite besitzen, welche die Potenz zur Wehrpolypenbildung mitumfaßt. Diese Fähigkeit bleibt in der Normalentwicklung verborgen und geht bald verloren. Erwachsene Blastostyle vermögen die Spiralzooideform nicht mehr anzunehmen. Sie degenerieren unter den Bedingungen, die Spiralzooide zu ihrer Entwicklung und zum Aufrechterhalten ihrer Eigenschaft beständig benötigen. Ist umgekehrt die Differenzierungsform der Spiralzooide verwirklicht, so verlieren die Polypen die Fähigkeit, sich zu Geschlechtspolypen umzuwandeln und deren Funktion auszuüben.

Hieraus folgt: In einer Blastostylknospe muß ein Wirkfaktor (oder ein komplexer Wirkmechanismus) gegeben sein, der die Differenzierung gemeinsamer, beiden Modifikationen zukommender Merkmale, etwa die Ausprägung der Köpfchenform, steuert. Darüber hinaus muß die Reaktionsbreite der Knospe zwei differentielle, weiterführende Entwicklungsmöglichkeiten umfassen, von denen je nach dem Vorhandensein oder Fehlen bestimmter Umweltbedingungen alternativ die eine oder die andere verwirklicht wird.

II. Die Ausbildung der Tentakulozooide

Als weitere Differenzierungsform des *Hydractinia-Cormus*, die bei Wildstöcken auftreten kann, sind Tentakulozooide beschrieben worden (HYMAN 1940). Die Stellen, an denen sie der *Hydrorhiza* entwachsen, sind äußerlich nicht durch auffallende Eigenschaften ausgezeichnet. Eine Beziehung zwischen ihrem Entstehen und bestimmten Umwelts-

bedingungen ist nicht sichtbar. Gezüchtete Stöcke hatten bisher nie Tentakulozooide entwickelt.

Erste Tentakulozooid-ähnliche Formen erhielt ich überraschend bei isolierten Blastostylen. Von der Stolonenplatte losgetrennte und so von der Nahrungsversorgung abgeschnittene Blastostyle resorbieren die Geschlechtsprodukte in den jüngeren Gonophoren und schließlich die Gonophore selbst. Nur die Geschlechtsprodukte der ältesten Gonophore werden noch vollends zur Reife gebracht. Mit fortschreitender Isolierungsdauer kommt es, wie Quetschpräparate vermuten lassen, zu einer Umordnung des Entodermmaterials. Der Zellverband im Entoderm erscheint weitgehend aufgelöst. In der Anfangsphase dieses Vorgangs bilden die Blastostyle mitunter an den Schnittstellen oder an den Narbenstellen geplatzter Gonophore entgegen der normalen Polarität neue Blastostylköpfchen aus. Auch isolierte Wehrpolypen gestalten häufig an der Basis heteromorphe, mit Nesselbatterien besetzte Blastostylköpfchen. Im weiteren Verlauf der Materialumordnung und Material-

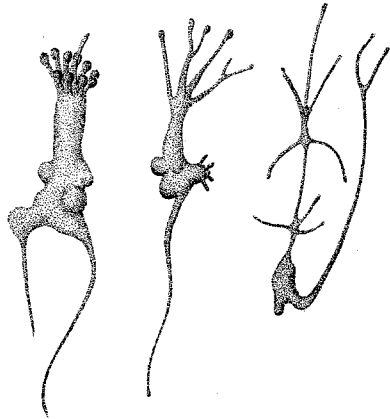


Abb. 13. Beispiele von Umwandlungsformen isolierter Blastostyle. Beachte das Auswachsen von Nesselbatterien (Tentakulozooide) und von Tentakeln

resorption beginnen die Tiere lange, mit Cnidozyten besetzte, kontraktile Fäden auswachsen zu lassen. Die Struktur dieser Nesselbatterien gleicht der Struktur der Tentakulozooide, wie ich sie an Wildstöcken regelmäßig fand (Abb. 13). Auch die knopfförmige Tentakuloide des ursprünglichen Blastostylköpfchen können zu Tentakeln auswachsen. Manchmal bilden die Tiere, besonders am aboralen Ende, ausgesprochene Nährpolypenperistome aus. Offenbar besteht im sich umordnenden Material eine Tendenz zur Gestaltung eines Nährpolypen. Diese Umgestaltung gelingt jedoch nur in wenigen Fällen soweit, daß der Polyp Beutetiere zu verschlingen vermag. Die Tentakulozooid-ähnlichen Bildungen können als „Mißglückter Versuch“, Tentakeln zu bilden, gewertet werden.

Diese Befunde führten mich zu der Vermutung, Hungererscheinungen könnten auslösend für die Entwicklung von Tentakulozooiden sein; zumal diese langen Nesselbatterien beim Beutefang als „Angeln“ fungieren, die eine größere Reichweite als die Tentakeln der Gastrozooide haben. Diese Vermutung erwies sich jedoch als falsch. Es gelang mir jedoch, hungerrnde Stöcke durch plötzliches Überführen in Optimalbedingungen

(täglicher Wasserwechsel, reichliche Fütterung mit abwechslungsreichem Plankton) zur Entwicklung von Tentakulozoiden anzuregen. Mit dem Wechsel der Lebensbedingungen gingen die Stöcke aus einer Phase des Stillstandes und des Rückganges in eine Phase starken Wachstums über. Damit verbunden war ein Neubeginn der Knospung neuer Tochterzooiden, die in ungewöhnlich großer Zahl und Geschwindigkeit aus der Hydrorhiza hervorsproßten. Die ganzen Stöcke waren übersät von den blasenartigen Aufwölbungen der Blastome. Bis zu 25% der Polypenanlagen wuchsen zu Tentakulozoiden heran, und zwar stets die kleinsten Anlagen.

Die Orte ihrer Entstehung, beobachtete Sonderformen und ein Experiment belegen: Tentakulozooiden leiten sich nicht, wie der zu Anfang dieses Abschnittes erwähnte Befund erwarten ließ, von Blastostylen ab, sondern von Nährpolypen; denn 1. entstehen Tentakulozooiden vorwiegend auf Stolonen, wo nur in sehr seltenen Ausnahmefällen Blastostyle erscheinen; 2. gibt es vereinzelt Übergangsformen zwischen beiden Typen, Polypen ohne Mund, jedoch mit mehreren Tentakeln oder Nesselfäden verschiedener Länge, 3. können Tentakulozooiden, wenn sie bis auf einen kurzen Stumpf abgeschnitten werden, mitunter zu Nährpolypen regenerieren. Bei 20 durchgeführten Versuchen regenerierten 4 Individuen zu Nährpolypen, 9 wieder zu Tentakulozoiden, 7 wurden resorbiert.

Tentakulozooiden entwickeln sich aus kleinsten Blastemefeldern. Künstlich verkleinerte Blastome oder geteilte Polypenknospen lieferten jedoch nie diese Nährpolypenderivate. Meine Versuche, die Differenzierungsrichtung bestimmter Knospen durch experimentellen Eingriff gezielt so zu beeinflussen, daß sie Tentakulozooiden hervorbrächten, schlugen fehl.

Tentakulozooiden werden in der Literatur (HYMAN 1940) häufig mit den Spiralzooiden als Dactylozooiden zusammengefaßt. Ich halte dies für unberechtigt, denn beide Formen sind heterogener Herkunft. Während Spiralzooiden als Modifikationen der Geschlechtspolypen anzusehen sind, stehen die Tentakulozooiden den Nährpolypen als deren Derivate nahe; und zwar sind sie, da in ihrem basalen Abschnitt ein Gastralraum ausgespart ist, ganzen Polypen homolog, nicht bloß Nährpolypententakeln. Gegen eine mögliche Deutung als bloße Degenerationsformen und für das Vorhandensein allerdings noch unbekannter, spezifischer Differenzierungsfaktoren spricht ihr regelmäßiges Auftreten und die Tatsache, daß artifiziell verkleinerte Polypenblastome keine Tentakulozooiden liefern. Da Tentakulozooiden nur bei günstigen Wachstumsbedingungen zur Ausbildung gelangen und da sie als Angeln und als Abwehrorgane dem Schutz junger Stockbereiche mit lichtem Polypenbestand dienen können, besitzen sie möglicherweise einen positiven Selektionswert.

III. Die Determination von Polypenanlagen zu Geschlechtspolypen

Spiralzooiden und Tentakulozooiden sind Modifikationsformen zweier Grundtypen, der Gonozooiden und der Gastrozooiden. Der Familie der Bougainvilliidae gehören Arten an, bei denen zwischen Geschlechts- und Nährpolypen nur eine geringe morphologische Differenzierung besteht (z. B. *Podocoryne carnea*, *Hydractinia sarsi*). Die folgenden Untersuchungen sind der Frage gewidmet, welche modifizierenden Bedingungen bei *Hydractinia echinata* die morphologische Aufgliederung in zwei Grundtypen determinieren und in welchem Verhältnis an diesem Differenzierungsvorgang Außenbedingungen und endogene Faktoren teilhaben.

1. Der Zeitpunkt der Determination

Der Determinationsprozeß, der über die Differenzierungsrichtung einer Polypenanlage entscheidet, vollzieht sich spätestens im Stadium der Aufwölbung des Blastems zur Knospe, und vermutlich erst dann. Den ersten Hinweis auf den Zeitpunkt der Determination gaben Isolierungsversuche:

Ich isolierte möglichst schonend Polypenanlagen verschiedener Entwicklungsstufen, um ihre Fähigkeit zur Weiterentwicklung und Selbstdifferenzierung zu prüfen. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Abb. 14 wiedergegeben.

Bei Blastembezirken, die vor oder während der Aufwölbung zur Knospe aus der Stolonenplatte herausgeschnitten werden, unterbindet die Isolierung vom umgebenden Gewebe eine weitere Differenzierung. Diese Blastome sind noch zu keiner selbständigen Entwicklung fähig. Das Isolat krümmt sich zu einer Hohlkugel ein, wobei das untere, dem Substrat aufgelegene Ektoderm das innere Lumen begrenzt und das obere Ektoderm die Außenfläche der Kugel bildet. Wird das zur Knospe aufgewölbte Blastem zu einem Zeitpunkt isoliert, da die Höhe der Blase etwa ihrem Radius entspricht, so formt sich das Isolat zunächst ebenfalls zu einem kugelförmigen oder elliptischen Körper. Dieser ist nun aber in der Lage, sich weiterzuentwickeln. Das Isolat bildet wie eine Knospe im Gewebeverband Tentakeln und eine Mundöffnung aus oder differenziert sich zu einem Gebilde, das deutlich als Blastostyl anzusprechen ist, wenn dem Köpfchen auch mangels Cnidozyten Nesselbatterien fehlen. Die histologische Regionengliederung der wohlproportionierten Miniaturpolypen entspricht der

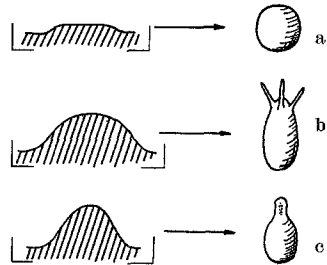


Abb. 14. Fähigkeit in verschiedenen Entwicklungsstadien isolierter Polypenknospen zur Selbstdifferenzierung. a frühes Stadium: Das Explantat kugelt sich ab; b u. c Höhe der Knospe = Radius; b Nährpolyp; c Blastostyl ohne Nesselknöpfchen

normaler Zooide, ist allerdings verständlicherweise nur kümmerlich entwickelt.

Hieraus geht hervor: Knospen, deren Höhe ihren Radius überschritten hat, sind auf eine bestimmte Entwicklungsrichtung hin festgelegt. Vor Erreichen dieser Entwicklungsstufe ist die Differenzierungsrichtung noch nicht streng determiniert. Dies zeigt folgender Versuch:

Mit einem Kreuzschnitt trennte ich junge, noch flachgewölbte Polypenknospen in vier Teile und verhinderte deren Zusammenwachsen

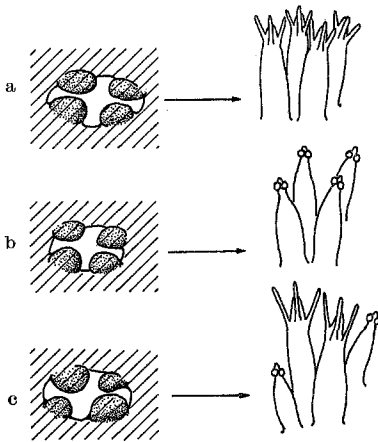


Abb. 15. Differenzierung von Viertelpolypenknospen. Die Teilblasteme entwickeln sich gleichartig zu Nährpolypen (a) oder Geschlechtspolypen (b). In einzelnen Fällen treten beide Polypenformen auf (c)

so lange, bis sich die Wundränder geschlossen hatten und die Teilstücke sich nicht mehr vereinigten (Abb. 15).

Ergebnis. In 24 von 30 Fällen entstanden aus den Teilblastemen gleichartige Polypen, entweder vier Nährpolypen oder vier Geschlechtspolypen. In sechs Fällen jedoch differenzierten sich die Teile unterschiedlich, teilweise zu Nährpolypen, teilweise zu Blastostylen. Das Verhältnis beider entstandener Formen war wechselnd. Stets aber hatten die Blastostyle in den kleinsten Teilblastemen ihren Ursprung. Bemerkenswert ist, daß auch in der Normalentwicklung der Knospendurchmesser prospektiver Nährpolypen im Mittel größer ist als der prospektiver Blastostyle. Eine genaue Korrelation zwischen der Größe einer

Knospe und ihrer prospektiven Bedeutung ist jedoch nicht gegeben, zumal die Nährpolypenknospen der Stolone im Durchschnitt kleiner sind als die Polypenknospen der Stolonenplatte.

Der Befund, daß Teilblasteme verschiedene Differenzierungsformen entwickeln können, läßt den Schluß zu: Polypenanlagen sind zunächst noch multipotent oder zumindest noch nicht starr auf eine bestimmte Differenzierungsrichtung hin festgelegt. Der Determinationsprozeß findet erst während der Aufwölbung des Meristems zur Knospe seinen Abschluß.

2. Umdetermination von Nährpolypenknospen durch implantierte Blastostylköpfchen

Die im vorigen Abschnitt geschilderten Versuche geben noch keine Auskunft über den Faktor, welcher für die Determination von Polypenanlagen zu Blastostylen verantwortlich ist. Leider war es mir nie möglich, das prospektive Schicksal einer Knospe vor der Ausbildung des

Köpfchens mit Sicherheit zu erkennen. Der Umstand, daß sich Knospen auf Einzelstolonen stets zu Nährpolypen entwickeln, bietet jedoch günstige Versuchsbedingungen. Sollte es mir gelingen, diese Knospen in ihrer Entwicklung so zu beeinflussen, daß sie entgegen ihrer prospektiven Bedeutung zu Geschlechtspolypen heranwachsen, so wäre ein erster entscheidender Schritt zur Beantwortung der aufgeworfenen Frage getan.

Bei meinen Versuchen ging ich von folgenden Überlegungen aus: Die interkalare Bildungszone der Blastostyle gibt beständig in oraler und basaler Richtung

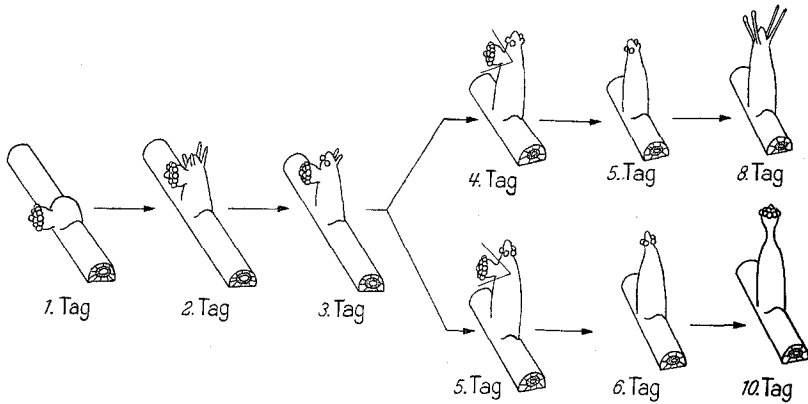


Abb. 16. Umstimmung von Nährpolypenknospen zu Geschlechtspolypen durch Implantation eines Blastostylköpfchens. Das Implantat wurde nach Beginn der Umwandlung wieder entfernt (obere Reihe: am 4. Tag; untere Reihe: am 5. Tag). Die Zeitangaben beziehen sich auf einen typischen Fall

Zellmaterial ab. Trotz der stetigen Materialverschiebung bleibt die Grundstruktur und die histologische Zonengliederung der Tiere erhalten. In konstant bleibenden Entfernungen von ihrem Ursprungsort müssen die Zellen einem bestimmten örtlichen Einfluß unterliegen, der ihre Differenzierung zu ortsgemäßem Gewebematerial verursacht.

Das erste charakteristische Merkmal, das die Knospen äußerlich sichtbar entwickeln und beide Grundtypen, Blastostyle und Nährpolypen, eindeutig unterscheiden läßt, sind die verschiedenartig ausgeprägten Köpfchen und Tentakel. Was geschieht, wenn dieser Differenzierungsschritt unter dem unmittelbaren Einfluß eines implantierten, andersartig differenzierten Köpfchens stattfindet? Im Köpfchenbereich sollte ja ein Faktor wirksam sein, der im Normalfalle die von der Bildungszone gelieferten Zellen zur ortsgemäßen Differenzierung veranlaßt. Vermag dieser hypothetische Faktor Einfluß auf die Differenzierung des Wirtsköpfchens zu nehmen?

Versuche. In junge, auf Stolonen sitzende Nährpolypenknospen (Radius ca. 25—30 μ), setzte ich Blastostylköpfe, die Spendern verschiedenen Alters entstammten, seitlich so ein, daß die oberste Grenze des Implantates unterhalb des Scheitels der Wirtsknospe zu liegen kam (Abb. 16).

Die zur Transplantation bestimmten Köpfchen schnitt ich an der Übergangsstelle zur Halsregion ab. Da der Durchmesser auch ausgewählt kleiner Köpfchen an der Schnittstelle 70—90 μ beträgt, mußte der Schnitt in der seitlichen Knospen-

wand durch den Stolo hindurch bis zur Unterlage erweitert werden. Dennoch wurde das Köpfchen von der emporwachsenden Knospe mit hochgetragen, so daß ihre Scheitelregion stets in unmittelbarem Kontakt mit dem Implantat blieb.

Ergebnis. Tatsächlich nimmt das seitlich angesetzte Blastostylköpfchen Einfluß auf die Entwicklung des Wirtsköpfchens. Es veranlaßt den Wirt — zwar nicht stets, so doch in 60% der Fälle (Tabelle 1) — aus dem präsumptiven Peristombezirk selbst ein Blastostylköpfchen statt eines Nährpolypenperistoms zu gestalten. Vom aufgepropften Spenderköpfchen geht eine Induktionswirkung aus, die der wirtseigenen Gewebedifferenzierung eine implantatgemäße Differenzierungsrichtung aufzwingt.

Das Material des entstehenden Blastostylköpfchens wird nicht vom Implantat geliefert. Es handelt sich um einen echten Induktionsvorgang, auf den das wirtseigene Gewebe mit der Änderung seiner Entwicklungsrichtung antwortet. Dies zeigen eindeutig die vielen Einzelfälle (etwa 55), die der schematischen Abb. 16 zugrunde liegen:

In diesen Fällen ging nach dem Aufpfropfen des Spenderköpfchens die ursprünglich eingeleitete Entwicklung zunächst anscheinend unverändert weiter. Der Wirt bildete ein Peristom mit einer Proboscis und Tentakeln aus. Die Wirkung des Implantates manifestierte sich zunächst nur im gehemmten Wachstum der ihm am nächsten stehenden Tentakeln. Sie blieben kürzer als die Tentakeln der Gegenseite. Mit zunehmender Kontaktdauer wurde der Entwicklungsgang jedoch völlig abgeändert und teilweise wieder rückgängig gemacht. Die Tentakeln schrumpften zu knopfförmigen Tentakuloiden zusammen, die für Blastostyle charakteristisch sind. Die Proboscis verkürzte und verschmälerte sich.

Schnitt ich zu diesem Zeitpunkt, noch vor dem Abschluß des Umwandlungsprozesses, das Implantat wieder heraus, so wuchsen die Tentakuloide wieder zu langen Fangtentakeln aus; die Proboscis streckte sich wieder. Der Polyp verwirklichte entsprechend seiner ursprünglichen Bestimmung die Differenzierungsform eines normalen Nährpolypen. Die ursprüngliche Entwicklungspotenz war also noch nicht verloren, sie wurde nur allmählich durch die Aktivierung der latent ebenfalls vorhandenen, in der Normalentwicklung aber unterdrückten Möglichkeit zur Gestaltung eines Blastostylköpfchens zurückgedrängt.

Verblieb das orale Differenzierungsgebiet des Wirtes einen Tag länger in Kontakt mit dem Induktor, so war die Umstimmung des Wirtes endgültig. Auch wenn ich das Implantat durch einen weiten Schnittbogen restlos entfernte, gestaltete sich nun ein vollständiges Blastostylköpfchen, das dem normaler Geschlechtspolypen völlig glich. Der Wirkungsgrad und die Stabilität der Induktionsleistung hängt also wie bei anderen bekannten Induktionsvorgängen von der Kontaktdauer zwischen Induktor und reagierendem Gewebe ab.

Bedeutsam ist, daß der vom Spender verursachten Differenzierungsänderung des präsumptiven Peristombezirkes eine völlige Umdifferenzierung des ganzen Individuums folgt. Der wachsende Polyp wandelt sich von oral nach aboral fortschreitend zu einen vollen Geschlechtspolypen um. Unterhalb des Köpfchens nehmen die Zellen die morphologischen und physiologischen Eigenschaften an, welche die Halszellen der Blastostyle kennzeichnen. Sie besitzen meristematischen Charakter und proliferieren in Richtung der beiden Körperpole Tochterzellen, die sich entsprechend der Zonenstruktur der Blastostyle differenzieren. Die vollständige Umstimmung zum Geschlechtspolypen vollzieht sich, auch wenn das Spenderköpfchen wieder entfernt wird. Das wirtseigene Köpfchen übernimmt die Aufgabe, den begonnenen Prozeß der Umdeterminierung weiterzuführen. Es besitzt selbst wieder induzierende Wirkung, falls es einer weiteren Nährpolypenknospe seitlich angepflanzt wird. Blastostyleigenschaften können so von einer „Generation“ auf die andere übertragen werden. Ob der gesamte Komplex der Umdifferenzierung direkt vom Köpfcheninduktor aktiviert und gesteuert wird, oder ob die primäre Köpfcheninduktion eine Kette abhängiger Folgeprozesse nach sich zieht, die ihrerseits die Umwandlung zu Ende führen, ist noch unklar.

Die Umdifferenzierung ist vollkommen. Dies beweisen außer der morphologischen und histologischen Gleichartigkeit der umgestimmten Zooide mit normalen Blastostylen folgende weitere Befunde:

1. Regenerieren umdifferenzierte Zooide nach der Resektion ihres eigenen Köpfchens ein Blastostylköpfchen. Sechs Polypen, die über die kritische Zeit hinaus mit dem implantierten Blastostylköpfchen in Kontakt waren und deshalb den begonnenen Prozeß der Umwandlung nach dem Entfernen des Implantates nicht rückgängig gemacht hatten, veranlaßte ich je dreimal durch Abschneiden ihres Köpfchens zur Regeneration. Jedesmal regenerierten sie ein Blastostylköpfchen.

2. Sind umdeterminierte Nährpolypenknospen, wie auch zu Geschlechtspolypen umgewandelte erwachsene Nährpolypen (s. Kap. D II 4), in der Lage, Gonophore zu erzeugen und Geschlechtsprodukte zu liefern. Dies gilt allerdings nicht für die auf Einzelstolonen stehenden Polypen. Die Ursache für dieses Unvermögen liegt jedoch, wie später ausgeführt wird, im besonderen, physiologischen Zustand der Stolone. In die Stolonenplatte verpflanzt, werden auch diese Polypen geschlechtsreif.

Die Wirkung des Induktors ist auf einen kleinen Bereich beschränkt. Nur wenn das Differenzierungsfeld unmittelbaren Kontakt mit dem Spender hat, unterliegt es seinem Einfluß. Dies veranschaulicht deutlich der in Abb. 17 wiedergegebene Versuch. Zum Zeitpunkt, da die beginnende Umwandlung am gehemmten Wachstum der dem Spender nahe-

stehenden Tentakelknospen deutlich wurde, halbierte ich durch einen Längsschnitt den oberen Knospenteil, so daß sich ein doppelköpfiges Zooid entwickeln konnte. Obwohl der basale Knospenteil ungetrennt blieb, bildete nur das obere Halbstück, das seitlich das Spenderköpfchen trug, ein Blastostylköpfchen aus.

Versuche mit Köpfchen, deren Gewebe durch Einfrieren auf ca. -70°C abgetötet worden war, eine Induktion zu erzielen, schlugen fehl. Das Gewebe wächst nicht mehr ein, zerfällt sehr rasch und wird, in den Gastralraum der Knospen gebracht, sofort verdaut. Als Null-Experimente zu den Umstimmungsversuchen sind anzuführen: 1. Bloße Verletzungen. 2. Implantation von Gewebe aus der basalen Rumpfregeion erwachsener Blastostyle (Kap. D IV).

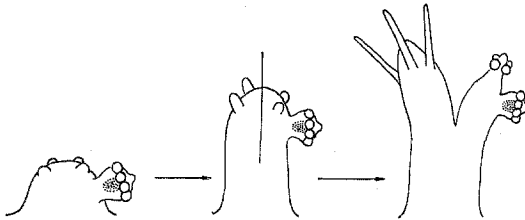


Abb. 17. Wirkungsbereich des Induktors. Zu Beginn der Umwandlung wurde der orale Teil des heranwachsenden Polypen halbiert. Nur der das Implantat tragende Teil wird umgestimmt

3. Aufpfropfen eines Tentakel-tragenden Stückchens aus dem Peristom von Nährpolypen. 4. Implantation der meristematischen Stolospitze (geprüft im Hinblick auf die in Kap. C I beschriebene Induktionswirkung). In all diesen Fällen wurde nie eine Umstimmung der getesteten, auf Einzelstolonen befindlichen Nährpolypenknospen festgestellt.

Um zu prüfen, bis zu welcher Entwicklungsstufe Nährpolypenknospen zu Blastostylen umdeterminiert werden können, pflanzte ich Blastostylköpfchen in verschieden alte Knospen ein. Es ergab sich: Knospen mit ersten Tentakelansätzen sind in ihrer Differenzierungsrichtung fest determiniert und gehorchen dem induzierenden Einfluß des Spenders nicht mehr. Eine genaue Entwicklungsstufe, bis zu der eine Umstimmung möglich ist, läßt sich allerdings nicht definieren. In seltenen Fällen war es möglich, junge Polypen zur Umdifferenzierung ihres bereits entwickelten Peristoms zu veranlassen. War die Zahl von vier Tentakeln überschritten, so erhielt ich in keinem Falle mehr eine Umwandlung.

3. Das Schicksal in ältere Knospen transplantiertter Blastostylköpfchen

Bei den obenerwähnten Versuchen trat sehr oft ein bemerkenswertes Phänomen auf: In den Fällen nicht gelungener Umstimmung begannen nach einer wechselnden Latenzzeit von 15—18 Tagen die Tentakuloide der Spenderköpfchen zu langen Tentakeln auszuwachsen (Abb. 18). Die auswachsenden Tentakeln ordneten sich in den Tentakelkranz des Wirtes ein. Nach wenigen Tagen waren die Versuchsindividuen von den anderen Nährpolypen nur mehr durch die ungewöhnlich große Zahl ihrer Tentakel unterschieden.

Ist nun in diesen Fällen entgegen der Versuchsabsicht das Implantat durch eine Induktionswirkung des Wirtspersistoms umgestimmt worden? Eine genaue Beobachtung des Phänomens macht dies durchaus fraglich: Die Gewebemenge des implantierten Köpfchens verminderte sich vor dem Auswachsen der Tentakuloide mehr und mehr, bis die Nesselknöpfchen schließlich unmittelbar der Rumpfwand des Nährpolypen aufsaßen. Die kleine Proboscis des Spenderköpfchens wuchs niemals zu einer Nährpolypenproboscis aus, sondern verschwand völlig. Im

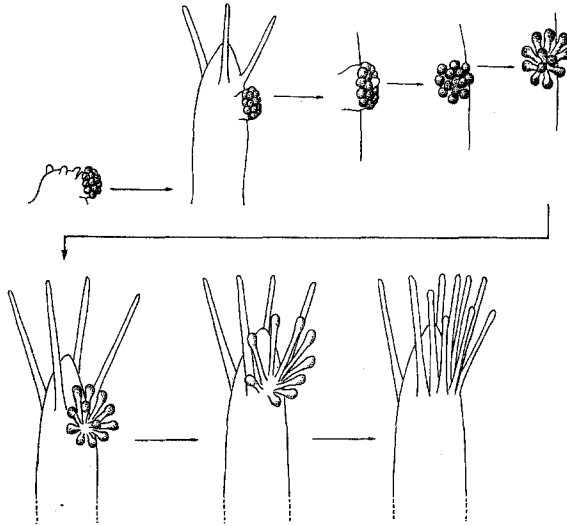


Abb. 18. Auswachsen der Nesselknöpfchen zu Fangtentakeln nach der Resorption des Köpfchenmaterials

histologischen Präparat zu diesem Zeitpunkt fixierter Tiere waren die typischen, exkretorisch tätigen Entodermzellen des Köpfchens nicht mehr aufzufinden. Aus anderen Versuchen ist mir bekannt, daß Nährpolypen die Tendenz haben, implantiertes Fremdgewebe, wie etwa junge Gonophore oder Blastostylkeimzonen, völlig zu resorbieren. Auf Grund dessen nehme ich an: Die voll ausdifferenzierten Entodermzellen des Spenderköpfchens sind nicht umdifferenziert, sondern resorbiert worden, und damit war ihr hemmender Einfluß auf das Tentakelwachstum weggefallen. Die Tentakuloide konnten deshalb nun zu Fangtentakeln auswachsen.

Ein Versuchsergebnis allerdings läßt die Möglichkeit einer echten, induktiv bewirkten Umdifferenzierung nicht ausschließen. Um den Wirkungsbereich des Induktors zu ermitteln, hatte ich einem Stolo in der Nähe einer jungen Nährpolypenknospe (Entfernung ca. $75\ \mu = 1,5\text{mal } \varnothing$ der Knospe) ein Blastostylköpfchen eingepflanzt. Sobald sich

eine Polypenanlage zu einer blasenförmigen Knospe emporgewölbt hat, beginnt Stomaterial zentripetal zur Knospe hinzuwandern. Im Zuge dieser Materialverschiebung wurde das Blastostylköpfchen an die Basis der hochwachsenden Knospe herangetragen (Abb. 19). Inzwischen hatte sich als Ergebnis einer beginnenden Regeneration zwischen dem Blastostylköpfchen und dem Stolo ein kleiner Rumpf eingeschoben. Das

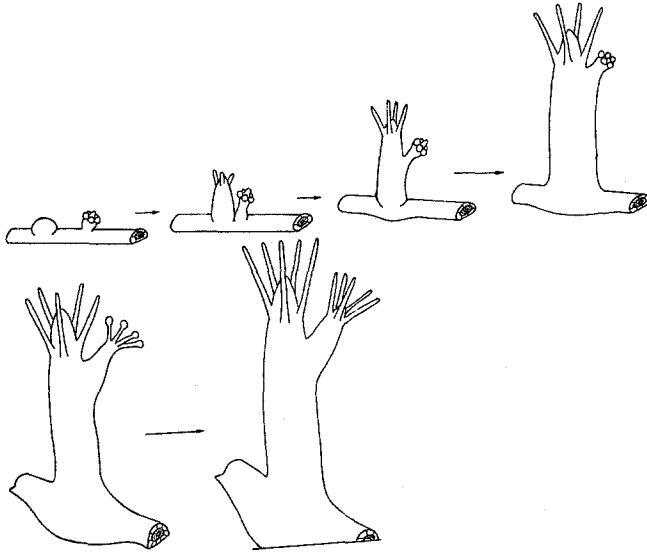


Abb. 19. Auswachsen der Nesselknöpfchen zu Fangtentakeln. Weiteres im Text

Regenerat wurde vom wachsenden Polypen hochgetragen und gelangte bis unterhalb des Tentakelkranzes des Wirtes. Nach 9 Tagen streckten sich die Nesselknöpfe des implantierten Blastostylköpfchens und wuchsen zu Fangtentakeln aus. Der kleine, seitlich dem Wirtsrumpf aufsitzende Blastostyl formte sich zu einem vollständigen Nährpolypenperistom um. Aus dem heterogenen Chimärenpolypen entstand ein zweiköpfiger Nährpolyp.

Im Zuge dieser Umformung wurde die kleine Proboscis des Blastostylköpfchens eingeschmolzen. An seiner Stelle wölbte sich im Zentrum der auswachsenden Tentakuloide ein neuer Kegel aus, der einen Mund durchbrechen ließ. Eine zumindest teilweise Resorption des ursprünglichen Materials und ein Ersatz durch neues fand also auch im vorliegenden Fall statt. Inwieweit demnach von einer echten Umdifferenzierung gesprochen werden darf, muß offenbleiben.

4. Umstimmung regenerierender Nährpolypen zu Geschlechtspolypen

Alein durch Aufpfropfen eines Blastostylköpfchens in oder unterhalb des Peristoms kann die Umwandlung eines ausdifferenzierten Nährpolypen zu einem Geschlechtspolypen nicht mehr erzwungen

werden. Zum Erfolg führten Versuche, die auf folgender Überlegung gründeten:

Wird das Peristom eines noch nicht allzu alten Nährpolypen abgeschnitten, so bildet sich — vermutlich unter Beteiligung von J-Zellen (TARDENT 1954) — ein Regenerationsmeristem. Es ist denkbar, daß der Determinationszustand des Meristems zu Beginn der regenerativen Morphogenese noch labil ist und eine Umstimmung zuläßt. Daß ein implantiertes Blastostylköpfchen die Differenzierungsrichtung des Regenerationsmeristems in die eigene Bahn drängen könnte, erschien nach den positiven Ergebnissen der Versuche zur Umstimmung von Nährpolypenknochen nicht unwahrscheinlich.

Versuch. Unterhalb des Peristoms pflanzte ich ein Blastostylköpfchen ein und schnitt am folgenden Tag das Peristom oberhalb des Implantates ab.

Ergebnis. Zunächst war der gewünschte Erfolg nicht zu erreichen. Die Wundränder verwuchsen stets miteinander, ohne daß ein Regenerationsblastem gebildet wurde. Das Spenderköpfchen trat an die Stelle des abgeschnittenen Wirtsköpfchens (Abb. 20a). In der Folge gewährten die Versuche jedoch einen bemerkenswerten Teilerfolg: Unterhalb des an den Oralpol gerückten Fremdköpfchens erschien eine interkalare Meristemzone; später folgten basalwärts Gonophore. Schließlich waren die ursprünglich chimärischen Polypen von normalen Geschlechtspolypen nicht mehr zu unterscheiden.

Ob die Umwandlung des Rumpfes, die mehrere Tage beanspruchte, das Resultat einer echten Umdifferenzierung bereits differenzierter Zellen oder das Ergebnis

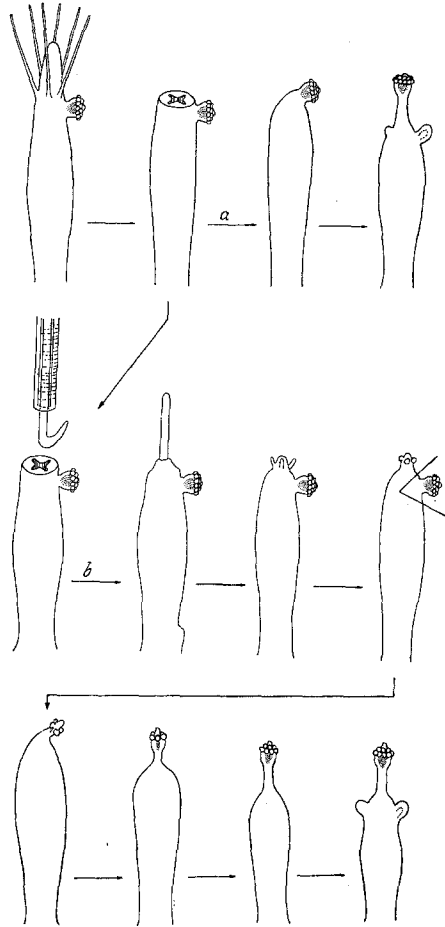


Abb. 20 a u. b. Umstimmung regenerierender Nährpolypen. a Das implantierte Blastostylköpfchen tritt an die Stelle des amputierten Wirtspersistoms und veranlaßt die Umwandlung des Wirtsrumpfes. b Der eingeführte Glasfaden verhindert den Verschluss des Gastralraumes. Es entsteht nun ein Regenerationsmeristem, dessen Differenzierung vom Implantat beherrscht wird

eine sukzessiven Ersatzes der alten Zellen durch basalwärts wandernde Abkömmlinge der primär gebildeten Bildungszone war, muß noch geklärt werden.

Das Ziel der Versuche, Geschlechtspolypen zu erzeugen, deren gesamtes Gewebe auf Material des Nährpolypen zurückgeht, erreichte ich durch folgende Technik:

Sogleich nach dem Abschneiden des Wirtspersistoms führte ich mit einer mundbedienten Mikropipette in den offenstehenden Gastralraum ein 1—1,5 mm langes Stückchen eines Glasfadens ein, dessen Ende ich durch vorsichtiges Heranführen an einen heißen Platindraht hakenförmig aufgekrümmt hatte (Abb. 20b). Den Haken verankerte ich in der basalen Rumpfwand, so daß der Polyp den Glasfaden durch Kontraktionsbewegungen nicht wieder herauspressen konnte. Der Glasfaden verhinderte, daß die Wundränder zentral verwachsen und den Gastralraum verschließen konnten. Ringförmig um den Glasstab formierte sich jetzt ein Regenerationsblastem. Als der Beginn der Differenzierungsvorgänge deutlich wurde, löste ich den Glasfaden von seiner Verankerung und entfernte ihn.

Bei 19 von 30 Versuchstieren erwuchs aus dem Regenerationsblastem entsprechend der ursprünglichen Determination des Regeneraten ein Nährpolypenperistom, bei elf Individuen resultierten dagegen Blastostylköpfcchen. Der Differenzierung eines Blastostylköpfcchens folgte die Umwandlung des Rumpfes. Ob es sich bei dieser Umgestaltung um eine echte Umdifferenzierung oder um einen fortlaufenden, von der zunächst angelegten Bildungszone gelieferten Materialersatz handelt, ist auch in diesen Fällen noch unklar.

5. Die Determination der Polypenanlagen

Das entscheidende Ergebnis der Umstimmungsversuche ist: Der Induktor determiniert nicht allein die Differenzierung eines Blastostylköpfcchens, sondern verursacht mittelbar oder unmittelbar die Differenzierung eines ganzen Geschlechtspolypen. Er vermag latente Potenzen zu aktivieren und besitzt somit die Eigenschaften eines Organisators. Die Frage, ob der Induktor der determinierende Faktor ist, der durch sein Vorhandensein oder sein Fehlen das Schicksal einer jungen Knospe bestimmt, drängte sich auf. Als positiv beantwortet kann diese Frage gelten, wenn vereinzelt in jungen Knospen, die noch kein Köpfcchen entwickelt haben, der Induktor nachgewiesen werden kann.

Versuch. Polypenknospen, deren ungewöhnlich großer Radius ihre Bestimmung zu Nährpolypen mit genügender Sicherheit verriet, schnitt ich seitlich an und pflanzte in die klaffende Wunde eine kegelförmige Knospe mit kleinem Durchmesser ein. Knospen mit großem Durchmesser liefern fast ausschließlich Nährpolypen, solche mit einem kleinen Durchmesser zu einem großen Teil Blastostyle. Die Größe des Knospendurchmessers erlaubt jedoch keinesfalls eine sichere Voraussage des Zieles, dem eine Knospe in ihrer Entwicklung entgegengeht. Bei mehreren Kombinationen sollte sich wenigstens in einigen Fällen ein Einfluß des beigefügten Partners auf die Entwicklungsrichtung der zusammengesetzten Knospe feststellen lassen.

Dies gelang tatsächlich. Das Ergebnis zeigt Abb. 21. Neben Nährpolypen und Chimären entstanden vier Blastostyle. In drei Fällen

ließ sich die Wirkung des Induktors am Entwicklungsgang eindeutig ablesen: Zunächst erscheinende Tentakel schrumpften wieder ein.

Bei Polypenchimären erwies sich der Differenzierungszustand des blastostylhaften Teiles stets als stabil, der des Tentakel-tragenden Peristoms demgegenüber oft als labil. Sofern die Chimäre nicht eingeschmolzen wurde, glied sich nach einiger Zeit (2—3 Wochen) nicht selten das Nährpolypenperistom seinem Partner an und wandelte sich zum Geschlechtspolypenköpfchen um.

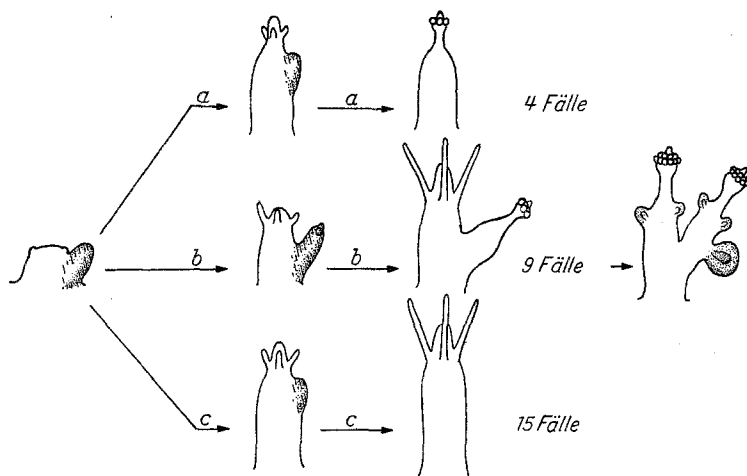


Abb. 21 a—c. Entwicklung zusammengesetzter Polypenknospen. Der größere Partner stellt eine Nährpolypenknospe dar. Das prospektive Schicksal des kleinen Partners ist noch unbekannt. Resultat: a Blastostyl. Erst erscheinende, später sich verkürzende Tentakel machen die Induktionswirkung des kleinen Partners deutlich, b Chimäre, c Nährpolyp

Nach diesem Befund läßt sich eine erste Aussage über die Determination von Polypenanlagen formulieren:

Regellos im Stock verteilt wird in einzelnen Polypenanlagen ein endogener, Blastostyl-determinierender Faktor wirksam, der die Differenzierungsrichtung der zunächst multipotenten Blastemzellen festlegt. Er bleibt zeitlebens im Köpfchen der Geschlechtspolypen erhalten und besitzt die Eigenschaften eines Induktors. Fehlt er, so entwickeln sich die Knospen zu Nährpolypen.

Welches die Bedingungen für das Auftreten und Wirksamwerden dieses Faktors sind, ist noch unbekannt.

IV. Längsgradient der regionalen Induktionsfähigkeit

Aus den im vorigen Abschnitt erarbeiteten Ergebnissen stellen sich neue Fragen: Besitzen andere Blastostylzonen ebenfalls induzierende Fähigkeit? Falls ja: Prägt ein transplantiertes Stück aus einer bestimmten Zone reaktionsbereitem Wirtsgewebe nur die Differenzierungs-

tendenz auf, die dem Herkunftsbereich des Implantates selbst zu eigen war, oder vermögen sie, wie transplantierte Köpfcchen, den gesamten Differenzierungskomplex eines Blastostyls auszulösen?

Das Resultat der Versuche sei vorweggenommen: Die gesamte Halszone eines Blastostyls besitzt eine gleichartige und gleich starke Induktionsfähigkeit wie das Köpfcchen. Der Rumpfbereich dagegen besitzt diese Potenz — je nach dem Alter des Blastostyls — nur in sehr geschwächtem Maße oder gar nicht.

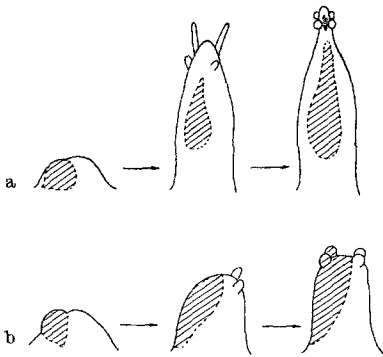


Abb. 22 a u. b. Umstimmung einer Nährpolypknospe durch implantiertes Keimzonenmaterial von Blastostylen. a Implantat geht nicht in die Köpfcchenbildung ein. b Implantat beteiligt sich an der Köpfcchenbildung

Die regionale Induktionspotenz testete ich durch Implantation dieser Zonen entstammenden Gewebes in junge, auf Einzelstolonen sitzende Nährpolypknospen.

Bei diesen Versuchen färbte ich vor der Transplantation jeweils einen Partner, den Spender oder den Wirtsstock, vital an, um die unterschiedlichen optischen Eigenschaften des Knospen und des Spendergewebes stärker hervorzuheben und das Schicksal des Implantates dadurch möglichst gut verfolgen zu können.

Mit Gewebematerial aus der Hals- und Keimzone von Blastostylen erzielte Umstimmungen junger Gastrozoidknospen zeigen die Abb. 22 u. 23. Das Spender-

gewebe kann sich selbst am Aufbau des blastostyloiden Köpfcchens beteiligen oder nur seine Ausprägung verursachen, ohne selbst in das Köpfcchenmaterial einzugehen. Mitunter geschieht es, daß sich das Implantat seitlich auswölbt, auswächst und ein eigenes Blastostylköpfcchen regeneriert. Ein solcher Fall war Vorlage für die Abb. 23. Es entwickelte sich ein Zooid mit doppeltem Oberteil, wobei sich ein Teil blastostylgemäß, der andere nährpolypenhaft gestaltete. Der blastostyloide Teil entwickelte Gonophore und lieferte Geschlechtsprodukte. Das Tentakelwachstum am Nährpolypenperistom der Chimäre blieb gehemmt. Nach 17 Tagen schlug der Differenzierungszustand des Peristoms um. Innerhalb von 3 Tagen war die Umdifferenzierung zum Blastostylköpfcchen vollzogen. Nach vier weiteren Tagen bereits erschienen die ersten Gonophorenknospen.

Geschlechtspolypen mit doppeltem Oberteil lassen sich auch durch laterales Einpfropfen von Nährpolypknospen in die Hals- und Keimzone der Blastostyle erzielen. Die Knospe kann sich auf Grund ihrer Fähigkeit zur autonomen Differenzierung zunächst zu einem kleinen Nährpolypen entwickeln (Abb. 24). Unter dem Einfluß des Wirtes formt sich jedoch der junge, aufsitzende Nährpolyp sekundär zu einem blastostyloiden Oberteil um.

Die Feststellung, daß nicht allein dem Köpfchen induzierende Fähigkeit zukommt, sondern auch andere Blastostylbereiche die zytologischen und morphologischen Umformungsprozesse einzuleiten vermögen, war

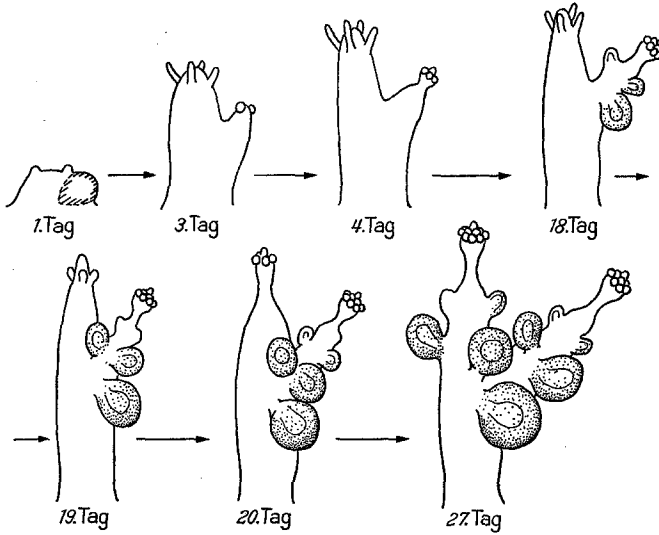


Abb. 23. Umstimmung einer Gastrozoidknospe durch Keimzonenmaterial. Das Implantat wuchs seitlich aus und regenerierte zum Blastostyl. Das tentakeltragende Wirtspersistom wurde zum Blastostylköpfchen umgebildet

mir Anlaß, das regionale Induktionspotential quantitativ zu erfassen. Ein Vergleich der quantitativen Induktionsfähigkeit sollte einen Rückschluß auf die Normalbedeutung des Induktors ermöglichen. Der prozentuale Anteil deutlich erkennbarer Reaktion auf den Induktor an der Gesamtzahl durchgeführter Versuche sollte Maßstab des Induktionspotentials sein.

Leider wird die Genauigkeit der Analyse durch viele, unvermeidbare Umstände negativ beeinflusst.

1. Ist der Differenzierungsgrad einer Knospe nicht genau mit ihrer Größe korreliert. Der Differenzierungszustand, bei dem die ersten Tentakelknospen erscheinen, wird bei unterschiedlicher Größe der Knospe erreicht.

2. Bleiben zwar Köpfchen bei gut gelungener Implantation dicht unterhalb des oralen Differenzierungsfeldes der Wirtsknospe stehen. Gewebeteile der anderen Zonen werden auseinandergezogen, verteilen sich auf ein breiteres Gebiet, können in den Bereich des Differenzierungsfeldes hineingeraten oder von ihm abgedrängt werden.

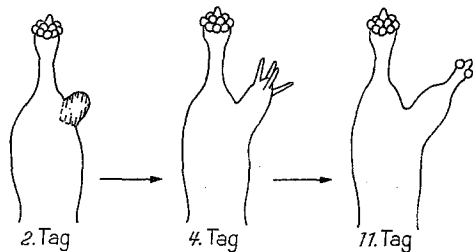


Abb. 24. Umstimmung einer implantierten Nährpolypknospe

Dennoch ist eine Aussage über quantitative Unterschiede der Induktionsfähigkeit möglich, da zumindest die Werte für die beiden Extremregionen, Köpfchen und Basalzone sich sehr deutlich voneinander unterscheiden. Als positiv wertete ich Fälle, bei denen mindestens zwei der zunächst erscheinenden Tentakelknospen sich zu Tentakuloiden entwickelten und diesen Differenzierungszustand länger als 4 Tage bei-

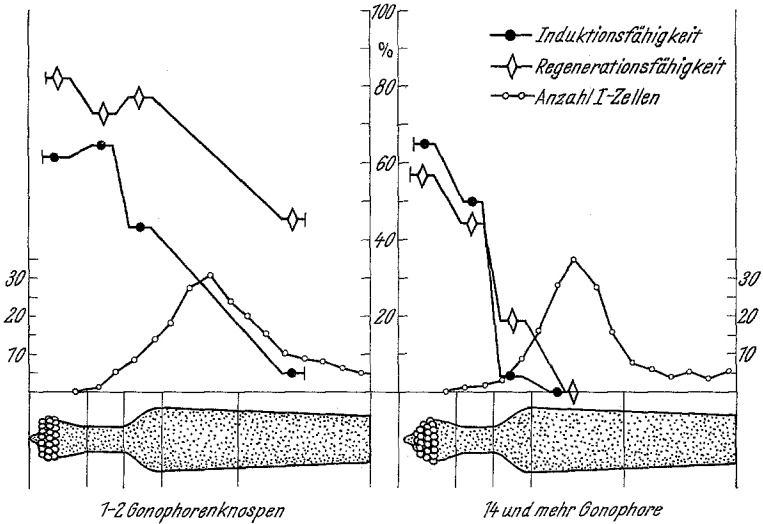


Abb. 25. Regionale Induktionsfähigkeit, Regenerationsfähigkeit und J-Zellenverteilung bei Blastostylen. Auf der inneren Skala sind die prozentualen Anteile positiver Ergebnisse der Induktions- bzw. Regenerationsversuche (Transplantationen) aufgetragen. Die Skalen der äußeren Ordinaten beziehen sich auf die Anzahl der J-Zellen. Die J-Zellenverteilung im linken Diagramm ist aus den Einzelwerten von 19 jungen, ♀ Gonozoiden gemittelt. Im rechten Diagramm ist die mittlere Verteilung von 16 ♂ Individuen mit mehr als 6 Gonophoren dargestellt. Jeder Meßpunkt gibt den J-Zellengehalt des betreffenden, jeweils $\frac{1}{16}$ der Polypenlänge umfassenden Blastostylabschnittes an

behielten. Nach 4 Tagen besitzen unbehandelte, als Kontrollen dienende Nährpolypenknospen bereits vollentwickelte Tentakeln und können Artemien fangen und verschlingen.

Die Versuche führte ich mit Stöcken eines einzigen Klons durch. Damit war eine gleichbleibende Reaktionsnorm gewährleistet. Dies ist um so wichtiger, als vereinzelt Klone auftreten, deren Blastostyle vorübergehend oder zeitlebens nährpolypenhaft gestaltete Köpfchen (Köpfchen größer als normal und kurze Tentakel tragend) besitzen. Die aus den Versuchen gewonnenen Resultate sind in der Tabelle I zusammengestellt, gemeinsam mit Werten aus Versuchen, die im Zusammenhang mit den jetzt erörterten stehen und anschließend behandelt werden. Die Ergebnisse sind auch in einer graphischen Darstellung wiedergegeben (Abb. 25). Als Spender dienten Blastostyle zweier definierter Entwick-

lungsstufen: 1. Blastostyle, die ihre erste oder ihre beiden ersten Gonophorenknospen erscheinen ließen; 2. geschlechtsreife Blastostyle, die mindestens schon 14 Gonophore entwickelt haben. Die Werte für beide Testgruppen sind getrennt aufgeführt.

Bemerkt muß noch werden, daß die Gonophorenzone der Blastostyle nur sehr schlecht auf ihre Induktionsfähigkeit geprüft werden kann und deshalb dieser Zone zugehörige Werte fehlen. Bei der nötigen Resektion der Gonophore wird das Gewebe der Rumpfwand unvermeidlich stark zerrissen. Zerrissenes und gequetschtes Gewebe wird rasch resorbiert und kann daher seine Induktionsfähigkeit kaum zur Wirkung bringen, sofern es überhaupt eine solche besitzt.

Unterschieden im Bereich von 20% darf auf Grund der erwähnten methodischen Schwierigkeiten und der geringen Anzahl der Tests pro Zone keine Bedeutung zugemessen werden. Sie lassen sich statistisch nicht oder nur ungenügend sichern. Die Steilheit des aus der Tabelle und dem Kurvenverlauf ersichtlichen Abfalles des Induktionsvermögens läßt jedoch die Möglichkeit, daß die Differenz im Induktionsvermögen vom Zufall vorgetäuscht sein könnte, kaum zu. Die für die ersten und letzten Werte nach dem χ^2 -Test errechnete Irrtumswahrscheinlichkeit ist mit einem Wert von unter 0,001 äußerst gering. Am stärksten sinkt die Induktionspotenz im Übergangsbereich zwischen den zwei Hauptregionen, dem Halsbereich und dem Rumpfbereich ab. Dieses Übergangsgebiet umfaßt die Keimzone und die Gonophorensprossungszone, die ich beide ihrer geringen Ausdehnung und unscharfen Abgrenzung wegen zusammengefaßt habe. Der Abfall ist bei älteren Geschlechtspolypen, deren Gewebe einen stärkeren zytologischen Differenzierungsgrad als das jüngerer Blastostyle aufweist, besonders stark.

Als Ergebnis der Versuche ist festzustellen: Die Fähigkeit, die Entwicklungsrichtung eines Polypenblastems in die blastostylgemäße Bahn zu lenken, kommt fast ausschließlich den orad der Gonophoren-Sproßzone befindlichen Regionen zu; den Regionen also in unmittelbarer Nachbarschaft der Bildungszone.

V. Die Parallelität der regionalen Induktions- und Regenerationsfähigkeit

Sollte dem Gradienten der Induktionsfähigkeit bei den Determinationsprozessen der Normalentwicklung und bei den laufend im Zuge der Materialwanderung vonstatten gehenden Differenzierungsvorgängen tatsächlich eine Bedeutung zukommen, so müßte diese Bedeutung in Regenerationsversuchen deutlich gemacht werden können. Die zunächst homogenen Regenerationszellen durchlaufen bei der Histogenese einen Differenzierungsprozeß, der eingeleitet und gesteuert werden muß.

Isolierte, von der Nahrungszufuhr abgeschnittene Polypenteile von *Hydractinia* regenerieren nicht zu lebensfähigen Ganztieren. Der Regenerant muß mit dem Netz der Entodermkanäle in Verbindung

stehen. Demzufolge läßt sich das Regenerationsvermögen nur auf zwei Weisen prüfen:

1. Durch Transplantation isolierter Teilstücke auf Stolone oder in die Stolonenplatte.

2. Durch Amputation verschieden langer Teilstücke, zweckmäßigerweise an der Grenze der einzelnen Längszonen, wobei die Fähigkeit des stehenbleibenden Reststückes, den abgetrennten Körperteil neu zu bilden, im Blickpunkt steht. (Epimorphe Regeneration.)

Diese zwei Möglichkeiten dürfen aus noch zu diskutierenden Gründen nicht von vornherein gleichgesetzt werden.

Tabelle 1. Vergleich der regionalen Induktionsfähigkeit und der regionalen Regenerationsfähigkeit bei Blastostylen zweier verschiedener Altersstufen

Unter + ist die Anzahl der Gastrozoidknospen mit deutlich erkennbarer Reaktion auf das Implantat bzw. die Anzahl der Regeneranten angegeben.

Zone	Blastostyle mit 1—2 Gonophorenknospen			Blastostyle mit 14 und mehr Gonophoren, reif		
	Anzahl der Versuche	+	% +	Anzahl der Versuche	+	% +
1. Induktionsfähigkeit						
1. Köpfehen	23	14	61	20	13	65
2. Hals	25	16	64	20	10	50
3. Keimzone	21	9	43	23	2	4
4. Basales Rumpfstück . . .	20	1	5	16	0	0
2. Transplantationen						
1. Köpfehen	32	26	82	25	14	56
2. Hals	29	21	73	18	8	44
3. Keimzone	35	27	77	22	4	18
4. Basales Rumpfstück . . .	22	9	41	20	0	0
3. Amputationen						
Oraler Bereich entfernt bis zu:						
1. Bis zum Hals	44	42	96	40	35	88
2. Bis zur Keimzone	40	35	88	37	22	60
3. Bis zum basalen Ende der Gonophorenzone . . .	38	22	58	36	0	0

Die Werte beider Versuchsserien sind in Tabelle 1 aufgeführt. Maßstab der regionalen Regenerationsfähigkeit ist die Regenerationsrate, ermittelt als prozentualer Anteil der Regeneranten an der Gesamtzahl der Versuche. Die Werte der ersten Versuchsreihe sind in Abb. 25 graphisch dargestellt.

Bei den zahlreich durchgeführten Regenerationsversuchen an Hydrozoen ist in der Regel das Regenerationsvermögen isolierter Stücke geprüft worden. Da im vorliegenden Fall der Regenerant mit der Hydrorhiza Kontakt hat und von ihr auch Material, insbesondere J-Zellen beziehen kann, können diese Versuche nicht parallel zu den bekannten Versuchen an Hydra u. a. gesetzt werden.

1. Versuchsreihe: Transplantationen

Die gewünschte Blastostylzone wurde durch zwei parallele Schnitte von gestreckten, narkotisierten Tieren ausgeschnitten und die isolierten Stücke auf Stolone transplantiert.

Um ein Anwachsen der Gewebestücke zu ermöglichen, verletzte ich an der für die Propfung vorgesehenen Stelle den Stolo und schob vom angrenzenden Stoloabschnitt Material auf die Wundstelle hin, wo es aus der Peridermhülle des Stolo herausquoll. Auf den mit Entodermzellen durchsetzten Zellklumpen legte ich unter Wahrung der normalen Polarität das Blastostylgewebe auf und beschwerte es mit einem kleinen Deckglassplitterchen. Beide Gewebesorten verwachsen, sofern sie mit ihrem Entoderm Kontakt zueinander bekommen. Der unterbrochene Stolo wächst wieder zusammen.

Resultat. a) Bei Transplantation eines Köpfcchens schiebt sich zwischen Stolo und Köpfcchen eine blasige Auftreibung ein, die einer normalen Blastostylknospe gleicht. Diese streckt sich und wächst heran. Das Resultat ist ein neuer Blastostyl, dessen Köpfcchen mit dem ursprünglichen Transplantat, das seine Größe und Struktur beibehält, identisch ist.

b) Bei Transplantation der Halsregion oder der Keimzone vollziehen sich im Erscheinungsbild die Vorgänge einer morphallaktischen Regeneration. Das Transplantat formt sich zu einem knospengleichen Gebilde, entwickelt Nesselknöpfchen und wächst zu einem Blastostyl heran. Bemerkenswert ist jedoch: Werden Gewebestücke der Halsregion in die Stolonenplatte gepflanzt, so ist mitunter erkennbar, wie sternförmig um das Implantat die Entodermkanäle wie bei normalen Polypenanlagen anschwellen und der betroffene Bezirk schließlich auch bei der Gestaltung der Knospe in das Knospengewebe mit einbezogen wird. Die Keimzone besitzt die Potenz, in der beschriebenen Art einen Blastostyl zu gestalten, gegenüber der Halszone nur noch in geschwächtem Maße.

c) Gänzlich fehlt diese Fähigkeit Stücken der basalen Rumpfreigion älterer Blastostyle. Sie werden regelmäßig resorbiert.

Besprechung. Die unterschiedliche Fähigkeit der einzelnen Blastostylzonen nach Transplantation in die Stolonenplatte einen neuen Blastostyl zu entwickeln, steht deutlich mit einer unterschiedlichen Induktionsfähigkeit in Beziehung. „Regenerationsfähige“ Stücke veranlassen das umgebende Gewebe, sich am Aufbau des neuen Polypen zu beteiligen. Der Neubildungsprozeß ist daher weder mit „morphallaktischer Regeneration“ begrifflich adäquat zu erfassen, noch kann er reinen Induktionsphänomenen zugerechnet werden. Regenerations- und Induktionsvorgänge zusammen erzeugen das neue Gonozoid; sie lassen sich in diesen Versuchen nicht voneinander trennen.

Ob der Induktionsfaktor, der das umgebende Gewebe in seinen Einfluß bringt, mit dem Blastostyl-determinierenden Faktor identisch

ist, ist noch offen. Da jedoch keine experimentellen Ergebnisse vorliegen, nach denen beide Induktionsphänomene verschiedenen Wirkfaktoren zugesprochen werden müßten, werden sie im weiteren als identisch angesehen.

2. Versuchsreihe: Amputationen

Resultat. Sofern eine Regeneration eintritt, bildet sich zuerst ein neues Köpfchen, an dessen Basis sich eine neue Wachstumszone formiert. Dies geschieht um so seltener, und das Reststück wird um so häufiger resorbiert, je weiter basal der Schnitt geführt worden ist. Die Regenerationsfähigkeit fällt jedoch nicht kontinuierlich ab. Beim Übergang vom Hals zum Rumpf nimmt sie — besonders deutlich bei älteren Zooiden — sprunghaft ab und folgt damit dem Gradienten der Induktionsfähigkeit.

Besprechung. Die Parallelität zwischen beiden Längsgradienten ist auffällig; doch läßt sich aus dieser Korrelation nicht ohne weiteres auf eine kausale Beziehung schließen. Vorab sind zwei alternative Möglichkeiten zu diskutieren und zu prüfen:

1. TARDENT (1954, 1956) wies bei *Hydra* und *Tubularia* durch Auszählen der interstitiellen Zellen einen Längsgradienten ihrer Verteilung nach. Bei diesen Tieren besteht zwischen dem Regenerationspotential isolierter Teilstücke und ihrem Gehalt an diesen embryonalen Elementen eine enge Beziehung. In ähnlicher Weise könnte auch bei den Gonozoiden von *Hydractinia* ein zufällig mit dem Induktionsgradienten parallel laufender Gradient der J-Zellenverteilung für das unterschiedliche Regenerationsvermögen verantwortlich sein. Die histologischen Untersuchungen ergaben jedoch: J-Zellen sind fast ausschließlich im Rumpfbereich zu finden; das Dichtemaximum liegt etwas unterhalb der Keimzone (Abb. 25). Die regionalen Unterschiede im Induktions- und Regenerationsvermögen lassen sich also nicht auf einen entsprechend verschiedenen Gehalt an J-Zellen zurückführen. Die Untersuchungen, welche dieses Resultat ergaben, werden im Zusammenhang mit den Versuchen zur Frage der Geschlechtsschimären im Detail beschrieben.

2. Weiterhin ist denkbar, der Abfall des Regenerationsvermögens hinge vom Alterungsgrad des Gewebes ab, wobei ein zunehmendes Altern des von der Wachstumszone nach basal wandernden Materials eine entsprechende Abnahme des Regenerationsvermögens zur Folge hätte. Abgesehen davon, daß die basale Rumpfregeion durchaus J-Zellen und damit mögliche Blastembildner enthält und solche auch laufend von der Hydrorrhiza bezieht (Kap. E, 3 u. f.), spricht gegen eine solche Interpretation folgender zusätzlicher Versuch:

Wird der basalen Rumpfregeion eines erwachsenen Blastostyls nach Amputation des ganzen, oral gelegenen Körperteils allein das Köpfchen, dessen Zellen ebenfalls hochspezialisiert sind, wieder aufgepropft, so werden nun die fehlenden Regionen wieder ergänzt. Ohne aufgepropftes,

induktorhaltiges Gewebe wird der Rumpfstrest eingeschmolzen. *Allein* dem Alterungsgrad des Gewebes kann demzufolge die mangelnde Regenerationsfähigkeit nicht zur Last gelegt werden.

Hält man sich auch die Ergebnisse der Versuche zur Umstimmung regenerierender, erwachsener Nährpolypen vor Augen (D III, 4), so erscheint nach diesen Befunden der Schluß gerechtfertigt:

1. Dem Induktor kommt eine wichtige Rolle bei der Steuerung regenerativer Differenzierungsvorgänge zu. Regionen, die den Induktor nicht enthalten, sind zu keiner Regenerationsleistung fähig, weil ein entscheidender Realisator fehlt. Zwischen der Stärke des Induktionsvermögens, das einem Reststück noch zukommt, und dessen Regenerationsvermögen besteht also nicht eine zufällige, sondern eine kausale Beziehung.

2. Aus dem Tatbestand, daß die induktorfreie, aborale Region den abgeschnittenen Körperteil nicht zu regenerieren vermag, obwohl sie J-Zellen und damit mögliche Blastembildner enthält, folgt, daß die J-Zellen kein autonomes Differenzierungsvermögen besitzen, sondern bei ihrer zytologischen Modifikation zu somatischem Material eines induzierenden Auslösers bedürfen.

Auf Grund ihrer Versuche über das Regenerationsvermögen verschiedener Teilstücke der Meduse *Eleutheria dichotoma* kommt WELER-STOLT (1960) zu einem ähnlichen Schluß: „J-Zellen sind von einer Induktionswirkung bereits vorhandenen, differenzierten Gewebes abhängig.“

VI. Die Regulation der polaren Struktur durch Doppelbildungen bei experimenteller Störung

Auf den im vorigen Abschnitt erarbeiteten Ergebnissen lassen sich Versuche aufbauen, die als Probe für die gegebenen Deutungen dienen können und Aufschluß über die Normalbedeutung des Induktionsgradienten zu geben versprechen:

1. *Versuchsreihe*. Implantation von Gewebestücken aus der Stolonenplatte in verschiedene Höhenbereiche von Blastostylen:

Damit sollte festgestellt werden, a) ob der Induktor auf das Implantat einen Einfluß geltend machen kann, und sofern dies geschieht, b) ob sich der unterschiedliche Induktorgehalt der einzelnen Längszonen in einer unterschiedlichen morphogenetischen Wirksamkeit kundgibt.

Transplantationstechnik. Mit einer Glasnadel durchstach ich im gewählten Bereich den Polypen im ganzen Durchmesser und erweiterte die Stichwunde zu einem Schlitz. Um ein Widerlager beim Durchstich zu haben, sog ich das Wirtsköpfchen mit einer Mikropipette an und hielt es fest. Durch den Schlitz führte ich eine zweite mundbediente Mikropipette, saugte das Implantat oder das Köpfchen eines benachbarten Blastostyls neben der zuvor gesetzten Verletzung an und zog das Implantat in den Schlitz in der Wand des Polypen hinein. 3 min lang hielt ich möglichst ohne Erschütterung die Wundränder des Implantates und des Wirtes in Kontakt. Diese Zeit genügt zu einem ersten Verwachsen.

1. Doppelbildungen bei Blastostylen

Resultate. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe, die insgesamt über 50 Einzelfälle umfaßt, sind in den schematischen Abb. 26a—h wiedergegeben. Zusammengefaßt ergab sich: Die Transplantationen führen regelmäßig zu Doppelbildungen, indem sich zwischen Implantationsstelle und Implantat eine Zweitbildung schiebt. Nur in der basalen Rumpfreigion bleibt ein Implantat ohne Effekt. Die Länge wie auch die morphologische und histologische Ausgestaltung der Zweitbildung wird vom Einpflanzungsort bestimmt. Das Indukt differenziert in natürlicher Anordnung alle diejenigen Regionen, die normalerweise von der Implantationsstelle an in basaler Richtung bis zur Stolonenplatte auftreten (Abb. 26a—e). Wird das Stolonenplattengewebe an das Köpfchen gepflanzt, so entwickelt das Indukt alle unterhalb des Köpfchens gelegenen Zonen (Abb. 26a und Abb. 27, sieben Fälle). Es entstehen Doppelpolypen, wobei beiden Einzelpolypen das Köpfchen des Wirtes gemeinsam zu eigen wird. Obwohl der Zweitpolyp nur durch einen engen Halsteil Nahrung beziehen kann, wird er regelmäßig geschlechtsreif, ein Hinweis, daß der Eintritt der Geschlechtsreife nicht allein vom Ernährungszustand des Polypen bestimmt wird.

Die Abb. 26 und 27 zeigen Versuche, bei denen Implantatspender und Wirt verschiedenen Geschlechts waren. Auf die Geschlechtsdifferenzierung der so erzielten Sexualchimären wird später eingegangen werden.

Wird das Wirtsköpfchen in der Längsrichtung aufgespalten und das Implantat in den Zwischenspalt eingezwängt, so wächst der Zweitpolyp mit inverser Polarität senkrecht in die Höhe. Die Spalthälften regenerieren zu ganzen Köpfchen, die später wieder zu einem einheitlichen verschmelzen. Die Längsgliederung des Indukttes ist auch in diesem Fall völlig normal (Abb. 26e, drei Fälle).

Ein dem Halsbereich angesetztes Stolonenplattengewebe löst Zweitbildungen aus, die alle unterhalb der Halsregion liegenden Zonen: Keimzone, Gonophorensprossungszone und basale Rumpfreigion entwickeln. Eine Gonophorenzone fällt in diesen Fällen meist aus, weil das Implantat durch den basalwärts strömenden Materialfluß in die Gonophorenzone selbst abgedrängt wird, bevor der Zweitrumpf auswächst. Nur in zwei Fällen gelangten einzelne, von der Sprossungszone abwärts wandernde Gonophore in das seitliche Rumpfstück und reiften dort heran.

In der basalen Rumpfreigion eines Blastostyls, die unmittelbaren Kontakt mit der Stolonenplatte hat, bleibt ein lateral eingesetztes Stolonenplattenstück ohne Effekt. Das Implantat wird langsam basalwärts getragen und erreicht, meist erst nach einigen Wochen, die Stolonenplatte, mit der es jedoch nicht verschmilzt.

Einige, in den Abb. 26f—h dargestellte, bemerkenswerte Sonderfälle sind noch zu erwähnen:

In zwei Fällen trat unterhalb des Implantates aus dem Hals des Wirtes ein zweites Köpfchen heraus (Abb. 26g). Im weiteren Verlauf spaltete sich der Mutterpolyp von oral nach basal fortschreitend, bis das Implantat in die Nachbarschaft der Basalregion gelangt war. Während des Abwanderns schob sich zwischen

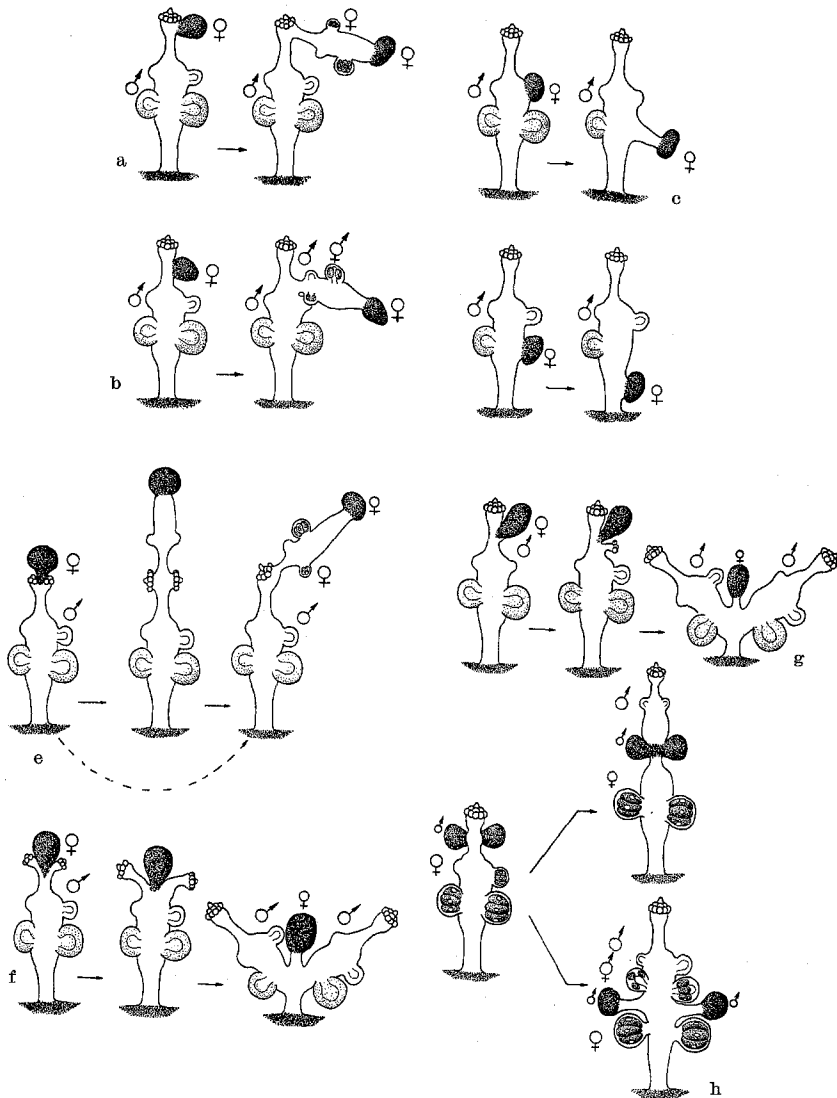


Abb. 26 a—h. Doppelbildungen bei Blastostylen. Zweitbildung durch transplantiertes Stolonensplattstück ausgelöst (a, b, c, e); d Implantat bleibt ohne Effekt. Wirt und Spender verschiedenen Geschlechts. f Wirtsblastostyl spaltet sich auf. g Unterhalb des Implantats erscheint ein zweites Köpfchen. Anschließend Spaltung des Wirtsblastostyls. h Implantat durch den Hals hindurchgezogen; oben: Hals trennt sich, zwischen Implantat und Wirtsköpfchen schiebt sich ein neuer Rumpf ein; unten: Implantat trennt sich. Es entstehen zwei Zweitbildungen

Implantat und Wirt ein kurzes Rumpfstück mit den histologischen Merkmalen einer Basalregion ein.

Das Auftreten des Zweitköpfchens dürfte eine Folge der Operationstechnik gewesen sein. Das Implantat, das ich in den schräg von außen-oben nach innen-unten geführten Schnitt einzwängte, verhinderte den Zusammenschluß der Wundränder ähnlich wie ein Fremdkörper. Schrägschnitte führen auch bei Hydren und Planarien, sofern ein Schluß des Spaltes verhindert wird, zu Doppelbildungen.

Eine Aufspaltung eines Gonozoids mit demselben Endergebnis läßt sich auch erreichen, wenn von oral her ein Längsschnitt bis in die Halsregion geführt wird und zwischen die Spalthälften ein Stolonplattenstück eingeschoben wird (Abb. 26f). Die regulativen Vorgänge, die zu dieser Aufspaltung führen, lassen sich teilweise als Folge des normalen Wachstums erklären: Das von der Meristemzone oralwärts abgegebene Zellmaterial wird in zwei Bahnen in Richtung der beiden Kopfhälften gelenkt. Im weiteren Verlauf teilt sich die Wachstumszone und schiebt sich oral vom Implantat weg. Dies ist der entscheidende Schritt, der die Spaltung des Polypen einleitet. Die fortwährende Zellresorption in der Basalregion hat ein beständiges Kürzerwerden des ungeteilten Rumpfteiles zur Folge. Der Nachschub geht nun aber von zwei getrennten Quellen aus. Die Verdoppelung des Zooids ist daher notwendige Folge der Teilung der Bildungszone.

Aufschlußreich ist eine weitere Variation der Experimente: In etwa 15 Fällen zog ich das Implantat durch beide Schlitze quer durch die Halszone hindurch (Abb. 26h). Die Versuche führen zu unterschiedlichen Ergebnissen:

Wird das Implantatgewebe im Gastralraum aufgelöst und dadurch in zwei Teile geteilt, so wachsen auf beiden Seiten Zweitbildungen aus. Trennt sich dagegen der Polyp selbst an der Implantationsstelle durch, so regeneriert der orale Teil, der dem Stolonplattenmaterial in normaler polarer Ausrichtung aufsitzt, zu einem ganzen Polypen; der untere Teil, der zwischen zwei „Basalpole“ eingelagert ist, vermag nicht weiterzuwachsen, auch wenn er die meristematische Wachstumszone trägt. Die Geschlechtsprodukte der Gonophore reifen heran; neue Gonophore werden nicht mehr gebildet. Da der Prozeß der Materialresorption in der Basalregion fortschreitet, von apikal aber kein Material nachgeliefert wird, verkürzt sich das Stück mehr und mehr und verschwindet schließlich ganz.

Das Auswachsen einer Zweitbildung wird durch die Induktions-Reaktions-Wechselbeziehung zwischen dem Wirtsgewebe und dem Implantat ermöglicht.

Deutlich wird diese Wechselbeziehung, wenn das Stolonplattenmaterial an das Köpfchen angepflanzt wird. Zwischen dem Implantat und dem Köpfchen entwickelt sich eine blasenförmige Auftreibung, die zum Zweitpolypen auswächst (Abb. 27). Die Blase gleicht einer normalen Blastostylknospe. Ob die ersten meristematischen Zellen dem Implantat oder dem Köpfchen entstammen, der Zweitpolyp demzufolge als Bildung des Köpfchens oder des Implantates anzusprechen ist, konnte ich nicht klären. Deshalb ist es im Einzelfall auch nicht möglich, die Begriffe „Induktor“ und „reagierendes Gewebe“ alternativ auf das Implantat oder auf den Wirtsblastostyl anzuwenden.

Die Entwicklung des Zweitpolypen ist durchaus mit dem Vorgang vergleichbar, der sich bei der „Regeneration“ eines in die Stolonplatte (oder Einzelstolone) implantierten Blastostylköpfchens abspielt. Zwischen das Köpfchen und das Stolonplattengewebe schiebt sich in beiden Fällen der fehlende Polypenrumpf ein.

Das Auswachsen der Zweitbildung unterhalb der Wachstumszone, wo die Induktionsfähigkeit des Gewebes stark abnimmt, wird unterstützt von dem basalwärts fließenden Materialstrom. Dieser wird zum Implantat hin abgelenkt, das Implantat selbst weggeschoben. Soweit ich nach meinen zahlreichen Beobachtungen beurteilen kann, entstammt das Zellmaterial des Induktes weitgehend, wenn nicht ausschließlich, der Bildungszone des Wirtes. Diese deckt auch den laufenden Bedarf, der sich aus dem fortwährenden Materialverschleiß ergibt.

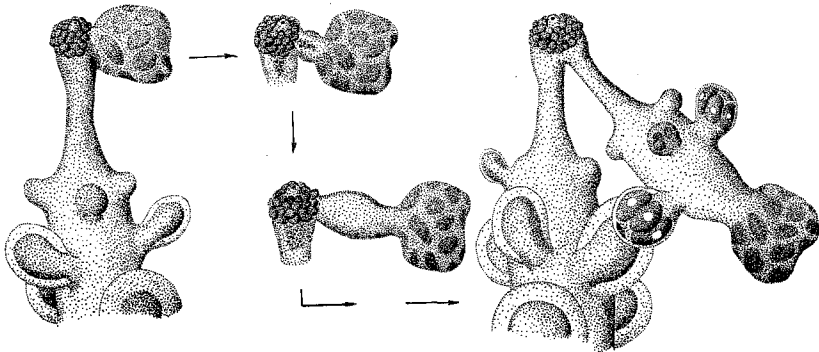


Abb. 27. Entwicklung eines Zweitpolypen, ausgelöst durch Übertragung von Stolonplattenmaterial auf das Köpfchen. Wirt ♂; Implantat genetisch ♀; Zweitpolyp ♀

Die Stolonplatte repräsentiert den „Basalpol“ des Polypen. Durch die Implantation von Stolonplattengewebe wird demgemäß den Gonozooiden lateral ein zusätzlicher „Basalpol“ angeheftet und damit die normale Polarität gestört. Die Zweitbildungen führen, indem sie das Implantat in eine seinem Herkunftsort gemäße Distanz vom Einpflanzort bringen und die fehlenden Zwischenstrukturen ausbilden, wieder eine normale Steilheit des polaren Gefälles herbei.

Der Frage, ob sich analoge Regulationsbildungen auch nach Aufpropfen eines Köpfchens, das den „Oralpol“ darstellt, entfalten, dienen die nachfolgenden Versuche:

2. *Versuchsreihe.* Anpropfen zusätzlicher Blastostylköpfchen mit normaler und inverser Polarität.

Bei invers polar angewachsenen Köpfchen sollte die mögliche Induktionswirkung deutlicher zur Geltung kommen als bei normal aufgepropften Köpfchen.

Um eine eventuelle Polaritätsumkehr durch Umorganisation zu verhindern, wurden dabei nicht isolierte Köpfchen aufgepropft, sondern Parabiosen hergestellt: Ein Nachbarblastostyl wurde herbeigebogen und sein Köpfchen mit der Proboscis an der Rumpfwand des gewählten Blastostyls angeheftet. Solche Parabiosen herzustellen ist recht schwierig. Da Gewebestücke nur miteinander verwachsen, wenn Entodermbereiche beider Partner zusammentreffen, mußte die kleine, an ihrer

Basis ca. 20—30 μ breite Proboscis zur Freilegung von Entoderm größtenteils zerstört werden. Die Zugwirkung des abgebogenen Blastostyls reißt ein zunächst angewachsenes Köpfchen meist wieder los. Das Verhältnis der Anzahl nach Wunsch gelungener zur Zahl unbefriedigt ausgefallener oder gänzlich mißglückter Versuche konnte ich über den Wert von etwa 1:20 nicht verbessern.

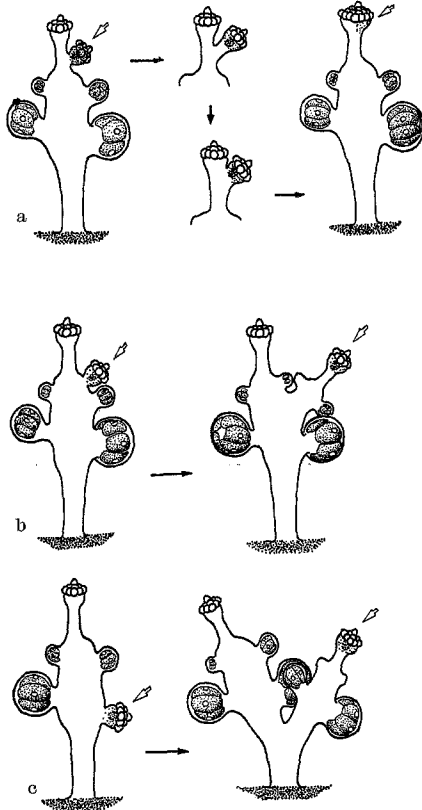


Abb. 28. Doppelbildungen. Zweitbildungen (b und c) durch implantierte Köpfchen ausgelöst. a Spenderköpfchen vereinigt sich mit dem Wirtsköpfchen

Resultate (Abb. 28, 29). Sowohl in normaler polarer Lage aufgepropfte als auch heteropolar mit dem Wirtsrumpf in Kontakt stehende Blastostylköpfchen lösen Zweitbildungen aus. Entsprechend der polaren Struktur des auslösenden Gewebes entwickelt die Zweitbildung alle zwischen dem Einpflanzort und dem zusätzlichen „Orapol“ fehlenden Bereiche. Oberhalb der Bildungszone vermag erwartungsgemäß ein Fremdköpfchen keinen erkennbaren Einfluß mehr geltend zu machen. Es wird von dem orad gerichteten Materialstrom zum Wirtsköpfchen hochgetragen. Hier nun gibt sich — es ist dies der einzige beobachtete Fall — eine Tendenz zur Wiederherstellung eines einheitlichen Blastostyls kund: Das Fremdköpfchen verschmilzt mit dem Wirtsköpfchen.

Ihr Material bezieht die Zweitbildung von einer Bildungszone, die sich unter-

halb des aufgepropften Spenderköpfchens aufbaut. Die Geschwindigkeit, mit der das Indukt auswächst, hängt vom Mengenverhältnis der von dieser Bildungszone produzierten zur basal resorbierten Substanz ab. Bis eine symmetrische Gestalt des gegabelten Zooids erreicht ist, kann eine Zeit von 3 Wochen und mehr verstreichen.

Das Differenzierungsgeschehen in der Zweitbildung wird vom induktiven Einfluß des Fremdköpfchens mitbestimmt. Dies läßt sich bei den Versuchen mit heteropolar angewachsenen Köpfchen am Verlauf der

Gestaltungsvorgänge ablesen: Die zeitliche und räumliche Differenzierungsfolge beginnt in der unmittelbaren Kontaktzone. Zuerst erscheint eine Proboscis, die mit der vom Fremdköpfchen regenerierten Proboscis eine gemeinsame Mundöffnung hat; gleichzeitig erscheinen Nessel-

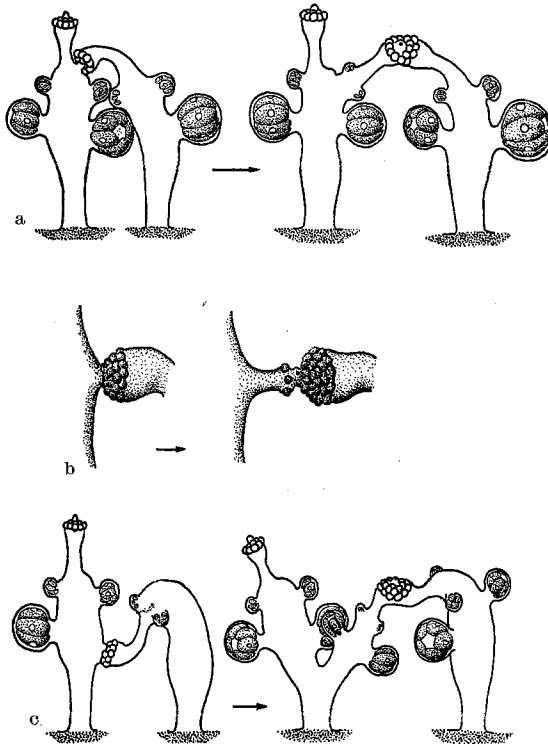


Abb. 29. Doppelbildungen. Zweitbildungen durch das invers angewachsene Köpfchen eines Nachbarblastostyls ausgelöst. b Ausschnitt, den Beginn des Auswachsens zeigend

knöpfchen. Die nachfolgend auftretende Keimzone und die Gonophorensprossungszone sind Produkte einer inzwischen tätig gewordenen Bildungszone.

2. Doppelbildungen bei Nährpolypen

Nährpolypen sind für gleichartige Untersuchungen weit weniger geeignet. Ihre morphologische und zytologische Gliederung ist weniger differenziert; ihr Regenerationsvermögen ist geringer. Der Stolonenplatte eingepflanzte Peristomstücke werden regelmäßig eingeschmolzen. Der Materialstrom von der Bildungszone zu den terminalen Verbrauchszentren fließt sehr träge und ist nicht durch natürliche Marken, wie sie die Gonophore der Blastostyle darstellen, verfolgbare. Das Vorhanden-

sein einer Induktionsfähigkeit des Peristoms kann im Umstimmungsversuch nicht geprüft werden, da prospektive Blastostylknospen als solche nicht mit Sicherheit zu erkennen sind, während das präsumptive Schicksal der Polypenknospen auf Einzelstolonen feststeht. Die ebenfalls vorhandene Induktionsfähigkeit des Peristombereiches läßt sich nur aus den Versuchen zur Erzeugung von Zweitbildungen erschließen. Diese lassen sich wie bei Blastostylen auslösen (Abb. 30). In den Grund-

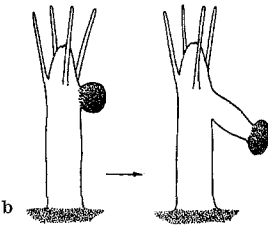
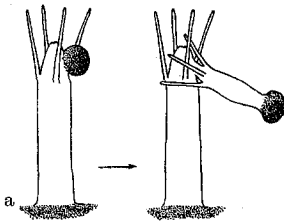


Abb. 30

Abb. 30. Doppelbildungen bei Nährpolypen. Zweitbildung durch Stolonenplattenmaterial ausgelöst

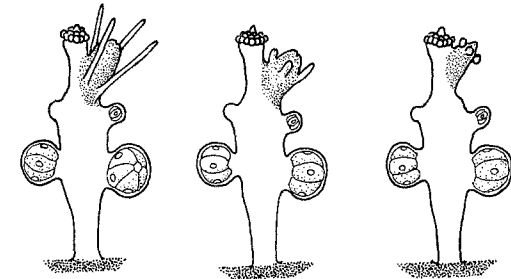


Abb. 31

Abb. 31. Umstimmung eines aufgepfropften Nährpolypenperistoms

den Versuchen zur Umstimmung von Nährpolypenknospen hervor; noch eindeutiger zeigt dies folgendes Experiment:

Ich pflanzte Blastostylen im Übergangsbereich von Hals und Rumpf ein Nährpolypenperistom auf. In 6 von 10 Fällen wurden die erzeugten Chimären restlos eingeschmolzen. In vier Fällen verwandelte sich das Peristom in ein Blastostylköpfchen, das zum wirtseigenen hochwanderte und sich mit ihm vereinigte (Abb. 31). In weiteren Versuchen schnitt ich, nachdem das Nährpolypenperistom angewachsen war, das Köpfchen des Wirtsblastostyls ab. Stets regenerierte der Wirt ein Blastostylköpfchen. Ein Einfluß des Implantates ließ sich nur an der verzögerten Regenerationsgeschwindigkeit wahrnehmen. Die Regenerationsdauer erstreckte sich auf eine Zeit bis zu 14 Tagen. Im Normalfalle beträgt sie 2—3 Tage.

Bei Chimären unterliegt der gastrozoidhafte Teil, sofern der heterogene Doppelpolyp nicht resorbiert wird, meist dem blastostyloiden Partner. Der umgekehrte Fall trat nicht ein.

Von weiteren Versuchen sei abschließend noch folgender kurz erwähnt:

Ich ließ Köpfcchen seitwärts abgebogener Blastostyle heteropolar an der Rumpfwand benachbarter Nährpolypen anwachsen. Bei vier gelungenen Verwachsungen wurde in drei Fällen das angewachsene Köpfcchen vom Nährpolypen resorbiert. In einem Fall entwickelte sich am Wirtsrumpf eine blastostyloide Zweitbildung. Die entstandene Chimäre wurde später eingeschmolzen.

VII. Diskussion der Ergebnisse (Kap. D IV—V)

Die aus den bisherigen Analysen gewonnenen Befunde erlauben es, die mögliche Normalbedeutung des Induktionsgradienten zu diskutieren. Einige einschlägige Ergebnisse aus vorangegangenen Kapiteln (C III, D III) seien hier zusammengefaßt:

1. Die Determination von Polypenknospen zu Geschlechtspolypen vollzieht sich unter dem Einfluß eines im Scheitelbereich der Knospe wirksam werdenden „Organisators“. Dieser bleibt während der gesamten Lebensdauer des Polypen in der oberen Region (Köpfchen und Hals) zugegen. Er besitzt im Experiment die Fähigkeit zur Induktion, die es erlaubt, seine bleibende Wirksamkeit nachzuweisen.

2. Der Induktor vermag die Ausbildung nicht nur der Struktur seines Herkunftsbereiches zu steuern, sondern kann den gesamten Komplex der Differenzierungsprozesse auflösen, welche die normale Zonengliederung des Blastostyls verwirklichen.

3. Von der interkalaren Bildungszone bewegt sich beständig proliferiertes Zellmaterial beiden Polen der Körperachse zu, wo es sukzessive resorbiert wird. Dabei durchläuft das Zellmaterial verschiedene Längszonen, die durch besondere morphologische und funktionelle Eigenheiten charakterisiert sind und in weitgehend konstanten räumlichen Verhältnissen zueinander stehen. Indem jede Zelle nacheinander verschiedene, den einzelnen Längsabschnitten entsprechende Differenzierungszustände annimmt, bleibt eine konstante, polare Gliederung des Polypen gewahrt.

Ob allerdings jede Zelle nacheinander *jede* Differenzierungsform verwirklicht, die in dem von ihr durchwanderten Bereich vorkommt, wie dies BURNETT bei Hydra für erwiesen hält, erscheint mir bei den Blastostylen von *Hydractinia* fraglich. Bei diesen nehmen zunächst alle Deszendenten beim Eintritt in die Keimzone gleichartige morphologische Eigenschaften an. (Sie verkürzen sich; in ihrem Plasma treten Vakuolen auf; ihr Kern verliert an Basophilie.) Die Zellen, die damit den ersten Formwechsel durchgemacht haben, dürften im Bereich der Keimzone als Nährstofflieferanten für die Keimzellen dienen. Es ist denkbar, daß im weiteren Verlauf der Wanderung die einzelnen Zellen sich alternativ zu phagozytären Nähr-(Freß-)Zellen oder zu Drüsenzellen differenzieren, nicht aber nacheinander beide Funktionen erfüllen.

Wie läßt sich an Hand der Befunde über die Parallelität von Induktions- und Regenerationsfähigkeit und der Befunde über die Doppel-

bildungen die Normalbedeutung des Induktionsgradienten interpretieren?

Eine konstante polare Zonengliederung trotz der beständigen Wanderung des Gewebematerials könnte auf folgende zwei Weisen aufrechterhalten werden:

1. Es ist denkbar, die Deszendenten änderten in einer bestimmten Zeitfolge endogen ihre Differenzierungsform, etwa im Zuge eines in der Dauer der einzelnen Phasen festgelegten Alterungsprozesses. Die konstante Proportionierung der Längsregionen wäre damit mittels einer intrazellulären, den synchronen und rechtzeitigen Differenzierungswechsel bestimmenden „physiologischen Uhr“ gewährleistet. Die Stärke der Zellproliferation und die Geschwindigkeit des Materialstromes wechseln nun aber stark je nach den Wachstumsbedingungen. Sollte diese Deutung zutreffen, so müßte demnach die Länge der einzelnen Zonen, insbesondere die Länge der Abschnitte in der unmittelbaren Nachbarschaft der Bildungszone, von der Geschwindigkeit der Materialbewegung abhängen. In der Tat trifft dies für die Gonophorenregion zu. Bei einem raschen Anstieg der Produktion neuen Zellmaterials und neuer Gonophore verlängert sich diese Region, da die Reifezeit der Geschlechtsprodukte sich nicht entsprechend verkürzt und demzufolge nicht so viele Gonophore platzen, wie neue entstehen. Auch die basale Rumpfreion kann sich — in engen Grenzen — verlängern und verkürzen, wenn die Schwankungen zwischen Stagnation und Proliferation langzeitig und die Amplituden groß sind. Demgegenüber bleiben alle oralwärts der Gonophorenregion befindlichen Zonen (Gonophoren-Sprossungszone bis Köpfchen) bei erwachsenen Zooiden in ihrer Länge konstant. Gerade hier aber müßte sich, sofern der Differenzierungswechsel allein einem konstanten Zeitplan folgte, die Geschwindigkeit der Materialbewegung in der Länge der Zonen auswirken.

Weiter ist zu bedenken: Die unterschiedliche Differenzierung des orad und des aborad wandernden Zellmaterials kann selbstverständlich nicht in einem intrazellulären Zeitplan begründet sein. Hierfür müssen polar gerichtete, determinierende Faktoren verantwortlich sein.

2. Als Alternative (oder als einen zusätzlichen, regulierenden Faktor) läßt sich im einfachsten Fall ein Gradient vorstellen, der unabhängig von der Geschwindigkeit der Materialbewegung von Pol zu Pol zieht und der Realisatoreigenschaften besitzt und die wandernden Deszendenten je nach ihrer Entfernung vom Gradientenmaximum verschieden modifiziert.

Da nun der Induktor den Charakter eines polaren Gefällgradienten hat und zugleich Realisator der spezifischen Merkmale eines Geschlechtspolyphen ist, liegt es nahe, ihm eine entscheidende Rolle innerhalb der Faktoren, welche die Körpergrundgestalt wahren, zuzuschreiben.

Die Stichhaltigkeit dieser Hypothese kann nur in weiteren Experimenten geprüft werden. Ihre vorläufige Annahme rechtfertigt sich aus ihrer Brauchbarkeit zur Erklärung der beobachteten Phänomene. Alle experimentellen Befunde ließen sich als Folge einer Induktions- und Reaktionswechselbeziehung und der quantitativ abfallenden Wirksamkeit des Induktors verständlich machen. Danach ergäbe sich folgendes Bild:

1. Die regional unterschiedliche Zelldifferenzierung wird durch den regional verschiedenen Induktorgehalt bestimmt. Eine hohe Induktorkonzentration löst eine orale Differenzierungstendenz aus, eine niedrige Konzentration bewirkt eine basale Differenzierungstendenz.

Leider war es bisher auf Grund der erwähnten experimentellen Schwierigkeiten nicht möglich, innerhalb der oberen Polypenregion (Köpfchen bis Keimzone) gesicherte Unterschiede in der Induktionsfähigkeit festzustellen, so daß die genaue Lage des Gradientenmaximums noch unbekannt ist.

2. Experimentelle Störung des normalen Gradientengefälles führt zu regulativen Vorgängen, welche die normale Abstufung wiederherstellen. Gewebe mit hohem Induktorgehalt in unmittelbarem Kontakt mit induktorarmem oder induktorfremem Gewebe gebracht, erzeugt ein unphysiologisch steiles Gefälle. Durch das Dazwischenschalten des fehlenden Körperstückes werden wieder stabile Verhältnisse erreicht. In diesem Sinne ist die Induktion einer Zweitbildung und die Induktion einer Knospenentwicklung, wie sie durch Implantation induktionsfähiger Gewebestücke in die Stolonenplatte erzielt werden kann, zu verstehen. Eine Induktionswirkung läßt sich stets dann erzielen, wenn zwei bezüglich ihres Induktorgehaltes gegensätzliche Gewebesorten miteinander in Kontakt gebracht werden.

3. Die Differenzierungsprozesse in der Zweitbildung werden von der am Implantationsort herrschenden Induktorkonzentration bestimmt. Das Indukt entwickelt um so mehr orale Strukturen, je höher, um so weniger, je tiefer das Stolonenplattengewebe dem Wirt aufgepfropft wird. Der Gradient setzt sich vom Implantationsort im Indukt fort und garantiert dadurch eine normale, polar gerichtete Reihenfolge der Zonen. Die Regulation der gestörten polaren Struktur erfordert kein Regulationssystem, das Glieder und Faktoren enthielte, die nicht auch im normalen Wachstums- und Differenzierungsgeschehen eine Rolle spielen.

4. Die Regenerationsfähigkeit amputierter Blastostyle hängt unter anderem von der Stärke des im Restkörper enthaltenen Induktors ab. Die basale Polypenregion enthält den Auslöser der oralen Differenzierungstendenz in zu geringem Maße, um zu einer guten Regenerationsleistung fähig zu sein.

In einem mir nach Abschluß dieser Arbeit im Text zur Hand gekommenen Vortrag schreibt BURNETT (1962) bei Hydra die Wahrung der Körpergrundgestalt zwei Faktoren zu: Einem Hemmfaktor, der von der Wachstumszone oral und aboral diffundiert und in deren Nachbarschaft die Zellteilung hemmt, und einem antagonistischen Stoff, der im Hypostom produziert wird, die Zellteilung fördert, Induktoreigenschaften besitzt und basalwärts diffundiert. In seinen Effekten gleicht also dieser Stoff weitgehend dem hier beschriebenen Induktor. Das jeweilige Verhältnis beider Stoffe zueinander soll die spezifische Eigenschaft einer Längszone bestimmen.

E. Versuche zur Frage der Geschlechtschimären

Bei einem Chimärenstock, der durch Verwachsen mehrerer Primärpolypen entstanden war und aus einem Areal mit rein weiblichen und einem Areal mit rein männlichen Blastostylen bestand, fand C. HAUENSCHILD im Grenzbereich beider Areale einen intersexen Blastostyl. Dieser erzeugte wie die Geschlechtszooide von Klonen, deren intersexer Charakter auf ihrer besonderen genetischen Konstitution beruht (HAUENSCHILD 1954), neben Sperma auch unreife Oozyten, stellte deren Produktion jedoch bald ein und lieferte nur noch rein männliche Gonophore. Diese Beobachtung war ihm Anlaß zu dem Versuch, durch paarweise Kombination isolierter Polypen verschiedengeschlechtlicher Klone experimentell Geschlechtschimären zu erzeugen. Die herangewachsenen Stöcke wurden jedoch rein eingeschlechtlich reif. Ich wiederholte die Versuche mit eigenen Zuchtklonen und erhielt demgegenüber neben eingeschlechtlichen Stöcken auch solche, die beide Geschlechter in verschiedenen Bezirken verwirklichten und entlang der Grenzlinie beider gegengeschlechtlicher Bereiche intersexu Blastostyle entwickelten.

Es galt nun die Frage zu klären, warum aus einem männlichen und aus einem weiblichen Ableger hervorgegangene Stöcke oft nur ein Geschlecht verwirklichten und weshalb sich bei Sexualchimären die Blastostyle entlang der Grenzlinie beider Partner wie genetische Intersexu verhielten. Lag in diesen Fällen ein echter Geschlechtsumschlag, d. h. eine Umdetermination des Geschlechtes des einen Partners durch den Einfluß des anderen vor?

Geschlechtsumkehr des einen Partners bei experimentell erzeugten Geschlechtschimären ist bei Hydrozoen schon des öfteren beobachtet worden und hat Anlaß zu der Annahme modifikatorischer Geschlechtsbestimmung bei den betreffenden Versuchstieren gegeben (GOETSCH 1927, WIESE 1953, PIRARD 1961). Alle diese Befunde erlauben aber insofern keinen sicheren Rückschluß auf die Natur der Geschlechtsbestimmung, als stets die Möglichkeit bestand, daß wandernde Geschlechtszellen oder J-Zellen des einen Chimärenpartners das Gewebe des anderen Partners durchsetzt und dessen Geschlechtszellen an der Weiterentwicklung gehemmt haben könnten. Eine solche Möglichkeit ist von HAUENSCHILD zwar in Betracht gezogen, bislang jedoch noch von keinem Autor experimentell und systematisch untersucht worden.

I. Voruntersuchungen

1. Versuche zur Gewebeverträglichkeit

Die interklonale Gewebeverträglichkeit ist definiert als die Fähigkeit zweier Klone, bei Berührung dauerhaft miteinander zu verwachsen. Der Gewebecharakter eines Klons ist zumindest bis zum Eintritt der Geschlechtsreife konstant. Er wird in gesetzesmäßiger Weise vererbt (HAUENSCHILD 1954/1956). Nach HAUENSCHILDS Beobachtungen schlug in einzelnen Fällen bei geschlechtsreif werdenden Chimären die Gewebeverträglichkeit der Partner in eine Unverträglichkeit um, und beide Gewebesorten trennten sich wieder voneinander.

Um für die geplanten Versuche geeignete Klombinationen bereit zu haben, führte ich 60 Gewebeverträglichkeitstests zwischen ♂ und ♀ Klonen durch. 60 weitere Tests zwischen gleichgeschlechtlichen Partnern zeigten, daß das Verhältnis positiver zu negativer Verträglichkeit bei gegen- und gleichgeschlechtlichen Kombinationen etwa das gleiche ist (gegengeschlechtlich: 19 + zu 42—; gleichgeschlechtlich: 22 + zu 38—).

Bei diesen Tests konnte ich einige Beobachtungen machen, die zur Frage des Geschlechtsumschlages bedeutsam sind:

a) Kombination gewebeunverträglicher Partner.

Im Grenzbereich beider Partner entwickeln sich, wie bereits HAUENSCHILD beschreibt, wirre Stolonenknäuel. Die Stolone schwellen an und umschlingen sich gegenseitig. Bei zahlreichen, über einen Zeitraum von 4—8 Wochen beobachteten Kombinationen konnte ich feststellen, wie nach einiger Zeit einer der beiden Partner seine Polypen nach und nach einschmolz und schließlich abstarb. Dies geschah regelmäßig dann, wenn es dem Gegner gelungen war, seine Stolone durch die Barriere der Knäuel hindurch auf die Stolonenplatte dieses Stockes zu schieben. Im Umkreis um die eingedrungenen Stolone zogen die stockeigenen Polypen ihre Tentakeln ein, schrumpften und verschwanden. Schließlich begann sich die Stolonenplatte selbst aufzulösen (Abb. 32). Offenbar geht von den Fremdstolonen eine toxische Wirkung aus, die das Absterben des Partners zur Folge hat.

Im Watt bei List/Sylt fand ich mehrere, von zwei Stöcken bewachsene Buccinumgehäuse. Die Grenzlinie zwischen beiden Stöcken war durch eine Zone von Stolonenknäueln gekennzeichnet. Zu beiden Seiten dieser Zone verlief ein ca. $\frac{1}{2}$ cm breites, polypenfreies Areal.

Die Bildung der Stolonenknäuel steht zweifellos mit der Gewebeunverträglichkeit in ursächlichem Zusammenhang. Darauf hin weist folgender Versuch: Mit dem Stock ♀ W, der schon seit 18 Monaten keine Einzelstolone außerhalb der Stolonenplatte mehr besaß, brachte ich einen Ableger des mit ihm unverträglichen Klons ♂ 2 in Kontakt. Die Stolone des ♂ 2 drangen in die Stolonenplatte des ♀ W ein und begannen, sie aufzulösen (Abb. 32). Als Reaktion ließ ♀ W nun selbst Stolone auswachsen, die sich mit den Stolonen von ♂ 2 zu einem

Stolonenknäuel umschlangen (Abb. 33). Als ich daraufhin das Gewebe des ♂ 2 entfernte, zog auch ♀ W seine Stolone wieder zurück. Diesen Vorgang löste ich noch zweimal mit demselben Ergebnis aus.

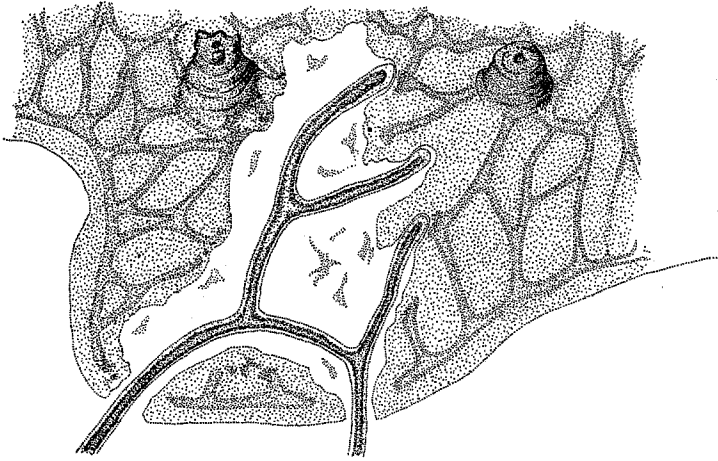


Abb. 32. Eindringender Fremdstolo (♂ 2) löst die Stolonenplatte (♀ W) auf. (♀ W mit ♂ 2 gewebeunverträglich)

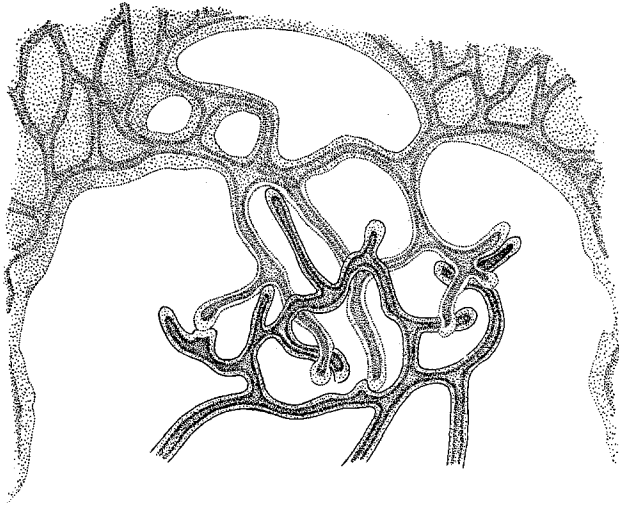


Abb. 33. Gegenreaktion. Stolonenplatte (♀ W) läßt Stolone auswachsen, die sich mit den Fremdstolonen (♂ 2) zu einem Knäuel umschlingen

Nicht selten formiert sich im Randbereich der Stolonenplatte, noch bevor es zu einer Auflösung des Gewebes kommt, um den eingedrungenen Fremdstolo ein Meristem (Abb. 34), und es kommt zu Wucherungen.

In diesem Falle kann es viele Wochen dauern, bis ein Kombinationspartner endgültig die Oberhand behält und der andere abstirbt.

Möglicherweise veranlaßt das Spitzenmeristem des Fremdstolos unmittelbar auf dem Wege einer Induktionswirkung das Gewebe des mit ihm unverträglichen Partners zur Wiederaufnahme der Teilungsfähigkeit, so wie dies im Normalfalle und im Falle interklonaler Gewebeverträglichkeit geschieht. Die Wucherungen

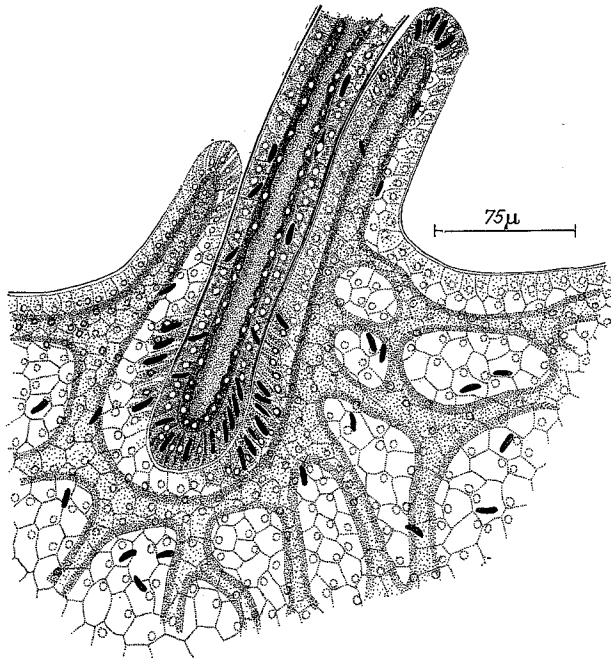


Abb. 34. Um den eingedrungenen Fremdstolo entwickelt sich ein Randmeristem (dichte Zellgruppen mit eingewanderten Cndozoiten). Die Stolonenplatte läßt zwei Stolone auswachsen

wären dann nicht einer spezifischen Wirkung des Fremdgewebes zuzuschreiben, sondern lediglich das Ergebnis der Unfähigkeit beider Meristeme, miteinander zu verschmelzen.

b) Grenzreaktionen

Die Beobachtung, daß die heterogenen Teile einer Chimäre sich bei Eintritt der Geschlechtsreife wieder trennen können, wobei der schwächere Partner anschließend vom stärkeren schrittweise aufgelöst werden kann, stellt an den Experimentator die Forderung, die Entwicklung einer Chimäre fortwährend zu verfolgen. Ein Geschlechtsumschlag könnte sonst leicht vorgetäuscht werden. In erhöhtem Maße gilt dies, wenn die Gewebeverträglichkeit nicht eindeutig als positiv oder negativ beurteilt werden kann, sondern eine Mittelstellung einnimmt. Eine Grenzreaktion ist dadurch charakterisiert, daß beide Gewebesorten an

den verschiedenen Berührungsstellen unterschiedlich aufeinander reagieren, teils miteinander verschmelzen, teils getrennt bleiben. Das Vordringen des einen Partners und das Zurückweichen des anderen ist in solchen Fällen weit weniger auffällig.

Mit dem Ziel, Sexualchimären zu erzeugen, hatte ich vier Kombinationen zwischen ♀ B und ♂ 2 angesetzt. Die Ableger dieser Klone hatte ich auf Glasstäben festwachsen lassen, beide Partner getrennt an den Enden des Stabes. Die

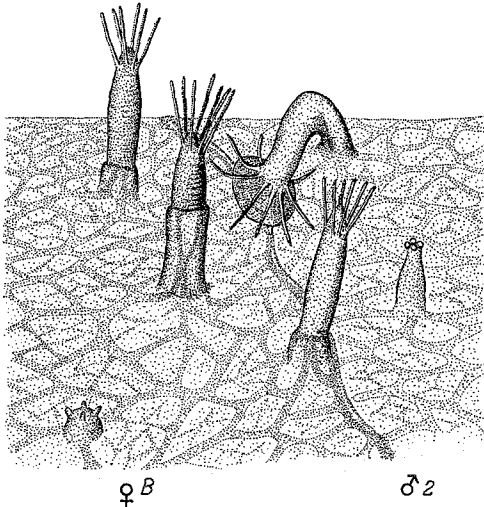


Abb. 35. Chimärischer Stock, dessen Partner (♀ B und ♂ 2) sich mit Ausnahme weniger Stellen wieder getrennt haben. Das Gewebe des linken Partners (♀ B) dringt vor und ersetzt das zurückweichende Gewebe des rechten Partners (♂ 2). Das Gewebe stehengebliebener Polypen von ♂ 2 wird durch emporschwachsendes Stolonenplattengewebe von ♀ B sukzessive aufgelöst. Grenzlinie zwischen beiden Gewebesorten durch Vitalfärbung sichtbar gemacht

Tochterstöcke schienen zu einem einheitlichen Stock verwachsen zu sein. Alle vermeintlichen Chimären erwiesen sich, als sie 2 Monate später zur Geschlechtsreife kamen, als rein weiblich. Ich wiederholte den Versuch mit vier weiteren Kombinationen, färbte zuvor den weiblichen Partner mit Eosin-Methylenblau an und verabreichte ihm fortlaufend gefärbtes Futter. Bei der täglichen Beobachtung fiel mir nun auf, wie sich nach einiger Zeit entlang der ursprünglichen Verwachsungslinie ein geschlossener Wulst erhob, der sich, obgleich er sehr

niedrig war, durch seine intensive Blaufärbung vom umgebenden Gewebe abhob (Abb. 35). Dieser Wulst wanderte in einer geschlossenen Front in das Gebiet des männlichen Stockes hinein, umwallte dessen Polypen, schob sich an den Polypenrumpfen hoch und kroch bis unterhalb der Tentakelkränze empor. Die Polypen begannen ihre Tentakeln einzuziehen; ihr Peristom schrumpfte zusammen; der Wall schloß sich über den Geweberesten des Peristoms. Die entstandenen sackförmigen Gebilde verkürzten sich mehr und mehr und verschwanden schließlich. Die verschwundenen Polypen wurden durch neue ersetzt, die hinter dem vorwandernden Wall an anderen Stellen aus der Stolonenplatte hervorsproßten.

Eine genauere Untersuchung dieser Vorgänge ergab folgendes Bild: Die Gewebesorten beider Partner hatten sich weitgehend, aber nicht vollständig, wieder gelöst. An einzelnen, wechselnden Stellen blieb eine Verbindung der Entodermkanäle gewahrt. Nahrungsbrei konnte stellenweise zwischen beiden Partnern ausgetauscht werden. Entlang der wieder aufgerissenen Grenzlinie entwickelten beide Stöcke ein Randmeristem. Das stärker wachsende Meristem des weiblichen Stockes schob sich über das Gewebe des männlichen Partners. Dessen überdecktes Gewebe löste sich fortschreitend auf. Die Nährpolypen der Umgebung neigten sich häufig zum Randwulst hin und breiteten ihr Peristom über das degenerierende Gewebe aus, ein Verhalten, das sie auch bei Verletzungen zeigen (Abb. 35). Der weibliche Stock verdrängte den männlichen schließlich vollends. Ein Geschlechtsumschlag kann somit bei der Kombination nicht voll gewebeverträglicher Klone dadurch vortäuscht werden, daß das Gewebe eines Partners vordringt und fortschreitend das Gewebe des anderen, zurückweichenden Partners ersetzt.

Alle weiteren Versuche führte ich deshalb mit der Klonkombination ♀ K + ♂ 22 durch, da sich diese Klone als zeitlebens uneingeschränkt gewebeverträglich erwiesen. Die Beschränkung auf Stöcke dieser Klone gab mir die Sicherheit, stets Partner mit gleicher Reaktionsnorm zur Hand zu haben.

2. Die Frühentwicklung der Keimzellen und der Gonophore

Die Entwicklung der Gonophore von *Hydractinia echinata* ist von mehreren Autoren untersucht und beschrieben worden (v. BENEDEN 1874, WEISMANN 1883, BUNTING 1894, GOETTE 1907, DELSMANN 1911, PLACE 1917, BERILL 1953, AVSET 1958). Keine Beschreibung eines dieser Autoren stimmt in allen wichtigen Punkten mit der eines anderen überein. AVSET gibt eine vergleichende Zusammenfassung der verschiedenen Ansichten und nimmt auf Grund eigener Untersuchungen zu diesen Ansichten Stellung. Meine eigenen, an mehreren 100 Schnitten gemachten Beobachtungen weichen wiederum von den Befunden AVSETS ab. Im Gegensatz zu den früheren Beschreibern verwandte ich eine Färbemethode, die im histologischen Präparat die Keimzellen deutlich elektiv heraushebt (PAPPENHEIMS panoptisches Gemisch). Möglicherweise ist allein die unterschiedliche Interpretation der mikroskopischen Bilder Grund der verschiedenartigen Beschreibungen. GOETTE und BERILL sprachen den Verdacht aus, die Divergenz der Beobachtungen könnte auf tatsächliche geographische Unterschiede innerhalb der Art zurückzuführen sein.

Es ist daher nötig, die Entwicklung der Gonophore kurz darzulegen, wie sie sich aus meinen eigenen Untersuchungen ergibt. Über die Frühentwicklung der Keimzellen und über deren Herkunftsort machen die einzelnen Autoren nur spärliche, ungenaue und widersprechende Angaben. J-Zellen, über die nach zahlreichen neueren Untersuchungen die Keimbahn der Hydroiden allgemein zu laufen scheint und aus denen die Keimzellen ohne Zwischenstufe hervorzugehen pflegen, werden nie

erwähnt. Versuche zur Sexualität können zweckvoll nur geplant werden, wenn die Normalentwicklung des Geschlechtes genau bekannt ist.

a) Die Frühentwicklung der Geschlechtszellen

Die Keimzellen entwickeln sich aus J-Zellen, die innerhalb der Keimzone aus dem Ektoderm durch die Stützlamelle hindurch ins Entoderm wandern. In diesem Bereich nimmt die Anzahl der J-Zellen im Ektoderm stark ab (s. Kap. E, 3). Im Entoderm dagegen ist dies die einzige Zone, in der J-Zellen regelmäßig und als solche deutlich erkennbar auftreten. Die J-Zellen nisten sich zwischen die Entodermzellen und halten Kontakt mit der Stützlamelle.

Im weiblichen Geschlecht sind die dicht unterhalb der Keimzone eingedrungenen J-Zellen — sie sind nur dort im Entoderm in geringer Zahl zu finden — in basaler Richtung durch laufende Übergänge mit den großen Oozyten verbunden, die schließlich in die Gonophore verfrachtet werden. Die größten Oozyten liegen im Zentrum der Gonophorenanlagen, die einfache Auswölbungen der Blastostylwand darstellen. Ihr Kerndurchmesser überschreitet häufig die dreifache Länge des Kerndurchmessers der im Ektoderm und dicht unterhalb der Wachstumszone befindlichen J-Zellen. Mitosen fand ich weder in den eingewanderten J-Zellen noch in denen aus ihnen hervorgehenden, weiblichen Geschlechtszellen. Ich nehme an, die eingewanderten J-Zellen wachsen, während sie mit dem übrigen Zellmaterial basalwärts getragen werden, direkt zu Oozyten heran, ohne sich erst zu vermehren.

Im männlichen Geschlecht vermehren sich demgegenüber die J-Zellen der Keimzone innerhalb des sie umhüllenden Entoderms, wie vereinzelt aufgefundene Mitosen belegen (Abb. 37a). Da aus ihnen, wenn sie mit dem Entoderm in die aussprossenden Gonophore hineingeschoben worden sind, nach einer nochmaligen Vermehrungsphase letztlich die Spermien hervorgehen, können sie durchaus bereits als Spermatogonien bezeichnet werden. Morphologisch sind sie allerdings von den J-Zellen des Ektoderms nicht unterschieden. Ihr Kerndurchmesser ist lediglich geringfügig größer, ihr Plasmasaum etwas schmaler. Für eine sichere Unterscheidung reichen diese variablen Merkmale aber nicht aus. Ihre Zahl ist weit größer als die Zahl der Oozyten im weiblichen Geschlecht, und sie sind über die ganze Keimzone in gleicher Weise verteilt. Die Anzahl der Spermatogonien junger, männlicher Blastostyle (mit ein oder zwei Gonophoren) betrug durchschnittlich 90; bei älteren Blastostylen (mit sieben und mehr Gonophoren) 330 Spermatogonien. Die durchschnittliche Oozytenzahl, gemittelt aus den Werten von 20 Gonozoiden, betrug in jungen Blastostylen (mit ein oder zwei Gonophoren) 40. Bei älteren Blastostylen (mit sieben und

mehr Gonophoren) belief sich der Durchschnittswert, gemittelt aus 23 Gonozoiden, auf 73.

Für die Differenzierung der J-Zellen zu Keimzellen und für die Entwicklung der Gonophore scheinen die charakteristischen schmalen,

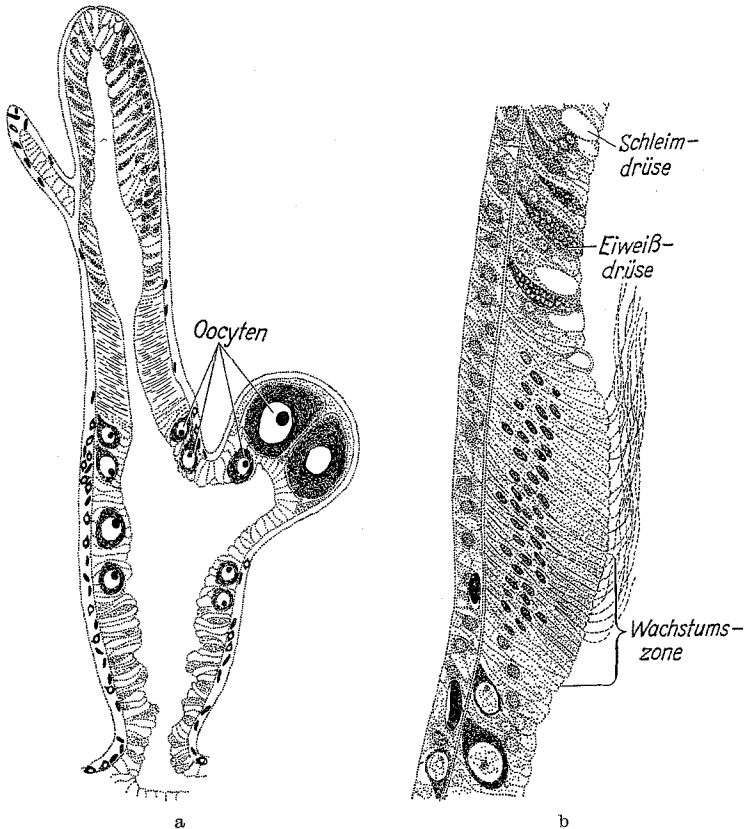


Abb. 36a. Längsschnitt durch einen Nährpolypen mit Gonophor. Zwischen Peristom und Keimzone ist eine blastostyloide Halszone eingeschoben (s. Abb. 36b)

Abb. 36b. Ausschnitt aus Abb. 36a, die blastostyloide Halszone zeigend

langgestreckten Entodermzellen der Halsregion eine wichtige Rolle zu spielen. Vereinzelt, vorwiegend in bestimmten Klonen, treten auch Nährpolypen auf, die Gonophore und Geschlechtsprodukte entwickeln. Im histologischen Präparat zeigt sich: Zwischen dem Peristom und der Keimzone ist bei diesen Hydranthen eine typische, blastostyloide Halszone eingeschoben (Abb. 36a u. b).

b) Die Entwicklung der Gonophore

Die Entwicklung der Gonophore beginnt mit einer blasigen Auswölbung des Ektoderms und des Entoderms. Die Geschlechtszellen

werden mit dem Entoderm passiv in die Styloidanlage hineingeschoben. Zunächst stellt der Gonophor einen einfachen, doppelwandigen Sack dar (Abb. 37 b). Bald weicht das Entoderm vom Ektoderm zurück. Die Stützlamelle wird jedoch nicht freigelegt. Sie bleibt bedeckt von stark vakuolisierten, kleinkernigen Zellen, die sich vom zurückweichenden Entoderm lösen. Zwischen den abgesonderten, der Stützlamelle anhaftenden Zellen und der inneren Entodermkuppe wird eine neue Stützlamelle ausgeschieden (Abb. 37 c). Die Keimzellen lösen sich von der inneren Entodermkuppe, durchstoßen diese Stützlamelle und drängen sich in den Raum, den das zurückweichende Entoderm zwischen sich und der äußeren, abgelösten Entodermmlamelle freigibt (Abb. 37 c, d).

Ob die sekundär gebildete Stützlamelle stellenweise aufgelöst wird, um die Keimzellen durchzulassen, oder von vornherein siebartig durchlöchert ist, konnte ich nicht entscheiden. Die erste Möglichkeit ist wahrscheinlicher, denn das Maschenwerk des Netzes müßte, um Oozyten durchlassen zu können, sehr weit sein. Neben Keimzellen werden vor allem bei Gonophoren, die wenige Geschlechtszellen enthalten, weitere Entodermzellen in den Zwischenraum abgegeben (Abb. 37 c).

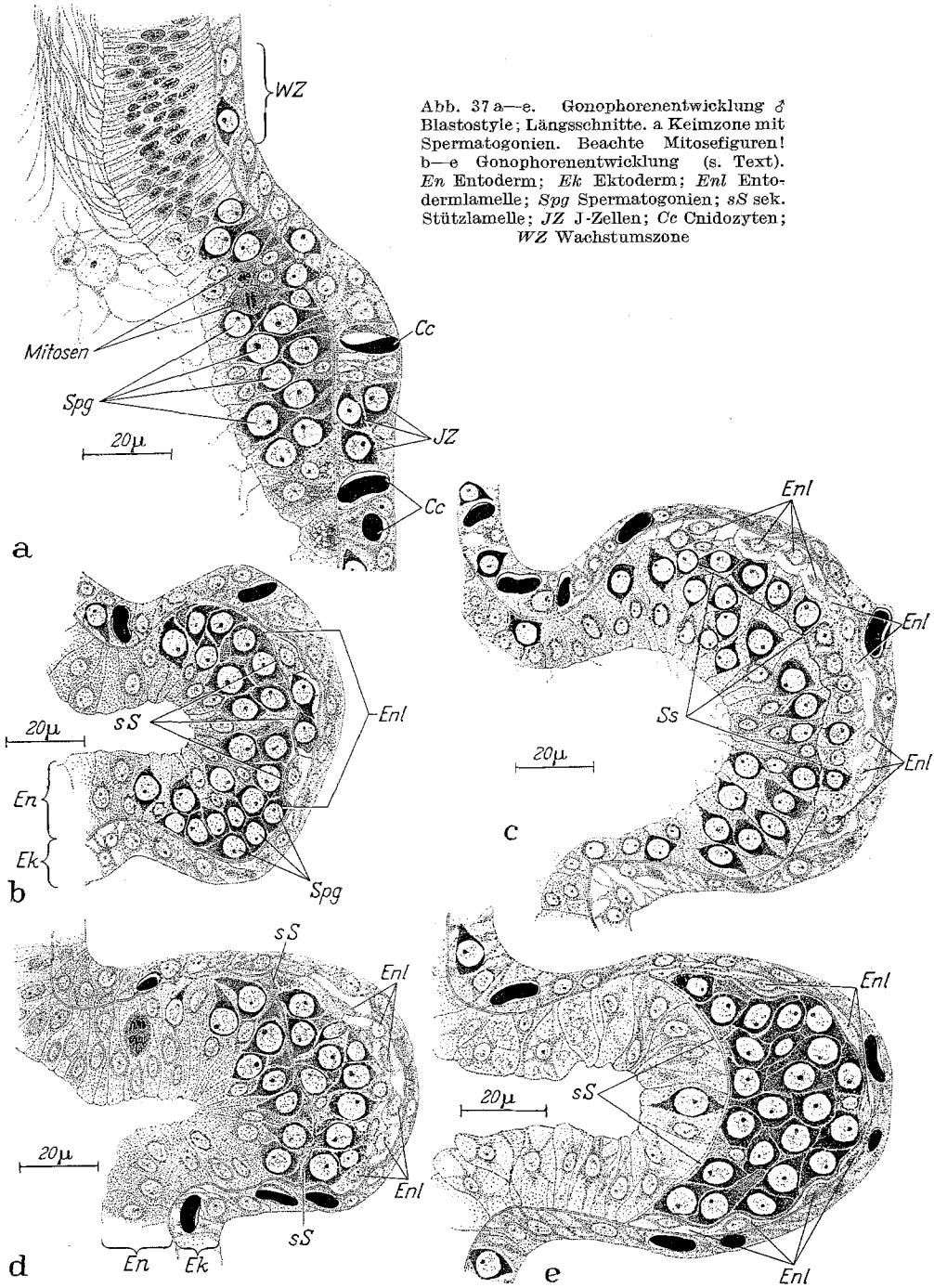
Die Geschlechtszellen bilden eine halbmondförmige Kalotte, die sich über die Entodermkuppe zieht und außen von der Entodermmlamelle umhüllt wird. Die Kalotte vergrößert sich durch eindringende Keimzellen, bis das ursprüngliche Lager entleert ist.

Im männlichen Geschlecht vermehren sich Spermatogonien innerhalb der Kalotte stark. Die wachsende Masse überzieht das innere, becherförmige Entoderm, das schließlich zu einem Zapfen zusammengedrängt wird. Das Lumen des Zapfens, der als Spadix bezeichnet wird, behält eine offene Verbindung zum Gastralraum des Polypen. Im weiblichen Geschlecht wird das somatische Entodermmaterial der Kalotte und der äußeren Entodermmlamelle von den wachsenden Oozyten auseinandergedrängt und bildet schließlich eine dünne Haut um die Geschlechtszellen.

Die Nahrungsversorgung erfolgt vom Spadix her. Die Keimzellen selbst sind in einem Raum eingeschlossen, zu dem vom Gastralraum her kein offener Zugang besteht. Nicht selten sah ich außerhalb dieses Raumes kleine Oozyten zwischen dem Spadix und dem Ektoderm eingezwängt. Möglicherweise handelt es sich um Geschlechtszellen, die nicht in die Gonophorenknospe hineingelangten und nachträglich aktiv einzuwandern versuchten.

Niemals konnte ich in meinen zahlreichen Präparaten die oft beschriebene proppförmige Verdickung des Ektoderms im Scheitel der Knospe beobachten, die sich zu einem ektodermalen Entokodon zwischen dem Ektodermepithel und dem Entoderm ausgebreitet hätte. Von einer dem Glockenkern einer Medusenknospe homologen Bildung war keine Spur zu entdecken.

Für die vorliegende Arbeit ist es nicht fruchtbar, auf die unterschiedlichen Anschauungen früherer Autoren einzugehen. Bedeutsam für die



Versuche sind folgende Tatsachen: Sowohl männliche als auch weibliche Keimzellen entwickeln sich aus J-Zellen, die in einer bestimmten, engbegrenzten Zone des Polypen ins Entoderm wandern. Die Keimzellen werden in beiden Geschlechtern auf gleiche Art passiv in die ausprossenden Gonophore verfrachtet. Dort lösen sie sich aus ihrem ursprünglichen Lager und gelangen in einen abgeschlossenen Raum, der keine offene Verbindung zum Entstehungsort neuer Keimzellen hat. In diesem Raum kommen die Geschlechtsprodukte zur Reife.

3. Die Längsverteilung der J-Zellen

Versuche früherer Autoren (GOETSCH 1927, WIESE 1953), auf dem Wege über experimentell erzeugte Geschlechtsschimären Aufschluß über die Geschlechtsbestimmung beim Versuchstier zu erhalten, sind ohne Berücksichtigung der Verteilung der J-Zellen durchgeführt worden, die sich im Tier befinden. Die J-Zellen sind potentielle Geschlechtszellen. Es kann nicht gleichgültig sein, ob die Partner einer Chimäre unterschiedliche Mengen von J-Zellen mitbringen, zumal, wenn die Penetranz eines Geschlechts von der Quantität des Ausgangsmaterials abhängt (WIESE 1953). Vorkommen, Anordnung und regionale Mengenunterschiede der J-Zellen zu untersuchen, ist nach meiner Ansicht unerläßliche Vorbedingung, um Versuche dieser Art durchführen zu können.

Den J-Zellengehalt habe ich bei Knospen, bei jungen, noch gonophorenlosen Blastostylen, bei Blastostylen mit ein oder zwei Gonophorenknospen und bei Blastostylen mit sechs und mehr Gonophoren geprüft und quantitativ erfaßt, und zwar untersuchte ich:

1. 23 ♀ und 16 ♂ Individuen der Entwicklungsstufe: „Sechs und mehr Gonophore.“

2. 19 ♀ Individuen der Entwicklungsstufe: „Ein bis zwei Gonophore.“

3. 8 ♀ und 8 ♂ Individuen der Entwicklungsstufe: „Köpfchen ausgebildet und noch keine Gonophorenknospen.“

Die Auszählung führte ich an kompletten Schnittserien durch (Schnittdicke $7\ \mu$). Um die Verteilung der J-Zellen auf die verschiedenen Regionen des Blastostyls erfassen zu können, wurde jeder Blastostyl von der Basis bis zum Beginn des Halses in 15 gleich breite Zonen aufgeteilt, vom Beginn des Halses bis zum oralen Ende in weitere fünf Zonen. Dadurch war es möglich, individuelle Längen- und Proportionsunterschiede auszugleichen. Die kleinen Blastostyle der 3. Gruppe wurden in zehn Längeneinheiten unterteilt. Die für die einzelnen Längeneinheiten gemittelten Durchschnittswerte sind in Abb. 38, 39, 40 graphisch dargestellt. Im linken Diagramm sind die Werte der im Ektoderm lokalisierten J-Zellen aufgetragen; im rechten sind die Durchschnittswerte der im Entoderm eingebetteten Keimzellen dargestellt.

Die Untersuchungen ergaben folgendes Bild:

In den Blastemen der Polypenanlagen können, wenn diese in den zentralen Stockbereichen liegen, sowohl im Ektoderm als auch zwischen den entodermalen Meristemzellen J-Zellen gefunden werden (Abb. 5).

Diese modifizieren sich aber anscheinend restlos zu zylindrischen Meristemzellen, bleiben also nicht als omnipotente J-Zellen erhalten. In Knospen, deren Längsachse ihrem Durchmesser gleichkommt oder übertrifft, fand ich keine oder nur vereinzelt einige wenige J-Zellen. Erst wenn die Knospe ein Köpfchen entwickelt hat und die morphologische

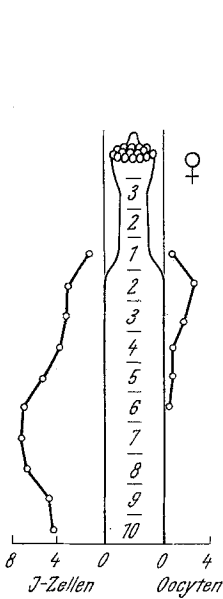


Abb. 38

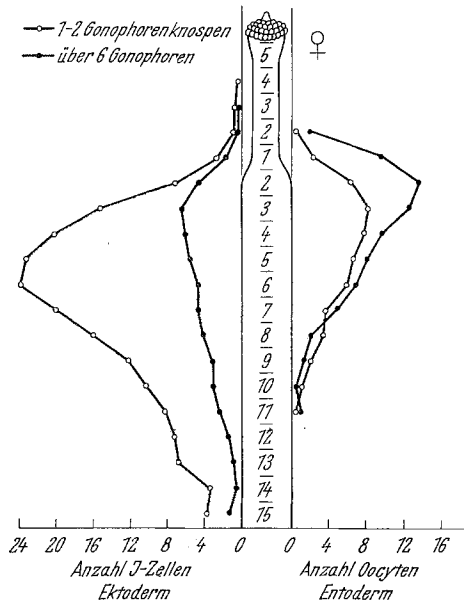


Abb. 39

Abb. 38. Verteilung von J-Zellen (linke Abszisse) und der Oocyten (rechte Abszisse) in ♀ Blastostylen zur Zeit der J-Zelleneinwanderung. Gemittelt aus den regionalen Werten von acht Einzelblastostylen

Abb. 39. J-Zellen und Oozytenverteilung in ♀ Blastostylen zweier verschieden alter Gruppen. Stadium „1–2 Gonophorenknospen“; regionale Mittelwerte von 19 Blastostylen. Stadium „mehr als sechs Gonophore“; regionale Mittelwerte von 23 Blastostylen. Während die Oozytenzahl im Alter zunimmt, sinkt die Anzahl der J-Zellen im Ektoderm ab

Gliederung in eine orale und aborale Region verwirklicht ist, wandern von der Stolonenplatte her J-Zellen und Cnidoblasten in großer Menge in den jungen Blastostyl ein. Diese stammen aus einem Reservoir, das sich schon frühzeitig ringförmig um die wachsende Knospe angesammelt hat. Das oral fortschreitende Eindringen der J-Zellen in den jungen Blastostyl läßt sich an der Zunahme der Gesamtmenge und an der Verschiebung des Maximums der Verteilungskurve ablesen. Kurz nach der vollzogenen histologischen Differenzierung finden sich im Ektoderm schon zahlreiche J-Zellen. Das Maximum liegt im basalen Bereich des Rumpfes (Abb. 38). Es verschiebt sich rasch oralwärts, bleibt aber unterhalb der Keimzone des Polypen stehen. Gleichzeitig nimmt die

Gesamtmenge zu. Blastostyle, die bereits zwei Gonophorenknospen tragen, zeigen eine J-Zellenverteilung, wie sie von nun an zeitlebens beibehalten wird (Abb. 39). Das Maximum liegt in der Region dicht unterhalb der Keimzone. In der Keimzone selbst fallen die Werte sehr stark ab. Der Halsbereich enthält nur wenige J-Zellen. In das Köpfchen

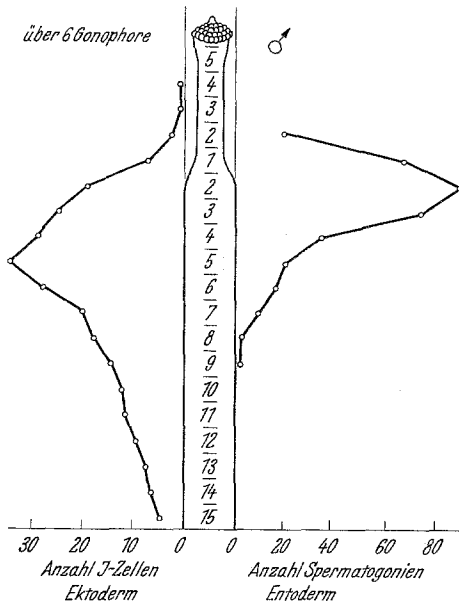


Abb. 40. J-Zellen- und Spermatozonenverteilung in reifen ♂ Geschlechtspolypen. Mittelwerte von 19 Blastostylen mit mehr als sechs Gonophoren

dringen nur noch Cnidocyten ein, keine J-Zellen. In den ♀ Blastostylen nimmt die Gesamtzahl der J-Zellen im Alter ab. Bei den ♂ bleibt die Gesamtmenge hoch (Abb. 40), ihre relative Dichte nimmt aber ebenfalls ab, weil sich das Volumen der wachsenden Tiere erhöht. Während die Dichte der J-Zellen im Ektoderm zurückgeht, steigt die Zahl der Keimzellen im Entoderm.

Die wichtigsten Befunde der Untersuchungen fasse ich zusammen: J-Zellen finden sich fast ausschließlich in der basalen Rumpfregion; die meisten liegen dicht unterhalb der Keimzone. Im Halsbereich ist

ihre Zahl gering. Frei von J-Zellen sind: Das Köpfchen der Blastostyle und junge Blastostyle, welche die histologische Differenzierung in die orale und aborale Region noch nicht durchgeführt haben.

II. Entstehen und Verhalten der Geschlechtsschimären

Im Grenzbereich des ♀ und des ♂ Arealis eines Chimärenstockes läßt sich nicht entscheiden, ob die auftretenden intersexen Blastostyle in ihrem somatischen Material homogen oder heterogen sind und ob sie J-Zellen nur von einem Partner oder von beiden erhalten haben. Ich führte daher ausschließlich Transplantationsexperimente zwischen getrennt aufgezogenen Klonen durch. Die gewählte Methode gestattete es mir, das Ausgangsmaterial stets genetisch eindeutig homogenen Stammkulturen zu entnehmen, die sich gegenseitig nicht beeinflussen konnten; sie gestattete es weiterhin, qualitativ und quantitativ definierte

Gewebeteile des einen Klons mit bestimmten, ausgewählten Gewebeteilen des Partners in Kontakt zu bringen.

Den Versuchen lag folgender Plan zugrunde:

1. Wechselseitiger Austausch von Blastostylen verschiedener Entwicklungsstufen (vor, während, nach der Phase der J-Zelleneinwanderung und reife Blastostyle).

2. Implantation von Gewebematerial verschiedener Blastostylregionen in andersgeschlechtliche Blastostyle.

3. Implantation J-Zellen-haltigen Stolonenplattenmaterials in verschiedene Regionen gegengeschlechtlicher Blastostyle und in verschiedene Bereiche gegengeschlechtlicher Stöcke.

4. Umstimmung junger Nährpolypen durch Anpfropfen eines andersgeschlechtlichen Blastostylköpfchens.

5. Regeneration verschiedener Blastostylregionen mit unterschiedlichem J-Zellengehalt in einem andersgeschlechtlichen Stock.

Die Einzelergebnisse werden im folgenden jeweils tabellarisch zusammengefaßt (Tabelle 2).

Vorangestellt sei ein bemerkenswerter Befund, der sich aus den folgend beschriebenen Versuchen mitergab:

Ein transplantiertes Blastostyl wird hinsichtlich seines Reifegrades vom sexuellen Entwicklungsgrad der wirtseigenen Blastostyle beeinflusst. Geschlechtsreife Gonozooide in unreife Stöcke verpflanzt, schmelzen ihre Geschlechtsprodukte und Gonophore wieder ein. Sie erzeugen meist erst dann wieder Gonophore, wenn auch die wirtseigenen Individuen die Geschlechtsreife erlangen. Auch das Umgekehrte gilt: Unreife transplantierte Blastostyle entwickeln in reifen Wirtstöcken sehr schnell Gonophore. Die ersten Gonophorenknospen erschienen an Geschlechtspolypen, die als junge Blastostylknospen aus einem unreifen ♂ Stock in die Mitte eines reifen ♀ transplantiert wurden, bereits am 6. Tage nach der Verpflanzung. Die gleichaltrigen Blastostyle im Spenderstock erreichten den gleichen Reifegrad erst 3 Wochen später.

Für die naheliegende Deutung, der Eintritt der Geschlechtsreife werde humoral gesteuert, kann dieser Befund jedoch nicht als Beweis gewertet werden. Sicher ist nur: Die Fähigkeit, Geschlechtsprodukte und Gonophore hervorzubringen, wird den Blastostylen von dem Stolonenplattengewebe vermittelt, das unmittelbar ihre Basis umgibt. Werden reife Blastostyle aus der Stockmitte auf junge Stolone desselben Stockes verpflanzt, so resorbieren sie ebenso ihre Gonophore wie bei ihrer Transplantation in fremde, unreife Stöcke. Ins Stockinnere zurückgebracht, entwickeln sie bald wieder Gonophore.

Zwei Voraussetzungen sind demnach Bedingung für den Eintritt und die Aufrechterhaltung der Geschlechtsreife:

Tabelle 2a. *Zusammenstellung der Transplantationsversuche zur Frage der Geschlechtsmännern*
 Transplantation von Blastostylen verschiedenen Entwicklungsgrades in gegengeschlechtliche Stöcke. Man beachte: Alle ♀ Blastostyle
 schlagen im ♂ Stock zu ♂ um (1, 3, 6, 8, 9, 10); ♂ Blastostyle dagegen schlagen im ♀ Stock nur zu ♀ um, wenn sie vor der J-Zellen-
 einwanderung und ohne Stolonenplattenmaterial übertragen werden (2).

Ver- suchs- Nr.	Spender (Transplantat)	Spender- geschlecht	Wirt Einpflanzort	Wirts- ge- schlecht	Anzahl trans- plantierter Blastostyle	Davon entwickel- ten	Anzahl ♀ Gono- phore	Anzahl ♂ Gono- phore	End- ge- schlecht
1	Blastostyle vor der J-Zellen- Einwanderung	♀	Stolonenplatte	♂	12	12	0	0	♂
2	Blastostyle vor der J-Zellen- Einwanderung	♂	Stolonenplatte	♀	12	11	0	0	♂♀
3	Blastostyle vor der J-Zell- Einwanderung mit Stolonen- plattenmaterial	♀	Stolonenplatte	♂	10	1	3	3	♂♀
4	Blastostyle vor der J-Zellen- einwanderung mit Stolonen- plattenmaterial	♂	Stolonenplatte	♀	6	2	0	0	♂♀
5	Blastostyle während J-Zellen- Einwanderung	♂	Stolonenplatte	♀	5	1	0	4	♂♀
6	Blastostyle während J-Zellen- Einwanderung	♀	Stolonenplatte	♂	5	2	0	3	♂♀
7	Blastostyle mit 1—2 Gonophoren- knospen	♂	Stolonenplatte	♀	8	1	4	3	♂♀
8	Blastostyle mit 1—2 Gonophoren- knospen	♀	Stolonenplatte	♂	5	2	0	3	♂♀
9	Blastostyle mit 3 Gonophoren- knospen	♀	Stolonenplatte	♂	5	1	1	4	♂♀
10	Blastostyle mit 10 Gonophoren, reif	♀	Stolonenplatte	♂	2	1	6	4	♂♀

Tabelle 2b. *Zusammenstellung der Transplantationsversuche zur Frage der Geschlechtschimären. Transplantation verschiedener Blastostyl-
stücke in verschiedene Zonen gegengeschlechtlicher Blastostyle (11—15) bzw. in die Stolonenplatte gegengeschlechtlicher Stöcke (16—18).
19—23: Implantation von Stolonenplattenmaterial in gegengeschlechtliche Blastostyle. Bei den entstehenden Doppelbildungen sind
die Geschlechtsverhältnisse im Wirtstier und im auswachsenden Indukt (Zweitbildung) zu unterscheiden.*

Ver- suchs- Nr.	Transplantat (Spender)	Spender- geschlecht	Einpflanzort (Wirt)	Wirts- geschlecht	Anzahl der Versuche	Davon entwickel- ten	Anzahl ♀ Gono- phore	Anzahl ♂ Gono- phore	End- ge- schlecht
11	Keimzonenmaterial	♂	Keimzonen reifer Blastostyle	♀	10	10	wechselnd		♂
12	Keimzonenmaterial	♀	Keimzonen reifer Blastostyle	♂	5	1 2 1 1 1	1 0 0 0	2 2 1	♂ ♂ ♂ ♂ ♂
13	Blastostylköpfchen	♂	Gastrozoidknospe	♀ ♀	5	5	alle	3	♂
14	Köpfchen und Hals	♂	Gastrozoidknospe	♀ ♀	6	1 1 4	alle alle 0	0 0 alle	♂ ♂ ♀
15	Keimzone	♂	Gastrozoidknospe	♀ ♀ ♀	5	1 1 1 1 5	0 0 0 0 0	8 0 0 0 0	♂ ♂ ♂ ♂ ♂
16	Blastostylköpfchen	♂	Stolonenplatte	♀ ♀ ♀	5	5	alle	0	♂
17	Köpfchen und Hals	♂	Stolonenplatte	♀ ♀ ♀	5	1 1 2 2	alle 0 0 0	0 alle 0 alle	♂ ♂ ♂ ♂
18	Keimzone	♂	Stolonenplatte	♀	5	1 1 2 1 2	0 0 0 0 0	4 2 2 2 2	♂ ♂ ♂ ♂ ♂
19	Stolonenplatten- material	♀	Köpfchen	♂	5	50	0	0	Wirt Indukt
20	Stolonenplatten- material	♀	Hals reifer Blastostyle	♂	5	5 5 5	alle 0 0	0 0 0	Wirt Indukt Indukt
21	Stolonenplatten- material	♀	Keimzellen reifer Blastostyle	♂	22	1 1 1 1 4 4 18 1 1 4	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	Wirt Indukt
22	Stolonenplatten- material	♂	Köpfchen	♀	5	5 5 5	ohne Gonophore alle 0	0 0 0	Wirt Indukt Wirt
23	Stolonenmaterial	♂	Keimzone	♀	15	11	alle wechselnd eigene Gonophore	0 0 0	Wirt Indukt Indukt

1. Ein Blastostyl muß von einer geschlossenen Stolonenplatte umgeben sein. 2. Die Stolonenplatte muß einen bestimmten „Reifezustand“ erreicht haben. Worin dieser physiologische Zustand besteht — ob er in einer unterschiedlichen Qualität der J-Zellen der Stolone und des Stockinneren oder ob er im Differenzierungszustand des somatischen Materials begründet ist —, ist noch völlig unklar. Einem quantitativ unterschiedlichen J-Zellengehalt kann die unterschiedliche Wirkung des Stolonen- und Stolonenplattengewebes nicht zugesprochen werden. Auch die Stolone können den Blastostylen eine ausreichende Menge prospektiver Geschlechtszellen in Form der J-Zellen zur Verfügung stellen. Das Ektoderm der auf Stolonen herangewachsenen Blastostyle ist in der Regel dicht mit J-Zellen beladen. In der Keimzone auf Stolone transplantierte und nach 2 Wochen isolierter und fixierter Blastostyle ließ sich im Schnittpräparat jedoch nirgends mehr eine einzige Geschlechtszelle nachweisen. Auch durch Implantation von Geschlechtszellen enthaltendem Keimzonenmaterial reifer Blastostyle in ihre Keimzone, waren solche, auf Stolonen wachsende Blastostyle nicht zur Bildung von Gonophoren anzuregen. In so behandelten Gonozoiden waren im Gegenteil auch die implantierten Keimzellen nicht mehr aufzufinden.

Bemerkenswert in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von C. HAUENSCHILD (1954), daß Blastostyle erst mit der Gonophorenbildung beginnen, wenn der Stock sein peripheres Flächenwachstum beendet hat. HAUENSCHILD deutet diesen Befund als Folge trophischer Bedingungen. Erst, wenn keine nennenswerte, vegetative Fortpflanzung mehr stattfindet und folglich keine Nahrung mehr in die wachsende Peripherie abfließt, erhielten die Blastostyle die zur Bildung der Gonophore nötige Nahrungsmenge.

Wenn auch örtliche trophische Bedingungen sicherlich die Entwicklungs- und Reifegeschwindigkeit eines Blastostyls beeinflussen, so können sie allein nicht für den Eintritt der Geschlechtsreife verantwortlich gemacht werden. Dies geht aus folgendem hervor:

1. Resorbieren isolierte, von der Nahrungszufuhr völlig abgeschnittene Blastostyle im allgemeinen später (nach ca. 2 Wochen) ihre Gonophore als Blastostyle, die auf Stolone oder in unreife Stöcke verpflanzt werden (nach 2—6 Tagen).

2. Werden Zweitbildungen, die mit dem Wirtspolypen nur das Köpfchen gemeinsam haben und nur durch eine sehr enge Öffnung mit dessen Gastralraum in Verbindung stehen, durchaus geschlechtsreif, wenn auch verlangsamt.

Die Frage nach dem entscheidenden, die Geschlechtsreife bestimmenden Faktor ist vorläufig noch völlig offen.

1. Wechselseitiger Austausch von Blastostylen verschiedener Entwicklungsstufen

Junge Polypen, deren Köpfchen gerade soweit ausdifferenziert sind, daß sie als Blastostyle eindeutig erkannt werden können, besitzen noch keine oder nur sehr wenige J-Zellen. In einen gegengeschlechtlichen Klon verpflanzt, nehmen sie dessen Geschlecht an, gleichgültig, ob sie

einem ♂ Stock entstammten und in einem ♀ aufwachsen oder umgekehrt. Nur ein junger ♂ Blastostyl verhielt sich nach Übertragung in den ♀ Stock herkunftsgemäß und lieferte Sperma (Tabelle 2a, Nr. 1 u. 2).

Bei ersten Versuchen hatte ich die zur Transplantation bestimmten Blastostyle nicht völlig vom anhaftenden J-Zellen-haltigen Stolonenmaterial befreit, um sie leichter in den Wirtsstock einsetzen zu können (Nr. 3 u. 4). Die Ergebnisse waren verschieden: Die dem ♀ Klon entnommenen Blastostyle wurden ♂, doch teilweise erst nach einer kurzen intersexen oder rein ♀ Phase (Nr. 3). Die vom ♂ in den ♀ Stock übertragenen jungen Blastostyle verwirklichten, sofern an ihrer Basis etwas Stolonenplattenmaterial mit übertragen worden war, über eine kurze, intersexe Zwischenstufe das ♂ Geschlecht (Nr. 4). Demgegenüber hatten, wie erwähnt, gleichweit entwickelte, ohne Stolonenplattenmaterial transplantierte ♂ Blastostyle das ♀ Wirtsgeschlecht angenommen (Nr. 1 u. 2).

Diese Versuche lieferten drei wichtige Indizien für die Rolle, die den J-Zellen bei der Entscheidung des Geschlechtes zufällt:

1. Junge Blastostyle, die keine eigenen J-Zellen mitbringen, nehmen das Geschlecht des Wirtsstockes an, der ihnen die J-Zellen, d. h. die prospektiven Geschlechtszellen liefern muß.

2. Sofern an ihrer Basis J-Zellen-haltiges Material haftet, wird das Herkunftsgeschlecht, zumindest vorübergehend, manifest.

3. J-Zellen-haltiges Stolonenplattenmaterial aus ♂ Stöcken nimmt stärkeren Einfluß auf das Geschlecht als Material ♀er Stöcke.

In allen weiteren Versuchen erwies sich das ♂ Geschlecht stabiler und durchschlagskräftiger als das ♀. ♂ Blastostyle behielten, wenn sie nach der J-Zelleneinwanderung verpflanzt wurden, im ♀ Stock ihr Geschlecht stets rein bei (Nr. 7). ♀ Blastostyle schlugen im ♂ Stock zum Wirtsgeschlecht um, früher, wenn sie noch keine Gonophore besaßen, später, wenn sie bereits geschlechtsreif waren (Nr. 6, 8, 9, 10).

Bemerkenswert ist das Verhalten ♂er Blastostyle, die zum Zeitpunkt der vermuteten J-Zelleneinwanderung in den gegengeschlechtlichen Klon umgesetzt wurden (Nr. 5). Beim Erreichen der Geschlechtsreife lieferten sie — gemäß dem Geschlecht des Wirtes — zunächst Oozyten, später gewann das ♂ Herkunftsgeschlecht die Oberhand.

Diese ersten Hinweise für die Bedeutung der J-Zellen für das Zustandekommen gemischtgeschlechtlicher Gonozooide und ihre Bedeutung beim Geschlechtsumschlag werden durch die nachfolgenden Versuche zu Beweisen erhärtet. Es sei daher zum Verständnis dieser Ergebnisse bereits an dieser Stelle ihre Deutung gegeben:

Zu Versuch Nr. 4, 5, 7. ♂ Blastostyle können deshalb im ♀ Stock zeit-
lebens ihr Geschlecht bewahren, weil sich ihre J-Zellen und Spermato-
gonien beständig vermehren und sie daher nicht auf Nachschub von der

Stolonenplatte angewiesen sind. Mit dieser Deutung steht im Einklang, daß sich im histologischen Präparat 3er Blastostyle innerhalb der Keimzone in Teilung begriffene Spermatogonien finden lassen.

Zu Versuch Nr. 7, 8, 9, 10. Auch in reife, transplantierte Blastostyle dringen von der Stolonenplatte des Wirtsstockes J-Zellen ein. Weiblich determinierte J-Zellen vermögen sich allerdings im eingepflanzten ♂ Blastostyl nicht durchzusetzen, sofern dieser vom Mutterstock schon eine größere Anzahl von J-Zellen und Spermatogonien mitgebracht hat. Männlich bestimmte J-Zellen dagegen entwickeln sich im ♀ Blastostyl zu Spermatogonien und verdrängen dessen eigene ♀ Keimzellen.

2. Implantation von Keimzonenmaterial in die Keimzone gegengeschlechtlicher Blastostyle

Sollten die gegebenen Deutungen zutreffen, so müßte bei weiblichen Blastostylen jeden Reifegrades ein Geschlechtsumschlag zu erzielen sein, wenn ihren Keimzonen Spermatogonien- und J-Zellen-haltige Stücke von ♂ Blastostylen implantiert werden. Im reziproken Falle dürfte das ♀ Geschlecht in ♂ Blastostylen höchstens vorübergehend zur Geltung kommen.

Um dies zu prüfen, schnitt ich aus reifen Blastostylen durch zwei parallele Schnitte die Keimzone heraus, halbierte sie und schob ein Stück in eine zuvor gesetzte Wunde in die Keimzone des Wirtes ein. Dabei hatte ich darauf zu achten, daß das Implantat nicht in den Gastralraum geriet. Das Versuchsergebnis entsprach völlig den Erwartungen (Tabelle 2b, 11, 12). Die ♂ so behandelten Blastostyle (Nr. 12) lieferten vorübergehend einige Gonophore, die neben Sperma eine wechselnde Anzahl von Oozyten enthielten. Die Anzahl intersexer Gonophore und deren Gehalt an Oozyten war proportional zur Größe des Implantates. *Deutung.* Die Oozyten entstammten allein dem Implantat. Nach dem Verbrauch der mit dem Implantat eingeschleppten ♀ Keimzellen erhielten die neu hervorsprossenden Gonophore wieder ausschließlich wirtseigene Spermatogonien.

Die ♀ Blastostyle (Nr. 11) dagegen schlugen nach der Implantation des ♂ Spendermaterials ausnahmslos über eine transitorische intersexe Phase zu reinen ♂ um. *Deutung.* Der Vorrat, an J-Zellen und Keimzellen, den das Implantat mitbrachte, konnte höchstens für zwei bis drei Gonophore ausgereicht haben. Da die ursprünglichen ♀ das erworbene ♂ Geschlecht trotzdem zeitlebens beibehielten, ist anzunehmen, daß sich J-Zellen und Spermatogonien in der Keimzone beständig vermehren und ein Nachschub von J-Zellen von der Stolonenplatte her entbehrt werden kann.

Als Einwand ließe sich die Möglichkeit vorbringen, nicht die übertragenen J-Zellen und deren Derivate, die Spermatogonien hätten sich

vermehrt, vielmehr habe das Implantat die Differenzierungsrichtung der wirtseigenen interstitiellen Zellen umgestimmt. Diese Annahme ist jedoch mit den Versuchsergebnissen kaum in Einklang zu bringen. Warum sollten junge, noch J-Zellen-freie Blastostyle die Fähigkeit zur Umdetermination nicht besitzen, dagegen J-Zellen-haltiges Stolonenplattenmaterial? Den schlüssigen Beweis, daß somatisches Material tatsächlich keinen Einfluß auf die geschlechtliche Entwicklung eines Blastostyls nimmt, geben die nachfolgenden Versuche.

3. Umstimmung von Nährpolypenknospen zu Geschlechtspolypen durch Implantation verschiedener induzierender Blastostylregionen

Das Induktionsvermögen einer Blastostylzone und deren J-Zellengehalt sind keine miteinander korrelierte Größen (s. D V Diskussion; Abb. 25). Daraus ergibt sich eine interessante Versuchsmöglichkeit: Können Gewebestücke, die Nährpolypenknospen zu Blastostylen umdeterminieren können, jedoch J-Zellen-frei sind, Einfluß auf das Geschlecht des herangewachsenen Blastostyls nehmen?

Weil Blastostyle auf Stolonen nicht zur Geschlechtsreife kommen, wählte ich zu diesen Versuchen Polypenknospen der Stolonenplatte mit dem größten Durchmesser aus. Diese bieten, da nicht die Induktionsfähigkeit des Implantates im besonderen geprüft werden sollte, hinlänglich die Garantie, präsumptive Nährpolypenknospen zu sein. Das Implantat sollte seine Wirkung zeitlebens geltend machen und wurde daher im Wirt auch nach dessen vollzogener Umwandlung weiterhin belassen.

Die Versuchstechnik konnte ich dahingehend vereinfachen, daß ich die gegengeschlechtlichen Gewebestücke direkt in den Scheitel der Knospe einpflanzte. Derart behandelte Knospen entwickeln sich in jedem Falle zu Geschlechtspolypen, die sich demgemäß chimärisch aus Spender- und Wirtsgewebe zusammensetzen (Abb. 41). Die basale Rumpfreion wurde, weil ihr die Fähigkeit zur Induktion abgeht, nicht geprüft.

Das Versuchsergebnis ist eindeutig. Die regionale Fähigkeit, das Geschlecht des Wirtes zu bestimmen, läuft nicht parallel zum Induktionsvermögen. Sie ist vielmehr mit dem regionalen Gehalt an J-Zellen korreliert. Die J-Zellen-freien Blastostylköpfchen beherrschen zwar das Differenzierungs-geschehen in der Wirtsknospe, nehmen aber auf dessen Geschlecht keinen Einfluß. Das stark J-Zellen- und Spermatogonien-haltige Keimzonenmaterial von ♂ Spendertieren „stimmt“ dagegen einen genetisch ♀ Wirtspolypen völlig zum ♂ „um“. Von Anfang an erschienen Gonophore, die bei äußerer Betrachtung nur Sperma enthielten. Die geschlechtliche Stärke ♀en Keimzonenmaterials war erwartungsgemäß gering und genügte nur zur Erzeugung transitorischer Intersexe.

Bemerkenswert ist die geschlechtliche Ausprägung der Blastostyle, die aus ♀ Knospen mit aufgepflanzten Köpfchen + Hals von ♂ Blastostylen hervorgingen (Nr. 14). Die Halszone bringt wenig J-Zellen mit.

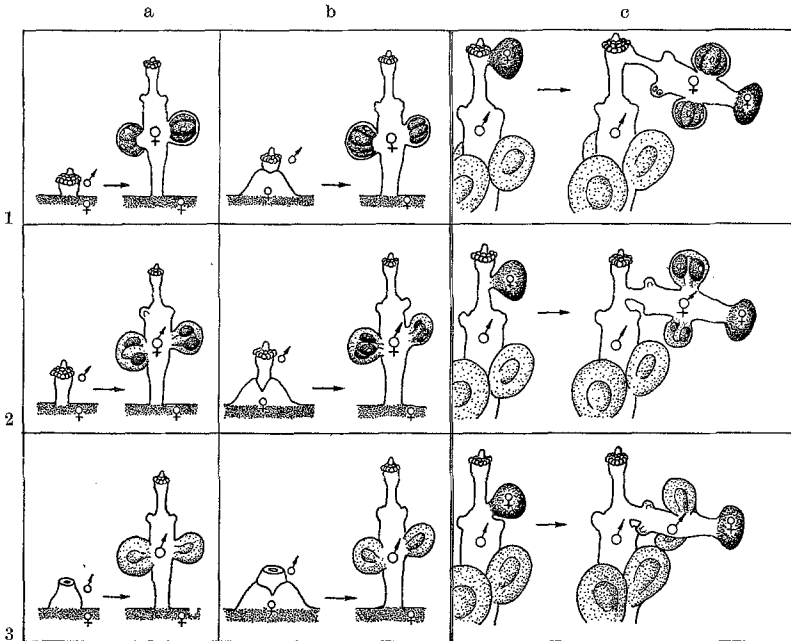


Abb. 41. Sexuelle Penetranz von Köpfchen, Hals und Keimzone ♂er Blastostyle, geprüft in drei verschiedenen Versuchen. *Spalte a)* Regeneration von Köpfchen (a1), Köpfchen + Hals (a2), Keimzone (a3) in einem ♀ Stock. Ergebnis: a1 Der Regenerant nimmt das ♀ Wirtsgeschlecht an. (Das Köpfchen bringt keine eigenen J-Zellen mit!) a2 Der Regenerant wird intersex. (Der Halsbereich enthält einige wenige J-Zellen!) a3 Der Regenerant wird inmitten des ♀ Stockes männlich. (Die Keimzone bringt zahlreiche J-Zellen und Spermatogonien mit!) *Spalte b)* Umstimmung von Nährpolypknospen eines ♀ Stockes zu Blastostylen mittels induzierendem Köpfchen (b1), Köpfchen + Hals (b2), Keimzone (b3). Es resultieren Blastostyle, die chimärenhaft aus Gewebe des Wirtes und des Implantates zusammengesetzt sind. Ergebnis: b1 wie a1; b2 wie a2; b3 wie a3. Die sexuelle Penetranz des Implantates hängt von dessen Gehalt an J-Zellen ab! *Spalte c)* Zweitbildungen, die am Köpfchen (c1), am Hals (c2), an der Keimzone (c3) ♂er Blastostyle durch Implantation eines ♀ Stolonenplattenstückes ausgelöst wurden. Ergebnis: c1 Der Zweitpolyp wird ♀. (Vom Wirt können durch das gemeinsame Köpfchen kein ♂ J-Zellen in den Zweitpolypen eindringen!). c2 Das Indukt wird intersex. (Die Halszone des Wirtes enthält wenige J-Zellen, die in das Indukt übertreten!) c3 Die Zweitbildung wird ♂. (Die Zweitbildung wird von der Keimzone her mit ♂ J-Zellen und Spermatogonien überschwemmt. Die ♀ J-Zellen des ♀ Stolonenplattengewebes kommen nicht zum Zug)

Eines der sechs Versuchszooide behielt das Geschlecht des ♀ Mutterstockes, eines wurde über eine längere intersexuelle Phase ♂, vier blieben während der gesamten Beobachtungszeit von 2 Monaten intersex, wobei der Gehalt der Gonophore an Oozyten stets sehr hoch war.

4. *Regeneration von Blastostylteilen in gegengeschlechtlichen Stöcken*

Das Ergebnis dieser Versuche gleicht dem Resultat der soeben beschriebenen Experimente. Sie sollen daher nicht näher besprochen werden (s. Tabelle 2b, Nr. 15, 16, 17 und Abb. 41).

Zusammenfassung von 3 und 4.

Drei Ergebnisse der beiden gleichartig ausgefallenen Versuchsreihen seien besonders herausgestellt:

1. Die Penetranz eines Geschlechtes in einer Sexualchimäre hängt nicht von der Quantität des somatischen Materials ab, das von beiden gegengeschlechtlichen Partnern beigesteuert wird, sondern von der Anzahl der in beiden Gewebesorten enthaltenen J-Zellen und Keimzellen.

2. Blastostylmaterial, das zwar Induktoreigenschaften besitzt und daher das somatische Differenzierungsgeschehen im Wirt bestimmt, hat keinen Einfluß auf die geschlechtliche Differenzierung des Wirtes, sofern es keine J-Zellen enthält.

3. Sind in einem chimärischen Blastostyl die ♂ bestimmten J-Zellen sehr in der Minderzahl und werden von der Stolonenplatte nur ♀ determinierte Zellen nachgeliefert, so kann sich zwischen beiden Keimzellensorten ein nahezu konstantes Mengenverhältnis einstellen, bei dem es keinem Geschlecht gelingt, die Oberhand zu gewinnen. In solchen Fällen resultieren stabile Intersexe.

5. *Implantation von Stolonenplattenmaterial*

Bei der Implantation von Stolonenplattenmaterial treten, wenn die Größe des Implantates nicht zu klein bemessen wird, die beschriebenen Doppelbildungen auf. Bei jungen Blastostylen ohne Gonophore wandert das Spendermaterial rasch zum basalen Ende, ohne eine Zweitbildung auszulösen. Durch die Wahl einer gegengeschlechtlichen Gewebesorte können gemischtgeschlechtliche Tiere erzeugt werden. Bei der Analyse der Geschlechtsentwicklung ist zu unterscheiden: a) Der Einfluß des Implantates auf das Geschlecht des Wirtspolypen, b) der Einfluß des Implantates auf den geschlechtlichen Charakter des Indukttes, d. h. der ausgewachsenen Zweitbildung.

Ergebnis. a) Solange das induzierte Zweitstück nicht ausgewachsen ist, bleibt das Geschlecht des Wirtszoids unbeeinflusst. Erst wenn das Implantat in die natürliche Distanz vom Einpflanzort weggetragen worden ist, sei es durch die ausgewachsene Zweitbildung, sei es — im Falle junger Tiere — durch den basalwärts fließenden Materialstrom, kann es seine Wirkung geltend machen. ♂ Gonozooide sind erwartungs-

gemäß nie zu einer Änderung ihres Geschlechtes zu bringen (Nr. 18, 19, 20). Bei 22 Versuchen ließen nur vier Blastostyle einige wenige Oozyten soweit zur Entwicklung kommen, daß sie bei 50facher Vergrößerung innerhalb des Spermas bei äußerer Betrachtung wahrgenommen werden konnten (Nr. 21). ♀ Gonozooide schlugen dagegen stets über kurz oder lang zu ♂ um.

Bemerkenswert ist folgende Ausnahme: Pflöpte ich das ♂ Stolonenplattenstück auf das *Köpfchen* eines ♀ Blastostyls, so blieb dieser in seinem sexuellen Charakter unbeeinflusst. Er produzierte weiterhin ausschließlich Oozyten.

Erklärung. Vom Implantat strömen J-Zellen durch die Zweitbildung in die Keimzone des Wirtes. ♀ Gonozooide werden daher ♂. Sofern jedoch der Zweitpolyp mit dem Wirtszooide nur das Köpfchen gemeinsam hat, können keine J-Zellen übertreten. Es sei daran erinnert, daß Köpfchen auch im Normalfall keine J-Zellen enthalten.

b) Eine eigenständige, sexuelle Ausprägung einer Zweitbildung ist selbstverständlich nur möglich, wenn das Implantat oberhalb der wirts-eigenen Keimzone eingesetzt wird und das Indukt daher eine eigene Produktionsstätte für Keimzellen erhält. Die sexuellen Eigenschaften der Zweitbildungen entsprachen den Voraussagen, welche die bereits beschriebenen Experimente mir zu machen erlaubten. Durch ♂ Implantate erzeugte Zweitbildungen waren stets rein ♂ (Nr. 22, 32). Der geschlechtliche Charakter durch ♀ Implantate an ♂ Wirten erzeugter Zweitbildungen wird vom *Einpflanzort* bestimmt, dies insofern, als die Möglichkeit des Eindringens ♂ determinierter J-Zellen aus dem Wirtskörper verschieden ist: Zweitbildungen, die nur ein gemeinsames Köpfchen mit dem Wirt verbindet und daher ihre J-Zellen allein aus dem ♀ Implantat beziehen können, werden rein ♀ (Nr. 19, Abb. 26a, b, e, Abb. 27, Abb. 41). Entwächst die Zweitbildung der oberen Halsregion des Wirtes, so finden einige ♂ J-Zellen den Weg in die Keimzone der Zweitbildung. Sie liefert Oozyten und Sperma in wechselndem Verhältnis (Nr. 20). Ist die Keimzone der Zweitbildung unmittelbar der Keimzone des Wirtszooids benachbart, so wird sie völlig von ♂ J-Zellen und Spermatogonien überschwemmt. Die vom Implantat stammenden, ♀ J-Zellen haben dann keine Chance, zur Entwicklung zu kommen (Nr. 21, Abb. 41).

Bereits wenige ♂ determinierte J-Zellen genügen, um eine Vermännlichung ♀ Blastostyle herbeizuführen. Sehr deutlich demonstriert dies nochmals ein abschließendes Experiment dieser Versuchsreihe. Das Ergebnis dieses Versuches wirft auch Licht auf die Frage, warum der sexuelle Einfluß eines Implantates erst nach dem Auswachsen der Zweitbildung manifest wird. Ich durchschnitt junge Stolone eines ♂ Stockes und drückte Zellenmaterial aus der Peridermhülle heraus.

Beim Ausquellen trennt sich oftmals das helle, durchscheinende Ektoderm vom orange-farbenen Entoderm. Ich pflanzte ein kleines Klümpchen Ektoderm, das — nach der maximalen J-Zellendichte in Stolonen berechnet — nicht mehr als 50 ♂ J-Zellen enthalten konnte, in die Keimzone eines reifen ♀ ein. Das Experiment schien zunächst erfolglos zu verlaufen. Nach 16 rein ♀ Gonophoren trat jedoch in den danach gebildeten Gonophoren in steigendem Maße Spermia auf, bis schließlich der Blastostyl völlig sein Geschlecht wechselte. In der langen Latenzzeit von 14 Tagen mußte das Implantat längst schon in der basalen Region des Polypen angelangt sein. Es ist denkbar, daß die J-Zellen, bevor sie sich zu Keimzellen differenzieren können, eine Wanderung von der Basis zur Keimzone durchmachen müssen.

Kann ♂ Stolonenplattenmaterial seine vermännlichende Wirkung auch zur Geltung bringen, wenn es nicht unmittelbar dem Rumpf des Wirtes eingesetzt wird?

Ich schnitt kleine, ca. $\frac{1}{2}$ mm² große Rechtecke aus der Stolonenplatte eines ♀ Stockes aus und fügte statt dessen ♂ Stolonenplattenmaterial ein. Entwickelten sich auf dem Implantat Geschlechtspolypen, so wurden sie erwartungsgemäß inmitten des ♀ Stockes rein ♂ geschlechtsreif. Auch stockeigene Blastostyle nahmen, sofern sie am Rande des Fremdgewebes entstanden, dessen Geschlecht an. Darüber hinaus breitete sich der vermännlichende Einfluß während der einmonatigen Beobachtungszeit um etwa $\frac{1}{2}$ mm über den Rand des

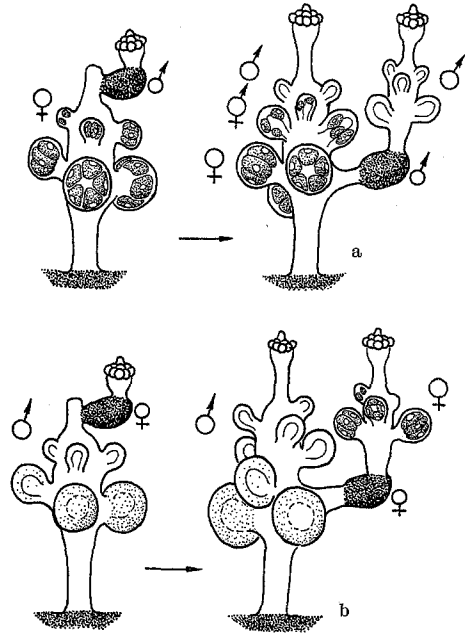


Abb. 42. Kombinierte Versuche zur Frage der Sexualchimären: 1. Einfluß eines in die Keimzone implantierten, gegengeschlechtlichen Stolonenplattenstückes auf das Geschlecht des Wirtsblastostyls: a Der ♀ Blastostyl wird durch das genetisch ♂ Implantat zu ♂ „umgestimmt“. b Der ♂ Blastostyl bewahrt dagegen sein Geschlecht unverändert. (Zwischen das Stolonenplattenstück und den Wirt schiebt sich jeweils eine kurze Zweitbildung ein.) 2. Gleichzeitig wurde jeweils das Köpfchen des Wirtes abgeschnitten und dem in die Keimzone implantierten, gegengeschlechtlichen Stolonenplattenstück aufgepfropft (42a u. b). Zwischen das Stolonenplattenstück und das Köpfchen schiebt sich der fehlende Polypenrumpf ein. Dieser nimmt das Geschlecht des Stolonenplattenstückes an, unabhängig vom Geschlecht des Blastostyls, dem das Köpfchen entstammt

Implantates peripherwärts aus. Gonozooide in diesem Bereich entwickelten sich zu transitorischen Intersexen. Offenbar schwärmten vom Implantat J-Zellen in das Wirtsgewebe aus und trugen ihr Herkunftsgeschlecht in die benachbarten Blastostyle des Wirtes.

In ♂ Stöcke setzte ich nur ♀ Stolonplattenstücke ein, die bereits Polypenknospen trugen. Entwickelten sich diese zu Blastostylen, so realisierten sie das Herkunftsgeschlecht nur dann, wenn das Implantat mindestens 1 mm² groß war und einströmende, wirtseigene ♂ J-Zellen bis zum Zeitpunkt der Geschlechtsreife nicht bis zur Basis des Polypen vordringen konnten. Später übernahmen sie das ♂ Wirtsgeschlecht.

6. Die Ursachen der Dominanz des ♂ Geschlechtes

Intersexe Geschlechtsschimären entstehen nur, wie vorstehende Versuche belegen, wenn J-Zellen beiderlei Geschlechts in die Keimzonen gelangen. Das ♂ Geschlecht erweist sich in jedem Fall als das stärkere. Das ♀ Geschlecht wird zurückgedrängt. Welches sind die Gründe für die größere Penetranz des ♂ Geschlechtes?

Um die Wanderungsgeschwindigkeit der J-Zellen zu bestimmen, hatte ich ♂ Geschlechtspolypen unterhalb ihrer Keimzone durchgeschnitten und das amputierte orale Stück durch ein ♀ Blastostyloberteil ersetzt. Zum Aufpropfen wählte ich je ein Oberstück mit 0, 1, 3, 5 und 8 Gonophoren. Der Weg, den die ♂ J-Zellen zu durchmessen hatten, um in die ♀ Keimzone zu gelangen, war folglich verschieden lang. Unter Berücksichtigung der Länge, die das aufgepropfte Stück auf dem Wirtsrumpf gewachsen war, errechnete ich aus den Zeitdifferenzen, die sich aus den unterschiedlichen Zeitpunkten des Geschlechtsumschlages bei den einzelnen Versuchstieren ergaben, mit 50 μ pro Tag einen ungefähren Wert der Wanderungsgeschwindigkeit.

Bedeutsamer als dieser Befund war folgende, hierbei gemachte und für das Verständnis des Geschlechtsumschlages entscheidende Feststellung: Die Geschwindigkeit, mit der im ♂ Geschlecht Gonophore gebildet werden und heranreifen, ist etwa viermal so groß wie im ♀ Geschlecht. Der jüngste Gonophor am ♂ Wirtsrumpf überholte in der Regel in seiner Entwicklung mindestens vier vom ♀ Pflopfteil mitgebrachte, schon weiter entwickelte Gonophore. Pflopfte ich umgekehrt einem ♀ Rumpf ein ♂ Oberteil auf, so kamen auf einen geplatzen ♀ Gonophor drei bis vier neugebildete ♂. Berücksichtigt man, daß ♂ Tiere die drei- bis vierfache Anzahl von Keimzellen in ihrem Entoderm auf Lager haben als ♀ Tiere, so ergibt sich:

In der Keimzone entstehen in der Zeiteinheit mindestens zwölfmal so viele Spermatogonien wie Oozyten. (Nach ihrer Verfrachtung in den Gonophor vermehren sich die ♂ Geschlechtzellen noch weiter, die ♀ nicht.)

Daraus ergeben sich folgende Konsequenzen:

1. Dringen in ein ♀ Gonozooid ♂ determinierte J-Zellen ein, so entwickeln sich neben Oozyten Spermatogonien, die sich sehr rasch ver-

mehren. Der starke Anstieg der Keimzellenzahl bedingt eine raschere Folge neugebildeter Gonophore. Dabei kann, da die Produktion der ♀ Keimzellen nicht mit der Vermehrung der Spermatogonien Schritt hält, nicht jeder Gonophor mit der normalen Anzahl von Oozyten (vier bis sieben) versorgt werden. Die Anzahl der Oozyten pro Gonophor sowie ihr Reifegrad muß zwangsläufig abnehmen.

2. Die Oozyten benötigen zu einem ungehinderten Wachstum einen großen Entfaltungsraum. Sie sind an der Stützlamine verankert und lagern zwischen den lockeren Zellen des Entoderms. Die sich rasch vermehrende Zahl der Spermatogonien macht ihnen ihren Platz streitig und verdrängt sie aus ihrem entodermalen Lager. Diese Aussage rechtfertigt das in Abb. 43 gezeigte, histologische Bild. Die in den Gastralraum abgedrängten Oozyten degenerieren.

Ein humoraler, hemmender Einfluß der ♂ Keimzellen auf die Entwicklung der ♀ Geschlechtsprodukte ist daneben denkbar, aber weder nachgewiesen noch für die Interpretation der Beobachtungen notwendig.

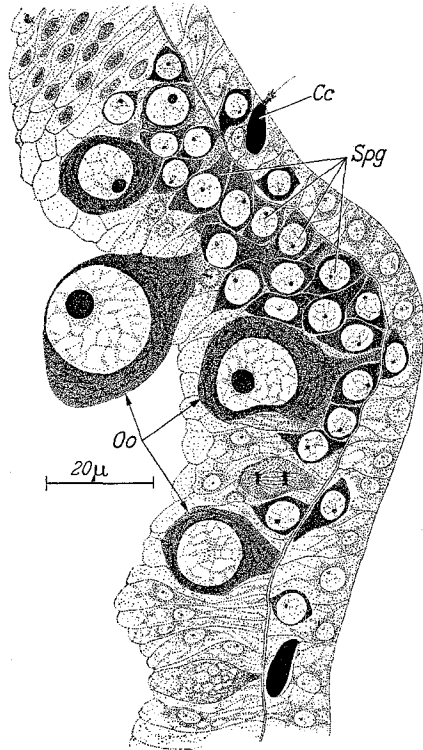


Abb. 43. Längsschnitt durch die Keimzone eines intersexen, chimären Blastostyls. Kombiniert aus zwei Schnitten (8). Die Spermatogonien (*Spa*) verdrängen die Oozyten (*Oo*) aus ihrem entodermalen Lager und bewirken dadurch den Umschlag zum männlichen Geschlecht

III. Diskussion der Ergebnisse

Auf Grund seiner Versuche zur Vererbung der Intersexualität hatte C. HAUENSCHILD (1954) für *Hydractinia echinata* erblich bedingte Geschlechtsbestimmung angenommen. Die geschlechtliche Identität auf dem Zweizellenstadium isolierter Blastomere und der aus ihnen gezogenen Klone erhärtete diese Annahme.

Die hier durchgeführte Analyse der Geschlechtsschimären bestätigt den genetischen Charakter der Geschlechtsbestimmung. Die erzielte Befunde beweisen eine feste, irreversible Determination des Geschlechtes

der J-Zellen. Der beobachtete Geschlechtsumschlag beruht nicht auf einer Umstimmung der Differenzierungsrichtung der ♀ Keimzellen; vielmehr werden die wirtseigenen Keimzellen von den eingewanderten, mitotisch stärker aktiven Keimzellen des ♂ Partners, die ihr Herkunftsgeschlecht auch im Fremdgewebe bewahren, verdrängt.

Bei der streng diözischen, in ihrem sexuellen Charakter fest determinierten *Pelmatohydra oligactis*, erzielte WIESE (1953) durch Propfungen ebenfalls regelmäßig den Geschlechtsumschlag eines Teiles der heterosexuellen Propfchimäre, wobei sich bei gleicher Gewebequantität meistens das ♂ Geschlecht als das stärkere erwies. WIESE nimmt an, bei der Konkurrenz zweier geschlechtlicher Tendenzen besäße die eine gegenüber der anderen die größere Durchschlagskraft, die Determination im umschlagenden Teil würde aufgehoben und ihm eine gegensätzliche Differenzierungsrichtung aufgezwungen. Obwohl er für die Normalentwicklung des Geschlechtes einen Faktor verantwortlich macht, „der in seiner Wirkung den bei anderen Objekten als Realisatoren nachgewiesenen Genen entspricht“, schließt er nach seinen entwicklungsphysiologischen Befunden auf frühzeitige, modifikatorische Geschlechtsbestimmung. Die Wirkung einer geschlechtlichen Tendenz stellt sich WIESE in einer durch sie beeinflussten Bildung termonartiger Substanzen vor. E. PIRARD (1961) vereinigte längs aufgeschlitzte Ganztiere von *Hydra fusca* und stellte ebenfalls Vermännlichung fest. Auch sie interpretiert die Masculinisation als Ergebnis hormoneller Einflußnahme der ♂ Hälfte auf den ♀ Partner und schließt auf nicht genetische Geschlechtsbestimmung.

Abgesehen davon, daß eine sexuelle Determination auf der Grundlage hormonaler Wirkungen kein Beweis für modifikatorische Geschlechtsbestimmung ist, rechtfertigt nach meinen Untersuchungen ein Geschlechtsumschlag bei Hydrozoen-Chimären weder den Schluß auf modifikatorische Geschlechtsbestimmung noch den Schluß auf Termone. J-Zellen unterliegen dem Einfluß des Wirtes insofern, als sie innerhalb seiner Keimzone zu Geschlechtszellen determiniert werden. Die Information, zu welcher Art von Keimzellen sie sich zu entfalten haben, ob zu Eiern oder zu Spermien, diese Information bringen sie vom Spenderstock mit und ist Teil ihres Erbgutes.

Zusammenfassung

1. Die meristematische Stolospitze kann bei Berührung ruhende Gewebezellen zu erneuten mitotischen Teilungen anregen. Diese Fähigkeit erleichtert die Anastomosenbildung, die zur Entwicklung einer geschlossenen Stolonenplatte führt.

2. Die Bildung von Schutzstacheln, welche Emergenzen des Peridermskeletes darstellen, wird durch Verletzungen ausgelöst. In deren Folge sezerniert das erneuerte Gewebe in erhöhtem Maße Peridermsubstanz.

3. Die Stolonenplatte dient als Reservoir für J-Zellen und Cnidocyten. Im Stockinnern bilden die J-Zellen dichte Lager; dem Randbereich zu fällt ihre Zahl auf Null ab. Im Zuge einer Regenerationshistogenese im inneren Plattenbereich werden J-Zellen verbraucht. Tochterpolypen entstehen unabhängig vom Verteilungsmuster der J-Zellen. Der Aufbau der Knospenblasteme beginnt mit lokalen Zellteilungen im Dach der Entodermkanäle.

4. Das Köpfchen der Blastostyle besitzt exkretorische Funktion. Eine im Lumen des Halses schlagende Wimperflamme führt ihm Abfallstoffe zu. (Exkretionsorgane bei Hydroidpolypen bislang unbekannt.)

5. Tentakulozooide und Spiralzooide sind Modifikationsformen der beiden Grundtypen, der Nährpolypen (Gastrozooide) und der Geschlechtspolypen (Blastostyle, Gonozooide). Die Differenzierung junger Blastostyle zu Spiralzooiden wird durch einen spezifischen, vom Einsiedlerkrebs ausgehenden Reiz ausgelöst. Frühzeitig seinem Einfluß entzogen, können sie sich zu Geschlechtspolypen zurückverwandeln. Tentakulozooide sind Abkömmlinge der Nährpolypen. Ihre Bildung läßt sich auch bei gezüchteten Stöcken auslösen.

6. Die unterschiedliche Ausprägung der beiden Grundformen, der Gastrozooide und der Gonozooide, wird durch endogene Entwicklungsfaktoren realisiert. Die Determination vollzieht sich spätestens während der Aufwölbung des Blastems zur Knospe: Isolierte Knospen sind zur Selbstdifferenzierung fähig. Vor dem Zeitpunkt der Aufwölbung getrennte Viertelsblasteme können sich noch unterschiedlich, teils zu Blastostylen, teils zu Gastrozooiden entwickeln.

7. Im oralen Bereich jedes Blastostyls ist zeitlebens ein Faktor zugegen, der im Experiment als Induktor wirksam werden kann. Noch tentakellose Nährpolypenknospen und ihres Peristoms beraubte, regenerierende Nährpolypen können durch ihn zu Geschlechtspolypen umdeterminiert werden. Die einzelnen Längszonen werden auf ihre Induktionsfähigkeit geprüft und dabei ein von oral nach aboral abfallender Gradient des Induktionsvermögens festgestellt.

8. Der blastostyldeterminierende Faktor ist vereinzelt bereits in Knospen nachzuweisen, deren Schicksal noch unbekannt ist. Unter seinem Einfluß dürfte sich die Differenzierung der Knospe zum Blastostyl vollziehen.

9. Mit dem Induktionsvermögen steht die Fähigkeit der einzelnen Blastostylabschnitte in Beziehung, nach Transplantation in die Stolonenplatte einen neuen Blastostyl zu entwickeln. Der Neubildungsprozeß gibt das Erscheinungsbild einer Regeneration; es beteiligt sich jedoch umgebendes Gewebematerial, angeregt durch das Transplantat, am Aufbau des neuen Blastostyls. Auch die Regenerationsfähigkeit amputierter Blastostyle ist mit ihrem Induktionsvermögen korreliert. Das Regenerationsvermögen läßt sich nicht auf einen entsprechenden

J-Zellengehalt zurückführen. J-Zellen-haltige, aber induktorfremie Reststücke (Blastostylbasis) regenerieren nicht.

10. Von einer durch implantierte Marken lokalisierbaren interkalaren Bildungszone bewegt sich beständig proliferiertes Zellmaterial beiden Polen der Körperachse zu, wo es sukzessive resorbiert wird. Dieses Zellmaterial durchläuft dabei nacheinander verschiedene, den einzelnen Längsregionen entsprechende Differenzierungszustände.

11. Implantation eines Stolonenplattenstückes (Basalpol) oder eines Blastostylköpfchens (Oralpol) in die Körperwand eines Blastostyls führt zu einer Doppelbildung, indem sich zwischen Implantat und Wirt ein vom Einpflanzort ausgehender Zweitumpf einschiebt. Die Zweitbildung bringt das Implantat in eine seiner polaren Struktur gemäße Distanz vom Einpflanzort und bildet selbst jeweils die Strukturen aus, die normalerweise zwischen der Implantationsstelle und dem Herkunftsort des Implantates liegen. Gleichartige Doppelbildungen lassen sich auch bei Nährpolypen erzeugen.

12. Die Bedeutung des Induktionsgradienten in der Normalentwicklung wird im Hinblick auf die permanente Materialwanderung im Polypkörper unter Berücksichtigung der erzeugten Doppelbildungen erörtert. Seine Aufgabe dürfte es sein, trotz der beständigen Materialbewegung eine konstante polare Struktur des Polypen zu gewährleisten.

13. Im Falle der Konkurrenz ist der Induktor der Blastostyle dominant über den der Nährpolypen.

14. In andere Stöcke transplantierte Blastostyle gleichen sich in ihrem Reifezustand den wirtseigenen Blastostylen an.

15. Bei der Kombination zweier Ableger gegengeschlechtlicher Klone können geschlechtlich einheitliche Stöcke oder Sexualchimären entstehen, wobei im Grenzbereich des ♀ und des ♂ Arealen transitorische Intersexe (Endgeschlecht: rein ♂) auftreten.

16. Eine Vereinheitlichung des Geschlechts kann zustande kommen, wenn die Ausgangsklone unter sich nicht voll gewebeverträglich sind. Das Gewebe eines Partners wird fortschreitend vom Gewebe des anderen ersetzt. Bei der Kombination unverträglicher Klone degeneriert der eine Stock, wenn es dem Partner gelingt, seine Stolone auf dessen Stolonenplatte zu schieben. Sexualchimären sind nur durch Vereinigung uneingeschränkt miteinander verträglicher Gewebesorten zu erzielen.

17. In verschiedenartigen Transplantationsexperimenten wird gezeigt: Intersexe Blastostyle entstehen nur, wenn in Blastostyle des ♀ Stockteiles J-Zellen des ♂ Stockteiles eindringen. Die Vermännlichung der Intersexe ist Folge der stärkeren Vermehrung der ♂ J-Zellen und Keimzellen, welche die wirtseigenen Oozyten aus dem Entoderm verdrängen. In ♀ Blastostyle gepflanztes J-Zellen-haltiges ♂ Material, gleich welcher Herkunft, bewirkt einen Geschlechtsumschlag des ♀ Wirtsblastostyls

zu ♂ über eine intersexe Phase. Weibliche J-Zellen vermögen sich in ♂ Blastostylen nicht oder höchstens vorübergehend durchzusetzen. J-Zellen-freies Material hat keinen Einfluß auf das Geschlecht des Wirtes, auch wenn es induzierend wirkt und Nährpolypen zu Geschlechtspolypen umdeterminieren kann. Es nimmt selbst das Wirtsgeschlecht an. Diese Befunde erhärten die Annahme einer genotypischen Geschlechtsbestimmung bei *Hydractinia echinata*.

Literatur

- AVSET, K.: The gonophore-development in the genus *Hydractinia* VAN BENEDEN. I. *Hydractinia echinata*. *Nyt. Mag. Zool.* 8, 25—33 (1959). (Hier Zusammenfassung früherer Arbeiten über Gonophorenentwicklung.)
- BALLARD, W.: The mechanism for synchronous spawning in *Hydractinia* and *Pennaria*. *Biol. Bull.* 82, 329 (1942).
- BERILL, N. J.: Growth and form in gymnoblastic hydroids. VI. Polymorphism within Hydractiniidae. *J. Morph.* 92, 241—274 (1953):
- BRAVERMAN, M.: Differentiation and commensalism in *Podocoryne carnea*. *Amer. Midland Nat.* 63, 223—225 (1960).
- BURNETT, A.: The growth process in *Hydra*. *J. exp. Zool.* 146, 21—83 (1961). (Hier Zusammenfassung früherer Arbeiten über *Hydra*.)
- The maintenance of form in *Hydra*. In: „Regeneration.“ 20. Growth Symposium, New York ed. D. RUDNICK, p. 27—51, 1962.
- CAZAUD, CL.: Facteurs de la morphogénèse chez un hydraire polymorphe, *Hydractinia echinata*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 247, 2195 (1958).
- CHILD, C., and L. HYMAN: Axial gradients in the hydrozoa. *Biol. Bull.* 36, 183—221 (1919).
- DANIAUD, J.: Sur la morphogénèse des dactylozooides d'*Hydractinia echinata*. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 233, 758 (1951).
- GOETSCH, A.: Geschlechtsbestimmung bei *Hydra*. *Biol. Zbl.* 46, 569—577 (1926).
- HADZI, J.: Die Entstehung der Knospe bei *Hydra*. *Arb. zool. Inst. Wien* 18, 1—20 (1910).
- HARTMANN, M.: Die Sexualität, S. 202—210. Stuttgart 1956.
- HYMAN, L. H.: *The Invertebrates I.* New York 1940.
- HAUENSCHILD, C.: Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen über Intersexualität und Gewebeverträglichkeit bei *Hydractinia echinata*. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* 147, 1—41 (1954.)
- Über die Vererbung einer Gewebeverträglichkeitseigenschaft bei dem Hydroidpolypen *Hydractinia echinata*. *Z. Naturforsch.* 11, 132—138 (1956).
- , u. A. KANELLIS: Experimentelle Untersuchungen an Kulturen von *Hydractinia echinata* zur Frage der Sexualität und Stockdifferenzierung. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* 64, 1—96 (1953).
- MÜLLER, W.: Untersuchungen zur Stockdifferenzierung von *Hydractinia echinata*. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* 69, 317—324 (1961).
- Untersuchungen zur Ablaufrhythmik des Hydroidpolypen *Hydractinia echinata*. *Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.* 69, 325—332 (1961).
- MUTZ, E.: Transplantationsversuche an *Hydra*. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* 121, 210—271 (1930).
- PIRARD, E.: Induction sexuelle et intersexualité chez une hydre gonochorique (*Hydra juxca*) par la methode des greffes. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 253, 1997—1999 (1961).

- PLACE, J.: The morphology, structure and development of *Hydractinia echinata*. Trans. Amer. micr. Soc. **36**, 83—91 (1917).
- TARDENT, P.: Axiale Verteilungsgradienten der interstitiellen Zellen bei *Hydra* und *Tubularia* und ihre Bedeutung für die Regeneration. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **146**, 593—649 (1954).
- Wiederholte Regeneration bei *Tubularia*. Publ. Staz. zool. Napoli **28**, 367—396 (1956).
- TEISSIER, G.: L'origine multiple de certaine colonies d'*Hydractinia echinata* et ses consequences possibles. Bull. Soc. zool. France **54**, 645—647 (1929).
- TESSENOW, W.: Untersuchungen an den interstitiellen Zellen von *Pelmatohydra oligactis* und *Cordylophora caspia* unter besonderer Berücksichtigung spezifischer Färbemethoden. Protoplasma (Wien) **60**, 563—592 (1960).
- WEILER-STOLT, B.: Über die Bedeutung der interstitiellen Zellen für die Entwicklung und Fortpflanzung mariner Hydroiden. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl. Org. **152**, 398—454 (1960).
- WIESE, L.: Geschlechtsverhältnisse und Geschlechtsbestimmung bei Süßwasserhydroiden. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **64**, 55 (1953).
- YOSHIDA, M.: Spawning in coelenterates. Experientia (Basel) **15**, 11—12 (1959).

Dr. WERNER MÜLLER, 74 Tübingen, Hölderlinstraße,
Zoophysiologisches Institut der Universität