

Aus der Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer (Direktor: M. P. BOUGIS),
dem Biološki Institut JAZU, Rovinj/Jugoslawien (Leiter: Dr. MIROSLAV NIKOLIĆ)
und dem Zoologischen Institut der Universität Tübingen
(Direktor: Prof. Dr. K. G. GRELL)

ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ECHINIDEN

(TOPOCHEMIE DER BLASTULA UND GASTRULA, ENTWICKLUNG DER
BILATERAL- UND RADIÄRSYMMETRIE UND DER COELOMDIVERTIKEL)

Von

GERHARD CZIHAK

Mit 19 Textabbildungen (69 Einzelbilder)

(Eingegangen am 26. März 1962)

Mit Befunden von HÖRSTADIUS, PEASE, BERG, RUNNSTRÖM und nach eigenen Beobachtungen war die Hypothese entwickelt worden, daß die Differenzierung eines gradientenbestimmten Oralfeldes die Entwicklung der Bilateralsymmetrie bedingen könnte (CZIHAK 1962; abgeschlossen 1960). Einige Befunde, die diese Hypothese stützen, wurden vor kurzem in dieser Zeitschrift publiziert (CZIHAK 1961a). Nunmehr sollen weitere Untersuchungsergebnisse vorgelegt werden, die geeignet sind, die Annahmen von der Entwicklung der Bilateralsymmetrie zu bestätigen. Es handelt sich dabei nicht um eine Auswahl positiver Befunde, da alle bisherigen Beobachtungen und Experimente für die Richtigkeit dieser Hypothese sprechen.

Herzlich danken möchte ich den Direktoren und dem Personal der meeresbiologischen Stationen, die mir jede Hilfe angedeihen ließen. Für vielfältige Unterstützungen danke ich besonders Herrn Prof. GRELL und der Deutschen Forschungsgemeinschaft; für die Möglichkeit, histochemische Arbeiten auszuführen, Herrn Dr. GOSLAR.

An Abkürzungen werden stets verwendet:

Std = Stunden; p.f. = nach der Befruchtung; Mes I = primäres Mesenchym; Mes II = sekundäres Mesenchym; M = Methode, wie sie im folgenden Kapitel beschrieben wird.

Material und Methoden

Der mediterrane *Paracentrotus lividus* (Villefranche und Rovinj) wurde längstens 3—4 Tage in größeren Behältern mit Seewasserdurchfluß gehalten; *Psammechinus miliaris* von Helgoland geschickt (Transportdauer durchschnittlich 2 Tage), in reines Seewasser umgesetzt und je fünf Stück in 3—4 Liter reinem Seewasser mit Belüftung höchstens 2—3 Tage gehalten.

Zur Gewinnung der Geschlechtsprodukte wurden die Tiere stets äquatorial eröffnet, mit Seewasser abgespült und nach Anstechen der Gonaden wiederholt mit reinem Seewasser übergossen. 10 V Gleichstrom hatte keinen Erfolg, KCl-Injektion wurde wegen der möglichen Beeinflussung der Geschlechtsprodukte nicht verwendet.

Als Seewasser wurde ausschließlich natürliches verwendet, das von der Oberfläche des freien Meeres geholt und filtriert, in Tübingen außerdem zweimal auf 70° C erhitzt wurde.

Bis zum Schlüpfen blieben die befruchteten, mehrfach gewaschenen Eier in Boverischalen von 10 cm Durchmesser in etwa 100 ml Seewasser.

Alle Altersangaben beziehen sich auf eine Kulturtemperatur von 18—20° C. Die Blastulae schlüpfen etwa 10 Std p. f., die Mes I-Bildung dauert von 12—14 Std

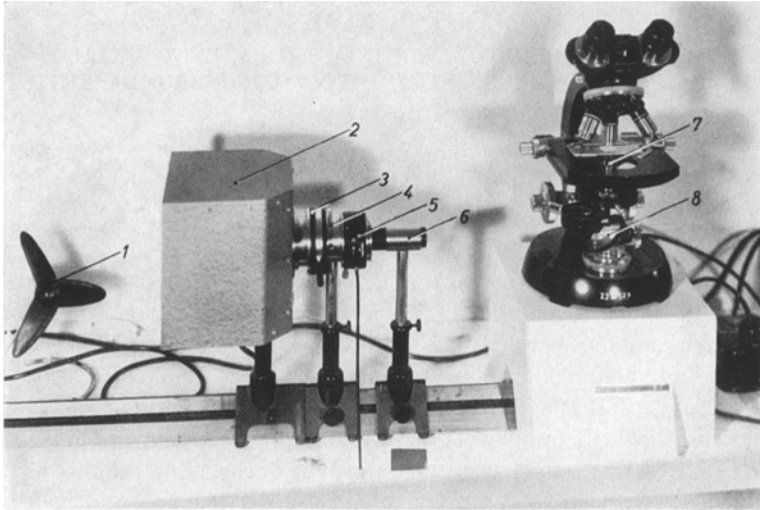


Abb. 1. UV-Mikrostrahlstichapparat. 1 Ventilator, 2 Lampengehäuse, 3 Quarzkollektor 4 Sperrfilter, 5 Verschuß, 6 UV-Okular, 7 UV-Objektiv 40 anstelle des Kondensors 8 Spiegel über dem Lichtaustritt

p. f., Gastrulation von 16—20 Std p. f. Eine ausgeprägte Differenz in der Entwicklungsgeschwindigkeit von *Psammechinus* und *Paracentrotus* konnte ich nicht finden.

M 1. Für die chemischen Experimente wurden meist 9 ml Seewasser mit Keimen in Boverischalen von 5 cm Durchmesser mit 1 ml der Reagenslösung versetzt und gut gemischt. Zur Beendigung der Einwirkung wurden die Keime durch leichtes Zentrifugieren abgesetzt und mindestens dreimal mit reinem Seewasser gewaschen. Die Kontrollen im zweiten Zentrifugierglas waren der gleichen Prozedur ausgesetzt. Folgen der mechanischen Behandlung traten nicht auf.

M 2. Zur Janusgrün B-Vitalfärbung fand eine Endkonzentration von 1:100 000 in 2stündiger Einwirkungszeit Verwendung.

M 3. Die DPN-Diaphorase oder Cytochrom c-Reduktase wurde mit der bei PEARSE (1961, S. 908) angegebenen Methode von SCARPELLI, HESS und PEARSE nachgewiesen.

M 4. Die unspezifische Esteraseaktivität wurde mit der bei PEARSE (1961, S. 888) angegebenen α -Naphthylazetatmethode nachgewiesen.

M 5. Nachdem operative Eingriffe mit dem Mikromanipulator wegen der zähen und gallertigen Konsistenz der Keime unmöglich sind, wurde zur Ausschaltung von Keimteilen und Organanlagen ein dafür konstruierter UV-Mikrostrahlstichapparat (CZIHAK 1961b) verwendet (Abb. 1). Er besteht im Prinzip aus zwei gegeneinander gerichteten Mikroskopen. Durch ein umgekehrtes Quarz-

optik-Mikroskop wird eine Blende beliebiger Form einige 100mal verkleinert im Objekt abgebildet und durch das normale Beobachtungsmikroskop eingestellt und kontrolliert.

Der Strahlengang ist folgender:

Lichtquelle ist der Quarzbrenner Q 81 (Quarzlampen G.m.b.H., Hanau) im Lampengehäuse (2) von einem Ventilator (1) gekühlt.

Kollektor (3).

Sperrfilter (4) zur Einstellung des Bestrahlungspunktes ohne UV-Licht.

Verschluß mit Drahtauslöser (5).

UV-Okular (6), auf dessen Augenlinse (zur Lampe gekehrt!) der Quarzbrenner mit Hilfe des Kollektors abgebildet wird.

Umlenkspiegel (8) über dem Lichtaustritt im Fuß des Mikroskopes aus metallbedampftem Glas. Das von links kommende UV-Mischlicht wird praktisch total reflektiert, das Beobachtungslight aus dem Mikroskopfuß nur wenig gedämpft.

UV-Objektiv (7) anstelle des Kondensors. Die Frontlinse ist dem zwischen zwei Quarzdeckgläsern oder über einem Quarz- und unter einem Glasdeckglas liegenden Objekt zugekehrt.

Normales Beobachtungsmikroskop.

Zur Bestrahlung wurden die Keime also zwischen zwei Deckgläser und diese auf einen entsprechend ausgeschnittenen Metallobjektträger gebracht. Als Deckglasstützen wurden mit bestem Erfolg Perlon- und Trevirafäden (von den Farberwerken Hoechst freundlichst zur Verfügung gestellt) gebraucht. Die notwendige Dicke erhält man durch Wickeln eines Ringes mit einem bis vielen Umgängen.

Nach der Bestrahlung wurden die beiden Deckgläser am Oberflächenhäutchen getrennt, indem eines von beiden benetzt wurde. Die bestrahlten Keime wurden meist in kleinen Embryoschalen gehalten. Erhebliche Verluste sind zu verzeichnen, wenn die bestrahlten Stellen mit dem Oberflächenhäutchen in Kontakt kommen, worauf der ganze Keim buchstäblich zerrissen wird.

M6. Die Deckglasstützen aus Kunststoffäden haben sich auch für Dauerpräparate bewährt. Bevorzugte Einschlußmittel waren Nelkenöl oder Benzoesäurebenzylester mit hervorragendem Brechungsindex, weil beide nicht härten und eine Verschiebung und Drehung des Objektes ermöglichen. Zur Überführung in verschiedene Medien fanden kleine Röhrchen von etwa 2 ml Inhalt Verwendung; nach dem Absinken der Larven wurde die überstehende Flüssigkeit mit Wasserstrahlpumpe und Pipette abgesaugt und ersetzt.

Ergebnisse

Schon früher (CZIHAK 1961 a) war kurz darauf hingewiesen worden, daß die *Cytochromoxydaseaktivität* — soweit sie mit Janusgrün B nachweisbar ist — an einer Stelle im animalen Bereich der Blastula ihr Maximum hat (Abb. 2a). Daß es sich bei dieser Stelle um das prospektive Oralfeld handelt, kann man erschließen, wenn man die Stadien von der Gastrula, bei der das Oralfeld morphologisch ja ausgeprägt ist, zurückverfolgt. Auch bei der Gastrula (Abb. 2c) liegen die durch Janusgrün B gefärbten Mitochondrien in den Zellen des Oralfeldes dichter; und bei der Blastula ist durch Drehung der Keime eine Stelle zwischen Scheitelplatte und Äquator zu finden, in der die gefärbten Mitochondrien am dichtesten liegen. Die Zellkerne sind dabei deutlich als „leere“ Stellen zu erkennen (Abb. 2). Die Mitochondriendichte nimmt — soweit man das

nach Schätzungen sagen kann — von der 12stündigen Blastula bis zur 24stündigen Gastrula kaum zu. Genaue Zahlenangaben verdanken wir GUSTAFSON und LENICQUE (1952) nach Untersuchungen mit Nilblausulfat-Vitalfärbung (!) und Auszählung der Mitochondrien in Quadratnetzen. Nach diesen Befunden nimmt die Dichte der färbaren Mitochon-

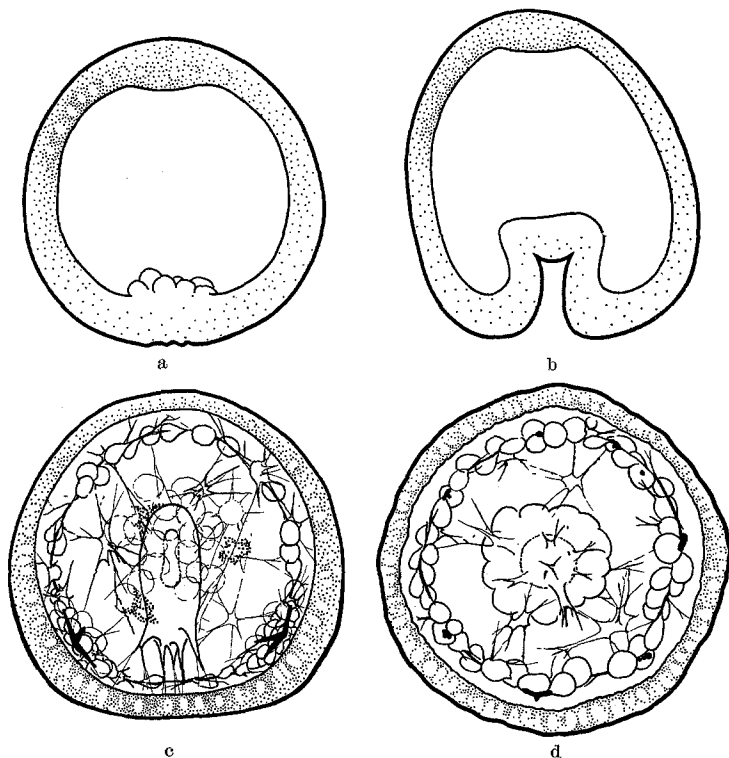


Abb. 2a—d. Janusgrün B-Vitalfärbung (M2). a Blastula, 14 Std p.f., b Gastrula, 18 Std p.f., beide von der Seite gesehen, c Gastrula 22 Std p.f., von oben gesehen, Mes II-Bildung abgeschlossen, Urdarm in Kontakt mit dem Oralfeld; alle von *Paracentrotus lividus* (Rovinj), d Gastrula von *Psammechinus miliaris*, 16 Std p.f., 3—4 Std p.f. mit 0,01%iger Lösung von 8-Chloroxanthin (M1) behandelt. Anhäufung von Janusgrün B-färbbaren Mitochondrien im prospektiven Oralfeld (a, b, c); gleichförmige Verteilung bei radiärsymmetrischen Larven, mit mehreren, schwarz gezeichneten Skelettelementen

drien langsam zu und erreicht im Alter von 15 Std das erste Maximum (Abb. 3a). Allerdings dürften bei den 7- und 10stündigen Keimen die Mitochondrien in Seitenlage gezählt worden sein, denn schon bei 6stündigen Keimen von *Psammechinus* ist eine deutliche Häufung im animalen Bereich zu finden. Später ist nach den Angaben dieser Autoren die Differenz noch deutlicher. Eine Gastrula von wahrscheinlich 18 Std zeigt ein deutliches Maximum in der Nähe des animalen Poles. GUSTAFSON und LENICQUE war das offenbar nicht aufgefallen, denn sie zeichnen

die die Zählwerte verbindende Kurve (ihre Fig. 3) gerade weiter (in Abb. 3b strichliert), obwohl diese Werte eine deutliche Abnahme zum animalen Pol hin zeigen (ausgezogene Linie in Abb. 3b¹).

Eine Bestätigung dafür, daß die Mitochondriendichte mit der Oral-feldentwicklung zusammenhängt, erbringt die Janusgrün B-Vitalfärbung radiärsymmetrischer Larven, auf die weiter unten noch zurückzukommen sein wird. 16stündige Larven von *Psammechinus*, die zwischen 3 und

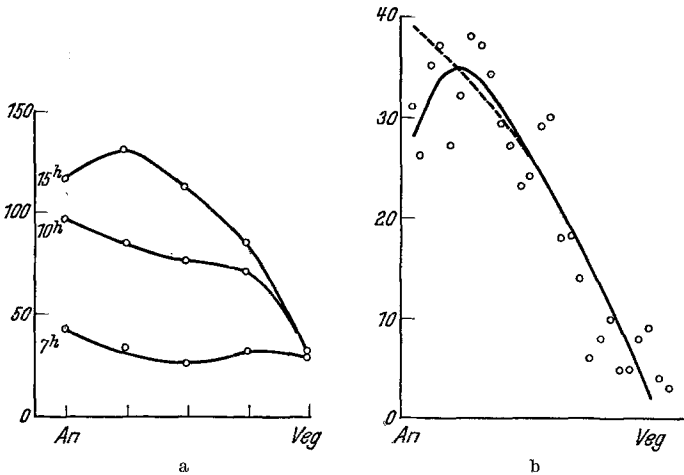


Abb. 3 a u. b. Verteilung der Mitochondrien zwischen animalen (An) und vegetativem (Veg) Pol nach Nilblausulfatfärbung und Auszählung mit dem Netzkular. Nach GUSTAFSON und LENIQUE (1952), b etwas verändert: die ausgezogene Linie entspricht den Zählwerten besser als die von den Autoren gezeichnete, hier gestrichelte Linie. Das Mitochondrienmaximum liegt etwas unter dem animalen Pol; gibt das Ergebnis von Abb. 2 b in Zahlenwerten wieder

4 Std p.f. mit 0,01 %iger 8-Chloroxanthinlösung behandelt wurden, lassen keine Häufung von färbbaren Mitochondrien an irgendeinem Punkt im animalen Bereich erkennen (Abb. 2d). Bei solchen Keimen nimmt wie bei normalen die Mitochondriendichte zum vegetativen Pol hin ab.

Im Gegensatz zur Cytochromoxydase ist ein anderes Enzym, eine Dehydrogenase der Atmungskette, die *DPN-Diaphorase* oder *Cytochrom c-Reduktase*, das die Entfernung des Wasserstoffs vom DPN-H und die Übertragung eines Elektrons auf das Cytochrom c katalysiert, im prospektiven Ektoderm überhaupt nicht oder nur gelegentlich in einzelnen Zellen der Scheitelplatte (Abb. 4c) nachzuweisen. Eine besondere Aktivität dieses Enzyms zeigen dagegen die primären Mesenchymzellen

¹ In einer mir freundlicherweise von Prof. GUSTAFSON zur Verfügung gestellten noch unpublizierten Zeichnung zeigte die Verteilungskurve eine Spitze unter dem animalen Pol. Auf die Kritik dieser Befunde durch SHAYER 1955 und BERG, TAYLOR und HUMPHREYS 1962 wird in der folgenden Arbeit in diesem Archiv ausführlich zurückzukommen sein.

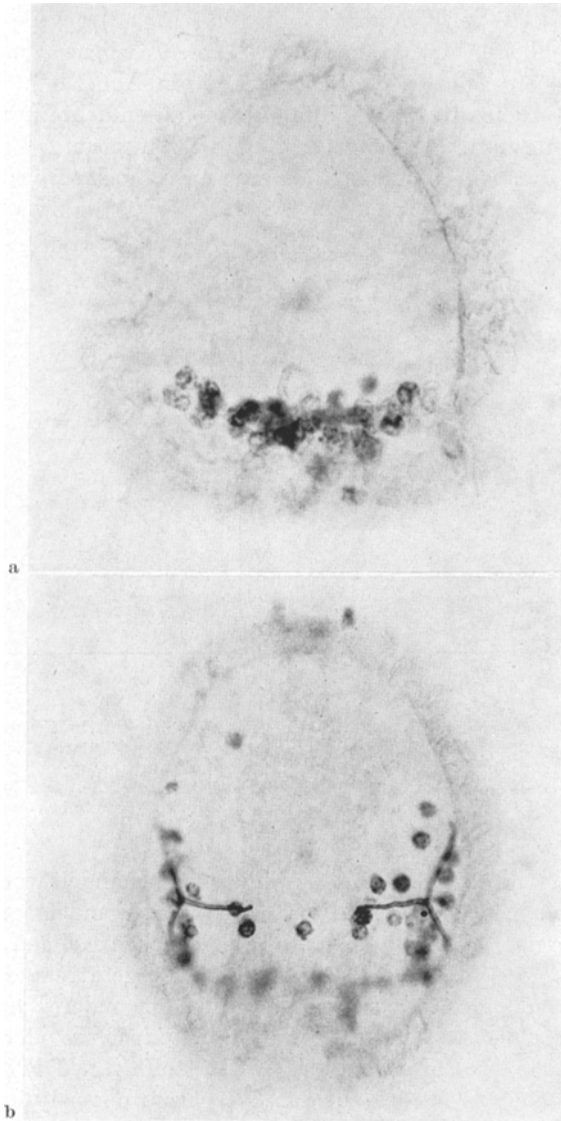


Abb. 4a u. b. Nachweis der DPN-Diaphorase mit MTT (M3) bei *Psammechinus miliaris*,
 a Blastula 14 Std p.f., b Gastrula 20 Std p.f. Starke Aktivität in den Mes I-Zellen,
 gelegentlich schwächere auch in Ektodermzellen (b)

(Abb. 4) schon während der Einwanderung ins Blastocoel (Abb. 4a) und bis zur Skelettbildung (Abb. 4c). Während alle übrigen Zellen noch stark mit Dotterkörnchen beladen in einem embryonalen Zustand verbleiben, sind die primären Mesenchymzellen die ersten ausdifferenzierten

Zellen mit einem Betriebsstoffwechsel, dessen erhöhter Energieumsatz in der Atmungsintensität seinen Ausdruck findet. Dieser durch den Enzymnachweis gefundene hohe Energieumsatz ist keineswegs nur für die Skelettbildung charakteristisch, da er schon einige Stunden vor derselben nachzuweisen ist (Abb. 4a, b).

Eine andere streng lokalisierte Enzymaktivität zeigt sich im Nachweis auf *unspezifische Esterasen*. Mit der Coelomdivertikelbildung beginnt die Differenzierung des Darmes durch eine leichte Einschnürung zwischen prospektivem Oesophagus und Magen. Gleichzeitig steigt die Aktivität der Esterasen und erreicht mit dem Alter von 32 Std (Abb. 5c) ihren Höhepunkt. Da zur gleichen Zeit die im Phasenkontrast sichtbaren Dotterkörnchen im vorderen Darmabschnitt schwinden (GUSTAFSON und KINNANDER 1960), dürften beide Vorgänge wohl im Zusammenhang stehen. Wenn das der Fall ist, dann erscheint es bemerkenswert, daß sich eine solche Esterase nicht auch an anderen Stellen, an denen Dotterproteinspaltung abläuft, nachweisen läßt.

Nachdem sich damit die Enzymtopochemie als ausgezeichnete Methode erwiesen hat, embryologische Differenzierungsvorgänge zu erfassen und zu charakterisieren, sind weitere Versuche in dieser Richtung in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. GOSLAR geplant.

Die eben biochemisch charakterisierten primären Mesenchymzellen bilden nach ihrer Einwanderung in das Blastocoel zuerst einen gleichförmigen Kranz um die beginnende Urdarmeinstülpung (vgl. Abb. 4a).



Abb. 5a—c. Nachweis unspezifischer Esterasen mit α -Naphthylazetat (M4) bei *Psammechinus miliaris*. a 26 Std p.f. während der Coelomdivertikelbildung; b 30 Std p.f., Coelomdivertikelbildung abgeschlossen, stärkere Aktivität; c 32 Std p.f., stärkste Aktivität.
Mg Magen, Oes Oesophagus,
Cdv Coelomdivertikel

Im Alter von 16—17 Std bilden sich in diesem Kranz zwei Gruppen dichtliegender primärer Mesenchymzellen zu beiden Seiten und etwas vor dem Urdarm (vgl. Abb. 2c), womit die Bilateralsymmetrie zum erstenmal in der bis dahin radiärsymmetrisch erscheinenden Gastrula

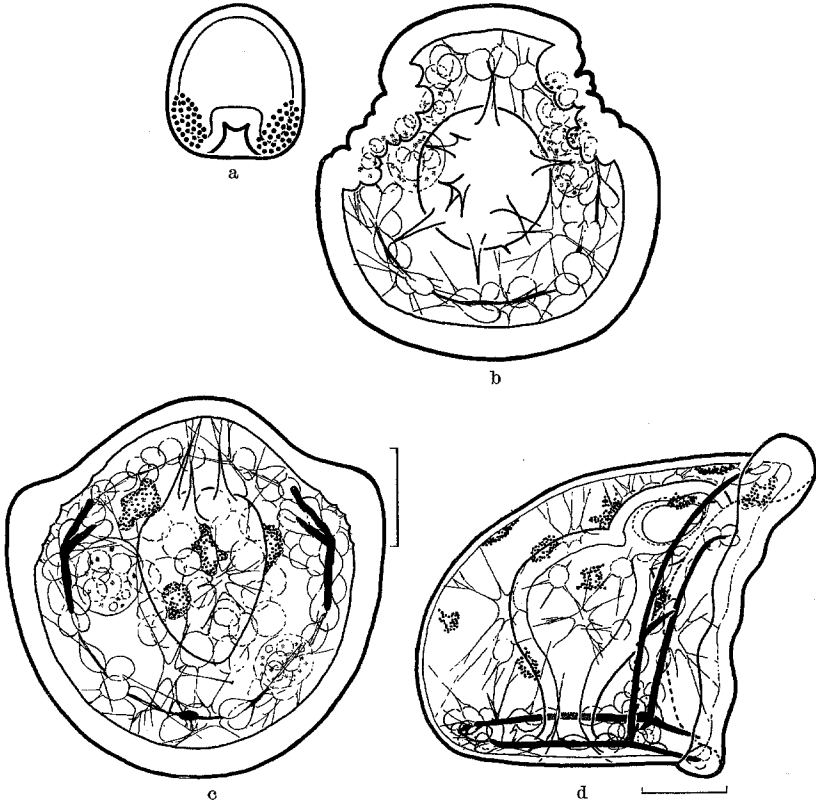


Abb. 6a—d. Zerstörung der lateralen Ektodermorte (a) und Skelettanlagen von *Psammachinus miliaris* 18 Std p.f. mit UV-Strahlen (M5); b 6 Std später, also 24 Std p.f.: Darminvagination weiter fortgeschritten, gegenüber Kontrollen verzögert. Bestrahlte Ektodermzellen nach außen abgestoßen. Zerstörte Mesenchymzellen degenerieren im Blastocoel; c 19 Std nach der Bestrahlung, also 37 Std p.f.: Bedeutende Verzögerung der Entwicklung! Laterale Ektodermorte und Skelettanlagen etwas weiter dorsal gebildet (Strich!). d Im gleichen Alter, aber weiter entwickelt: Darm in Differenzierung, Mund durchgebrochen, Coelomdivertikel in normaler Größe, nur Skelettzentren etwas nach dorsal verschoben

sichtbar wird. Es ist allerdings anzunehmen, daß sie schon zu einem früheren Zeitpunkt ausgeprägt war; entweder in der Feinstruktur oder nur in einer biochemischen Differenzierung.

Die Lage der Mesenchymzellgruppen wird offenbar von lateralen Ektodermorten (die sich durch verdicktes Epithel auszeichnen) bestimmt, denn bei den Keimblattchimären v. UBISCHS' (1939) sammeln sich art-

fremde, ins Blastocoel gebrachte Mesenchymzellen unter den verdickten Ektodermstellen des Empfängers. Außerdem zeigen Exogastrulae und urdarmlose Larven bekanntlich keine Störung der Bilateralsymmetrie und der zweiseitigen Gruppierung skelettbildender Zellen.

Es lag daher nahe anzunehmen, daß diese *lateralen*, vielleicht schon lange präformierten *Ektodermorte* die Ausprägung der *Bilateralsymmetrie* bedingen könnten. Im Ausschaltungsexperiment, bei dem die ventralen Körperseiten zu beiden Seiten des Urdarmes, wie in Abb. 6 a angegeben, durch UV-Strahlen zerstört wurden, läßt sich aber die Entwicklung zur Bilateralsymmetrie nicht unterdrücken. Die bestrahlten Ektodermzellen werden nach außen oder innen abgestoßen, die getroffenen Mesenchymzellen degenerieren im Blastocoel (Abb. 6 b). Schließlich entsteht nach einigen Stunden eine neue laterale Ektodermverdickung, unter der sich neue aus dem Mesenchymzellrest ventral und dorsal regenerierte Haufen skelettbildender Zellen sammeln, die normale Dreistrahler (Abb. 6 c) und später ein annähernd normales Skelett (Abb. 6 d) aufbauen. Die lateralen Ektodermorte sind etwa um den Betrag nach dorsal verschoben (in Abb. 6 c und d durch Striche angegeben), den die ausgestoßenen Zellen beanspruchen würden.

An der Lage der neugebildeten Mesenchymzellgruppen im Niveau des Mesenchymzellkranzes sowie an der Beziehung zum Oralfeld hat sich also durch die Ausschaltung der ersten Anlage nichts geändert, denn die neuen Zellgruppen entstehen in oralfeldnächster Position in demselben Niveau der animal-vegetativen Achse. Die Hypothese, daß Oralfeldentwicklung und laterale Gruppen skelettbildender Zellen korreliert sind, wurde schon früher entwickelt (CЗИНАК 1962) und dort auch die Beobachtung mitgeteilt, daß wandernde Mesenchymzellen vom sich ausbreitenden Oralfeld zurückgedrängt werden, daß die lateralen Ektodermorte etwa an den Schnittpunkten des Oralfeldrandes (später als Wimperschnur differenziert) mit dem Mesenchymzellkranz liegen (vgl. Abb. 8), der seinerseits wieder in einem bestimmten Niveau des animal-vegetativen Doppelgradientengefälles liegt und dementsprechend bei vegetativisierten Larven animalwärts verschoben wird (vgl. Abb. 9 a, b).

Nach dieser Hypothese muß mit der Störung der Oralfeldentwicklung auch die Differenzierung der lateralen Ektodermorte mit den darunterliegenden Mesenchymzellgruppen beeinflußt werden können.

Wenn bei 12- und 14stündigen Blastulae von *Psammechinus* und *Paracentrotus* Teile der animalen Hälfte oder die ganze animale Hälfte des Keimes durch UV-Bestrahlung zerstört werden, wird die Entwicklung der Bilateralsymmetrie in mehr oder weniger verkrüppelten Keimen nicht gestört. Offenbar hat sich zu diesem Zeitpunkt die Differenzierung des Oralfeldes subvisuell schon vollzogen. Bei 10stündigen Keimen hingegen wird durch die *Zerstörung der animalen Hälfte die Entwicklung*

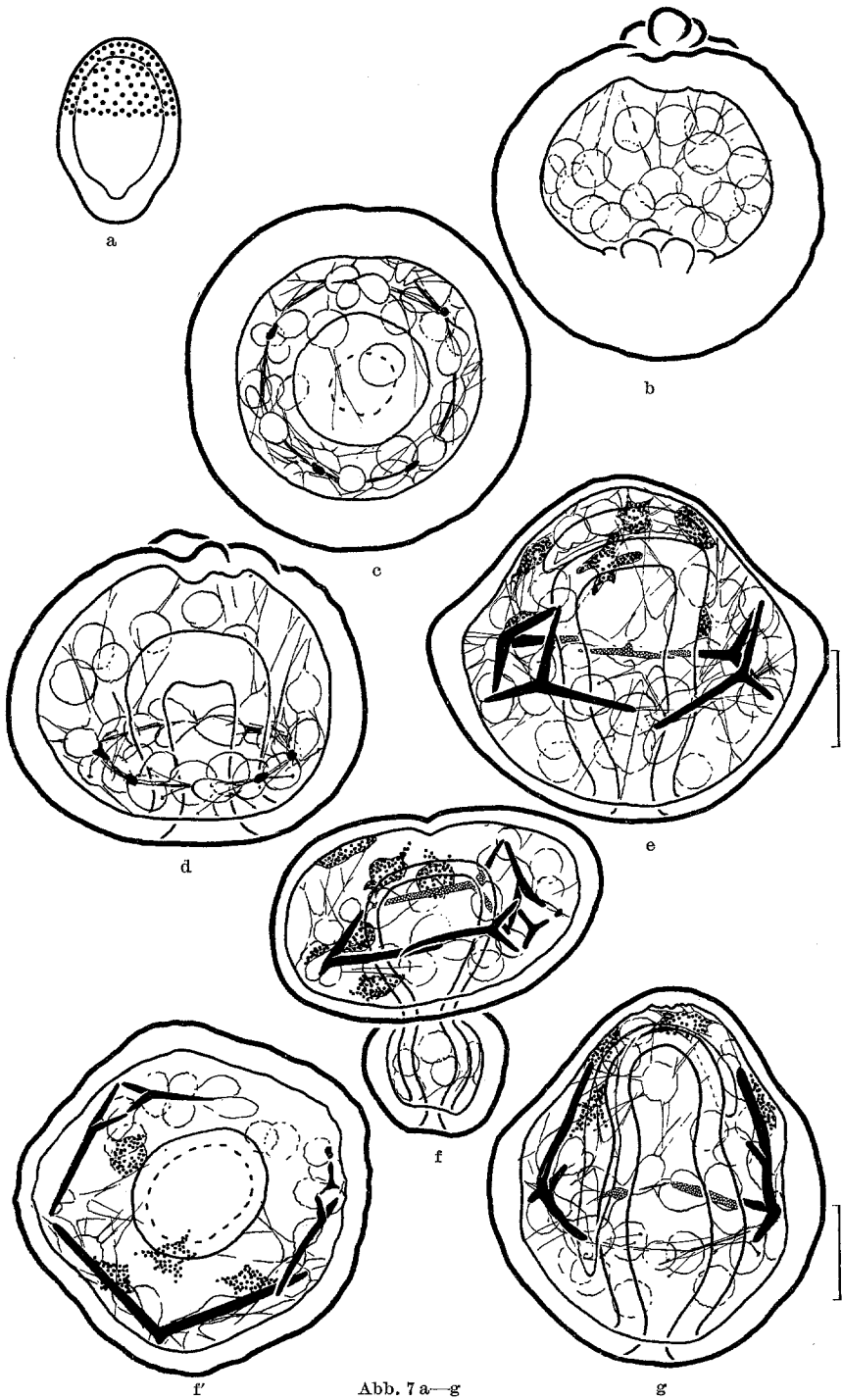


Abb. 7 a—g

zur *Bilateralsymmetrie* weitgehend oder völlig verhindert (Abb. 7). Nachdem das prospektive Oralfeld in diesem Stadium nicht zu erkennen ist, mußte die ganze animale Hälfte des Keimes zerstört werden, womit natürlich das animal-vegetative Gleichgewicht zugunsten des vegetativen Anteils verschoben wird. Die entstehenden Larven gleichen dementsprechend oft den durch LiCl vegetativisierten (Abb. 7f, g), wie sie seit HERBST mehrfach untersucht und abgebildet wurden. Die vegetativisierende Wirkung des LiCl wird damit bestätigt. Der Kranz der Mesenchymzellen liegt folgerichtig näher dem Äquator (in Abb. 7e und g durch Striche angegeben), und die Bilateralsymmetrie, die ihren Ausdruck in der Entwicklung der primären Skelettelemente findet, ist oft weitgehend gestört (Abb. 7f), manchmal sogar durch eine fast ideale *Radiärsymmetrie* (Abb. 7e) ersetzt. Wenn die Zerstörung der animalen Hälfte unvollständig war oder wenn zum Zeitpunkt der Bestrahlung die Oralfeld-differenzierung schon eingesetzt hatte, entstehen leicht vegetativisierte aber eindeutig bilateralsymmetrische Larven (Abb. 7g). Ausmaß der Vegetativisierung und Symmetrieverhältnisse hängen also nicht unmittelbar zusammen (vgl. Abb. 7e mit g und später Abb. 9a mit b).

Auch bei den Schnürungen HÖRSTADIUS' treten Formen auf, die den in Abb. 7 gezeigten sehr ähnlich sind (HÖRSTADIUS 1938, abgebildet bei KÜHN 1955, Abb. 198a).

Die erwähnte Hypothese der Oralfeldtermination und Entwicklung der Bilateralsymmetrie kann nunmehr folgendermaßen formuliert werden (vgl. dazu Abb. 8):

Das *Oralfeldzentrum*, das durch seine exzentrische Lage in bezug auf die animal-vegetative Achse die Bilateralsymmetrie festlegt, *ist gradientenbestimmt* (1), das Oralfeld *breitet sich* bis etwa zu einem Drittel der Keimoberfläche *aus* (2), bildet an seinem Rand eine Wimperschnur und *definiert die Lage der lateralen Ektodermorte und Mesenchymzellgruppen* am Schnittpunkt mit dem Mesenchymzellkranz, der in einem *bestimmten Niveau des animal-vegetativen Gefälles* liegt (3).

Abb. 7a—g. Zerstörung der animalen Hälfte (a) der Blastula von *Psammechinus miliaris* 10 Std p.f. mit UV-Strahlen (M5); b 3 Std später, also 13 Std p.f.: die animale Hälfte wurde abgestoßen, die primären Mesenchymzellen füllen das Blastocoel weitgehend aus; c, d 7 Std nach der Bestrahlung, also 17 Std p.f.: Gastrulation gegenüber Kontrollen nicht verzögert; Bildung von mehreren kleinen Skelettelementen im Mesenchymzellkranz; e 27 Std nach der Bestrahlung, also 37 Std p.f.: schwache Andeutung einer Darmdifferenzierung; Coelomdivertikel als unpaares Säckchen abgeschnürt; Mesenchymzellkranz etwas animalwärts verschoben (Strich!), in ihm liegen fünf radiär angeordnete Skeletteile, ein Skelettelement (hinter dem Darm) etwas kleiner, so daß damit wie bei Abb. 12b eine schwache Bilateralsymmetrie auftritt. f Im gleichen Alter wie e: Coelomdivertikel noch nicht gebildet, auch hier fünf schlecht radiär angeordnete Skelettelemente; starke Verschiebung des Mesenchymzellkranzes und Einschnürung, wie bei LiCl-vegetativisierten Larven (vgl. Abb. 9c). f' = f von oben gesehen, g Im gleichen Alter wie e: zweiseitige Coelomdivertikelbildung mit situs inversus, geringe Verschiebung des Mesenchymzellkranzes (Strich!). Vier Skelettelemente in radiärer Anordnung und deutlich bilateralsymmetrischer Ausprägung

Die folgenden Befunde, die in der gleichen Reihenfolge angeführt werden, stützen diese Hypothese:

1. Bei halbseitig mit KCN vergifteten Keimen entsteht das Oralfeld an der Stelle geringerer Gifteinwirkung. Eine bestimmte Cytochromoxydaseaktivität ist also eine Voraussetzung für die Oralfeldentwicklung. Das gleiche kann nach Pikrinsäure- und Dinitrophenoleinwirkung für Dehydrogenasen vermutet werden (PEASE 1941, 1942a, b). Der Umstand, daß das Oralfeld zu verlagern ist, spricht für eine Bestimmung

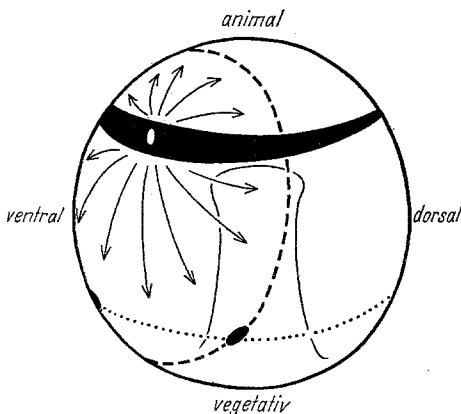


Abb. 8. Schematische Darstellung der Differenzierung des Oralfeldes durch Ausbreitung vom gradientenbestimmten Oralfeldzentrum. Näheres im Text

durch einen Gradienten: das jeweilige Maximum der Enzymaktivität dürfte die Lage des Oralfeldzentrums bestimmen. Durch Janusgrün B sind cytochromoxydaseaktive Mitochondrien mit Dichtemaximum im Oralfeld darstellbar (Abb. 2). Das Oralfeld von *Paracentrotus*, nicht von *Psammechinus* ist auch durch hohe Proteindichte schon in der Blastula gekennzeichnet (CZIHAK 1961 a). Meridional getrennte und wechselseitig vereinigte Keimhälften haben nur ein Oralfeld: wenn

zwei Ventralseiten zu einem Keim vereinigt werden, muß es zu einem Ausgleich zwischen beiden kommen (HÖRSTADIUS 1957, diskutiert bei CZIHAK 1962, S. 255ff.).

2. Die zentralen Zellen des Oralfeldes sind am größten. Die Zellgröße nimmt zum Rand hin ab (RUNNSTRÖM 1957). Die zentripetalen Pole der Oralfeldzellen sind zipfelförmig ausgezogen und zum Oralfeldzentrum hin orientiert. Bei Ausschaltung des Oralfeldzentrums in der animalen Hälfte der Blastula wird eine Ausbreitung des Oralfeldes in den vegetativen Bezirk unterbunden (s. oben und Abb. 7). Bei Störung der Oralfelddifferenzierung fehlen auch die lateralen Skelettanlagen beiderseits (s. radiärsymmetrische Larven).

3. Durch Veränderung des animal-vegetativen Gefälles zugunsten des vegetativen mittels LiCl oder durch Ausschaltung der animalen Hälfte wird der Mesenchymzellkranz zum animalen Pol hin verlagert (Abb. 7g und 9b, b'). Die Oralfeldgrenzen werden später durch Differenzierung der Wimperschnur sichtbar: sie schneiden das Niveau des Mesenchymzellkranzes dort, wo die ersten Skelettanlagen liegen.

Die kurz erwähnten *radiärsymmetrischen* Formen sind *Larven*, die über das Blastulastadium hinaus radiärsymmetrisch bleiben, die also eine Differenzierung des in bezug auf die Hauptachse exzentrisch gelegenen Oralfeldes und damit auch der lateralen Skelettanlagen vermissen lassen.

Die vollkommensten radiärsymmetrischen Larven hat HERBST (1893, abgebildet auch bei CZIHAK 1960 b, Abb. 7) beschrieben. Es ist bei *Paracentrotus* und *Psammechinus* nicht gelungen, durch die gleiche LiCl-Behandlung ähnliche Larven hervorzubringen. Andere weniger vollkommene radiärsymmetrische Larven erzielten GUSTAFSON und SÄVHAGN (1950) und HÖRSTADIUS und GUSTAFSON (1954) durch Behandlung mit Natriumlaurylsulfat bzw. 8-Chloroxanthin (CZIHAK 1962, Abb. 15). Soweit bisher bekannt war, umfaßt die Radiärsymmetrie die Körperform, das Skelett und den Darm. Da die Coelomentwicklung dabei nicht verfolgt wurde, wiederholte ich die Experimente der genannten Autoren.

Gelingt es, mit der Zerstörung der animalen Hälfte in der eben geschlüpften Blastula die Differenzierung des Oralfeldes zu verhindern, dann bilden manche Larven neben fünf mehr oder weniger regelmäßigen Skelettanlagen ein *unpaares radiärsymmetrisches Coelombläschen* durch Abschnürung von der Urdarmspitze (Abb. 7e). Da diese Halbkeime nicht lange lebensfähig sind, war die Weiterentwicklung des Coeloms nicht zu verfolgen.

In manchen Fällen wird durch Einwirkung von LiCl nicht nur der vegetative Anteil vergrößert, sondern auch die Oralfeldentwicklung gehemmt. Es entstehen dabei vollkommen radiärsymmetrische Larven mit fünf regelmäßigen (Abb. 9a') oder mehreren ungleich großen, aber radiärsymmetrisch angeordneten Skelettanlagen mit Polaritätsumkehr (Abb. 9d) und Übergangsformen zur bilateralsymmetrischen Skelettausbildung (Abb. 9c, b') mit zuerst unpaarem Coelomsäckchen, das sich zum *ringförmigen Coelom um den Oesophagus* umbildet (Abb. 9d, e), während die Mundöffnung in der Scheitelplatte durchbricht (Abb. 9e). Die Schädigung der Larve beschränkt sich nicht nur auf die Oralfeld-differenzierung, und so war es nicht möglich, die Larven über 3 Wochen trotz sorgfältigster Fütterung zu halten. Zuletzt wird die aufgenommene Nahrung nicht mehr verdaut und die Resorption beginnt bei den Coelomen (Abb. 9f, g) und führt bald zur völligen Degeneration. Bemerkenswert ist, daß nur ein Hydroporus gebildet wird (Abb. 9g).

Nach der Einwirkung von Colchicin entstehen ebenfalls radiärsymmetrische Larven (Abb. 10f, g) und Übergangsformen zur Bilateralsymmetrie (Abb. 10d) mit zuerst kappenförmigem Coelom (Abb. 10d, f), das später einen vollständigen (Abb. 10g) oder unvollständigen Ring (Abb. 10e) um den Oesophagus bildet. Bemerkenswert ist bei diesen

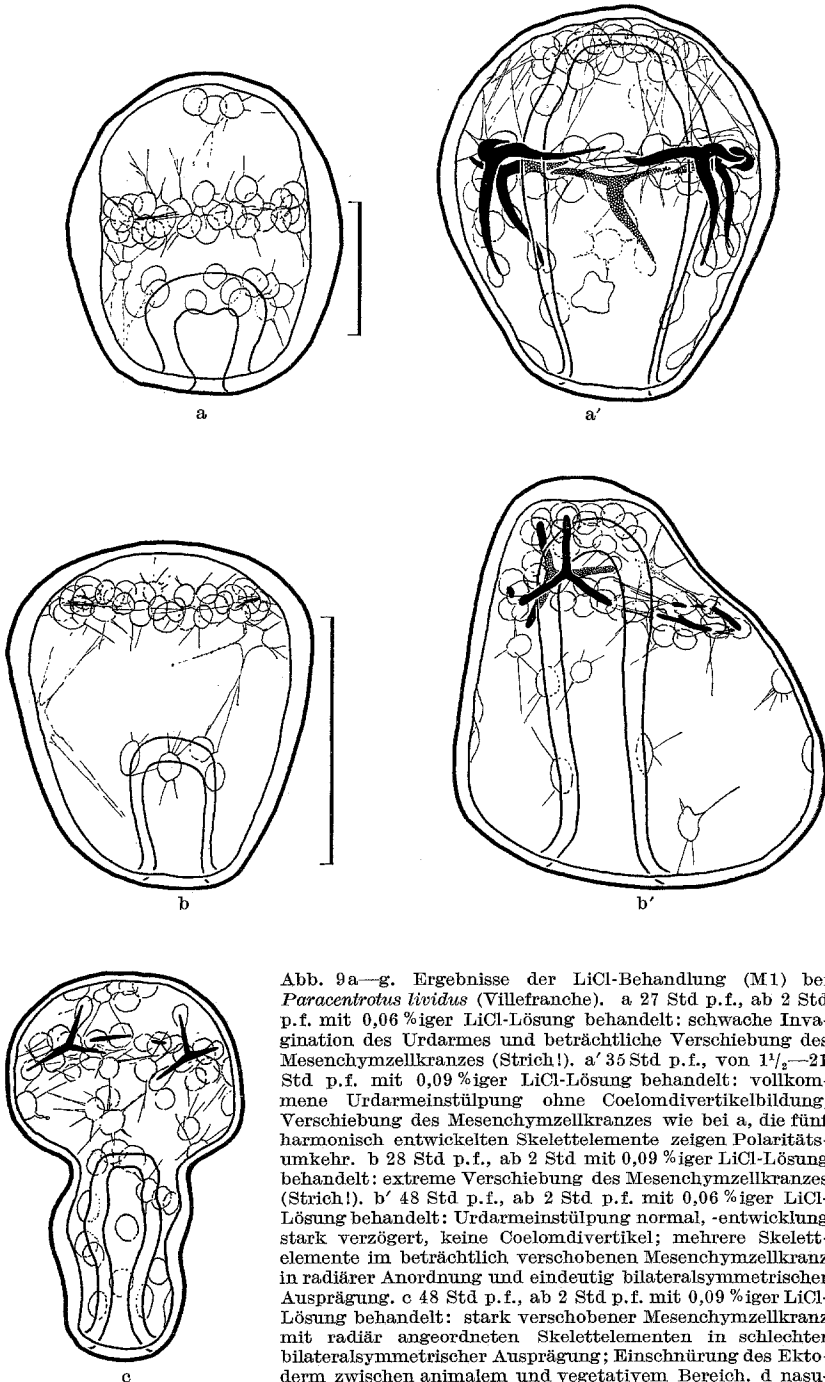
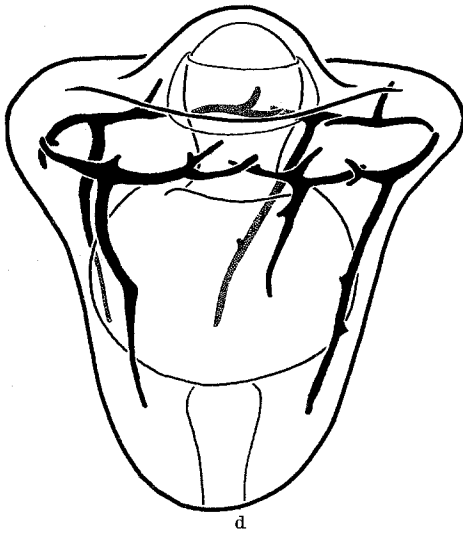
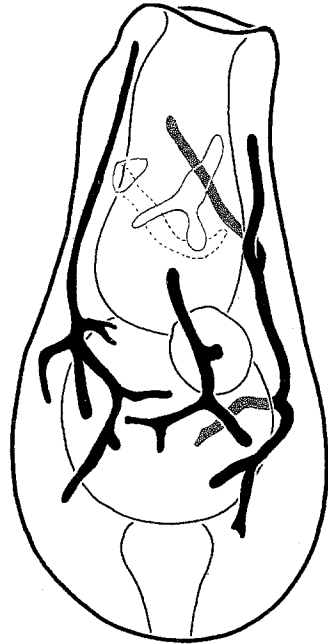


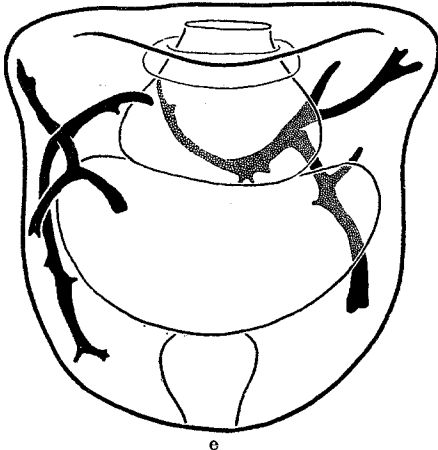
Abb. 9a—g. Ergebnisse der LiCl-Behandlung (M1) bei *Paracentrotus lividus* (Villefranche). a 27 Std p.f., ab 2 Std p.f. mit 0,06%iger LiCl-Lösung behandelt: schwache Invagination des Urdarmes und beträchtliche Verschiebung des Mesenchymzellkranzes (Strich!). a' 35 Std p.f., von 1½—21 Std p.f. mit 0,09%iger LiCl-Lösung behandelt: vollkommene Urdarmeinstülpung ohne Coelomdivertikelbildung, Verschiebung des Mesenchymzellkranzes wie bei a, die fünf harmonisch entwickelten Skelettelemente zeigen Polaritäts-umkehr. b 28 Std p.f., ab 2 Std mit 0,09%iger LiCl-Lösung behandelt: extreme Verschiebung des Mesenchymzellkranzes (Strich!). b' 48 Std p.f., ab 2 Std p.f. mit 0,06%iger LiCl-Lösung behandelt: Urdarmeinstülpung normal, -entwicklung stark verzögert, keine Coelomdivertikel; mehrere Skelettelemente im beträchtlich verschobenen Mesenchymzellkranz in radiärer Anordnung und eindeutig bilateralsymmetrischer Ausprägung. c 48 Std p.f., ab 2 Std p.f. mit 0,09%iger LiCl-Lösung behandelt: stark verschobener Mesenchymzellkranz mit radiär angeordneten Skelettelementen in schlechter bilateralsymmetrischer Ausprägung; Einschnürung des Ektoderm zwischen animalelem und vegetativem Bereich. d nasu-



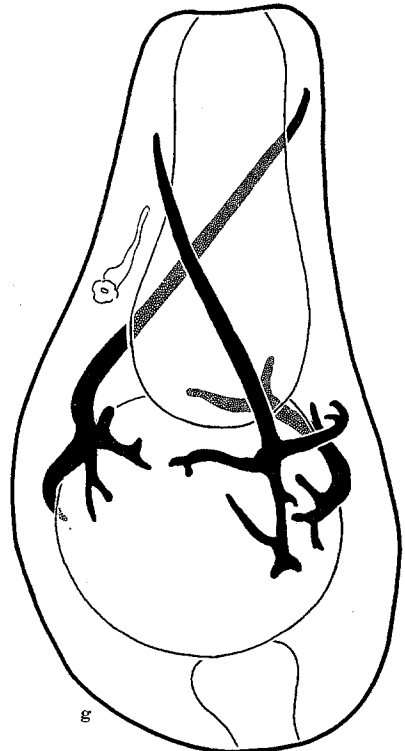
d



f



e



g

tus-Form $3\frac{1}{2}$ Tage p.f., von $1\frac{1}{2}$ —21 Std p.f. [mit 0,06 %iger LiCl-Lösung behandelt; Darmdifferenzierung normal; Coelom als Ring um den Oesophagus; mehrere Skelettelemente in radiärer Anordnung mit Polaritätsumkehr. e 5 Tage p.f., Behandlung wie bei d: neben dem Ringkanal um den Oesophagus und der apikal entstandenen Mundöffnung ist das unregelmäßige Skelett bemerkenswert; Bilateralsymmetrie? f 7 Tage p.f., Behandlung wie bei d: Körper langgestreckt; Mundöffnung apikal; Oesophagus mit kleinem Divertikel; Ringkanal um den Oesophagus aufgelöst; Skelettelemente unregelmäßig. g 10 Tage p.f., Behandlung wie bei d: Coelomring vollständig aufgelöst, ein Hydroporus links vom Oesophagus; Skelett unregelmäßig

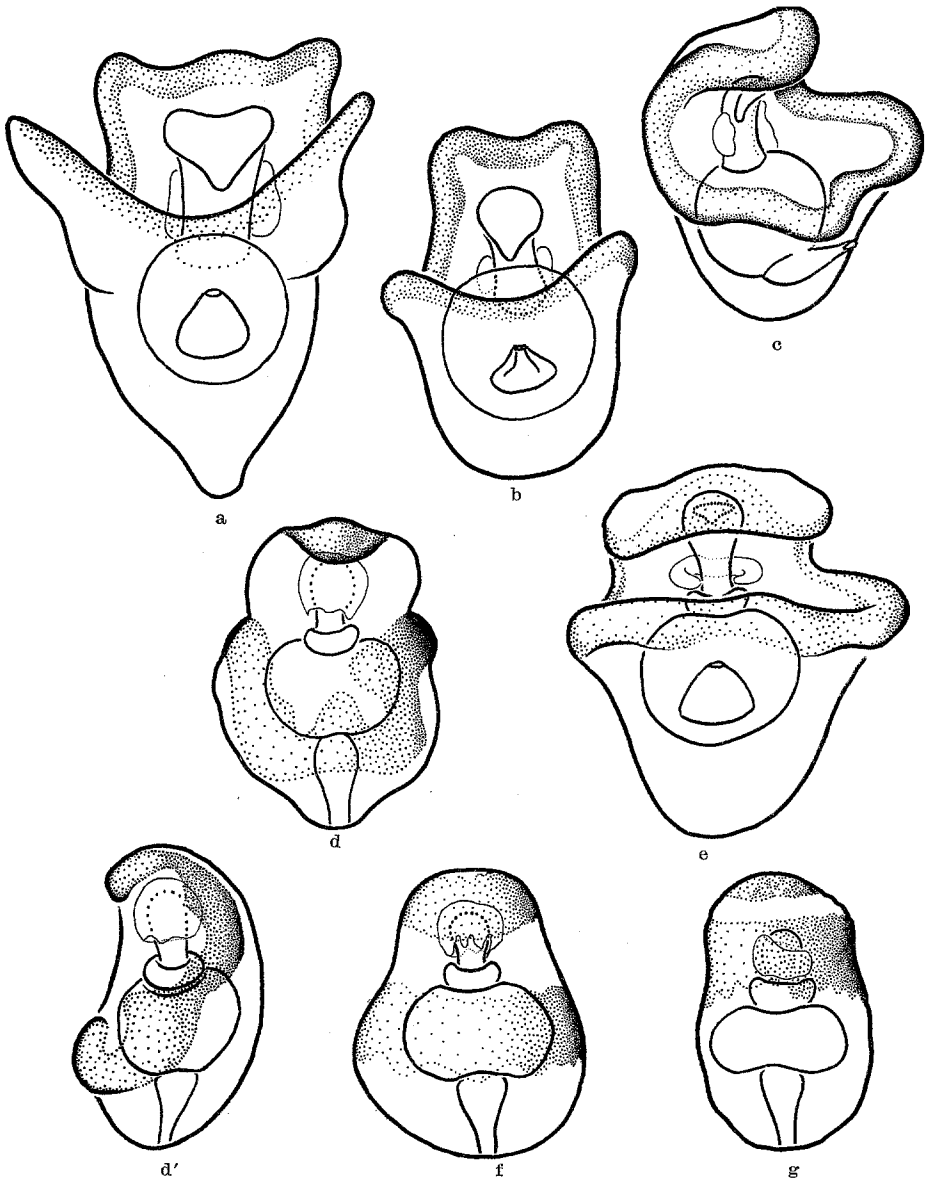


Abb. 10 a—g. Bilateral- und radiärsymmetrische und Zwischenformen von *Paracentrotus lividus* (Rovinj) nach Colchicinbehandlung. Die Keime wurden 20 Std p.f. für 2 Std in 1:50000 Colchicin gebracht (M1), 3 Tage p.f. fixiert und nach Alaunkarminfärbung untersucht (M6). a—c Bilateralsymmetrische Formen mit normalen Coelomdivertikeln. d, d' Asteridenlarven-Form mit unpaarem Coelom und Oesophagusbulbus. e Bilateralsymmetrische Form mit unvollständigem Ringcoelom und Oesophagusbulbus. f, g Vollkommen radiärsymmetrische Formen mit terminaler Coelomkappe bzw. Ringcoelom und Oesophagusbulbus

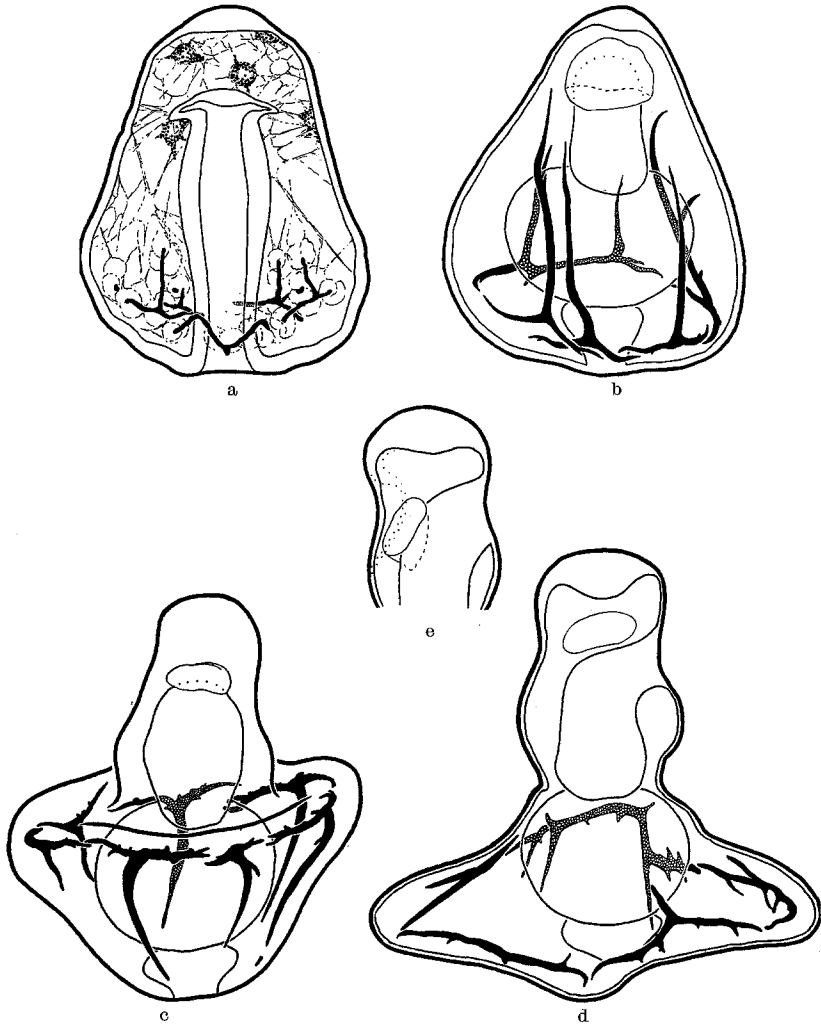


Abb. 11a—e. Radiärsymmetrische Larven nach Behandlung mit 8-Chloroxanthin (M1).
 a Von *Psammechinus miliaris* 32 Std p.f.; 4 Std p.f. für 1 Std in 0,01 %ige Lösung gebracht. Fünf größere Skelettelemente in normaler Lage; das Coelomdivertikel schnürt sich als unpaares Säckchen ab. b Von *Paracentrotus lividus* (Villefranche) 2 Tage p.f.; 4 Std p.f. für 1 Std in 0,015 %ige Lösung gebracht. Fünf ungleiche Skeletteile; terminale Coelomkappe. c Behandlung und Alter wie b. Sieben Skelettelemente mit Polaritätsumkehr; terminales Coelom. d Behandlung und Alter wie b. Fünf unregelmäßige Skelettanlagen; terminales Coelom aus 11 großkernigen Zellen (vgl. Abb. 15); Mund seitlich durchgebrochen. e wie d. Neben dem Munddurchbruch noch eine Mundbucht über dem unpaaren Coelommateral.

Experimenten die Ähnlichkeit der oralfeldbegrenzenden Wimperschnur mancher Formen (Abb. 10d) mit der junger Asteridenlarven!

Auch nach der 8-Chloroxanthinbehandlung wird das Coelom als unpaares Säckchen abgeschnürt (Abb. 11). Die radiär angeordneten Skelett-

anlagen zeigen entweder normale Polarität (Abb. 11 b) oder Polaritätsumkehr (Abb. 11 c).

Sehr interessante Übergangsformen sind in Kulturen nach Natriumlaurylsulfatbehandlung zu finden. Eine nur leichte Andeutung der Bilateralsymmetrie zeigt die Larve in Abb. 12 a, eine stärkere die in Abb. 12 b. Hier ist überzeugend abzulesen, wie eine fünfteilige, radiär-

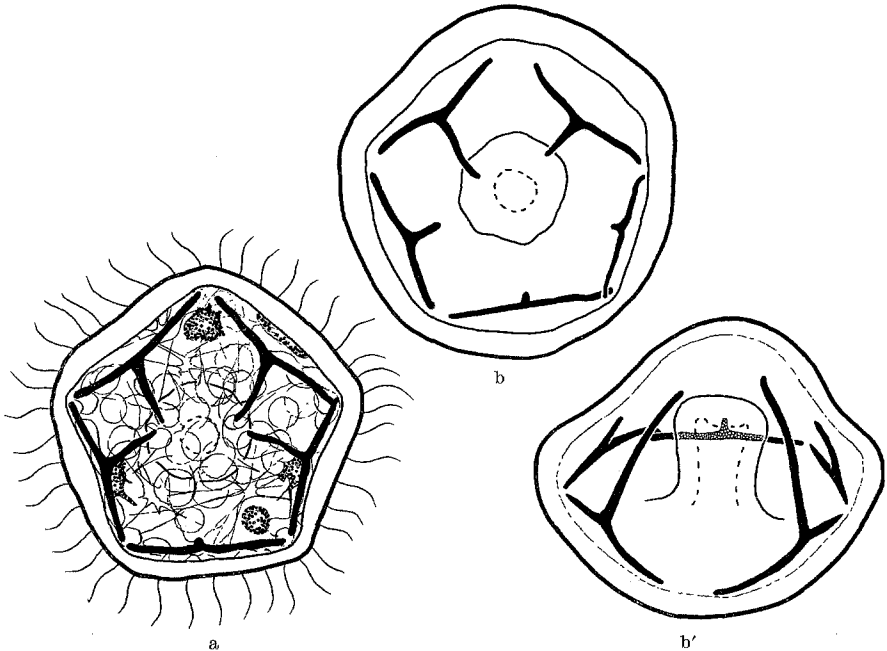


Abb. 12 a u. b. Radiärsymmetrische Larven von *Paracentrotus lividus* (Villefranche) 3 Tage p.f.; 4 Std. p.f. für 2 Std. mit 0,001 %iger Natriumlaurylsulfatlösung behandelt (M1). a Leichte Andeutung einer Bilateralsymmetrie durch Fehlen des Apikalfortsatzes eines Dreistrahlers. b, b' Stärkere Ausprägung der Bilateralsymmetrie in den fünf Skelettelementen; von oben bzw. von vorne gesehen

symmetrische Skelettanlage durch Einfluß des Oralfeldes in eine bilateralsymmetrische Form umgeprägt wird.

Aus diesen Experimenten wird deutlich, daß sich ohne Prägung durch ein gradientenbestimmtes Oralfeld in allen Organanlagen radiärsymmetrische, oft harmonisch fünfstrahlige Keime entwickeln. Die nicht immer ideale Ausbildung der Fünfstrahligkeit ist verständlich, weil durch die chemische Beeinflussung wohl nicht nur die Prozesse der Oralfeldentwicklung gehemmt werden.

Nach allen bisher vorliegenden Ergebnissen (HÖRSTADIUS und WOLSKY 1936; GUSTAFSON und SÄVHAGN 1950; HÖRSTADIUS und GUSTAFSON 1954) ist die Oralfelddetermination nach 8 Std. p.f. abgeschlossen. Nach

diesem Zeitpunkt ist durch 8-Chloroxanthin und Natriumlaurylsulfat die Entwicklung der Bilateralsymmetrie nicht mehr zu hemmen.

Wenn auch aus den Experimenten mit Natriumlaurylsulfat anschaulich wird, wie eine fünfstrahlige Skelettanlage unter dem Einfluß des Oralfeldes bilateralsymmetrisch umgeprägt werden kann, so bleibt zunächst noch unklar, wie es unter dem gleichen Einfluß zur Trennung der Coelomanlage in zwei verschieden große Coelomsäckchen in der Normogenese kommt. Die Größendifferenz fällt schon während der Ab-

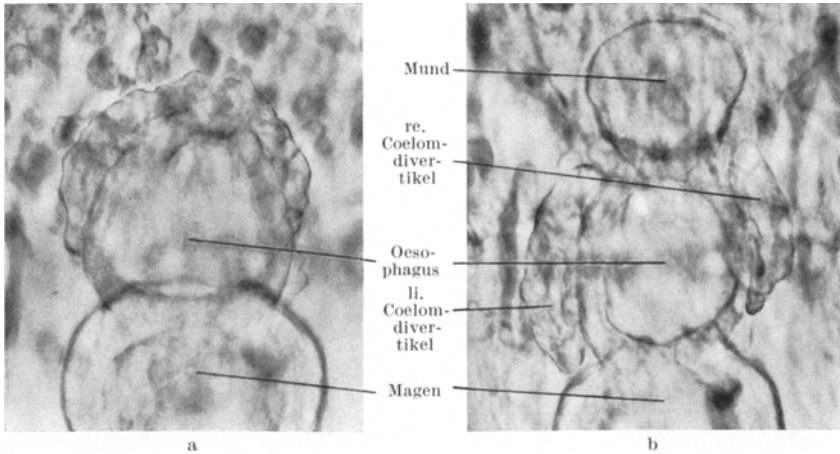


Abb. 13a u. b. Zwei Stadien der Coelomdivertikelbildung aus der Normalentwicklung von *Psammechinus miliaris*. a 30 Std p.f.; b 38 Std p.f. Elektronenblitzaufnahmen lebender Objekte

sonderung der Coelome aus dem Urdarm auf (Abb. 13a) und ist später noch deutlicher (Abb. 13b).

Schon RUNNSTRÖM (1914) betont: „Die Coelomanlage ist, wie genannt, schon von Anfang an besser an der linken als an der rechten Seite entwickelt“ (S. 555), und auf eine physiologische Asymmetrie der Coelomdivertikel hat CHILD 1944 nach Untersuchungen der Indophenolblaureaktion in der Gastrula hingewiesen.

Die Auszählung der Kerne mit Hilfe eines Netzokulars in Totalpräparaten ermöglicht es, die *Größendifferenz der Coelomdivertikel* zahlenmäßig zu erfassen (vgl. Abb. 14). Es fällt dabei auf, daß die Größendifferenz etwa dem Verhältnis von 3:2 entspricht. Die in Abb. 14 als Beispiele gezeigten Coelome haben die folgenden absoluten und relativen Zellzahlen.

Abb.	absolut		Verhältnis		Abb.	absolut		Verhältnis		Abb.	absolut		Verhältnis	
	li.	re.	li.	re.		li.	re.	li.	re.		li.	re.	li.	re.
14a	36	20	3,2	1,8	14c	26	18	3,0	2,0	14e	35	26	2,9	2,1
14b	30	18	3,1	1,9	14d	30	21	2,9	2,1	14f	28	24	2,7	2,3

Eine Differenz $>3,2:1,8$, also etwa 4:1 und mehr habe ich bisher nicht gefunden; eine solche Größendifferenz müßte auch ohne Zählung

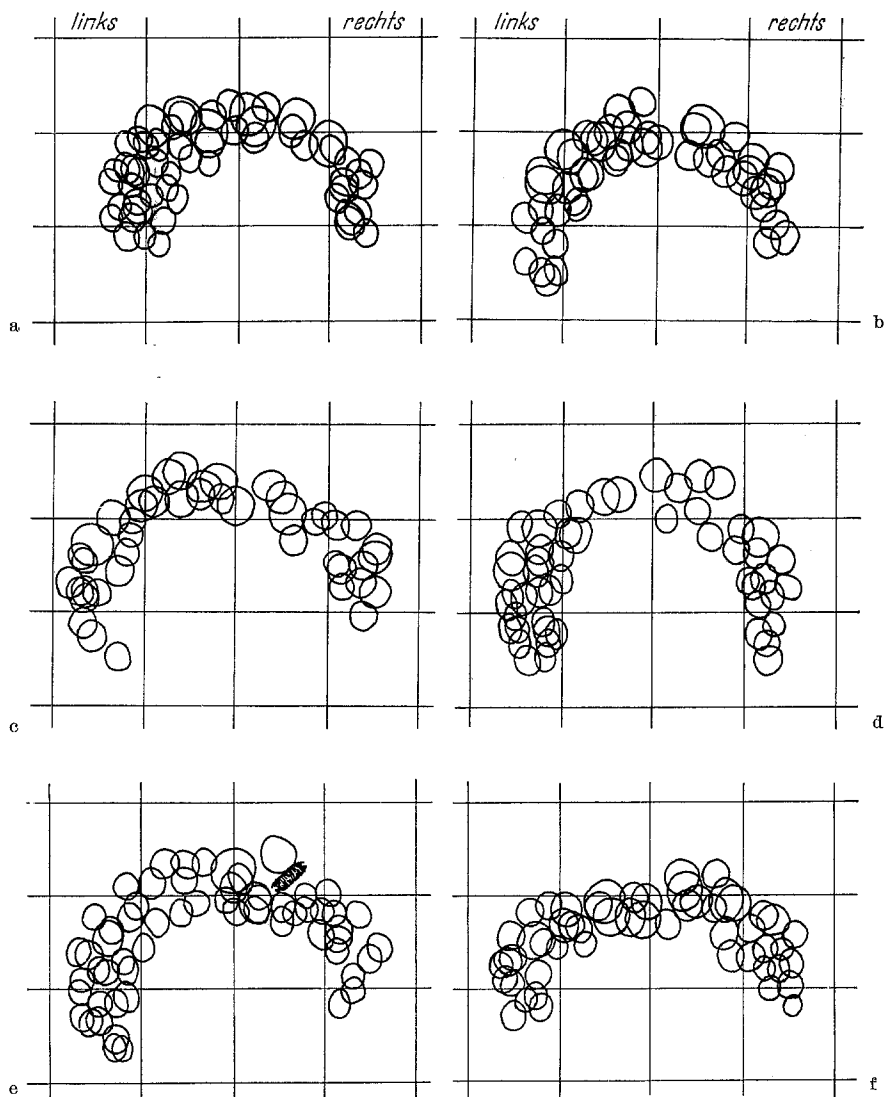


Abb. 14. Kerne der Coelomdivertikel von *Paracentrotus lividus* (Rovinj) unmittelbar nach deren Abschnürung, 30 Std p.f. (M6-Feulgen). Näheres im Text.

schon auffallen. Andererseits gibt es gelegentlich auch gleich große Coelome (+ + - oder — — -Typen, CZIHAK 1960) und natürlich auch den situs inversus mit dem umgekehrten Verhältnis um 2:3 (— + -Typus).

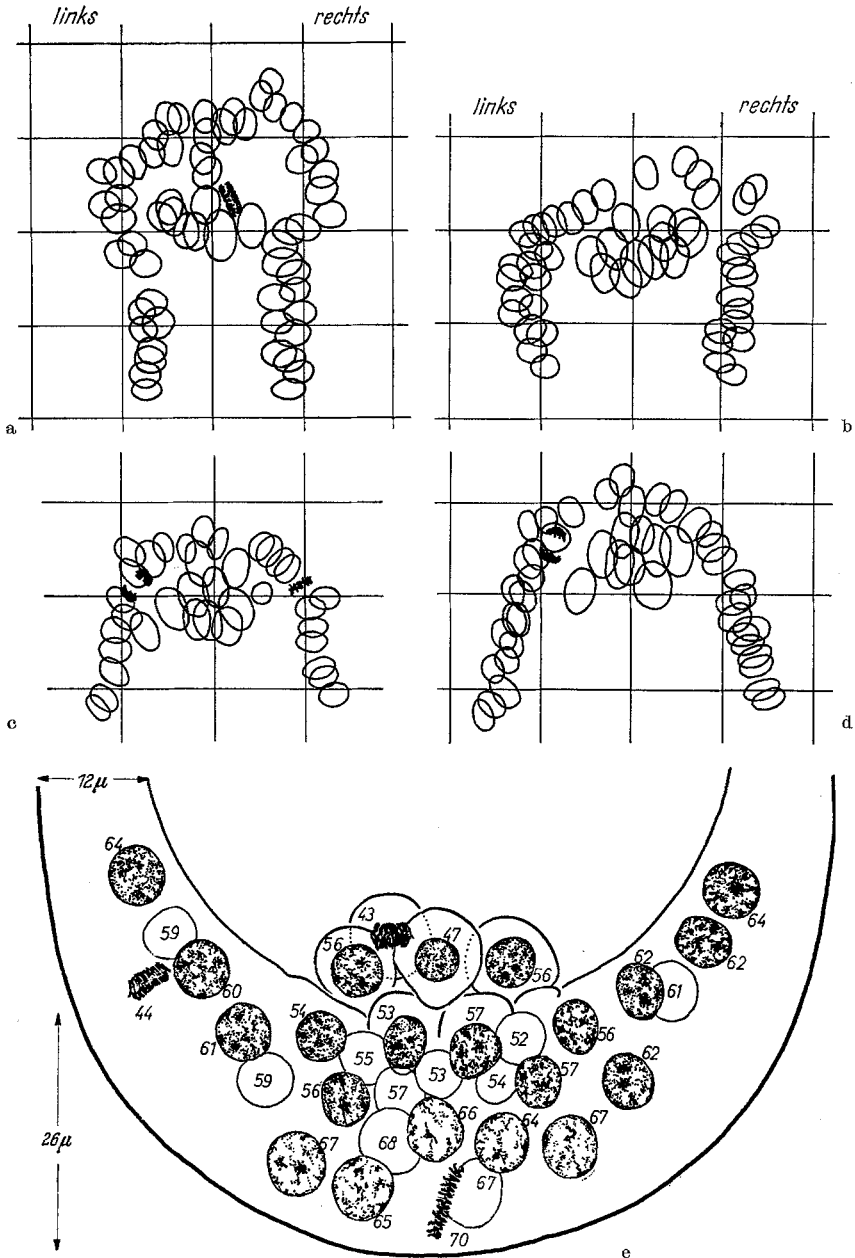


Abb. 15 a—e. Kerne der Seitenwände der Urdarmspitze von *Paracentrotus lividus* (Rovinj) (M6-Feulgen). a Im Alter von 20 Std p. f.; ein Pfropf 12 großkerniger Zellen (eine Mitose) im Urdarmlumen. b Alter wie a. c, d 18 Std p. f., mit einem Pfropf von 9 großkernigen Zellen. e 14 Std p. f., während der Mes I-Bildung; die großkernigen Zellen in extrem vegetativer Lage. Die Ziffern geben den größten Kerndurchmesser in $\frac{1}{10} \mu$ an

Diese Zahlenwerte können nicht exakt sein, weil es schwer ist, die Trennungslinie zwischen den beiden Coelomen festzulegen und weil einzelne angelagerte sekundäre Mesenchymzellen von den Coelomzellen oft nicht zu unterscheiden sind. Da überdies exakte Zahlenwerte die folgende Hypothese weder stützen noch widerlegen können, ist auch der Versuch einer statistischen Sicherung in großen Serien von Auszählungen sinnlos und für die weitere Argumentation überflüssig.

In den eben abgeschnürten Coelomen fallen einige besonders große Zellkerne auf. Verfolgt man die Entwicklung des Urdarms rückwärts,

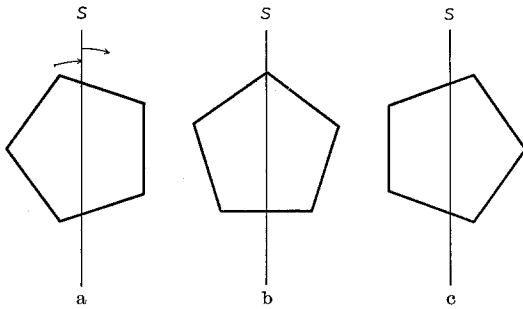


Abb. 16 a—c. Modellvorstellung zur Erklärung der Größendifferenz der beiden Coelomdivertikel in der Normalentwicklung und bei den Varianten (+ +, — —, — +). Näheres im Text. S Symmetrieebene

dann findet man diese 10—12 großen Zellkerne in der Urdarmspitze außerhalb des geschlossenen Entomesodermzellverbandes (Abb. 15), wo sie vom Beginn der Gastrulation in fast unveränderter Zahl zu finden sind. Nur gelegentlich ist eine dieser Zellen in der Mitose zu sehen (Abb. 15a, f und später Abb. 14e). Auch in der

Blastula fallen sie schon durch ihre Größe auf (Abb. 15f). Diese Kerne haben einen Durchmesser von $\cong 65 \mu$ gegenüber dem Durchmesser der umgebenden Kerne von etwa 55μ . Die Größen der entsprechenden Äquatorialplatten sind $\cong 70 \mu$ und $\cong 45 \mu$. In den Metaphaseplatten der großen Kerne liegen die Chromosomen weniger dicht; deshalb sind diese Kerne sehr wahrscheinlich auch nicht polyploid.

Im Verlauf der ganzen Urdarmentwicklung ist linksseitig keine erhöhte Mitoseaktivität zu finden, die eine Größendifferenz links—rechts erklären könnte. Das merkwürdige Zahlenverhältnis von etwa 3:2 legt eine andere Hypothese der Entstehung der Größendifferenz nahe, die in der folgenden Modellvorstellung vorgeführt werden soll.

Das Größenverhältnis von 3:2 der beiden Coelomdivertikel beim +—-Typ (mit linksseitigem Hydrocoel und Imaginalanlage) ist verständlich, wenn eine fünfteilige Anlage durch eine bilateralsymmetrische Umprägung, wie in Abb. 16a gezeigt wird, zerteilt würde. Die Entstehung der anderen Typen (+ +, — —, — +) ist verständlich, wenn auf die gleiche Weise, aber nach jeweils 15° Drehung die Anlage geteilt worden wäre (Abb. 16b, c). Nach dieser Vorstellung kämen also im Normalfall auf die linke Seite drei, auf die rechte zwei Teile der Anlage.

Bei der Analyse der Zellverteilung in der Urdarmspitze (Abb. 17) ist eine solche Anlage in der Struktur nicht zu finden. Sie kann dennoch (z. B. in der Anordnung biochemisch spezialisierter Zellen) unsichtbar vorhanden sein. Dafür sprechen die folgenden Tatsachen:

1. Das Hydrocoel bildet bei seiner Differenzierung zuerst drei Anlagen von Primärtentakeln (vgl. v. UBISCH 1913, Abb. 2), später wachsen zwei nach, wie das bei Regeneration eines $\frac{3}{5}$ -Teiles einer fünfstrahligen Anordnung zu erwarten ist. Ähnliches ist von Holothurien bekannt (vgl. RUNNSTRÖM 1927, referiert bei HYMAN 1955, Fig. 81) und bei *Ophiopluteus mancus* (!)

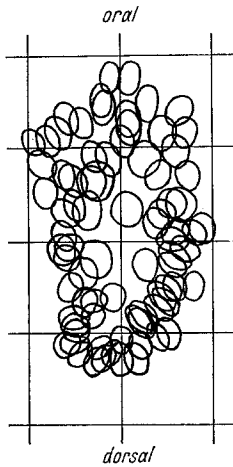


Abb. 17. Zellkerne der von oben gesehenen Urdarmspitze von *Paracentrotus lividus* (Rovinj); Normalentwicklung 27 Std. p.f. (M6-Feulgen)

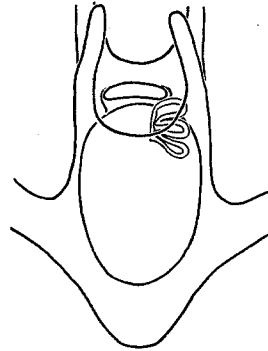


Abb. 18. Drei Primärtentakel in der Normalentwicklung von *Ophiopluteus mancus* kurz vor der Metamorphose (nach CHADWICK 1914, Taf. IV, Fig. 26)

entwickeln sich die drei Primärtentakel noch weiter, bevor die fehlenden zwei regenerieren (Abb. 18 nach CHADWICK 1914).

Die zeitliche Koordination in der Entwicklung von Hydrocoel und Vestibulum von *Psammechinus miliaris* kann durch wiederholte Ausschaltung des letztgenannten mit UV-Strahlen gestört werden. Bevor es zum Kontakt zwischen Hydrocoel und dem immer neu sich einsenkenden Vestibulum kommt, beginnt die Differenzierung der drei ersten Primärtentakel (Abb. 19), erst später wachsen zwei nach.

2. Die australische *Heliocidaris*, die seit MORTENSEN (1921) nicht mehr untersucht wurde, hat dotterreiche Eier und eine direkte Entwicklung; das Coelom wird als unpaares Säckchen vom Urdarm abge schnürt und entwickelt direkt aus diesem die fünf Primärtentakel des Ambulakralgefäßsystems um das Deuterostomium, wie das zu erwarten ist, wenn die fünfteilige Anlage nicht getrennt wird. Das Somatocoel entsteht wahrscheinlich unabhängig davon.

Aus allen diesen und früheren Befunden (CZIHAK 1960 b) ergibt sich, daß auch die *Echinidenlarven fünfstrahlig gebaut* sind und daß die fünfstrahlige Radiärsymmetrie unter dem Einfluß eines höchstwahrscheinlich gradientenbestimmten Oralfeldes vorübergehend in eine Bilateral-symmetrie umgeprägt, in der Metamorphose aber bald wieder hergestellt

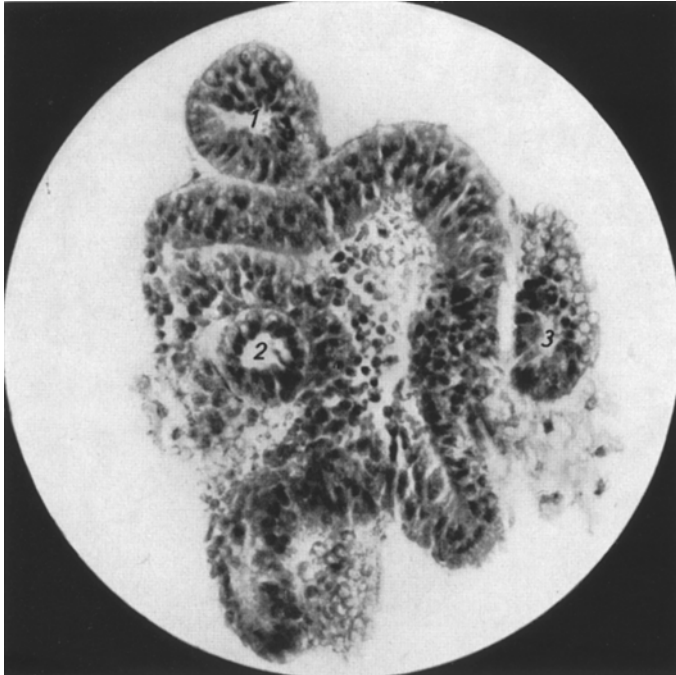


Abb. 19. Schnitt durch die Imaginalanlage von *Psammechinus miliaris*, bei dem das Vestibulum dreimal durch UV-Bestrahlung zerstört wurde (M5). Das Hydrocoel bildet schon vor dem Kontakt mit dem regenerierten Vestibulum drei Primärtentakel (1—3), denen später zwei weitere folgen

wird. Es braucht wohl nicht weiter betont zu werden, daß diese Ergebnisse nicht nur für die Entwicklungsphysiologie von Interesse, sondern auch für die bisherigen Vorstellungen von der phylogenetischen Ableitung der Echinodermen von einiger Bedeutung sind.

Diskussion

Die befruchtete Eizelle enthält mit dem kompletten Chromosomensatz die gesamten genetischen Informationen für die Ausprägung der artcharakteristischen Form. In den einzelnen Entwicklungsstadien und Keimteilen manifestieren sich spezifische Gene in gesetzmäßiger Folge. Die Entwicklungsphysiologie untersucht damit letztlich auch die Akti-

vierung und Manifestation von genetischen Informationen. Wie es dabei im Laufe der Differenzierung in den einzelnen Keimteilen zur Beschränkung der Genaktivitäten auf die organ- und stadienspezifischen kommt, ist ein großes Problem. Funktionsbedingte, streng lokalisierte Anschwellungen der Riesenchromosomen (puffs) von Chironomiden, die in den einzelnen Organen und Entwicklungsstadien verschiedenartig ausgebildet sind (BEERMANN 1952) und die Bildung eines für die Häutung typischen puffs durch Injektion des Häutungshormons Ecdyson (CLEVER 1961) ergaben bedeutsame Ansätze zu dessen Lösung.

Wir neigen wohl alle zu der Annahme, daß im Laufe des individuellen Lebens alle Gene irgendwann in einen oder anderen Organ aktiviert werden. Ist das aber tatsächlich der Fall, oder gibt es auch Gene, die im individuellen Leben nicht oder nur unter besonderen Umständen „aufgerufen“ werden? Für die zweite Alternative sprechen Erscheinungen wie die modifikatorische Geschlechtsbestimmung, fakultative Neotenie, der Generationswechsel u. a. m.

Nach grundsätzlichen Überlegungen scheint es nicht ausgeschlossen zu sein, daß durch die Einwirkung chemischer Stoffe, also durch Veränderung des plasmatischen Milieus, Gene mobilisiert werden, die normalerweise nicht zur Ausprägung gelangen. Die oben erwähnten, oft weitgehend differenzierten, radiärsymmetrischen Larven — die nicht wie sonst experimentell hervorgerufene „Mißbildungen“ als Modifikation eines Bauplanes verstanden werden können, sondern eine grundsätzlich neue Form darstellen — könnten ihre Gestaltung der Tätigkeit vorhandener, normalerweise nicht aktivierter Gene verdanken. Denn aus den geschilderten Experimenten wird wahrscheinlich, daß es zwei konkurrierende Anlagepläne, den der Radiär- und den der Bilateralsymmetrie gibt, wie das letztlich Zwischenformen (Abb. 12) besonders klar zu zeigen scheinen. Wenn es sich tatsächlich so verhält, hätte die Entwicklungsphysiologie die Möglichkeit, latente Teile des Erbgutes experimentell zu erfassen. Und nachdem solche „latente Gene“ den Rest eines stammesgeschichtlich alten Genoms darstellen könnten, würden solche Experimente über die Entwicklungsanalyse hinaus zu einer experimentellen Phylogenie führen.

Bemerkenswerterweise schrieb RUNNSTRÖM schon 1918, nach Entdeckung zweier Neubildungen: eines Enddarmdivertikels, das exkretorische Funktion haben dürfte und einer Haftscheibe am aboralen Pol:

„Es handelt sich deutlicherweise um *die Aktivierung von Potenzen, die in der normalen Entwicklung unterdrückt sind*“ (S. 443).

„Bei Unterdrückung der normalen Vorgänge kommen determinierende Qualitäten zur Geltung, die sonst latent bleiben.

In dem Vererbungskomplex des Seeigels sind *...dauernd* latente Potenzen oder Gene vorhanden.“ (S. 444).

Zusammenfassung

1. Janusgrün B-färbbare Mitochondrien liegen im prospektiven Oralfeld am dichtesten; die Lage des Oralfeldes wird offenkundig durch ein Cytochromoxydase-Maximum bestimmt.

2. Die Cytochrom c-Reduktase ist dagegen fast ausschließlich in den primären Mesenchymzellen vor und während der Skelettbildung zu finden.

3. Unspezifische Esterasen lassen sich während der Coelomdivertikelbildung und Darmdifferenzierung ausschließlich im Oesophagus nachweisen.

4. Zerstörung der lateralen Ektodermverdickungen kann die Ausbildung der Bilateralsymmetrie nicht verhindern. Bei der Zerstörung des prospektiven Oralfeldes wird dagegen die Ausprägung dieser Symmetrieform unterbunden; es entstehen radiärsymmetrische Larven.

5. Radiärsymmetrische Larven haben oft ein unpaares Coelombläschen, das sich zum Ringkanal um den Oesophagus weiterentwickeln kann.

6. Die Größendifferenz der Coelome wird durch die ungleiche Zerlegung einer fünfteiligen Anlage im Verhältnis 3:2 erklärt.

7. Aus allen Befunden wird wahrscheinlich, daß auch die Larven der Echiniden primär fünfstrahlig gebaut sind und daß diese Radiärsymmetrie durch die Differenzierung eines gradientenbestimmten Oralfeldes nur kurzfristig in eine Bilateralsymmetrie umgeprägt wird.

Literatur

- BEERMANN, W.: Chromomerenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. *Chromosoma* (Berl.) 5, 139—198 (1952).
- BERG, W. E.: Distribution of cytochrome oxydase in an early cleavage stage of *Dendraster*. *Exp. Cell Res.* 14, 398—401 (1958).
- CHADWICK, H. C.: Echinoderm larvae. In: Liverpool Marine Biology Committee Memoirs, vol. XXII, 32 S. London: Williams & Norgate 1914.
- CHILD, C. M.: Developmental pattern in the starfish *Patiria miniata*, as induced by Indophenol. *Physiol. Zool.* 17, 129—151 (1944).
- CLEVER, U.: Genaktivitäten in den Riesenchromosomen von *Chironomus tentans* und ihre Beziehungen zur Entwicklung. I. Genaktivierungen durch Ecdyson. *Chromosoma* (Berl.) 12, 607—675 (1961).
- CZIHAK, G.: Untersuchungen über die Coelomanlagen und die Metamorphose des Pluteus von *Psammechinus miliaris* (GMELIN). *Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog.* 78, 235—256 (1960a).
- Pseudoradiärsymmetrische Seeigelpolutei. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* 152, 593—601 (1960b).
- Ein neuer Gradient in der Pluteusentwicklung. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* 153, 353—356 (1961a).
- Ein UV-Mikrostrahlenstichapparat. *Zeiss-Mitt.* 2, 165—172 (1961b).
- Entwicklungsphysiologie der Echinodermen. *Fortschr. Zool.* 14, 238—267 (1962).

- GUSTAFSON, T., and H. KINNANDER: Cellular mechanisms in morphogenesis of the sea urchin gastrula. *Exp. Cell Res.* **21**, 361—373 (1960).
- , and P. LENICQUE: Studies on mitochondria in the developing sea urchin egg. *Exp. Cell Res.* **3**, 251—274 (1952).
- , and R. SÄVHAGN: Determination of the oral side of the sea urchin egg. *Ark. Zool. (Stockh.) A* **42**, No 10, 1—6 (1950).
- HERBST, C.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Thiere. Theil II. Weiteres über die morphologische Wirkung der Lithiumsalze und ihre theoretische Bedeutung. *Mitt. zool. Stat. Neapel* **11**, 137—220 (1893).
- HÖRSTADIUS, S.: Schnürungsversuche an Seeigelkeimen. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **138** (1938).
- On the regulation of bilateral symmetry in plutei with exchanged meridional halves and in giant plutei. *J. Embr. exp. Morph.* **5**, 60—73 (1957).
- , and T. GUSTAFSON: The effect of three antimetabolites on sea-urchin development. *J. Embr. exp. Morph.* **2**, 216—226 (1954).
- , u. A. WOLSKY: Studien über die Determination der Bilateralsymmetrie des jungen Seeigelkeimes. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **135**, 69—114 (1936).
- HYMAN, L. H.: *The Invertebrates: Echinodermata.* 763 S. New York: McGraw Hill 1955.
- KÜHN, A.: *Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie.* 506 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- MORTENSEN, T. H.: *Studies of the development and larval forms of echinoderms.* 1921.
- PEARSE, A. G. E.: *Histochemistry.* 998 S. London: Churchill 1961.
- PEASE, D. C.: Echinoderm bilateral determination in chemical concentration gradients. I. *J. exp. Zool.* **86**, 381—404 (1941).
- Echinoderm bilateral determination in chemical concentration gradients. II. *J. exp. Zool.* **89**, 329—345 (1942a).
- Echinoderm bilateral determination in chemical concentration gradients. III. *J. exp. Zool.* **89**, 347—356 (1942b).
- RUNNSTRÖM, J.: Analytische Studien über die Seeigelentwicklung I. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **40**, 526—564 (1914).
- Analytische Studien über die Seeigelentwicklung V. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org.* **43**, 432—447 (1918).
- Cellular structure and behavior under the influence of animal and vegetal factors in the sea urchin development. *Ark. Zool. (Stockh.) A* **10**, 523—537 (1957).
- RUNNSTRÖM, S.: Entwicklung von *Leptosynapta inhaerens*. *Bergens Mus. Aarbok* No 1 (1927).
- UBISCH, L. v.: Die Entwicklung von *Strongylocentrotus lividus* (*Echinus microtuberculatus*, *Arbacia pustulosa*). *Z. wiss. Zool.* **106**, 409—448 (1913).
- Keimblattchimahärenforschung an Seeigellarven. *Biol. Rev.* **14** (1939).