

UNTERSUCHUNGEN ZUR EMBRYONALENTWICKLUNG  
DES RÄDERTIERES *ASPLANCHNA GIRODI* DE GUERNE

MARTIN LECHNER

Zoologisches Institut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. K. G. GRELL)

Eingegangen am 20. September 1965

**Inhalt**

|   | Seite |
|---|-------|
| A. Einleitung . . . . .                                   | 117   |
| B. Material und Methoden . . . . .                        | 119   |
| C. Ergebnisse . . . . .                                   | 121   |
| I. Normogenese . . . . .                                  | 121   |
| 1. Eireifung . . . . .                                    | 122   |
| 2. Furchung . . . . .                                     | 122   |
| 3. Gastrulation . . . . .                                 | 124   |
| 4. Ausbildung der Körpergrundgestalt . . . . .            | 128   |
| 5. Streckung . . . . .                                    | 133   |
| II. Experimentelle Analyse . . . . .                      | 133   |
| 1. Einleitung . . . . .                                   | 133   |
| 2. Schädigungstypen . . . . .                             | 133   |
| 3. UV-Mikrostrahlenstichversuche . . . . .                | 137   |
| a) Bestrahlung während der Eireifung . . . . .            | 137   |
| b) Bestrahlung während der Furchung . . . . .             | 146   |
| c) Bestrahlung vor und während der Gastrulation . . . . . | 154   |
| 4. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse . . . . .       | 162   |
| a) Zur Frage der Determination . . . . .                  | 162   |
| b) Mesodermschäden . . . . .                              | 164   |
| c) Entodermschäden . . . . .                              | 164   |
| d) Ektodermschäden . . . . .                              | 165   |
| 5. Kälteschockversuche . . . . .                          | 166   |
| D. Diskussion . . . . .                                   | 167   |
| Zusammenfassung . . . . .                                 | 170   |
| Literatur . . . . .                                       | 172   |

**A. Einleitung**

Über die Grundzüge der Organogenese bei den Rotatorien bestanden bisher einander widersprechende Auffassungen. Deshalb wurde eine neue Untersuchung notwendig. Sie stützt sich neben der Lebendbeobachtung und der cytologisch-histologischen Untersuchungsmethode auf die experimentelle Analyse der Entwicklungsvorgänge. Entwicklungsphysiologische Untersuchungen sind innerhalb der Klasse der Rotatorien bisher noch nicht durchgeführt worden.

An Schnittserien von Embryonen gewann NACHTWEY (1925) die Ansicht, bei *Asplanchna* fände keine Gastrulation statt. Die Organe des Verdauungstraktes bildeten sich vielmehr im Anschluß an die Einstülpung des Pharynx durch Delamination aus dem dorsalen Blastoderm. Von DE BEAUCHAMP (1957) wird dagegen entschieden die früher übliche Ansicht (ZELINKA, 1891, u. a.) vertreten, die Entodermbildung der Rotatorien beruhe auf einem Gastrulationsvorgang. Er stützt sich dabei auf seine Beobachtungen an lebenden Embryonen des Rädertieres *Ploesoma*.

Aus Lebendbeobachtungen sowie Untersuchungen von Schnittserien ergab sich in der Normogenese von *Asplanchna girodi* ein klar erkennbarer Gastrulationsvorgang. Mit dem UV-Mikrostrahlenstichapparat wurden Markierungsversuche durchgeführt, um dem Einwand vorzuzukommen, es handle sich dabei um die Einstülpung des Pharynx (NACHTWEY, 1925).

Herrn Prof. Dr. K. G. GRELL danke ich für die vielfältigen Anregungen und die intensive Beratung sehr herzlich. Gedankt sei auch Herrn Prof. Dr. V. SCHWARTZ für das förderliche Interesse an dieser Arbeit.

An Abkürzungen werden stets verwendet:

|             |                            |                               |  |
|-------------|----------------------------|-------------------------------|--|
| <i>Bc</i>   | Blastocoel                 | <i>Oda</i>                    | Oviduktanlage  |
| <i>Bp</i>   | Blastoporus                | <i>Oes</i>                    | Ösophagus  |
| <i>Cg</i>   | Cingulum                   | <i>Oesa</i>                   | Ösophagusanlage  |
| <i>D</i>    | Dotterstock                | <i>Ov</i>                     | Ovar   |
| <i>Da</i>   | Dotterstocksanlage         | <i>Ova</i>                    | Ovaranlage   |
| <i>Dt</i>   | Dorsaltaster               | <i>Oz</i>                     | Oozyte   |
| <i>Em</i>   | Embryo                     | <i>Ozk</i>                    | Oozytenkern  |
| <i>Ent</i>  | Entoderm                   | <i>Pc</i>                     | Pseudocoel   |
| <i>g</i>    | Ganglion                   | <i>Ph</i>                     | Pharynx  |
| <i>gc</i>   | Cerebralganglion           | <i>Pha</i>                    | Pharynxanlage  |
| <i>gca</i>  | Cerebralganglionanlage     | <i>Pr</i>                     | Protonephridium  |
| <i>gm</i>   | Mastaxganglion             | <i>Pz</i>                     | Propagationszellen   |
| <i>gma</i>  | Mastaxganglionanlage       | <i>Q</i>                      | Quadrant   |
| <i>Hb</i>   | Harnblase                  | <i>Rk</i>                     | Richtungskörper  |
| <i>I</i>    | Integument                 | <i>T 1—4</i>                  | Typen strahlengeschädigter Tiere                                 |
| <i>Inta</i> | Integumentanlage           | <i>Ud</i>                     | Urdotterzelle  |
| <i>K</i>    | Keimlagermutterzelle       | <i>Ug</i>                     | Urgeschlechtszelle   |
| <i>Ka</i>   | Kauer                      | <i>Ugm</i>                    | Urgeschlechtsmutterzelle   |
| <i>Lt</i>   | Öltropfen                  | <i>Uk</i>                     | Urkeimzelle  |
| <i>M</i>    | Mastax                     | <i>Ur</i>                     | Urogenitalkanal  |
| <i>MCg</i>  | Matrixzellen des Cingulums | <i>UV 40 <math>\mu</math></i> | kreisrunder Bestrahlungsfleck von 40 $\mu$ Durchmesser           |
| <i>Mes</i>  | Mesoderm                   | <i>UV alt</i>                 | nicht vergleichbarer Wert wegen veränderter Versuchsbedingungen. |
| <i>Mg</i>   | Magen                      |                               |  |
| <i>Mga</i>  | Magenanlage                |                               |  |
| <i>Mgd</i>  | Magendrüsen                |                               |  |
| <i>Ms</i>   | Muskel                     |                               |  |
| <i>Mu</i>   | Mundbucht                  |                               |  |

## B. Material und Methoden

Das hier verwendete lebende Material geht auf Planktonfänge im März 1961 zurück. Im Max Eyth-See bei Stuttgart-Münster, einem Baggersee mit offener Verbindung zum Neckar, wurden die beiden Arten *Asplanchna priodonta* GOSSE und *Asplanchna girodi* DE GUERNE (GUERNE, DE, 1888) gefunden.

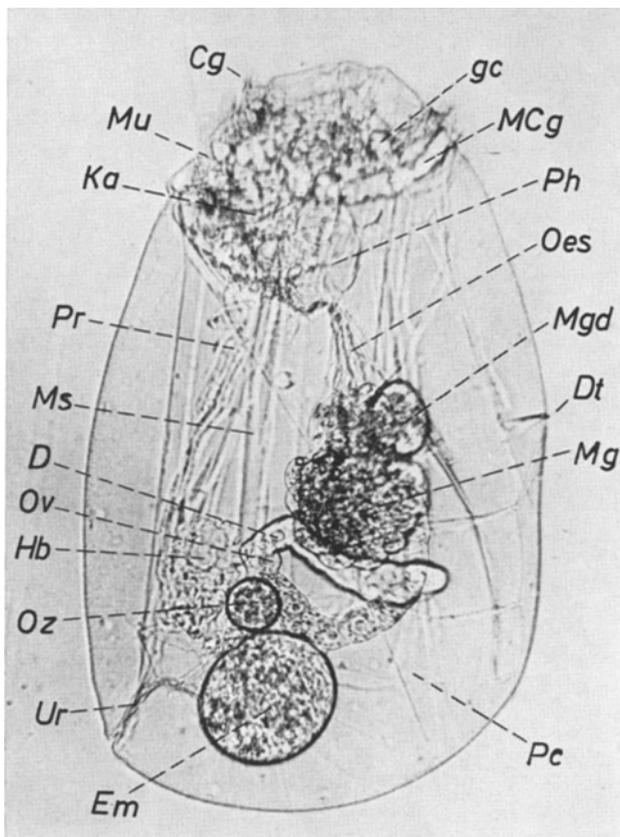


Abb. 1. Lebendaufnahme eines erwachsenen amiktischen Weibchens von *Asplanchna girodi* in Seitenansicht. Vergr. 120 ×

Solange mit kleinen Rotatorien aus Freilandfängen gefüttert wurde, vermehren sich beide Arten gut. Die Umstellung auf eine unabhängige Kultivierung im Labor gelang jedoch nur bei *Asplanchna girodi* (Abb. 1). Als Futter erwies sich eine Mischung aus *Haematococcus pluvialis* und *Paramecium caudatum* am geeignetsten. Eine im Institut für zahlreiche Aufzuchten verwendete verdünnte Erdlösung (RUTHMANN UND HECKMANN, 1961, S. 314) diente als Kulturlösung. Darin wurde auch *Haematococcus pluvialis* gezüchtet. *Paramecium caudatum* stammte aus Faulkulturen. Zur Futtergewinnung können die Paramecien in schnell laufenden Papierfiltern angereichert und im Filter mit Kulturlösung gewaschen werden. Im „Kältelabor“ des Instituts läuft die Zucht von *Asplanchna girodi* bei  $14 \pm 1^\circ \text{C}$  seit 1961. *Haematococcus* und vor allem *Paramecium* können den Kulturschalen

ohne Schaden für die Rädertiere sehr reichlich zugesetzt werden. Gut versorgte Kulturen brauchen zwischen den nach 8—10 Tagen notwendigen Umsetzungen nicht nachgefüttert zu werden. Bei angemessener Reduzierung der Individuenzahl bleiben die Tiere amiktisch. Die Entwicklung verläuft sehr rasch. Bei 14° C wird ein Jungtier etwa 3 Tage nach der ersten Furchungsteilung geboren. Auf diese Weise steht das ganze Jahr über konstantes Untersuchungsmaterial in jeder gewünschten Menge zur Verfügung. Eine Verschlechterung der Lebensbedingungen, wie Mangel an Paramecien, starke Vermehrung von *Haematococcus*, Altern der Kulturlösung oder sehr starkes Anwachsen der Individuenzahl, führt dagegen zur miktischen, zweigeschlechtlichen Fortpflanzung und zur Entstehung von Dauereiern (vgl. BIRKY, 1964, Abb. 2). Von einer Reinigung der Rotatorien mit Hilfe von Chemikalien und Antibiotika, wie sie NATHAN und LADERMAN (1959) angeben, konnte abgesehen werden. Durch den häufigen Wechsel der Kulturlösung kam es nie zu besonders starker Vermehrung fremder Organismen. Die wenig aufwendige Kulturmethode erlaubt es, das Tier an Instituten in Dauerkultur zu nehmen, um es für Kurszwecke bereit zu haben. Außerdem liegt bereits eine Arbeit vor, in der *Asplanchna brightwelli* für genetische Untersuchungen mit Erfolg verwendet wurde (BIRKY, 1965, vgl. auch WATT, 1948).

Die Kälteschockbehandlung von Embryonen im Uterus des Alttieres wurde unter dem Mikroskop durchgeführt. Am Mikromanipulator war ein stabiles Pipettenrohr befestigt, das mit einer Kohlensäurebombe in Verbindung stand. Der kalte, auf das Deckglas gerichtete CO<sub>2</sub>-Strom konnte durch tropfenweises Einsprühen von Äther rasch weiter abgekühlt werden. Nach dem im allgemeinen nicht länger als 5 sec dauernden Versuch wurden die Tiere bis zur Geburt der kältegeschädigten Nachkommen einzeln weiter kultiviert.

Den Aufbau und die Handhabung des verwendeten UV-Mikrostrahlenstichapparates beschreibt CZIHAK (1961) ausführlich (vgl. dazu auch URSPRUNG, 1959). Schwierigkeiten macht bei der Arbeit mit Rotatorien nur die Stilllegung des auch im ruhig liegenden Alttier ständig bewegten Embryos. Das zwischen Quarzglas und Deckglas mit Hilfe eines Trevira-Ringes von passender Stärke (CZIHAK, 1965) festgelegte Tier muß einem langsam steigenden Druck ausgesetzt werden. Ein am Mikromanipulator befestigter Stab drückt von oben auf das Deckglas. Da der Trevira-Ring etwas nachgibt, flacht sich das Rädertier ab, und die Körperwände halten den Embryo zwischen sich fest. Häufig stülpt dabei das Muttertier den Pharynx aus, was aber nach dem Versuch meist wieder ausgeglichen wird. Eine irreversible Ausstülpung führt nach wenigen Stunden zum Tode des Muttertieres. Durch Verwendung junger Versuchstiere, in denen sich der erste Embryo entwickelt, tritt dieser Fall jedoch sehr selten ein. Die Entwicklung im Uterus des Alttieres gewährt den geschädigten Tieren einen optimalen Schutz und erleichtert das Auffinden während der Beobachtungszeit. Nach LIEBERS (1938) ist bei ersten Nachkommen zwar eine gewisse Fröhschwäche nachzuweisen, die aber reversibel ist. Aus dem ersten Ei schlüpfen etwas kleinere, aber normal entwickelte Tiere.

Die beschriebene Versuchsanordnung ist wegen des benötigten Arbeitsraumes zwischen Objektiv und Deckglas nur bis zu einer zehnfachen Objektivvergrößerung möglich. Durch Vorversuche muß die benötigte UV-Strahlendosis ermittelt werden. Zwischen Intensität und Schädigung besteht keine eindeutige Korrelation. Deshalb wurde auf eine Eichung des Strahlenstichapparates, wie sie bei LATARJET et al. (1953) beschrieben ist, verzichtet. Gute Ergebnisse erhält man mit einer Strahlenfeldblende, die im Cytoplasma des Embryos einen runden Bestrahlungsfleck von ca. 25  $\mu$  Durchmesser erzeugt. Nach einer Bestrahlungsdauer von etwa 90 sec beginnen die Öltropfen ineinander zu fließen. Solche Embryonen entwickeln sich

zu schwer geschädigten Tieren. Die wertvolleren Ergebnisse liefern aber diejenigen Versuche, bei denen eine Bestrahlung zwischen 30 und 90 sec Dauer noch keine sichtbare Schädigung zur Folge hat. Die Ergebnisse von GURDON (1960) lassen vermuten, daß auch bei Rotatorien das Cytoplasma weniger strahlenempfindlich ist als der Zellkern. Entsprechende Versuche wurden jedoch nicht durchgeführt. Längere Bestrahlungszeiten bis zu 4 min töten den Embryo und schließlich auch das Alttier ab. Wie OELHAFEN (1961) bemerkt, handelt es sich bei dieser Methode um Exstirpationsversuche, soweit Zellen zerstört werden und um eine Markierung von Zellmaterial, wenn nur eine Schädigung auftritt.

Zur Anfertigung von Schnittserien normaler Entwicklungsstadien und geschädigter Tiere werden die Objekte zwischen zwei Deckgläsern mit Trevira-Ring in der günstigsten Lage nach BOUTIN fixiert. Das Einschließen der sehr kleinen Objekte in Agarblöckchen vor dem Hochführen<sup>1</sup> erleichtert die Orientierung im Paraffinblock und die Herstellung genau in der Sagittalebene liegender Schnittserien. Die 7  $\mu$  dicken Schnitte wurden meist mit Haematoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt.

## C. Ergebnisse

### I. Normogenese

Die Untersuchung befaßt sich mit der Entwicklung der parthenogenetischen, diploiden Subitaneier der amiktischen Weibchen von *Asplanchna girodi*. In erster Linie soll die Entstehung der entodermalen Organe geklärt werden. Alle Zeitangaben in diesem Abschnitt beziehen sich auf eine Temperatur von  $20 \pm 1^{\circ}$  C.

Eireifung, Furchung und Ausbildung der Körpergrundgestalt werden vorwiegend am lebenden Tier untersucht. Das zwischen zwei Deckgläsern festliegende Muttertier bleibt in der mit *Haematococcus* angereicherten Kulturflüssigkeit unter dem Mikroskop mehrere Stunden am Leben.

Die Ausbildung der Körpergrundgestalt kann nur mit Hilfe von Schnittserien genau analysiert werden. Da es in erster Linie auf die Klärung der Gestaltungsbewegungen ankommt, werden vorwiegend Sagittalschnitte untersucht. Die Orientierung von Schnitten und Zeichnungen bleibt stets gleich. Links liegt der vordere, rechts der hintere Pol, während die Dorsal- und Ventralseite mit der Ober- und Unterseite der Zeichnung übereinstimmen.

Mit der Ausbildung der Körpergrundgestalt nach Abschluß der Pharynx-Einstülpung sind die wichtigsten organogenetischen Vorgänge abgeschlossen. Die anschließende „morphologische und histologische Sonderung der Organsysteme“ (SEIDEL, 1960), deren Analyse zur Zeit im elektronenmikroskopischen Bereich durchgeführt wird (KOHLER, 1965), die Geburt und weitere Entwicklung bis zum geschlechtsreifen Tier interessieren in diesem Zusammenhang weniger.

<sup>1</sup> Herrn JAN FRIESHAMMER danke ich für die Mitteilung dieser wertvollen Methode.

### 1. Eireifung

Innerhalb von 20 min nach Ablösung der Oocyte vom Keimdotterstock verfestigt sich die Eihaut. Zuvor wird sie von den ständig über den Uterus hinweglaufenden peristaltischen Bewegungen noch beliebig verformt (Abb. 2, 1). Der mit einem Durchmesser von  $30\ \mu$  sehr große Zellkern (*Ozk*) und die zahlreichen Öltropfen (*Lt*) werden kräftig bewegt und verändern ständig ihre relative Lage zu Zellwand und Dotterstock (*D*).

Nachdem sich die Eihaut verfestigt hat, ordnen sich die Öltropfen zu einem offenen Ring. Dieser schließt den Zellkern ein, der inzwischen auf die Ventralseite gewandert ist (Abb. 2, 2). Das Cytoplasma bildet ein körniges Zentrum aus, an das sich nach außen die Zone der Öltropfen und des klaren Randsaumes anschließen. Am stumpfen Ende der Oocyte, dem späteren vorderen oder vegetativen Pol des Embryos, sammelt sich die Hauptmenge der Öltropfen, während sich der Zellkern zur Reifungsteilung vorbereitet. Die Oocyte hat eine deutlich eiförmige Gestalt mit einem größten Durchmesser von ca.  $160\ \mu$  und einem kleinsten von ca.  $110\ \mu$ .

Bei der Reifungsteilung wird nur eine einzige Sphäre ausgebildet, was daran zu erkennen ist, daß die Kernmembran nur auf der zum Zentrum gerichteten Seite eingedrückt erscheint (Abb. 2, 3). Während der Reifungsteilung (Abb. 2, 4 und 5) bleibt die charakteristische Figur der Öltropfen erhalten.

Anschließend sind Zellkern ( $\overline{ABCD}_1$ ) und Richtungkörper (*Rk*) zum spitzeren Pol der Oocyte hin verschoben (Abb. 2, 6). Wenn der Zellkern in die erste Mitose eingetreten ist, läßt sich das Entwicklungsstadium leicht am Fehlen des klaren Plasmasaumes erkennen, ohne daß man nach dem Richtungkörper zu suchen braucht. Die Öltropfen liegen jetzt fast ganz peripher (Abb. 2, 7).

### 2. Furchung

Bis zum Beginn der Gastrulation hat bereits JENNINGS (1896) den Furchungsverlauf und die weitere Embryonalentwicklung bei *Asplanchna* äußerst genau untersucht. Seine Ergebnisse, von NACHTWEY (1925) bestätigt, treffen auch für *Asplanchna girodi* zu und machen eine ausführliche Beschreibung der Furchung überflüssig.

Die beiden ersten Furchungsteilungen führen zu dem in Abb. 3, 11 in schräg ventraler Ansicht dargestellten 4-Zellstadium. Die Weiterentwicklung bis zum 16-Zellstadium verläuft so, daß sich der Richtungkörper samt der Berührungsstelle aller vier Blastomeren nach rechts zum animalen Pol verschiebt, während sich aus jeder Blastomere eine viergliedrige Zellsäule entwickelt. Drei dieser Säulen erreichen den vege-

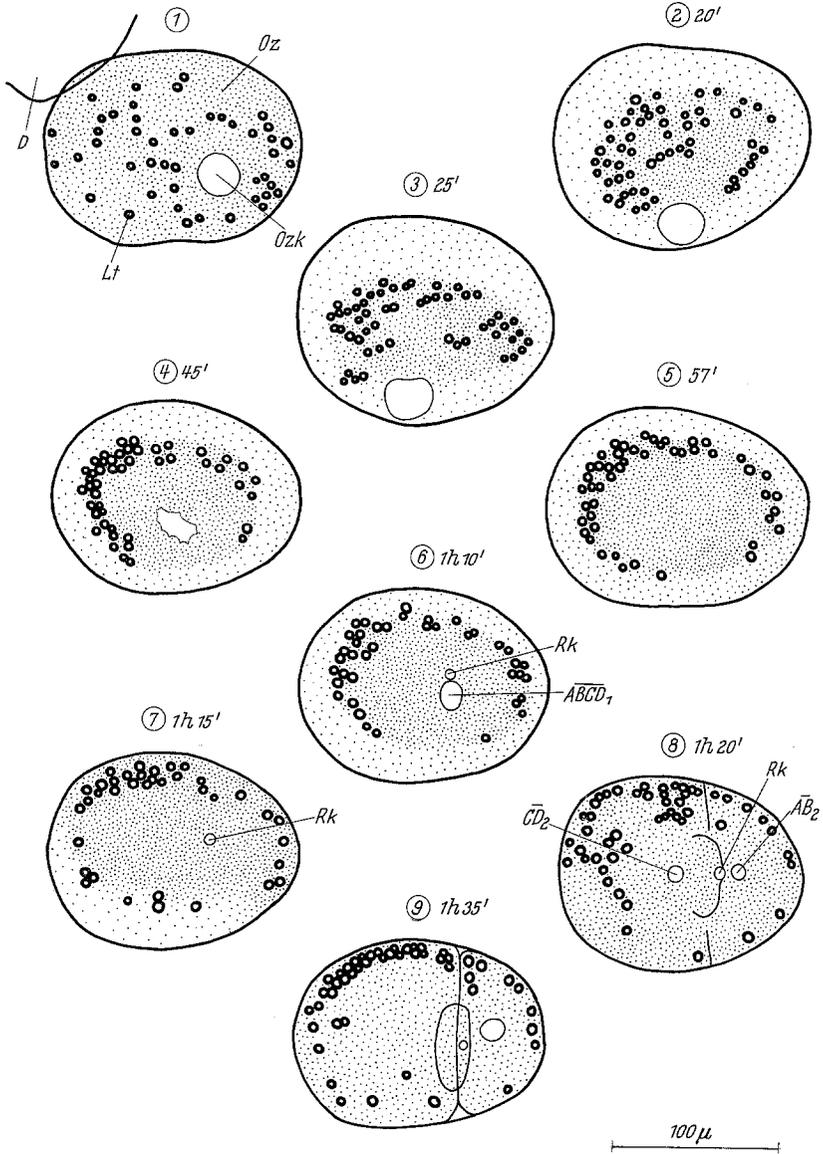


Abb. 2. Normogenese I. 1 Eizelle noch am Dotterstock hängend; 2 Ablösung vom Dotterstock; 3—6 Reifungsteilung; 7—8 erste Furchungsteilung; 9 Zweizellstadium

tativen Pol aber nicht. Dieser wird noch immer wie im 4-Zellstadium vom *D*-Quadranten eingenommen, und zwar von dessen größter Zelle, der Urgeschlechtsmutterzelle *d* 5,1 (Abb. 3, 15).

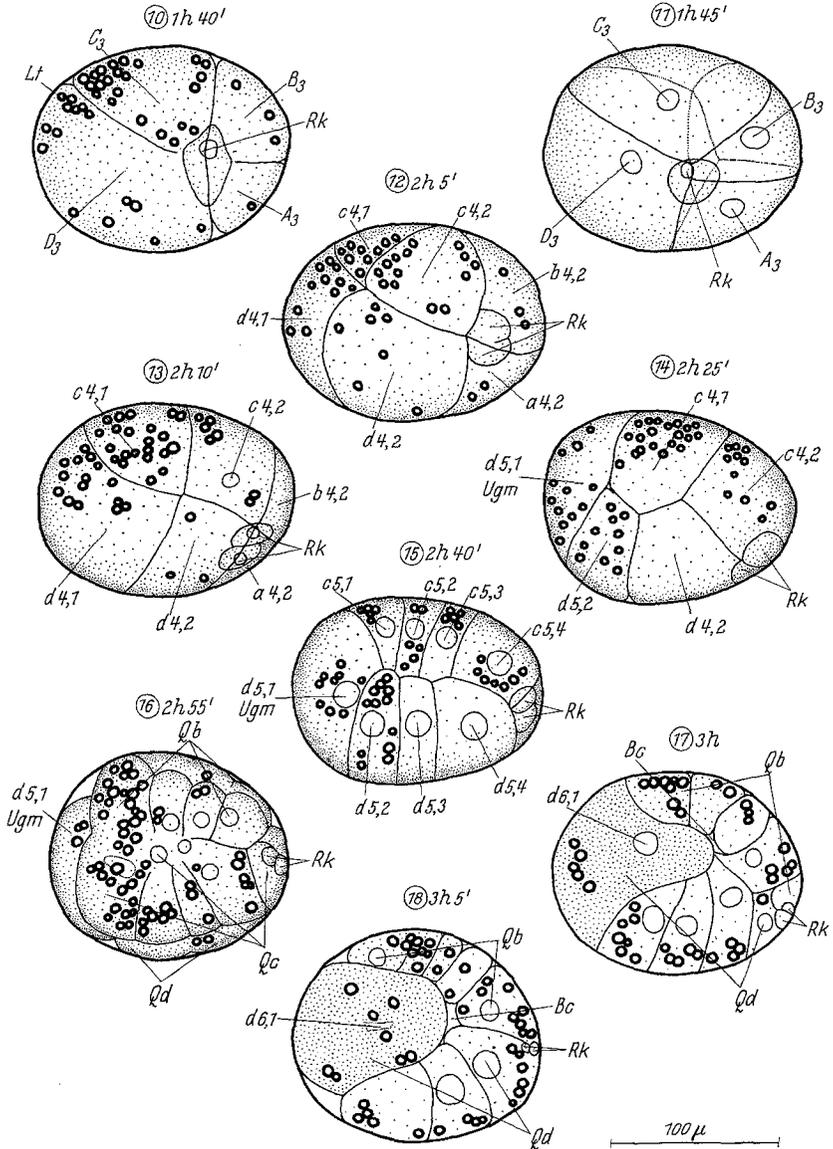


Abb. 3. Normogenese II. 10—11 Vierzellstadium; 12—13 Achtzellstadium; 15 16-Zellstadium; 16—18 epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle

### 3. Gastrulation

Die Entwicklungsstadien bis zu Abb. 3, 15 stammen alle von demselben Tier, das aber nach der fast dreistündigen Beobachtungsdauer ausgetauscht werden mußte. Von der Abb. 3, 16 an liegt der Embryo

genau in der Sagittalebene. Die Blastodermzellen des A-, B- und C-Quadranten beginnen gerade mit der Umwachsung der *Ugm*, der ersten Phase der Gestaltungsbewegungen des Embryos. Die Öltropfen sind in den Zellen des Umwachsungsrandes besonders gehäuft. Die Zellsäulen beginnen, sich in mehrere Längsreihen zu teilen. Von der Abb. 3, 17 an sind die Entwicklungsstadien im optischen Sagittalschnitt dargestellt. Durch diese erste Phase der Gestaltungsbewegungen wird die Keimbahnzelle ins Keimesinnere verlagert. Während der Umwachsung lassen sich deren inäquale Teilungen beobachten (Abb. 3, 16—18), bei denen die später degenerierenden kleinen Zellen *d* 6,2 und *d* 7,2 abgestoßen werden (vgl. Abb. 4, 21). Dann teilt sich die fast umwachsene Zelle in die Urdotterzelle und die Urkeimzelle, die vor ihrer Weiterentwicklung noch die ebenfalls degenerierende Zelle *d* 9,3 abgibt (Abb. 4, 26). Bald nach der Teilung der Urgeschlechtszelle ist der Umwachsungsvorgang beendet. Am vegetativen Pol drängen sich im Bereich des künftigen Blastoporus die reichlich mit Öltropfen versehenen Blastodermzellen (Abb. 4, 23). Unmittelbar darauf beginnt die zweite Phase der Gestaltungsbewegungen, die eigentliche Gastrulation. Die dorsalen Blastodermzellen wandern als Entodermzellen durch den Blastoporus ein (Abb. 4, 24), später bilden sie eine zweischichtige Magenanlage aus (Abb. 4, 26 und 27).

Während sich an der relativen Lage der ventralen Blastodermzellen zur Anlage des Keimdotterstocks kaum etwas ändert, verschiebt sich der Richtungskörper mit dem Blastoderm über die Dorsalseite nach vorn (Abb. 4, 24—27). Im Blastoderm, vor allem im Bereich des Richtungskörpers, müssen jetzt zahlreiche Mitosen ablaufen. Bald nach dem in Abb. 4, 27 gezeichneten Stadium hat sich die Magenanlage so weit gegen das Mesoderm vorgeschoben, daß das Blastocoel vollständig verschwindet. Damit stoßen auch im Innern des Embryos alle Zellen unmittelbar aneinander. Die Grenzen zwischen den einzelnen Organanlagen werden unsichtbar. In den nächsten Stadien ist die Altersbestimmung und die Orientierung eines Embryos nur noch nach der Verteilung und der unterschiedlichen Größe der Öltropfen möglich. Für die weitere Aufklärung der organogenetischen Vorgänge werden deshalb Sagittalschnitte durch Embryonen verwendet, die auf verschiedenen Altersstufen fixiert wurden.

Von der Gastrulation sind drei aufeinanderfolgende Stadien abgebildet. Die Abb. 5 zeigt einen etwas jüngeren Embryo als die Abb. 4, 26. Die Lageverhältnisse entsprechen einander. Der Richtungskörper liegt in beiden Fällen im dorsalen Blastoderm über der kleinen Zelle *d* 9,3, der Blastoporus genau am vorderen Pol des Embryos. Das Blastocoel erscheint größer, was durch die Schrumpfungsvorgänge bei Fixierung und Entwässerung zu erklären ist. Abgesehen von den bereits eingestülpt-

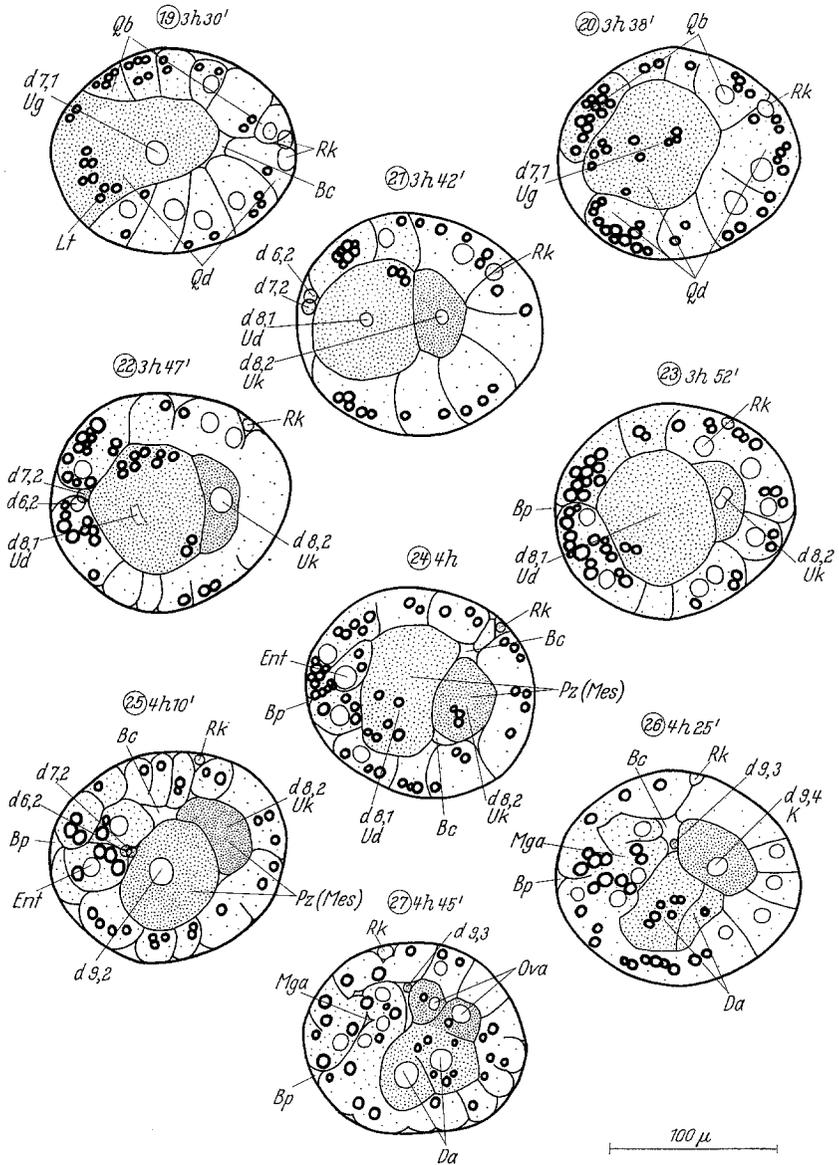


Abb. 4. Normogenese III. 19—23 epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle  $d\ 7,1$ — $d\ 8,1/d\ 8,2$ ; 24—27 Gastrulation

ten und den unmittelbar vor der Einstülpung stehenden Zellen befindet sich der ganze Embryo in intensiver mitotischer Differenzierung. Die Abb. 6 verdeutlicht den Vorgang der Gastrulation. Man erkennt die

Überschiebung der jeweils am vorderen Pol des Embryos liegenden Blastodermzellen durch die von dorsal her nachrückenden (Epibolie). Das dorsale Blastoderm wird dadurch dünner, und der Blastoporus rückt allmählich auf die Ventralseite des Embryos (Abb. 7).

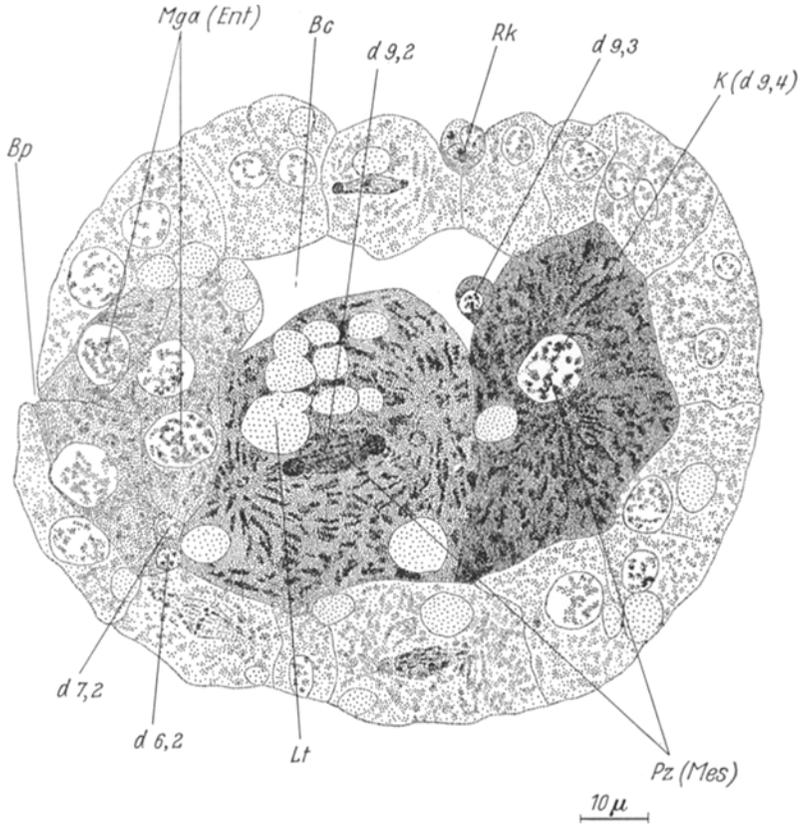


Abb. 5. Beginnende Gastrulation. Keimlager-Mutterzelle in Interphase, 2 Dotterzellen in Anabzw. Telophase. Sagittalschnitt

Wie die Reste der Zellen *d 6,2* und *d 7,2* in den Abb. 5—7 zeigen, ist das Material der ventralen Urmundlippe kaum an der epibolischen Gastrulation des Entoderms beteiligt. Mit deren Abschluß (Abb. 7) verschwindet das Blastocoel bis auf unbedeutende Reste.

Die Dreischichtigkeit des Embryos soll durch die verschiedenen Graustufen der Zeichnung verdeutlicht werden. Die gleichmäßig punktierten Flächen stellen die Öltropfen dar. Das hellgrau angelegte Ektoderm umgibt den Embryo als geschlossene, zwischen Richtungskörper und Blastoporus stark gedehnte Schicht. Vom Blastoporus aus schiebt

sich die mittelgrau gezeichnete, zweischichtige Magenanlage unter das dorsale Ektoderm. Sie ist durch zahlreiche, große Öltropfen ausgezeichnet. Dorsal wird sie vom Ektoderm überlagert, ventral liegt sie dem dunkel gezeichneten Mesoderm auf. Dieses stellt einen massigen Gewebe-

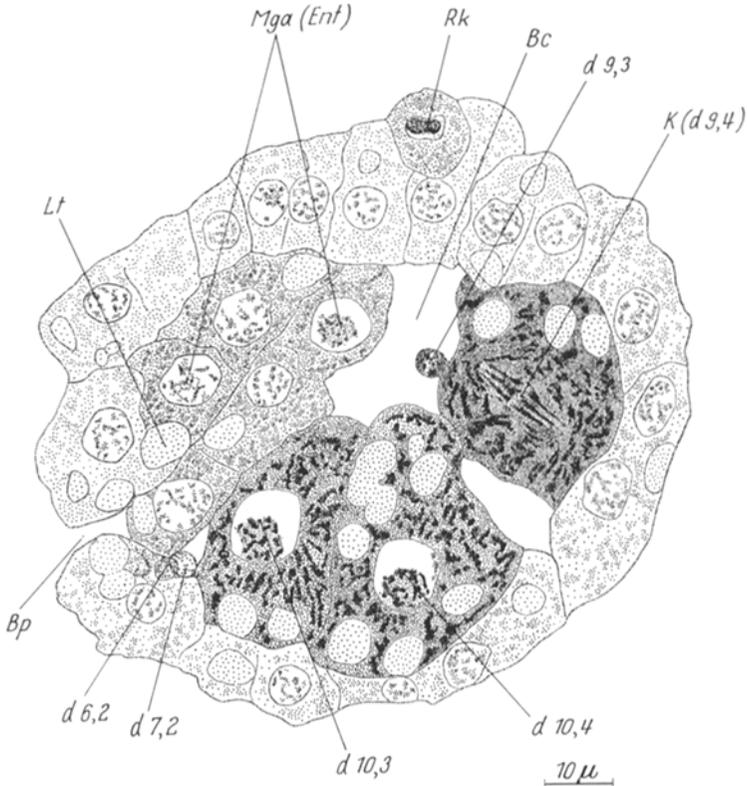


Abb. 6. Entoderm halb eingestülpt. Keimlager-Mutterzelle in Anaphase, 4 Dotterzellen in Interphase. Sagittalschnitt

komplex aus Dotterstock- und Keimlagerzellen (letztere ganz dunkel) dar. Es nimmt nach der Gastrulation noch mehr als die Hälfte des Keimesinneren ein.

#### 4. Ausbildung der Körpergrundgestalt

Dieser Abschnitt der Embryonalentwicklung wird durch eine dritte Phase der Gestaltungsbewegungen eingeleitet, durch die Einstülpung des ektodermalen Pharynx. An ihr sind dosales und ventrales Ektoderm gleichmäßig beteiligt. Die Abb. 8 zeigt, wie die Magenanlage als Folge der Pharynxbildung ganz nach dorsal verschoben worden ist. Das

Keimesinnere ist nun von Ekto-, Meso- und Entoderm zu etwa gleichen Teilen ausgefüllt. Das vielzellige Ektoderm hat sich besonders über der Magenanlage und der Anlage des Keimdotterstocks weiter gestreckt, ist aber gleichzeitig an anderen Stellen mehrschichtig geworden. Der

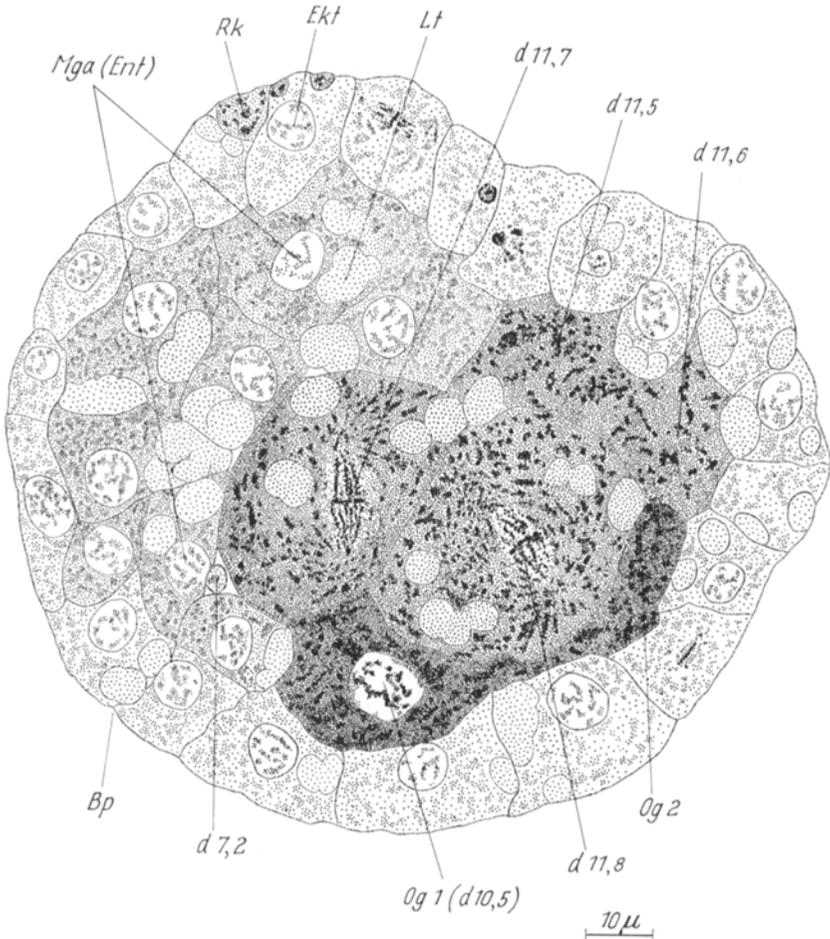


Abb. 7. Gegen Ende der Gastrulation. 2 Oogonien in Interphase; 8 Dotterzellen, 6 davon in Mitose. Sagittalschnitt

Blastoporus entwickelt sich zu der späteren Mundbucht weiter. Die prospektiven Bereiche des Kauers und der Urogenitalöffnung liegen auf dieser Stufe noch nicht eingestülpt im ventralen Ektoderm.

Die Abb. 9 zeigt die fertig ausgebildete Körpergrundgestalt des entstehenden Rädertieres. Die Einstülpungsvorgänge sind fast beendet. Das Ektoderm nimmt jetzt mehr als die Hälfte des Keimesinneren ein.

Die Mundbucht liegt auf der Mitte der Ventralseite. Seit dem in Abb. 8 gezeichneten Stadium hat sich das senkrecht nach oben ziehende, vorderste Stück des Verdauungstrakts eingestülpt, der künftige Mastax. Im dorsalen Ektoderm sind die Zellen noch flacher geworden. Durch

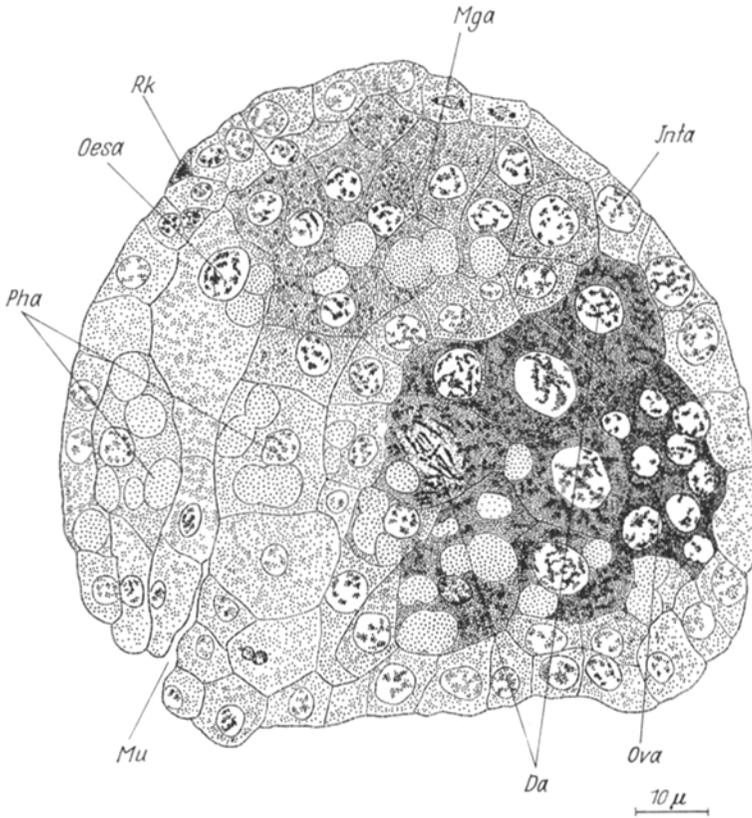


Abb. 8. Pharynx-Einstülpung. 16 Oogonien bzw. Oocyten; 14 Dotterzellen, 2 davon in Mitos. Sagittalschnitt

fortgesetzte Mitosen im vorderen ektodermalen Bereich liegt hier ein Vorrat kleiner Zellen bereit, der die erste Anlage des Cerebralganglions darstellt. Die Verbindung der Anlage des Mastaxganglions zum übrigen Ektoderm ist auf dieser Abbildung noch deutlich zu erkennen.

Die morphologische und histologische Sonderung der Organsysteme wird allmählich deutlicher. Man erkennt, besonders in den Zellkernen des Entoderms, die ersten Anfänge der Nucleolenbildung. Auch in der dorsalen Anlage des Integuments und im Bereich des hinteren Pharynx werden sie bereits sichtbar. Ihre Ausbildung läßt das Alter des Embryos

sicherer bestimmen als die Anzahl der Dotterstockzellen, die verhältnismäßig starken Schwankungen unterliegt (BEAUCHAMP, DE, 1951).

Eine vierte und letzte Phase der Gestaltungsbewegungen stellt die Einsenkung der Anlage des Cerebralganglions dar (Abb. 10). Die auf

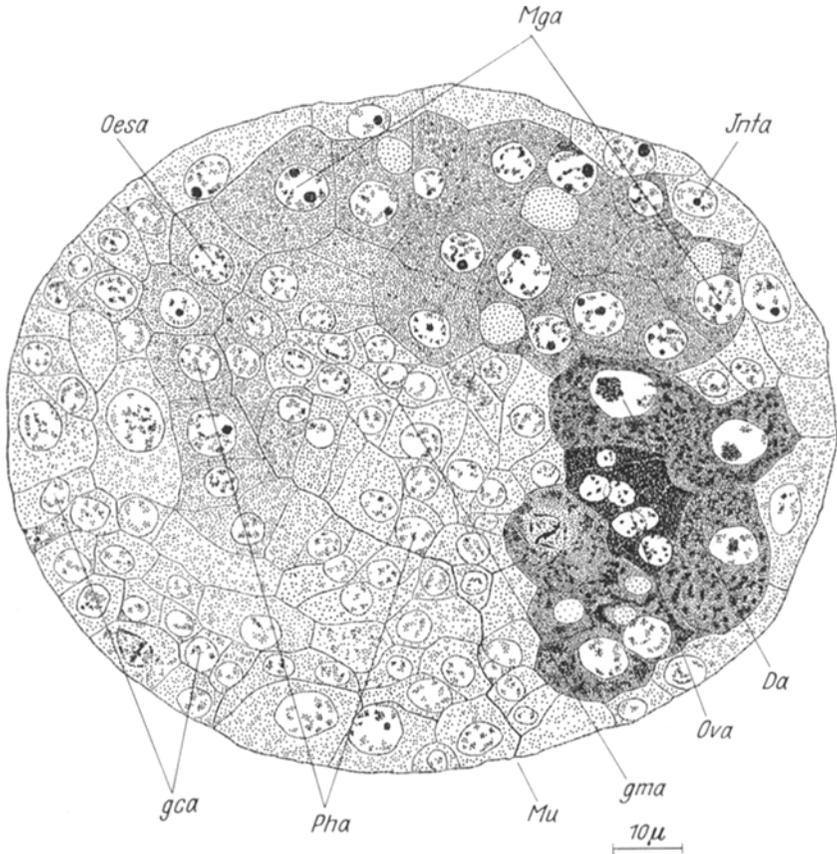


Abb. 9. Gegen Ende der Pharynx-Einstülpung. 22 Oocyten; 26 Dotterzellen, 6 davon in Mitose. Sagittalschnitt

dem vorhergehenden Stadium noch nicht erkennbaren Verschmelzungsprozesse der Zellen einzelner Organe zu Syncytien haben bereits große Teile des Embryos erfaßt. Die Anlage des Cerebralganglions senkt sich nach innen dorsal ein bzw. wird von der Anlage des Integuments überwachsen. Diese bildet jetzt über der Magenanlage eine kernarme Zellschicht, die stellenweise noch dünner als  $1,5\mu$  ist.

Im Inneren des Embryos sind nun die Organe des vorderen Verdauungstrakts, die Mundbucht, der Kauer und der Pharynx, gut zu

erkennen. Der Keimdotterstock wird durch die Anlage des Ovidukts umwachsen. Ento- und Mesoderm zusammen nehmen noch etwa ein Drittel der sagittalen Schnittfläche ein. Die Magenanlage behält die charakteristische Lage zwischen dorsalem Blastoderm und Dotterstock

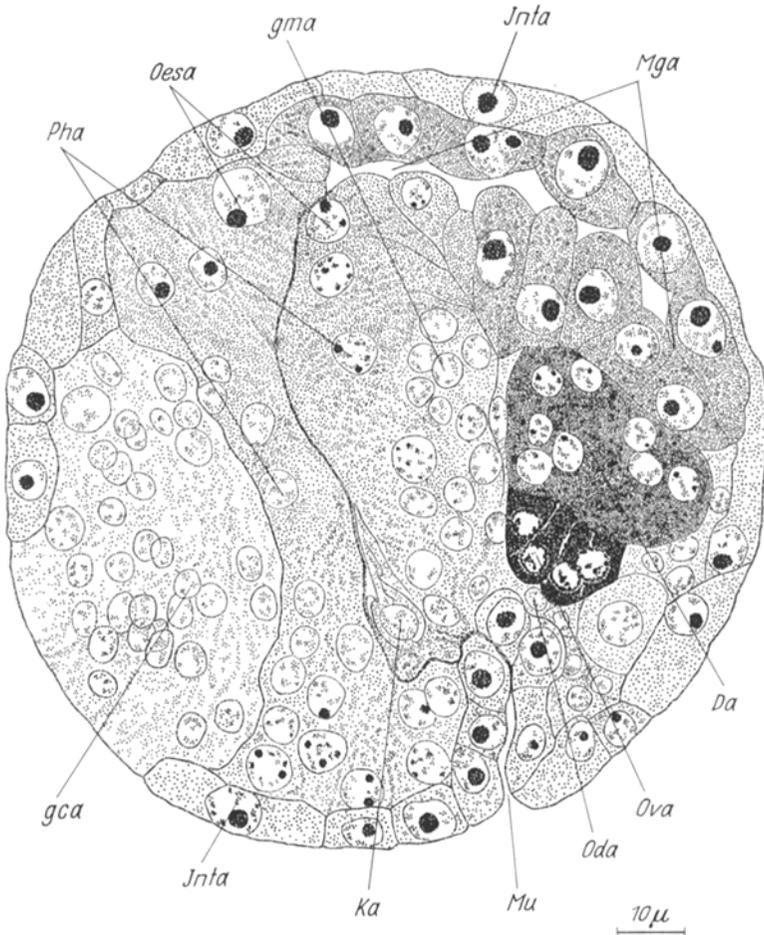


Abb. 10. Einsenkung des Cerebralganglions. Keimlager noch zellulär, Dotterstock bereits syncytial. Sagittalschnitt

bei, dem sie mit der hinteren ventralen Fläche breit aufliegt. Die Zellgrenzen bleiben im Magen und im Keimlager auch beim ausgewachsenen Tier erhalten, während die Anlage des Integuments später zur syncytialen Hypodermis wird. Die Ausbildung der Nucleolen ist in der Magen- und Integumentanlage schon fast beendet, während sie in den Kernen

des Dotterstocks eben erst beginnt. Die Kerne der Oocyten sind besonders reich an basophiler Substanz, die zum Aufbau der Polkappen (NACHTWEY, 1925) bereitliegt.

### 5. Streckung

Bald nach der in Abb. 10 dargestellten Phase wird das Cerebralganglion vollständig überwachsen, und das Integument schließt sich über ihm. Die Zilien des Wimperkranzes beginnen zu schlagen. Mit der Produktion von Pseudocoelflüssigkeit rücken die Organe auseinander, unter anderem an den Berührungsflächen zwischen Cerebralganglion und Pharynx, dorsalem Blastoderm und Magen sowie zwischen Magen und Keimdotterstock. Durch den steigenden Innendruck wird die Eihaut gesprengt, und das Jungtier beginnt sich zu strecken. Schon im Uterus besitzt es ein voll funktionierendes Exkretionssystem. Durch heftige, ruckartige Kontraktionen unterstützt das Tier den Vorgang seiner Geburt.

## II. Experimentelle Analyse

### 1. Einleitung

Bis zur ersten Furchungsteilung lassen sich genau bestimmbare Partien des Eies bestrahlen, bis zum 4-Zellstadium noch jede einzelne Blastomere des Embryos. Vom 8-Zellstadium an bietet nur noch die Keimbahnzelle als größte, endständige Zelle ein sicheres Ziel. An allen übrigen Stellen der entstehenden Sterroblastula werden durch den Strahlenkegel mehrere Blastodermzellen gleichzeitig getroffen. Wenn nach der epibolischen Umwachsung die Keimbahnzelle ins Innere des Embryos verlagert worden ist, bleiben nur noch die prospektiven Organbezirke der Oberfläche des Embryos für die Bestrahlung zugänglich. Das vor und während der Gastrulation am vegetativen Pol dicht gedrängte, durch Öltropfen markierte prospektive Entoderm ist das am besten erkennbare Ziel. Nach der Gastrulation kann keine sichere selektive Bestrahlung mehr vorgenommen werden.

Von insgesamt etwa 1000 UV-Mikrostrahlenstichversuchen wurden nur die letzten 500 fortlaufend ausgewertet, da zuvor zahlreiche Änderungen von Kultur- und Versuchsbedingungen erfolgt waren.

### 2. Schädigungstypen

Zwei Drittel aller strahlengeschädigten Tiere sind nach Ablauf ihrer Entwicklungszeit nicht streckungsfähig. Sie werden nachfolgend unter Typ 1—3 beschrieben. Eine Übersicht über Entstehung und Aussehen dieser Versuchsergebnisse gibt die Abb. 11. Die Geburt muß durch leichtes Drücken des Muttertieres herbeigeführt bzw. unterstützt werden. Sehr schwer geschädigte Tiere werden aus dem Uterus heraus-

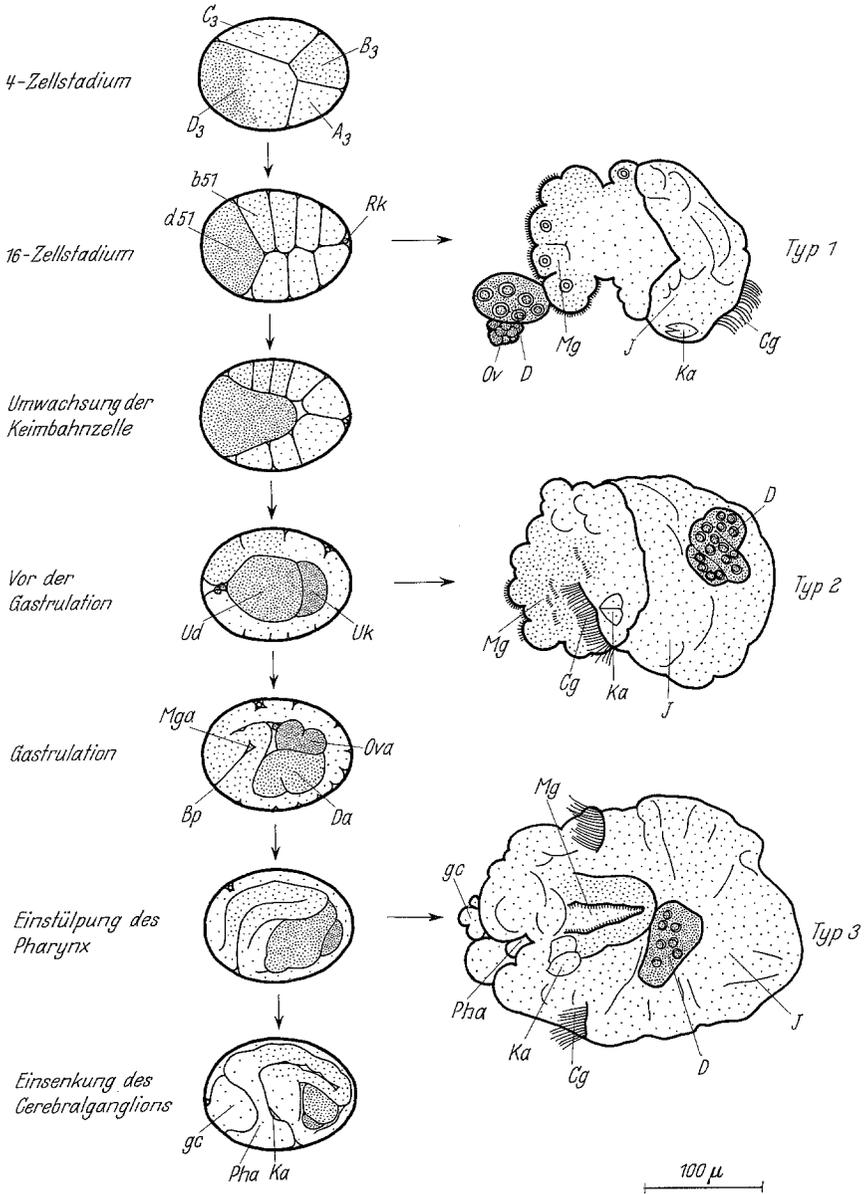


Abb. 11. Die Entstehung geschädigter Tiere durch unvollständige Gestaltungsbewegungen

präpariert. Um eine osmotische Wasseraufnahme der freiliegenden Zellen und Gewebeteile zu vermeiden, wird die Untersuchung in einer isotonischen Lösung durchgeführt (0,18%ige NaCl-Lösung). Die geschä-

digten Tiere bleiben nach der Geburt in dieser Lösung lange genug unverändert, um nach Beobachtung und Beschreibung eventuell noch fixiert werden zu können.

Abgesehen von totaler Zerstörung durch Abtöten der Oocyte lassen sich folgende typische Schadensbilder unterscheiden:

Bei *Typ 1* findet die Furchung statt, aber die epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle gelingt nur unvollständig oder unterbleibt ganz.

Manchmal stirbt der Embryo auf dieser Stufe ab. Meist aber gehen die Differenzierungsvorgänge weiter. In verschieden starkem Ausmaß kommt es zu mitotischer Vermehrung und Selbstdifferenzierung einzelner Zellen oder ganzer Gewebebezirke. Dies geschieht ohne vorausgehende Verlagerung irgendwelcher prospektiver Keimblattbezirke ins Innere des Embryos. So entstehen auf der Oberfläche ausdifferenzierte Zellen und Organe, die infolge starker Zellvermehrung lokal überschoben oder eingestülpt werden und dadurch einzelne Phasen der Gestaltungsbewegungen nachvollziehen können.

Oft geht die Selbstdifferenzierung bis zur vollen Funktionsfähigkeit und typischen Gestalt einzelner Zellen und Organe weiter. Syncytial verschmolzene, zerknitterte Hautpartien sind fast stets festzustellen. Die Matrixzellen des Cingulums besitzen schlagende Wimpern. Einzelne Muskelzellen können sich kontrahieren, obwohl sie noch ihre ursprüngliche Kugelgestalt besitzen. Die zum Magen und Ösophagus gehörenden Teile sind im Mikroskop an ihrem meist beweglichen Flimmerbesatz zu erkennen. Der Keimdotterstock läßt sich wegen der auffallenden Größe der Nucleolen in den Dotterkernen auch dann auffinden, wenn er nicht seine typische Gestalt besitzt. Er liegt stets oberflächlich. Der *Typ 1* ist damit als Exogastrula mit peripherem Mesoderm zu bezeichnen.

Die am weitesten entwickelten Tiere dieser Gruppe können mit Hilfe ihres metachron schlagenden Cingulums frei schwimmen. Das Ektoderm des Kopfgebietes und das nicht eingestülpte, also nach außen flimmernde Magengewebe sind durch ektodermale Gewebeteile verbunden. Die zum Keimdotterstock gehörenden Zellen werden bei der Geburt abgestoßen. In vielen Fällen ist das geschädigte Tier dagegen nicht imstande, seine Eihaut zu sprengen. Man sieht dann die Bewegungen der Zilien des Wimperkranzes ebenso wie den funktionierenden Flimmerbesatz der Magen­zellen direkt unter der Eihaut. Das völlige Fehlen der Gastrulation prägt die Tiere dieses Typs so stark, daß die spezielle Mißbildung eines Organs nur selten in Erscheinung treten kann.

Dem *Typ 2* gehören diejenigen Tiere an, bei denen sich eine Störung erst während der epibolischen Gastrulation des prospektiven Entoderms bemerkbar macht. Die Gestaltungsbewegungen hören auf, und die Gastrulation bleibt mehr oder weniger unvollständig. Die einsetzende Selbstdifferenzierung führt zu dem typischen Schadensbild einer

Exogastrula, beider im Gegensatz zu Typ 1 der Keimdotterstock im Inneren liegt. Das ungestreckte Tier trägt auf der Linie des größten Körperrumfangs einen funktionierenden Wimperkranz. Dahinter schließt ein meist unverletztes Hautsäckchen, davor massiges Gewebe mit Außenflimmern an. Dieses entodermale Material kann mehr oder weniger weit eingestülpt sein und ist dann mit einem entsprechend großen Magolumen versehen. Bei Typ 2 ist es möglich, eine spezifische Schädigung prospektiven Ekto- und Mesoderms zu erkennen. Im ersten Fall ist das Integument unvollständig ausgebildet, im zweiten liegen nur Reste eines Keimdotterstocks im Hautsäckchen. Dagegen läßt sich eine Schädigung des prospektiven Entoderms nur bei Schnittserien feststellen (vgl. Abb. 25).

Der *Typ 3* entsteht dann, wenn die Gestaltungsbewegungen erst nach vollendeter Gastrulation bzw. während der Einstülpung des Stomodaeums aufhören.

Die Tiere sind durch den Besitz vollständig entwickelter innerer Organe ausgezeichnet. Der Pharynx, an dem der mißgebildete Kauer ventral außen liegt, ist dagegen stets ausgestülpt. Das fehlende Streckungsvermögen wird durch einen Integumentschaden verursacht, der auch die Einstülpung des Stomodaeums verhindert. Die Zellteilungs- und Differenzierungsvorgänge im vorderen Ektoderm lassen das Cerebralganglion entstehen, das nach seiner Einsenkung vom Integument überwachsen wird. Es ist verständlich, daß sich eine Störung im Ektoderm besonders auf diesen komplizierten Mechanismus auswirkt. Das Integument des Apikalfeldes verliert die Fähigkeit, sich über dem Cerebralganglion zu schließen. Aus der Wunde dringt im typischen Fall neurales Ektoderm, meist in Form von Einzelzellen. Eine Streckung des Tieres ist ausgeschlossen, denn der dazu notwendige Innendruck kann von der Pseudocoelflüssigkeit nur bei unverletztem Integument entwickelt werden.

Spezifische Schädigungen im Bereich des Entoderms sind auch noch bei *Typ 3* kaum erkennbar. Die charakteristische Form der Organe des Verdauungstrakts tritt bei ungestreckten Tieren nicht in Erscheinung. Störungen im Ekto- und Mesoderm lassen sich dagegen ebenso wie bei *Typ 2* sicher nachweisen.

Rund 10% aller bestrahlten Embryonen ergaben nach der UV-Mikrostrahlenstichbehandlung und einer scheinbar normalen Entwicklung den *Typ 4*. Die Gestaltungsbewegungen und die Sonderung der Organsysteme zeigten bei ihnen entweder nur geringfügige oder gar keine Abweichungen von der Normogenese. Alle zu dieser Gruppe gehörenden Tiere besitzen ein vollständiges Integument und damit die Fähigkeit, sich zu strecken. Die für zellkonstante Tiere charakteristische Selbstdifferenzierung von Organbezirken erleichtert die Diagnose, denn

ein geschädigtes, zerstörtes oder überhaupt nicht ins Innere verlagertes Teilstück des Embryos hindert den Rest in keiner Weise daran, sich seiner Bestimmung gemäß zu entwickeln. Die Störungen äußern sich im allgemeinen so, daß einzelne Zellen die Fähigkeit verlieren, sich zu Organen zusammenzuschließen. So entstehen etwa Tiere, deren einzige Abweichung vom normalen Körperbau in einigen frei liegenden Magen- oder Magendrüsenzellen besteht oder bei denen statt des Keimdotterstocks eine größere Anzahl isolierter Zellen in der Leibeshöhle liegen.

### 3. UV-Mikrostrahlenstichversuche

a) *Bestrahlung während der Eireifung.* Bei  $14 \pm 1^{\circ}$  C vergehen zwischen der Ablösung der Oocyte vom Keimdotterstock und der ersten Furchungsteilung etwa 2 Std. Während dieser Zeit findet die Reifungsteilung statt. Dabei lassen sich an der Eizelle fünf Entwicklungsstadien unterscheiden, die nachfolgend getrennt besprochen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. *Bestrahlung während der Eireifung*

|                   | Bestrahlt | Kontrolle * |
|-------------------|-----------|-------------|
| Oocyten           | 110       | 36          |
| Normal entwickelt | 24        | 34          |
| Typ 1             | 55        | 0           |
| Typ 2             | 9         | 1           |
| Typ 3             | 9         | 1           |
| Typ 4             | 9         | 0           |
| Abgetötet         | 4         | 0           |

\* Unter gleicher mechanischer Beanspruchung wie Versuchstiere.

Da die Eihaut noch nicht verfestigt ist, kann sich die Oocyte unmittelbar *nach der Ablösung vom Keimdotterstock* während des Versuchs noch etwas bewegen. Dieser Fehler konnte nur bei fünf Versuchen durch Nachführen des Objekts in den UV-Strahl hinreichend ausgeglichen werden. Die bestrahlten Eizellen entwickelten sich entweder überhaupt nicht, oder sie ergaben die Typen 1 und 2. In Versuch 1<sup>2</sup> aber entstand nach einer deutlich gestörten Embryonalentwicklung ein fast normal entwickeltes, frei schwimmendes Tier vom Typ 4. Die Abb. 12 zeigt eine Lebendaufnahme unmittelbar nach der Geburt. Das sehr zarte, mit  $380 \mu$  für ein Jungtier normal lange Weibchen ist im Verhältnis zu seiner Länge um etwa ein Drittel zu schmal. Durch die konkave Ventralseite weicht seine Gestalt auffallend von der normalen

<sup>2</sup> Die besonders erwähnten Versuche 1—39 stellen eine Auswahl aus der Gruppe der 500 Hauptversuche dar und sind in der Reihenfolge ihrer Besprechung durchnummeriert.

Sackform ab (vgl. Abb. 1). Es muß sich um die Regulation einer sehr frühen, wahrscheinlich ektodermalen Schädigung handeln, denn die Embryonalentwicklung war deutlich gestört. Noch auf der Stufe der Sonderung der Organsysteme füllte der Embryo die Eihaut nur unvollständig aus.

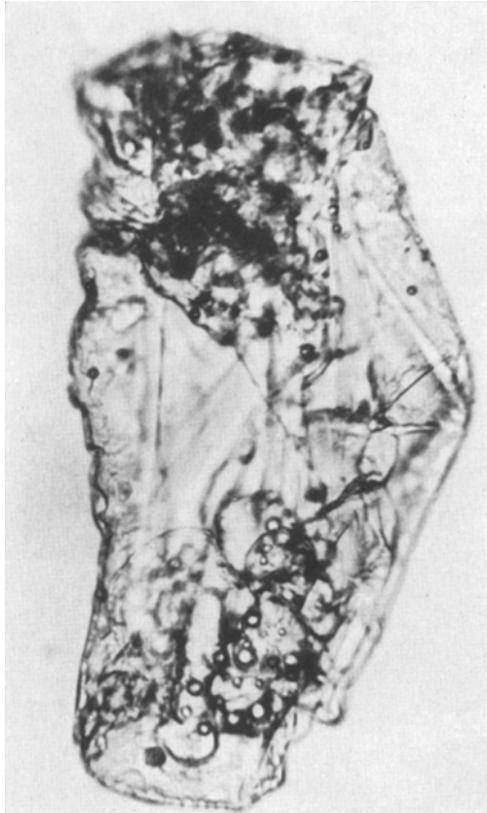


Abb. 12. Lebendaufnahme eines frei schwimmenden Weibchens in Seitenansicht unmittelbar nach der Geburt. Die Eizelle, aus der das Tier entstanden ist, wurde nach der Ablösung vom Dotterstock am animalen Pol bestrahlt. Die Strahlenschädigung ist weitgehend reguliert. Vergr. 270  $\times$ ; UV alt 40  $\mu$ /240 sec

Nach der Verfestigung der Eihaut wandert der Zellkern zur Peripherie und *bereitet dann die Reifungsteilung vor*. Während dieser Vorgänge, die etwa eine halbe Stunde in Anspruch nehmen, wurden 17 Oocyten bestrahlt. Eine davon stellte die Entwicklung sofort ein, drei ergaben völlig normale Tiere; elfmal entstand der Typ 1, einmal der Typ 4.

Die Versuchsreihe sollte darüber Aufschluß geben, ob auf dieser frühen Stufe in der Oocyte bereits prospektive Bezirke determiniert

sind. Da fast nur der unspezifische Schädigungstyp 1 auftrat, muß auch die frühe Embryonalentwicklung der bestrahlten Tiere bis zur Ausbildung der Körpergrundgestalt in die Untersuchung einbezogen werden.

Bei Versuch 2 liegt im 8-Zellstadium am strahlengeschädigten vegetativen Pol eine vollständig abgekugelte, große Zelle, nach Lage und Größe als Keimbahnzelle bestimmbar. Nach einem weiteren Teilungsschritt ist diese noch stärker isoliert und auf die Dorsalseite des Embryos in eine völlig atypische Lage verschoben. Später sind oberflächlich zahlreiche, gegeneinander isolierte, stark dotterhaltige Zellen feststellbar, das prospektive Meso- und Entoderm. Die Selbstdifferenzierung bringt ein Integumentstück hervor, das vorn einen Wimperkranz und Reste des Kauers trägt und dorsal weit offen steht. Etwas flimmerndes Magengewebe liegt frei an der Oberfläche. Vom Keimdotterstock aber ist nach der Geburt des Tieres nichts mehr aufzufinden.

Auch bei Versuch 3 ist die Oocyte am vegetativen Pol bestrahlt worden, was eine starke Verlangsamung der Entwicklungsvorgänge zur Folge hat. Erst nach 5 Std, also 3 Std zu spät, beginnt die Furchung. Schon im 2-Zellstadium kugelt sich die Blastomere  $\overline{CD}_2$  ab. Sie enthält das bestrahlte Plasma. Während sich die Blastomere  $\overline{AB}_2$  teilt und eine Kalotte kleinzelligen Materials liefert, bleibt  $\overline{CD}_2$  ungeteilt liegen. Die kleinen animalen Zellen beginnen mit der Umwachsung, die aber nur zum Teil abläuft. Dementsprechend kann auch in Versuch 4 nach Bestrahlung des vegetativen Eipols die Schädigung des Keimbahnmaterials nicht mehr reguliert werden. Ein Hautstück mit Teilen des Cingulums und ein flimmernder Magen mit kleinem Magenumen werden ausdifferenziert. Nach der Geburt bleiben in der Eihaut zahlreiche isolierte Öltropfen und Plasmareste der geplatzen Keimbahnzelle zurück.

Nach der Bestrahlung des Cytoplasmas am animalen Pol entstand bei Versuch 5 ein fast normal entwickeltes Tier vom Typ 4. Verwachsungen zwischen Magendrüssen und Pharynx lassen erkennen, daß das bestrahlte Plasma der Oocyte bereits als künftiges Ekto- und Entoderm determiniert war.

Diese Beispiele bestätigen die Vermutung einer schon vor der Reifungsteilung festgelegten, nicht mehr regulierbaren Polarität der Oocyte.

Von den 25 während der Reifungsteilung bestrahlten Oocyten entwickelten sich 10 völlig normal. Dieser hohe Anteil ist um so auffälliger, als er nach der ersten Furchungsteilung auf etwa 1% im Durchschnitt absinkt. Ein gewisses Regulationsvermögen muß also noch vorhanden sein. Im übrigen gleichen die Ergebnisse sehr stark den oben beschriebenen.

Bei Versuch 6 ergab die Bestrahlung des animalen Pols den Typ 1. Neben dem großen Komplex nach außen flimmernden Magengewebes

liegt ein syncytial ausgebildeter Keimdotterstock. Alles übrige, vorwiegend ektodermale Material, die Matrixzellen des Cingulums mit funktionierenden Zilien eingeschlossen, besteht aus völlig voneinander isolierten Zellen.

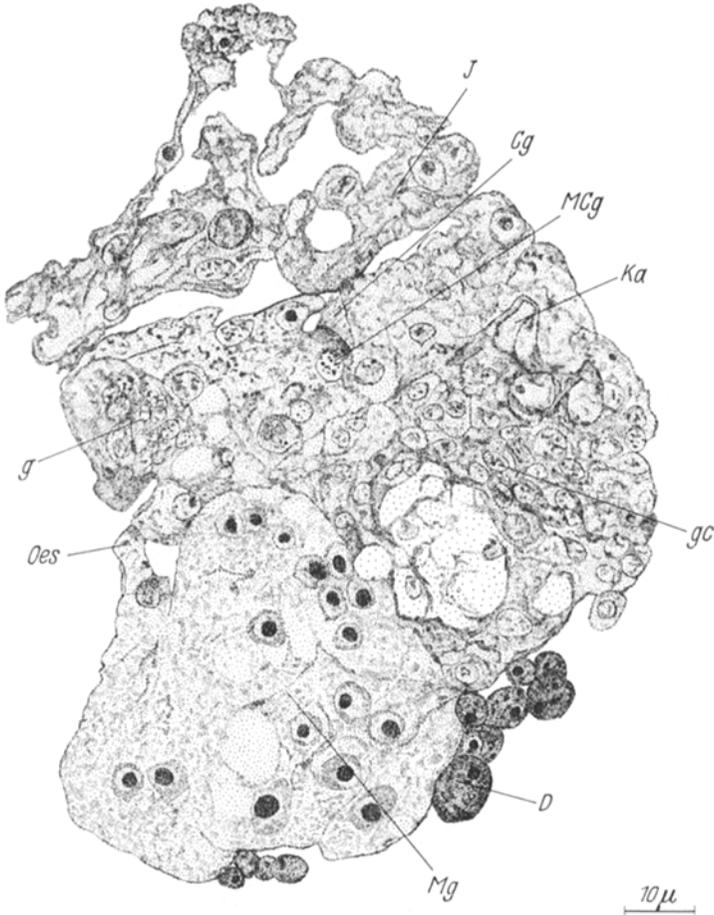


Abb. 13. Sagittalschnitt durch eine Exogastrula, Typ 1. Oocyte während der Reifungsteilung am vegetativen Pol geschädigt. UV 24  $\mu$ /60 sec

Nach Bestrahlung des vegetativen Pols entstand bei Versuch 7 ebenfalls ein Tier vom Typ 1. Das samt Alttier fixierte und sagittal geschnittene Tier zeigt die Abb. 13. Seine Körperform ist durch die Lage im Uterus bestimmt. Es besteht fast ausschließlich aus Ekto- und Entoderm. Ektodermalen Ursprungs sind syncytial verschmolzene Integumentstücke (*J*) und Teile des Cingulums (*Cg*, *MCg*), des Pharynx (*Ka*)

und der Ganglien (*gc*, *g*). Lokale Bewegungsvorgänge haben den Kauer in die Nähe des Cerebralganglions gerückt. Auf der Dorsalseite ist ein Stück Ösophagus erkennbar, das die Verbindung zwischen Ekto- und Entoderm herstellt (*Oes*). Das Entoderm besteht aus fest verwachsenen Magen­zellen (*Mg*), deren Zellgrenzen den Beginn einer Einstülpung andeuten. Vor dem Entoderm liegen einige unverbundene Zellen, die zum Keimdotterstock gehören (*D*). Sie hätten sich als freie Zellen vom übrigen Tier abgelöst, wenn dieses geboren worden wäre.

Von den 50 Versuchsergebnissen aus Bestrahlungen *nach der Reifungsteilung* gehören mehr als die Hälfte (58%) dem Typ 1 an, 12% sind normal entwickelt.

Aus den am vegetativen Pol geschädigten Oocyten entstehen Tiere, deren auffälligster Mangel des Fehlen des Keimdotterstocks ist. Ein typisches Durchgangsstadium zeigt sich nach der unvollendeten Umwachsung der Keimbahnzellen. In der hinteren, animalen Hälfte besteht der Embryo aus syncytialem Gewebe, in der vorderen, vegetativen, aus einer Vielzahl dotterreicher, gegeneinander isolierter Zellen. Bei der Geburt lösen sich diese ab, und ein aus Ekto- und Entoderm bestehendes Gebilde bleibt übrig.

Dieser Beschreibung entspricht der Versuch 8. Das Integumentstück besitzt eine von Matrixzellen umgebene Ausbuchtung. Sie stellt eindeutig die getrennt ausdifferenzierte Mundbucht dar und markiert dadurch die Ventralseite. Über die Dorsalseite hinweg sind Ekto- und Entoderm miteinander verbunden. Im Übergangsbereich liegt der Komplex der Magendrüsen. Die Ventralseite steht weit offen, von hier haben sich die isolierten Zellen des Keimdotterstocks abgelöst. Nahe dem Ektoderm tragen die Entodermzellen Außenflimmern, während das restliche Entoderm ein Magenlumen mit Innenflimmern ausgebildet hat.

Bei Versuch 9 wurde diese Übergangsstelle fotografiert. Die noch nicht eingestülpten Entodermzellen tragen außen einen Flimmerbesatz (Abb. 14). Das ebenso lebhaft flimmernde Magenlumen ist in der Aufnahme nicht sichtbar.

Die am animalen Pol geschädigten Oocyten zeichnen sich vor allem durch den Besitz eines Keimdotterstocks aus. Bei Versuch 10, Abb. 15, liegt der Dotterstock am vorderen Pol des Tieres oberflächlich dem Magengewebe auf und ist nur mit dem ventralen Ektoderm (*g*, *I*) leicht verwachsen. Dieselben Lagebeziehungen zwischen Mesoderm und ventralem Ektoderm bestehen schon auf dem 16-Zellstadium, wo die Urgeschlechts­mutterzelle am vorderen Pol des Embryos liegt und als Abkömmling des D-Quadranten mit den übrigen, ventral liegenden Blastomeren verbunden ist. Die Ventralseite ist durch die Lage des Kauers (*Ka*) eindeutig bestimmt. Dieser ist, wohl durch eine lokale Überschiebung von Blastodermzellen, in eine fast normale Stellung

gebracht worden. Nahe bei ihm haben sich Muskelzellen (*Ms*), Ganglienzellen (*gm*) und Pharynxteile (*M*) ausdifferenziert. Die von dorsal nach vorne gerückten Magenzellen (*Mg*), deren schlagende Außenflimmern nur am lebenden Objekt zu erkennen waren, bilden — ebenfalls durch

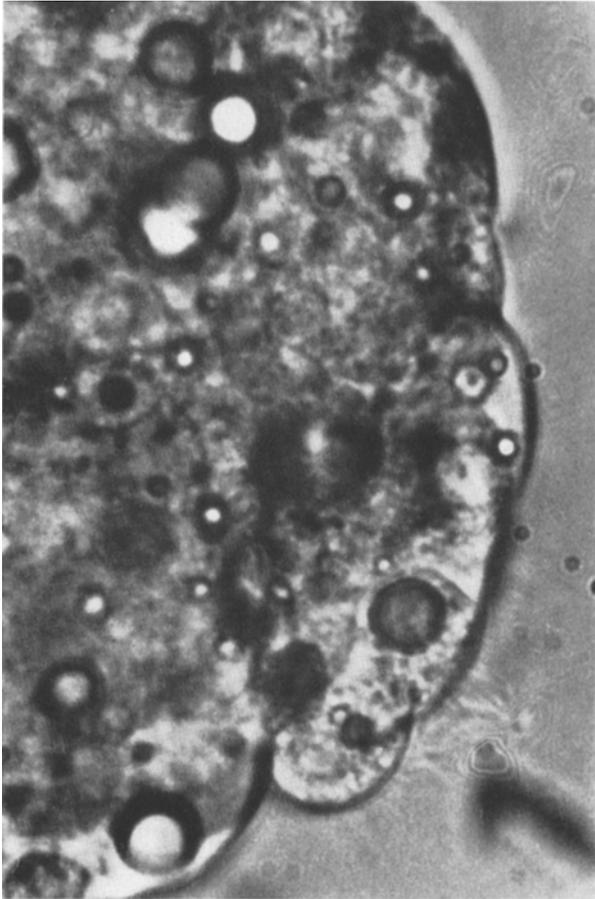


Abb. 14. Lebendaufnahme einer Exogastrula (Typ 1). Ausschnitt der Dorsalseite. Die noch nicht eingestülpten Entodermzellen tragen außen einen Flimmerbesatz. Oocyte nach der Reifungsteilung am vegetativen Pol bestrahlt. Vergr. 1200 $\times$ . UV alt 40  $\mu$ /240 sec

Überschiebung — eine Art „Blastoporus“ (*Bp*) aus. Das Gewebe der Magendrüsen (*Mgd*) entsteht an der Grenze von Ekto- und Entoderm, entsprechend der späteren Lage am Ösophagus. Es senkt sich vom Blastoderm aus nach innen ein, was in dem Schnitt deutlich zum Ausdruck kommt. Der hintere, animale Pol des Tieres besteht aus syncytialem Integument (*I*). Eine direkte Schädigung durch UV-Bestrahlung in diesem Bereich läßt sich nicht erkennen.

Der Versuch 11 (Abb. 16) ergab ein Tier von gleicher Entwicklungshöhe (Typ 1). Bei der Geburt wurde der Keimdotterstock losgetrennt. Er hatte vorher in der dem Betrachter zugewandten offenen Ventralseite gelegen. Oben erkennt man an dem Integumentstück die Zilien



Abb. 15. Sagittalschnitt durch eine Exogastrula (Typ 1). Oocyte nach der Reifungsteilung am animalen Pol geschädigt. UV 24  $\mu$ /60 sec

des Wimperkranzes, mit deren Hilfe das Tier frei schwimmt. Die Matrixzellen des Cingulums haben sich demnach aus dem Ektoderm des animalen Pols ausdifferenziert. Bei einer normalen Entwicklung wären sie auf der Oberfläche des Embryos zum vegetativen Pol gewandert

und hätten dort das Cingulum ausgebildet. Gleichzeitig wäre das ganze Tier mit dem Integument überzogen worden.

Die Aufnahme zeigt, wie die Magenzellen außen mit einem dichten Flimmerbesatz versehen sind. Dieser hätte nach einer normalen Ein-

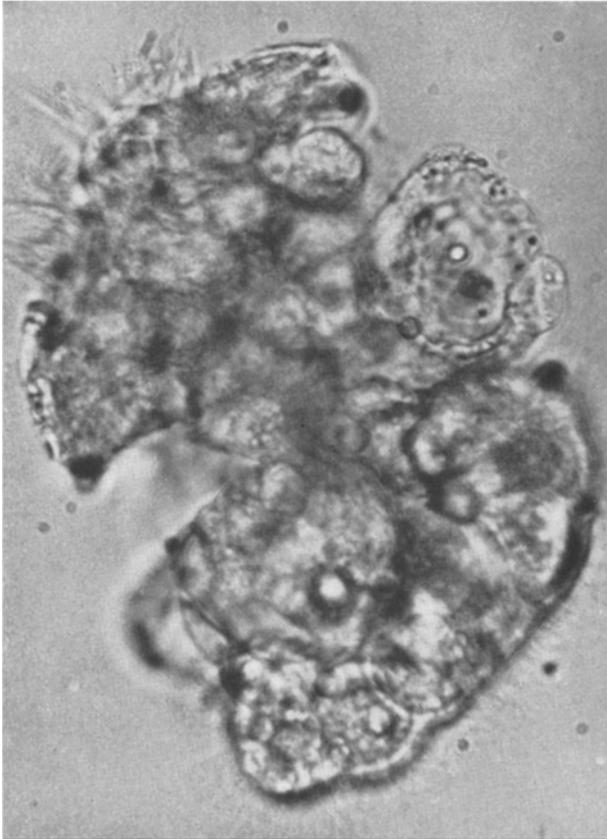


Abb. 16. Lebendaufnahme einer optimal ausdifferenzierten, frei schwimmenden Exogastrula (Typ 1) in Ventralansicht. Oben Wimperkranz, unten nach außen flimmerndes Magengewebe. Oocyte am vegetativen Pol bestrahlt. Vergr. 550  $\times$ . UV alt 40  $\mu$ /240 sec

stülpung des Entoderms das Magenlumen ausgekleidet. Die Magenzellen bilden ein zusammenhängendes, einschichtiges Epithel, das sich von der Dorsalseite her über den vegetativen Pol (im Bild unten) hinwegzieht. Auf der konkaven Innenseite liegt der von dorsal her eingesenkte Magendrüsensystem.

Dem Typ 3 können zwei Versuche mit Bestrahlung des animalen Pols zugeordnet werden. Die Tiere sind deutlich im Bereich des Entoderms gestört. Bei beiden ist der Keimdotterstock normal ausgebildet. Das Tier von Versuch 12 besitzt zwar einen Magen mit Innenflimmern, doch liegen statt der Magendrüsensystem nur freie Zellen in der Leibeshöhle.

Bei Versuch 13 sind vom Magen nur noch drei Zellen mit Flimmerbesatz und zerfallene Gewebeteile vorhanden.

Zu Typ 4 entwickelten sich in dieser Versuchsreihe nur am animalen Pol geschädigte Oocyten.



Abb. 17. Lebendaufnahme eines Tieres mit mißgebildeten Magendrüsen in Dorsalansicht (Typ 4). Oocyte am animalen Pol bestrahlt. Vergr. 300 $\times$ . UV 23  $\mu$ /30 sec

Das Schadensbild ist sehr einheitlich: Nur die linke Magendrüse besitzt bei Versuch 14 normale Größe, die rechte ist viel kleiner. Magen und Pharynx sind verwachsen, und in der Leibeshöhle liegen freie Zellen, die zum Magen gehören könnten. Der Versuch 15 zeigt, wie Ekto- und Entodermsschäden zu geschwürartigen Verwachsungen zwischen den beiden Magendrüsen und dem hinteren Pharynxbereich führen. Bei Versuch 16 beschränkt sich die Störung auf Teile des Entoderms. Die Dorsalansicht (Abb. 17) zeigt die beiden aus einer Anlage entstandenen

Magendrüsen. Sie sind unvollständig und ungleich zweigeteilt und außerdem noch mit dem Pharynx verwachsen. Dagegen hat sich der Magen völlig normal entwickelt. Bei der Bestrahlung muß in der Oocyte selektiv ein Teil des cytochemisch bereits weiter differenzierten prospektiven Entoderms getroffen worden sein.

Unter 13 während der ersten Mitose durchgeführten Versuchen ist der Typ 1 dreimal vertreten. Nach Bestrahlung des animalen Pols entsteht bei Versuch 17 ein der Abb. 16 entsprechendes Ergebnis. Bei der Geburt des frei beweglichen Tieres löst sich der längliche Dotterstock ab. Seine sechs Zellkerne besitzen die für *Asplanchna girodi* charakteristischen großen Nucleolen, die erst am Ende der strukturellen Differenzierung auftreten. Das Keimlager mit acht Oocyten liegt der Mitte des Dotterstocks einseitig auf, wie es bei normaler Entwicklung üblich ist. Demnach können unter Versuchsbedingungen innerhalb einer Organanlage mehrere Mitosen einer embryonalen Zelle unterbleiben, ohne daß die morphologische und histologische Sonderung des entstehenden Organs wesentlich beeinträchtigt wird. Die einzelne Zelle ist imstande, ihre Mitosetätigkeit vorzeitig abubrechen und ein verkleinertes, funktionsfähiges Organ zu bilden. Abweichungen von der Zellkonstanz sind also grundsätzlich möglich.

Trotz der kleinen Zahl von Versuchen kommt der Typ 4 zweimal vor. Nach der Bestrahlung am vegetativen Pol entsteht bei Versuch 18 ein Tier mit vollständigem Keimdotterstock, das aber durch Verwachsungen im ventralen Ektoderm verunstaltet ist. Damit weist der Versuch auf die gesamten organogenetischen Potenzen der vegetativen Eihälfte hin, die ja nicht nur Keimbahnmaterial enthält. Nach der ersten Furchungsteilung liegt das bestrahlte Plasma in der Blastomere  $CD_2$ . Diese liefert im 16-Zellstadium die Zellsäulen des C- und D-Quadranten mit zusammen acht Zellen. Nur die größte von ihnen enthält das Keimbahnmaterial, die übrigen sieben Zellen dienen der Bildung von Ekto- und Entoderm. Ganz spezifische Keimbahnschäden können deshalb erst nach der Furchung erzielt werden und sind auf früheren Entwicklungsstadien nur ausnahmsweise zu erwarten.

b) *Bestrahlung während der Furchung.* Die Tabelle 2 gibt eine Zusammenfassung der Versuchsergebnisse von den Bestrahlungen im 2- bis 8-Zellstadium.

Die prospektive Bedeutung und die unterschiedliche Potenz der Blastomeren läßt sich auf dem 2-Zellstadium besonders gut nachprüfen, weil beide Zellen ohne Schwierigkeit selektiv bestrahlt werden können.

Das Ziel von 27 Versuchen war eine Schädigung bzw. Abtötung der Blastomere  $AB_2$ . 60% der Versuchstiere entwickelten sich zu Typ 1. Sie besitzen fast alle einen Keimdotterstock. Der Hauptschaden ist in

der Störung des Integuments zu sehen. Die Blastomere  $\overline{AB}_2$  enthält u. a. prospektives Ektoderm. Nach der Bestrahlung kann sich deshalb kein vollständiges Integumentsäckchen mehr ausdifferenzieren. Auch die Entodermbildung ist stark gestört, während das Keimbahnmaterial unbeschädigt bleibt.

In Versuch 19 gelang die Abtötung der Blastomere  $\overline{AB}_2$  durch starke Bestrahlung, ohne daß  $\overline{CD}_2$  dadurch geschädigt worden wäre. Nach 3 Std waren aus ihr vier Zellen entstanden, zwischen denen die abgetötete eingekeilt lag. Das fertige Tier besitzt außer dem Hautsäckchen, dem

Tabelle 2. *Bestrahlung während der Furchung*

|                   | Bestrahlt | Kontrolle |
|-------------------|-----------|-----------|
| Furchungsstadien  | 115       | 23        |
| Normal entwickelt | 2         | 17        |
| Typ 1             | 67        | 0         |
| Typ 2             | 17        | 0         |
| Typ 3             | 15        | 6*        |
| Typ 4             | 9         | 0         |
| Abgetötet         | 5         | 0         |

\* Davon 5 aus sehr frühen 2-Zellstadien entstanden.

Cingulum und dem Kauer einen voluminösen, zumindest teilweise entodermalen Gewebeanteil und einen Dotterstock mit acht Kernen.  $\overline{CD}_2$  enthält demnach prospektives Material aller drei Keimblätter, ist aber nicht imstande, daraus regulativ ein vollständiges Tier aufzubauen.

Entwickelt sich ein Tier, wie im Versuch 20, bis zum Typ 4 weiter, so wird durch die geschädigten Organe der Anteil der Blastomere  $\overline{AB}_2$  am Aufbau des gesamten Organismus sichtbar. Bei vollständig ausgebildetem Keimdotterstock und Integument umfassen die Mißbildungen das gesamte Kopfgebiet. Dazu kommen Störungen im Entoderm, nämlich am Ösophagus und am vorderen Magenrand.

In 29 Versuchen wurde die größere Blastomere  $\overline{CD}_2$  bestrahlt. Der Anteil von Typ 1 ist mit 25 Tieren so hoch, daß die abweichenden Ergebnisse unberücksichtigt bleiben können. Fast in allen Fällen fehlt der Keimdotterstock vollständig. Die zu seinem Aufbau bestimmten Zellen und Gewebeteile lösen sich bei der Geburt meistens ab, da sie nur locker mit dem geschädigten Tier verbunden sind. Dagegen fällt die relativ hohe Differenzierung des Entoderms auf. Wie nach der Bestrahlung der Blastomere  $\overline{AB}_2$  ist auch hier das Ektoderm sehr stark geschädigt.

Insgesamt viermal gelang es, die Blastomere  $\overline{CD}_2$  abzutöten, ohne die Weiterentwicklung von  $\overline{AB}_2$  zu stören. 2—3 Std nach der Bestrahlung haben sich aus  $\overline{AB}_2$  vier Zellen gebildet, die der abgekugelten,

bräunlichen Blastomere  $\overline{CD}_2$  als Kappe aufliegen. Mit weiteren Zellteilungen beginnt die Umwachsung, die nach etwa 24 Std unvollständig abgebrochen wird. Selbstdifferenzierung führt zu Flimmerbewegungen in Ekto- und Entoderm. Spätestens bei der Geburt zerfällt die zerstörte Zelle. Was an Organen und Organteilen sichtbar wird, ist eindeutig aus  $\overline{AB}_2$  entstanden. Das Tier aus Versuch 21 liegt nach der Geburt noch in der Eihaut, unter der die Bewegung der Zilien des Wimperkranzes und des Flimmerbesatzes der Magenellen sichtbar ist. Nach Öffnen der Eihaut löst sich mehr als die Hälfte des gesamten Gewebes einschließlich des Mesoderms in Form von freien Zellen ab. Übrig bleibt ein Kopffeld mit kräftig schlagenden Zilien und ein Teil des Magengewebes, das sich ein Stück weit zu einem von Flimmern ausgekleideten Magencanal zusammenlegt. Der unmittelbare Übergang zwischen Ekto- und Entoderm ist deutlich zu erkennen.

In allen anderen Versuchen, bei denen die Blastomere  $\overline{CD}_2$  zwar geschädigt, aber nicht abgetötet wurde, gleicht das Ergebnis dem beschriebenen weitgehend. Allerdings sind, vor allem während der Embryonalentwicklung, noch zahlreiche Dotterzellen festzustellen. Die zum Versuch 22 gehörende Abb. 18 zeigt ein für alle 19 Versuchsergebnisse typisches Tier im Sagittalschnitt. Der ektodermale Anteil ist durch Matrixzellen ( $MCg$ ) und Zilien ( $Cg$ ) des Wimperkranzes gekennzeichnet. Dazu kommen Pharynx ( $Ph$ ) und Kauer ( $Ka$ ) auf der Ventralseite, während Ösophaguszellen mit Außenflimmern sowohl dorsal als auch ventral die Verbindung zum Entoderm ( $Mg$ ) herstellen. Dieses ist massig ausgebildet und besitzt eine Art „Blastoporus“ ( $Bp$ ), zu dem die Entodermzellen teilweise eingestülpt sind. Der große Magendrüsenkomplex ( $Mgd$ ) liegt der Innenfläche des Magengewebes auf. Einzelne freie Zellen des Dotterstockmaterials ( $D$ ) finden sich zwischen den Organen und an der Peripherie des Tieres.

Neben etwas Ektoderm liefert die Blastomere  $\overline{CD}_2$  das gesamte Material für den Keimdotterstock. Sie ist deshalb als Keimbahnzelle oder — in Anlehnung an die Entwicklung von *Ascaris* — als Urpropagationszelle zu bezeichnen.  $\overline{AB}_2$  enthält als Ursomazelle den Hauptteil des prospektiven Ekto- und Entoderms.

Auf dem 4-Zellstadium kann jede der vier Blastomeren selektiv bestrahlt werden. Für die Auswertung steht aber nur eine kleine Zahl von Versuchen zur Verfügung. Das 4-Zellstadium wird sehr rasch durchlaufen. Der Embryo liegt außerdem nur selten auf der Dorsal- oder Ventralseite, und nur dann sind die vier Blastomeren nebeneinanderliegend zu sehen. Für  $A_3$ ,  $B_3$  und  $C_3$  wurde nur je eine selektive Bestrahlung durchgeführt.  $A_3$  und  $B_3$  gleichzeitig wurden viermal, die stets zugängliche und leicht auffindbare Blastomere  $D_3$  insgesamt 18mal bestrahlt.

Während die Bestrahlung von  $A_3$  zu keinem auswertbaren Ergebnis führte, hatte die von  $B_3$  Erfolg. Das entstehende Tier entwickelte sich bis zum Beginn der Streckung normal und ergab dann den Typ 3,

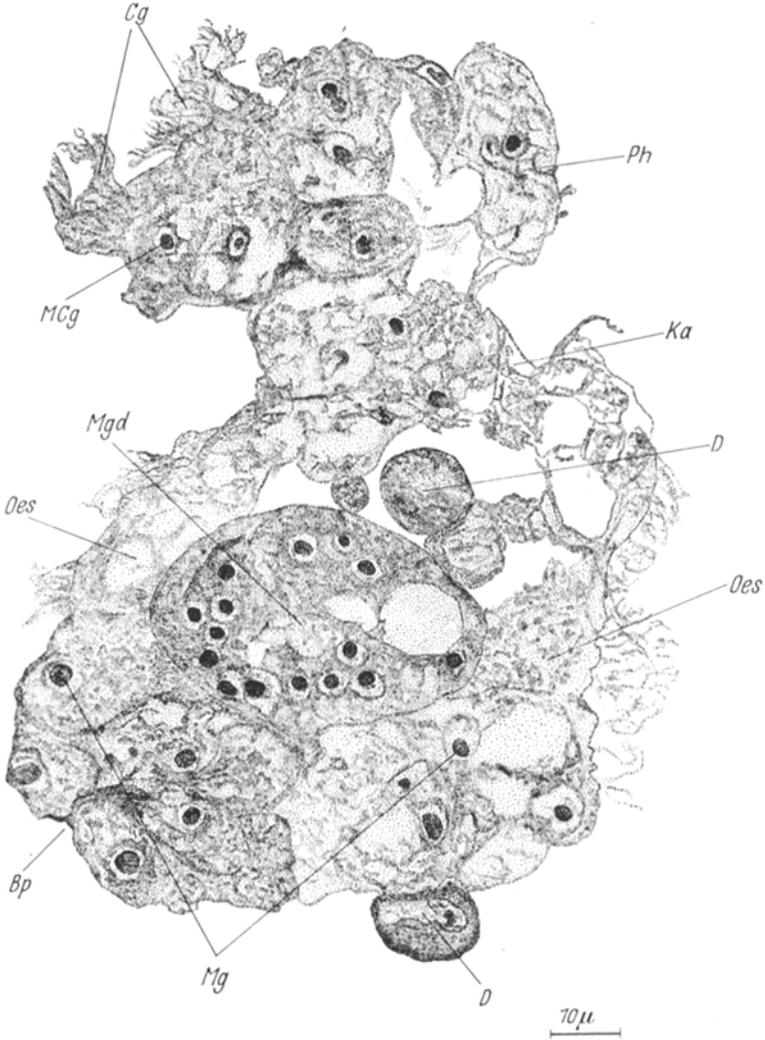


Abb. 18. Sagittalschnitt durch eine Exogastrula (Typ 1). 2-Zellstadium, Blastomere  $CD_2$  geschädigt.  
UV 24  $\mu$ /120 sec

allerdings ausnahmsweise mit leichter Streckung (Versuch 23). Eine größere und mehrere kleinere Zellen lagen frei in der Leibeshöhle, die dorsalen Magen­zellen waren stark vergrößert. Dieser Befund weist einmal auf die für Typ 3 charakteristische Ektodermstörung, zum anderen

aber auf eine gleichzeitige Schädigung des Entoderms hin. Das Ergebnis ist deshalb sehr wichtig, weil es die bei der Normogenese gemachten Beobachtungen bestätigt. Dort entsteht aus dem B-Quadranten der Hauptteil des dorsalen Blastoderms, aus dem sich nach der Gastrulation

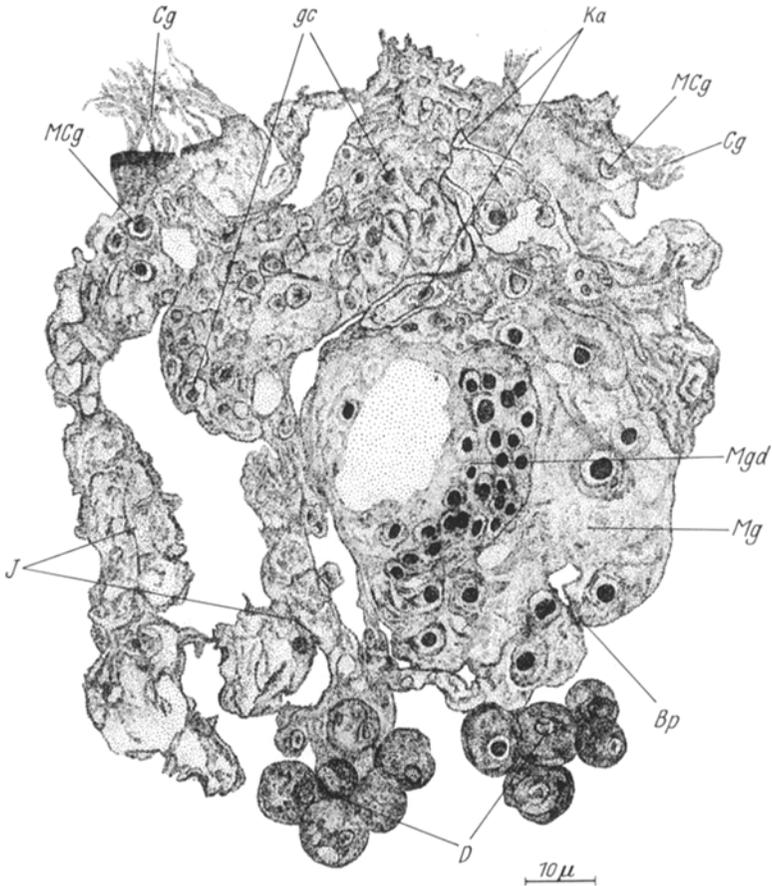


Abb. 19. Sagittalschnitt durch eine Exogastrula (Typ 1). 4-Zellstadium, Blastomere  $D_3$  geschädigt. UV 28  $\mu$ /90 sec

das dorsale Integument und das Entoderm aufbauen. Die Schädigung von  $C_3$  (Versuch 24) führte zu Typ 3, wobei nur die Integumentstörung eindeutig zu erkennen war. Alle in  $A_3$ ,  $B_3$  und  $C_3$  bestrahlten Tiere besaßen einen normal entwickelten Keimdotterstock.

Aus neun Versuchen entstand nach Bestrahlung der Blastomere  $D_3$  der Typ 1. Das Ergebnis von Versuch 25 ist in Abb. 19 im Sagittalschnitt dargestellt. Hier hat  $D_3$  die Schädigung sowohl an die Dotterzellen als auch an die ventralen Integumentzellen weitergegeben. Obgleich

epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle und Gastrulation unterbleiben, laufen alle anderen wichtigen organogenetischen Vorgänge normal ab. Das vordere Ektoderm führt eine vollständige mitotische und strukturelle Differenzierung des Cerebralganglions (*gc*) durch. Sogar dessen Einsenkung mit nachfolgendem Integumentverschluß findet statt. Das Cingulum (*Cg*) mit seinen Matrixzellen (*MCg*) und das dorsale Integument (*I*) werden vollständig ausgebildet. Auf der ventralen Seite kommt es zu einer lokalen Verlagerung des Kauers (*Ka*). Auch die ventral davon liegenden Protonephridien werden ausdifferenziert. Sie sind nicht abgebildet, da sie in einer tieferen Schnittebene liegen. Zwischen dorsalem Integument und Magenanlage (*Mg*) hat sich eine unpaare Magendrüse (*Mgd*) eingesenkt. Sie ist durch osmotische Wasseraufnahme blasig aufgetrieben. Die Lücke zwischen ventralem und dorsalem Integument wird vom Magengewebe ausgefüllt. Davor liegen locker verbundene Zellen des Dotterstocks (*D*), deren Zellkerne in Auflösung begriffen sind.

Zu den Abkömmlingen des A-, B- und C-Quadranten zählen also Cerebralganglion, dorsales Blastoderm, Magendrüsen- und Magengewebe, während der D-Quadrant die ventralen Ektodermportionen und die Keimdotterstockzellen hervorbringt.

Im 8-Zellstadium rückt der Richtungkörper in die Sagittalebene. Die Bilateralsymmetrie und die Dorsal- und Ventralseite des Embryos sind damit endgültig festgelegt. Eine selektive Bestrahlung ist nur noch bei der Keimbahnzelle *d* 4,1 möglich. Auf diese konzentriert sich deshalb die Untersuchung. Bei insgesamt 34 Bestrahlungen liegen von den übrigen Bereichen des Embryos nur drei Versuche vor. Einer von diesen, Versuch 26, konnte mit Hilfe einer Sagittalschnittserie genau untersucht werden. Aus dem seitlich liegenden Embryo wurden mit der dotterreichen dorsalen Blastomere *b* 4,1 auch die benachbarten Zellen *a* 4,1 und *c* 4,1 etwas getroffen. Während der Bestrahlung flossen innerhalb der Zelle *b* 4,1 mehrmals Öltropfen ineinander. Die epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle verlief noch normal. Nach der Gastrulation wirkte der Embryo jedoch bereits stark gestört und ergab schließlich ein Tier vom Typ 2. Seinem Aussehen nach könnte es auch während der Gastrulation im einwandernden Gewebe geschädigt worden sein (vgl. Abb. 25). Die Zelle *b* 4,1, aus der später die dorsale Urmundlippe entsteht, müßte demnach prospektives Entoderm enthalten. Das Integumentsäckchen schließt vorne dorsal und ventral mit dem Cingulum ab. Der Keimdotterstock liegt normal ausgebildet im ventralen Teil des Hautsäckchens.

An entodermalen Organen fehlen beide Magendrüsen sowie Teile des Magens, vom Ektoderm sind Pharynx und Cerebralganglion nicht ausdifferenziert. Der Versuch 27 zeigt dagegen nach der Bestrahlung des

Richtungskörperbereichs, zu dem die Blastomeren *a* 4,2 bis *d* 4,2 gehören, die wesentlich geringeren, rein ektodermalen Mißbildungen eines Tieres vom Typ 3. Meso- und Entoderm sind überhaupt nicht gestört. Beide Versuche konnten nicht wiederholt werden und müssen deshalb im Zusammenhang gesehen werden.

Vier von den 31 Embryonen mit bestrahlter Zelle *d* 4,1 entwickelten sich zum Typ 4 weiter. Während drei davon leichte ektodermale Störungen aufwiesen, war der vierte ausschließlich am Keimdotterstock geschädigt. Eine solche Mesodermschädigung ohne Auswirkung auf das Ektoderm ist auf dieser Stufe eigentlich noch nicht zu erwarten, da die Zelle *d* 4,1 erst nach einem weiteren Teilungsschritt zur reinen Keimbahnzelle wird (vgl. Abb. 26). So muß angenommen werden, daß bei Versuch 28 nur der prospektiv mesodermale Anteil der Zelle *d* 4,1 geschädigt wurde. Schon während der Sonderung der Organsysteme zeigten sich Störungen des hinten dorsal und ventral liegenden dotterhaltigen Gewebes. Die einzelnen Zellen waren deutlich abgekugelt. Während der Streckung des Tieres blieben diese Zellen an Pharynx und Magen hängen und hatten zusammengenommen etwa die Gestalt und Ausdehnung eines normalen Keimdotterstocks. Schon vor der Geburt fiel das prall gefüllte Hautsäckchen des Tieres auf. Die Abb. 20 zeigt den Zustand unmittelbar nach der Geburt. Der ausgestülpte Urogenitalkanal endet blind in einer Blase, deren Feinbau mit Hilfe einer Schnittserie geklärt wurde. Ihre Wand besteht aus etwa 24 Zellen von 4,5  $\mu$  Durchmesser, die zu Uterus und Harnblase gehören. Nach innen ragen zwei Papillen mit je etwa 10 Zellen von 2  $\mu$  Durchmesser, die Anlagen der beiden Protonephridien. Während der Embryonalentwicklung wurde zwischen der gestörten Anlage des Keimdotterstocks und der des Exkretionssystems keine Verbindung aufgenommen, obwohl sich die dazu notwendige ektodermale Einstülpung gebildet hatte. Die strukturelle Differenzierung der Protonephridien unterblieb. Damit hatte das Tier keine Möglichkeit, den allmählich ansteigenden Innendruck durch Exkretion auszugleichen. Als unmittelbare Folge wurden Pharynx und Uterus ausgestülpt. Neben der Bedeutung der Exkretionsorgane für die im Süßwasser lebenden Rädertiere (vgl. GREEN, 1957) zeigt das Versuchsergebnis sehr klar die ektodermale Herkunft von Uterus, Harnblase, Protonephridien und Urogenitalkanal.

Die genaue histologische Analyse an Hand der Schnittserie ergibt einen vollständig normal entwickelten Verdauungstrakt. Dasselbe gilt für sämtliche ektodermalen Organe. Lediglich die sehr stark dotterhaltigen und nur locker verbundenen Zellen des Dotterstocks weisen auf eine embryonale Strahlenschädigung hin. Während Magen-, Magendrüsen- und Integumentzellen normal ausgebildete Nucleolen besitzen, fehlen diese im Mesoderm. In den isolierten Zellen liegen entweder

einzelne große Kerne oder in Auflösung befindliche Bruchstücke. Im übrigen besitzt das Tier einen muskulösen Mastax und kann mit Hilfe seines vollständig ausgebildeten Wimperkranzes frei schwimmen.

Bei Versuch 29 findet eine Gastrulation ohne vorausgegangene epibolische Umwachsung der Keimbahnzelle statt. Die strahlengeschädigte

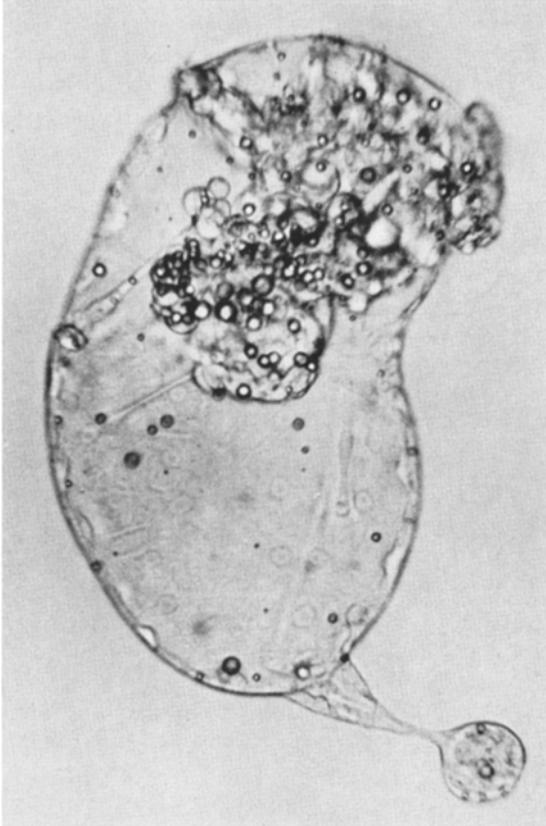


Abb. 20. Lebendaufnahme eines Tieres mit zerstörtem Urogenitalsystem in Seitenansicht (Typ4) Keimbahnzelle *d* 4,1 bestrahlt. Der Urogenitalkanal ist ausgestülpt. Die unverbundenen Dottersackzellen hängen am Magen. Vergr. 250 $\times$ ; UV 24  $\mu$ /90 sec

Blastomere *d* 4,1 beteiligt sich an den nach der Furchung einsetzenden Gestaltungsbewegungen überhaupt nicht. Sie wirkt wie ein Fremdkörper. Ihre Mitosetätigkeit hört nach wenigen Teilungsschritten auf. An ihr vorbei wandert das prospektive Entoderm durch den Blastoporus ins Keimesinnere und bildet einen wenigzelligen Magen und zwei Magendrüsen aus. Nach dem Verlassen der Eihaut bleibt ein Komplex von fünf Zellen vom übrigen Tier getrennt im Uterus zurück. Neben den beiden großen, zahlreiche Öltropfen enthaltenden Zellen von 80 und

30  $\mu$  Durchmesser, der Urdotterzelle und der Keimlagerzelle, liegen drei etwa 10  $\mu$  große Zellen. Es handelt sich um die von der Keimbahn abzweigenden, degenerierenden Zellen *d* 6,2, *d* 7,2 und *d* 9,3. Schon vor der Geburt zerfällt dieses Material. Das entstandene Tier ist zwar frei beweglich, aber das ventrale Integument steht weit offen. Mastax und Keimdotterstock fehlen vollständig.

Das 8-Zellstadium zeichnet sich im Vergleich zu früheren Entwicklungsstadien durch eine spezifischere Herausbildung der Keimbahnzelle aus. Im übrigen fehlt bei den anderen Versuchsergebnissen dieser Reihe, soweit sie übersichtliche histologische Differenzierungen aufweisen, der Keimdotterstock. Bei Typ 1 trifft das für 10 von 14, bei Typ 2 für 4 von 6 Versuchen zu.

c) *Bestrahlung vor und während der Gastrulation.* In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse dieser Versuchsgruppe zusammengefaßt. Besonders auffallend ist der große Anteil von Typ 4.

Tabelle 3. *Bestrahlung vor und während der Gastrulation*

|                   | Bestrahlt | Kontrolle |
|-------------------|-----------|-----------|
| Embryonen         | 63        | 15        |
| Normal entwickelt | 0         | 13        |
| Typ 1             | 16        | 0         |
| Typ 2             | 27        | 0         |
| Typ 3             | 3         | 1         |
| Typ 4             | 15        | 0         |
| Abgetötet         | 2         | 1         |

Mit dem *16-Zellstadium* ist die Furchung abgeschlossen. Das Blastoderm beginnt, die Urgeschlechtsmutterzelle *d* 5,1 zu umwachsen. In drei Versuchen wurde die unmittelbare Umgebung des Richtungkörpers bestrahlt. Die beiden zu Typ 1 zählenden Versuche sprechen dafür, daß die Bestrahlung auf die Gestaltungsbewegungen stark hemmend wirkt. Beim dritten Versuch fielen schon nach Ausbildung der Körpergrundgestalt bei sonst normaler Entwicklung abgekugelte Zellen auf, die im dorsalen Ektoderm lagen. Mit dem Richtungkörper wanderte der geschädigte Gewebebezirk zum vorderen Pol in den prospektiven Bereich des Cerebralganglions. Die abgekugelten Zellen blockierten eine Differenzierung und Einsenkung des Cerebralganglions und verursachten die Entstehung von Typ 3.

Das sehr dotterreiche dorsale Blastoderm wurde in neun Versuchen bestrahlt. Der Versuch 30 führte zu Typ 4. Während der Bestrahlung flossen in der Blastomere *b* 5,2 mehrere Öltropfen zusammen. So entstand eine gut sichtbare Markierung des geschädigten Gebietes. Nach beendeter Sonderung der Organsysteme liegt bei intaktem Apikalfeld

und Integument die Dottermarkierung in dem Gewebe unter dem dorsalen Ektoderm. Nach der Geburt des sonst normal entwickelten Tieres zeigen sich am Entoderm Störungen. Die linke Magendrüse fehlt, und mehrere Zellen, darunter auch die mit der Dottermarkierung, liegen frei in der Leibeshöhle. Die hinteren Magen­zellen sind ebenfalls geschädigt. Sie besitzen abnorm große Öltropfen und auffallende Vakuolen. Drei der freien Zellen können mit Hilfe der von dem Tier angefertigten Schnittserie eindeutig als Magen­zellen identifiziert werden, die dotterreiche Zelle erweist sich als Magendrüse­stück. Das dorsal über die Keimbahn­zelle wandernde Blastoderm ist damit eindeutig als prospektives Entoderm bestimmt.

Der Sagittalschnitt durch ein Tier, das sich nach gleicher Behandlung zu Typ 2 entwickelte (Versuch 31), zeigt die spezifischen Zerstörungen des entodermalen Gewebes (Abb. 21). Bei der Geburt des Tieres löste sich ein Teil davon zwischen Cerebralganglion (*gc*) und Kauer (*Ka*) los. Das restliche Entoderm ist bis auf eine Magendrüse (*Mgd*) und wenige normal ausgebildete Magen­zellen (*MgI*) schon weitgehend zerfallen (*MgII*). Einige der stark vakuolisierten Zellen lassen noch Reste des Zellkerns erkennen. Außer dem normal ausgebildeten Keimdotterstock (*D, Ov*) sind auch die ektodermalen Organe, Integument (*I*), Urogenitalkanal (*Ur*), Wimperkranz (*MCg, Cg*) und Cerebralganglion (*gc*) verhältnismäßig gut ausgebildet. Ein weiterer Versuch vom Typ 3 und sechs vom Typ 1 führten zu ganz entsprechenden, nur weniger deutlichen Ergebnissen.

Im 16-Zellstadium und in den Anfängen ihrer epibolischen Umwachsung kann die Urgeschlechts­mutterzelle *d* 5,1 noch selektiv bestrahlt werden. Von dieser Möglichkeit wurde bei 25 Versuchen Gebrauch gemacht. Der Anteil von Typ 4 ist mit 11 Versuchen oder 44% zum ersten Mal sehr hoch und spricht schon dadurch für eine eng begrenzte prospektive Bedeutung der bestrahlten Zelle. Von diesen Versuchen sind nur vier ohne Aussagewert, da die aufgetretenen Unregelmäßigkeiten alle Organe gleichmäßig betreffen.

Wie der im vorhergehenden Abschnitt beschriebene Versuch 28 (Abb. 20) führt auch der Versuch 32 zu einem Tier mit blockiertem Exkretionssystem und geschädigtem Keimdotterstock. Es zeigt das typische, prall gefüllte Hautsäckchen mit dem ausgestülpten Urogenitalkanal. Der Magen hebt sich dunkel gegen den deutlich in Einzelzellen aufgelösten Keimdotterstock ab. Der in Abb. 22 dargestellte Sagittalschnitt läßt erkennen, wie stark das Integument durch Fixierung und Einbettung deformiert worden ist. Im übrigen ist das Ausmaß der organischen Störungen gut sichtbar. Der ganze Verdauungstrakt von dem leicht ausgestülpten vorderen Pharynx (*Ka*) über den hinteren Pharynx (*Pha*) und den Ösophagus (*Oes*) zu den beiden Magendrüse-

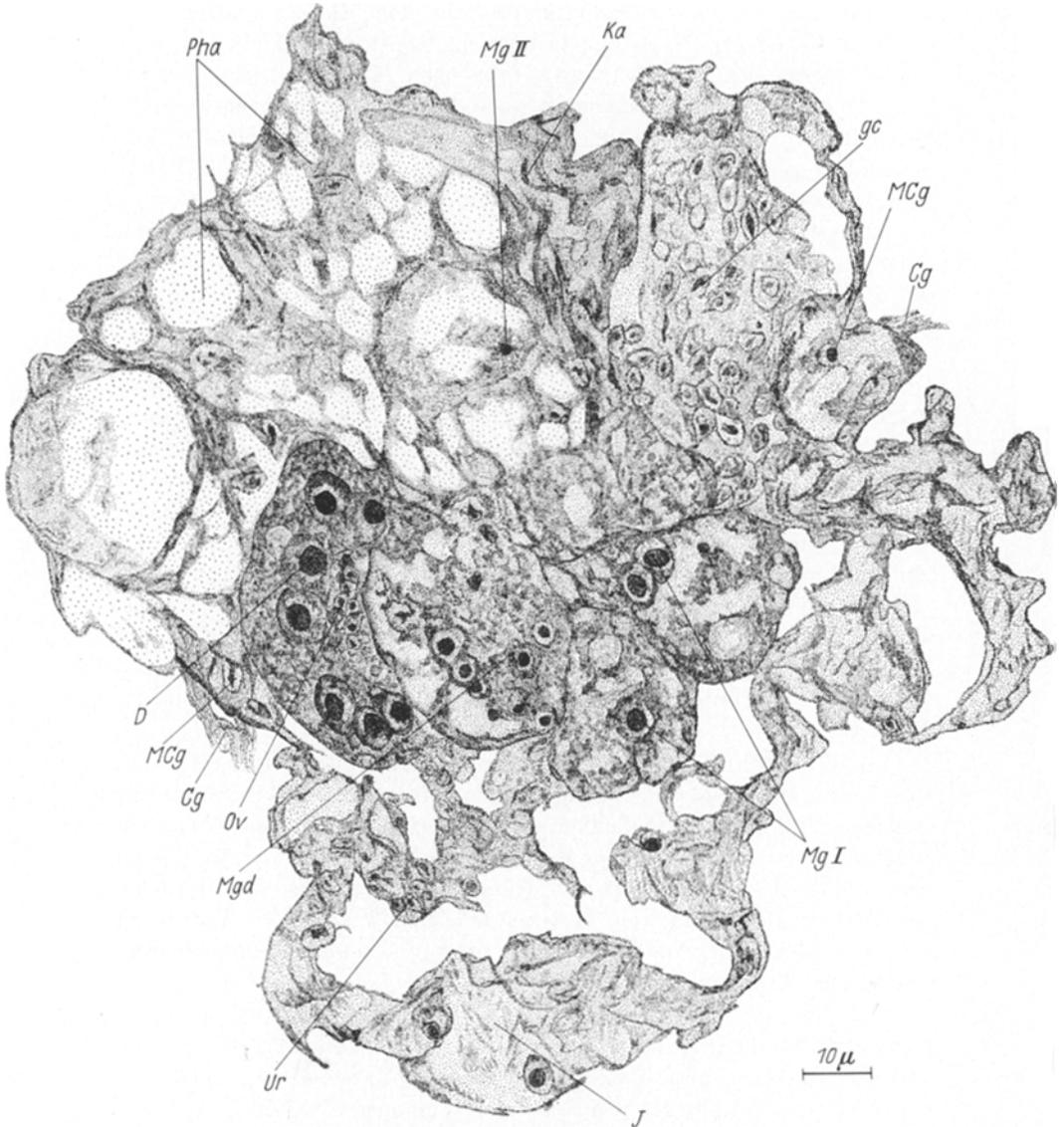


Abb. 21. Sagittalschnitt durch ein Tier vom Typ 2. 16-Zellstadium, dorsal zum vegetativen Pol wandernde Zellen geschädigt. Entoderm (II) teilweise zerstört. UV 24  $\mu$ /90 sec

(*Mgd*) und dem Magen (*Mg*) ist völlig normal ausgebildet. Nervensystem (*gc*, *gm*) und Muskulatur sind ebenso vorhanden wie das nicht abgebildete Exkretionssystem, dessen strukturelle Differenzierung auch hier unterblieb (vgl. Versuch 28). Die einzige sichtbare Störung weist



Abb. 22. Sagittalschnitt durch ein Tier vom Typ 4. Spätes 16-Zellstadium, Urgeschlechtsmutterzelle *d* 5,1 geschädigt. Der Keimdotterstock ist in Einzelzellen aufgelöst. UV 24 μ/120 sec

der Keimdotterstock auf, wobei das Ovar weniger stark betroffen ist als der Dotterstock. Die Strahlenschädigung kann man einerseits an der Isolierung der Dotterzellen, andererseits am Fehlen der charakteristischen großen Nucleolen der Dotterkerne erkennen.

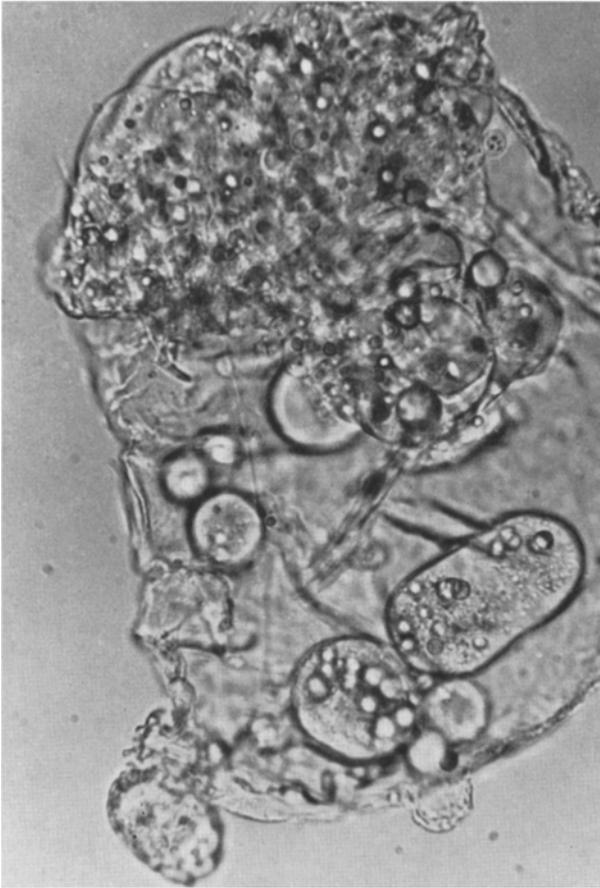


Abb. 23. Lebendaufnahme eines Tieres mit zerstörtem Urogenitalsystem nach Bestrahlung der Urgeschlechtsmutterzelle  $d\ 5,1$  (Typ 4). Vergr.  $400\times$ . UV  $28\ \mu/90\ \text{sec}$

Zu einem ähnlichen, in Abb. 23 dargestellten Ergebnis führte der Versuch 33. Der Keimdotterstock besteht aus wenigen, großen Zellen, da die Urgeschlechtsmutterzelle nach der Bestrahlung nur noch wenige Teilungsschritte durchgeführt hat. Zwei große, dotterreiche und mehrere kleine Zellen liegen an dem normalen Platz des Keimdotterstocks frei in der Leibeshöhle.

Wie die Versuche 34 und 35 zeigen, kann die Urgeschlechtsmutterzelle ihre Teilungsfähigkeit nach der Bestrahlung auch vollständig ver-

lieren und trotzdem epibolisch umwachsen werden. In beiden Fällen lag diese Keimbahnzelle bis zum Beginn der Streckung ventral vom normal entwickelten Magen, zerfiel aber noch vor der Geburt. Auch bei diesen Tieren war der Urogenitalkanal ausgestülpt. Bei Versuch 36 fand die Gastrulation, wie oben beschrieben, ohne vorhergegangene Umwachsung der Urgeschlechtsmutterzelle statt. Wie erwartet, zeigt der Sagittalschnitt zwar gut ausgebildete entodermale Organe, jedoch keinen Keimdotterstock. Auch die übrigen Versuche dieser Gruppe stimmen mit den beschriebenen Ergebnissen überein.

Vom Experiment her kann deshalb bestätigt werden, daß die Urgeschlechtsmutterzelle *d* 5,1 ihren Namen zu Recht trägt. Aus ihr entsteht ausschließlich der Keimdotterstock.

In 14 Versuchen wurde während der *epibolischen Umwachsung der Keimbahnzelle* vorwiegend das dorsale Blastoderm bestrahlt. Bei nur zwei davon ging die Entwicklung bis zu Typ 4 weiter. Alle übrigen waren nicht imstande, das strahlengeschädigte Blastoderm einzustülpen und ergaben den Typ 2. Die während der Bestrahlung meist schon begonnene Umwachsung der Keimbahnzellen wurde in allen Fällen vollendet. Deshalb trat der Typ 1 in dieser Reihe überhaupt nicht auf. Obwohl nach der Bestrahlung die Gestaltungsbewegungen zunächst weitergingen, fand nur zweimal eine Gastrulation statt. Anscheinend erfordert dieser Vorgang sehr viel neue Energie, die von dem strahlengeschädigten Gewebe nicht mehr aufgebracht werden kann.

Bei dem zu Typ 4 entwickelten Versuch 37 machte sich erst während der Streckung des sonst völlig normal entwickelten Tieres eine Störung des Entoderms bemerkbar. Die Abb. 24 zeigt das frei schwimmende Tier mit den spezifischen Entodermsschäden in Ventralansicht. Am vorderen, ventralen Magenrand hat sich eine lanzettförmige Entodermzelle fast völlig losgelöst. Weiter dorsal liegen fünf unscharf abgebildete freie Zellen, die nur ganz locker mit der unpaaren, ebenfalls dorsal liegenden Magendrüse verbunden sind. Trotz der Schädigung hat sich der Magen mit Hilfe der dehnbaren Wand des Ösophagus zu einem geschlossenen Säckchen mit Innenflimmern entwickelt. Das dahinter liegende, hufeisenförmige Organ ist der Keimdotterstock, der wegen seiner stark ventralen Lage ebenfalls unscharf abgebildet ist. Alle übrigen zwölf Tiere gehören zum Typ 2. Der unbeschädigte Keimdotterstock liegt im Innern des Hautsäckchens. Magengewebe mit Außenflimmern schließt die Exogastrula nach vorne ab.

Diese Ergebnisse zeigen ganz klar die prospektive Bedeutung des vor der Gastrulation am Vorderende des Embryos liegenden dotterreichen Gewebes. Bei Typ 4 ist sie an den Magenschäden direkt zu erkennen, und auch der Typ 2 hat einen Aussagewert, da sich das

prospektive Entoderm ohne Gastrulation wie alle anderen Teilbezirke ausdifferenziert.

Grundsätzlich führt die Bestrahlung des Blastoporusbereichs während der *Gastrulation* zu denselben Ergebnissen wie im vorhergehenden

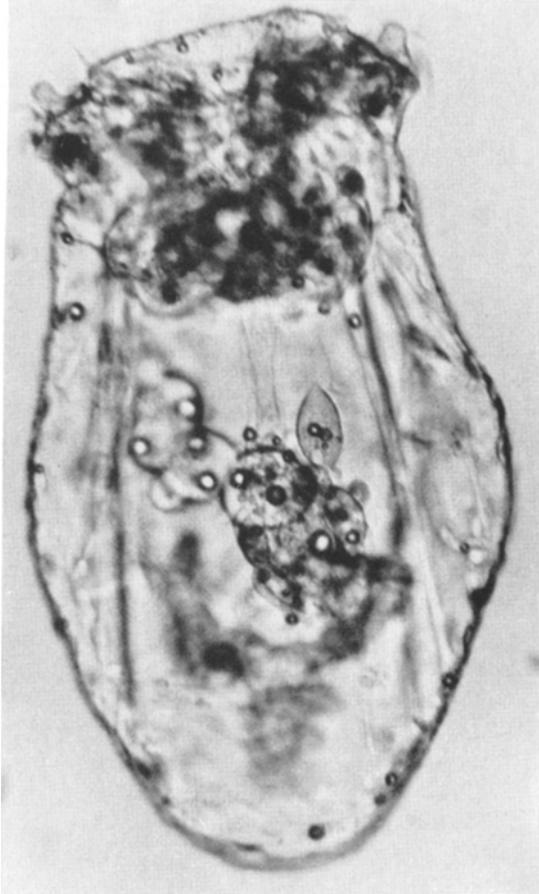


Abb. 24. Lebendaufnahme eines Tieres mit Mißbildungen im Magen- und Magendrüsensbereich (Typ 4) in Ventralansicht. Der Embryo wurde während der epibolischen Umwachsung der Keimbahnzelle im dorsal übergeschobenen Zellmaterial bestrahlt. Vergr. 270 $\times$ . UV 24  $\mu$ /60 sec

Stadium die Bestrahlung des dorsalen Blastoderms. Wieder treten ausschließlich die beiden Typen 2 und 4 auf. Der zum Typ 4 gehörende Versuch 38 gleicht dem oben beschriebenen Versuch 37 bis in kleinste Einzelheiten. Er hat aber noch den Vorteil einer durch Zusammenfließen von Öltropfen klar markierten Bestrahlungsstelle. Die Dottermarke wurde während der Embryonalentwicklung vom Blastoporus aus

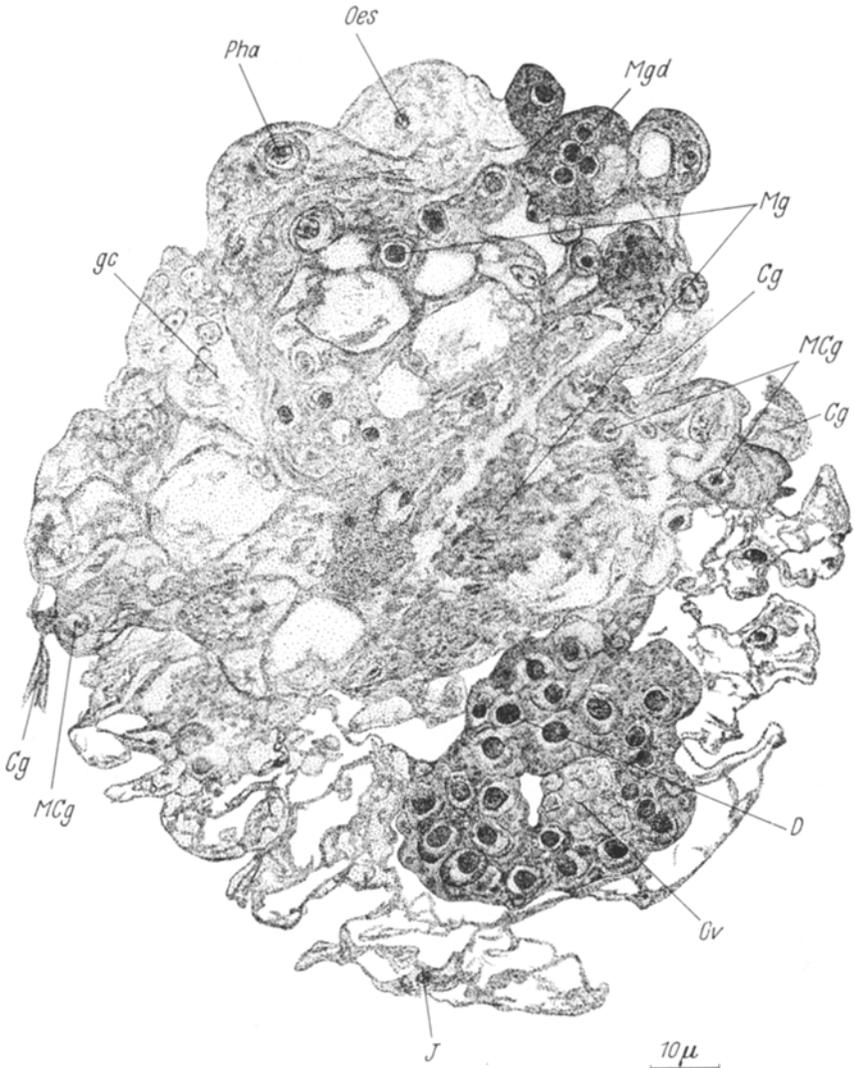


Abb. 25. Sagittalschnitt durch eine Exogastrula (Typ 2). Gastrulation, Blastoporusbereich geschädigt. Teile des Entoderms sind zerstört. UV 24 μ/120 sec

unter das dorsale Blastoderm verlagert. Im gestreckten Tier liegt die Zelle neben zwei weiteren dotterhaltigen völlig isoliert in der Leibeshöhle, während der Magen sehr klein ausgebildet ist und am vorderen Rand mehrere abgekugelte Zellen trägt.

Unter den 13 Versuchen dieser Reihe ist der Typ 2 zehnmal vertreten. In der Abb. 25 läßt sich der typische Bau im Sagittalschnitt

erkennen (Versuch 39). Das zu Beginn der Gastrulation bereits eingestülpte dotterreiche Gewebe hat sich bis auf einige zerfallende Kernbezirke in eine amorphe Masse aufgelöst. Wie bei normal entwickelten Tieren das blind geschlossene Hinterende des Magens, berührt auch das zerfallende Gewebe den vollständig ausgebildeten Keimdotterstock (*D, Ov*). Das später von dorsal her nachrückende Blastoderm verursacht zwar örtlich begrenzte Überschiebungen, differenziert sich aber schließlich seiner prospektiven Bedeutung gemäß aus (*Mg, Mgd, Oes, Pha, gc*). Teile des Cerebralganglions und der Magendrüsen haben sich bei der Geburt in Form von freien Zellen abgelöst. Der Kauer wurde von der Schnittebene nicht getroffen, ist aber vorhanden. Das Integument reicht als faltiges, geschlossenes Hautsäckchen vom dorsalen bis zum ventralen Cingulum (*Cg, MCg*).

Die vollständige Übereinstimmung der Versuchsergebnisse zwischen den vor der Gastrulation am dorsalen Blastoderm und den während der Gastrulation am Blastoporus bestrahlten Versuchen erlaubt den Schluß auf die Identität dieser beiden Embryonalbezirke.

#### 4. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

Die Abb. 26 vermittelt in Form eines Furchungsschemas einen Überblick über diejenigen Entwicklungsvorgänge, deren Sicherung mit Hilfe der experimentellen Analyse möglich war.

a) *Zur Frage der Determination.* Jede vierte bestrahlte Oocyte entwickelt sich zu einem normalen Tier. Damit ist die Eizelle wesentlich weniger strahlenempfindlich als spätere Entwicklungsstadien und besitzt eventuell noch ein gewisses Regulationsvermögen. Zahlreiche Versuchsergebnisse mit sehr eng begrenzten Organschäden beweisen jedoch eine frühe Determination der Organanlagen in der Eizelle.

Vor und während der Reifungsteilung durchgeführte Bestrahlungen lassen bereits den Rückschluß vom Schadensbild des entwickelten Tieres auf den bestrahlten Pol der Oocyte zu. Störungen im Bereich der ekto- und entodermalen Organe gehen meist auf selektive Schädigung des animalen Pols zurück. Bei Störung oder Fehlen des Keimdotterstocks sind die zugehörigen Oocyten am vegetativen Pol bestrahlt worden. Gleichzeitig wird diese experimentell festgestellte Polarität auch mikroskopisch sichtbar. An der Verteilung der Öltropfen im Cytoplasma kann man den animalen und den vegetativen Pol sicher unterscheiden. Die Ventralseite ist durch die Lage des Zellkerns und — nach dessen Auflösung — durch eine Lücke im Ring der Öltropfen erkennbar.

Nach der Reifungsteilung ergeben die Bestrahlungen grundsätzlich dieselben Resultate. Eindeutige Lokalisierung der Strahlenschäden weist jedoch auf einen zunehmenden Mosaikcharakter der Oocyte hin. Oft betrifft die Gewebeschädigung des Alttieres nur die aus einem Keim-

blatt entstandenen Organe oder Teile derselben. Eine weitergehende Klärung der Fragen nach Ausmaß und Zeitpunkt der Determination innerhalb des Cytoplasmas ist mit der vorliegenden Methode nicht möglich. Doch genügen die Ergebnisse zur Feststellung der Tatsache, daß die Entwicklung bei *Asplanchna girodi* von sehr früh determinierten Mosaikzellen ausgeht.

Gleichzeitig wird aus den Versuchsergebnissen die Fähigkeit der Selbstdifferenzierung in den verschiedenen Organbezirken deutlich. Das

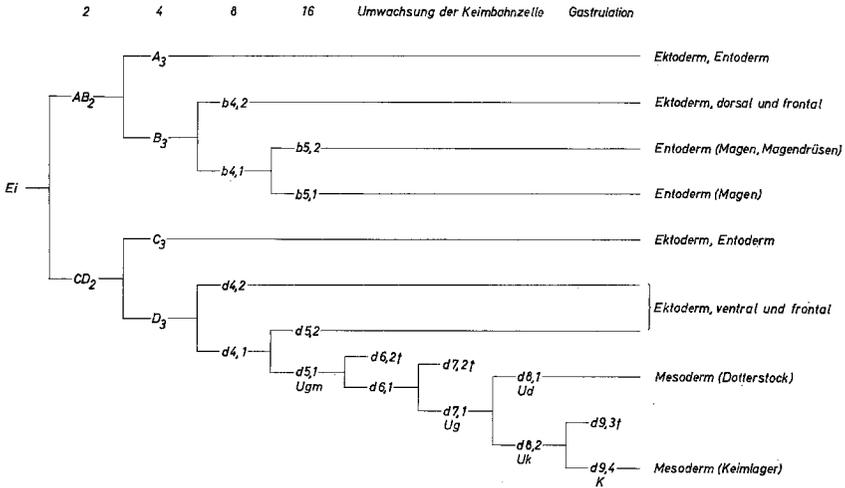


Abb. 26. Furchungsschema und Keimbahn von *Asplanchna girodi*, soweit durch Versuchsergebnisse belegt

Bestimmtheit eines Eibeirkes kann nur dann sichtbar werden, wenn sich nach seiner Störung bzw. Zerstörung alle anderen Bezirke zu ihrer endgültigen Gestalt und Funktion ausdifferenzieren. Nur dann ist eine Schädigung embryonalen Gewebes im fertig entwickelten Tier wieder auffindbar, Dies war bei zahlreichen Versuchen möglich. Für eine abhängige Differenzierung wurden nur zwei Beispiele von untergeordneter Bedeutung gefunden. Am auffälligsten war die häufige Verkrüppelung des Kauers. Sie trat bei allen Tieren des Typs 3 auf. Anscheinend ist eine normale Ausbildung des Kauers nur dann möglich, wenn er während der Sonderung der Organsysteme auf allen Seiten von Pharynxgewebe umgeben ist. Eine ähnliche Wirkung des benachbarten Gewebes muß auch beim Exkretionssystem eine Rolle spielen. Nur wenn die ektodermale Einstülpung des prospektiven Urogenitalkanals auf eine völlig ungestörte Anlage des Keimdotterstocks trifft, kann sie diese umwachsen und die zugehörigen Organe vollständig ausdifferenzieren. Von diesen Ausnahmen abgesehen, ist die Entwicklung jedes einzelnen Organs von

Einflüssen des benachbarten Gewebes unabhängig. Deshalb spielt es keine Rolle, ob eine Anlage durch die normal verlaufenden Gestaltungsbewegungen ins Keimesinnere verlagert worden ist oder ob sie infolge von experimentellen Eingriffen auf der Keimesoberfläche liegt. In jedem Fall entstehen funktionsfähige Gewebebezirke mit charakteristischer innerer Struktur und gelegentlich auch mit der typischen äußeren Gestalt. Das trifft sogar für Einzelzellen zu, die durch starke Strahlenschäden die Fähigkeit verloren haben, sich zu Organen zusammenzuschließen.

b) *Mesodermschäden.* Aus dem Mesoderm entsteht ausschließlich der Keimdotterstock. Störungen in diesem Organ lassen sich schon nach Bestrahlungen des vegetativen Eipols vor der Reifungsteilung erzeugen. Zusammen mit den Mesodermschäden treten stets Ektodermstörungen auf. Sie erschweren die Beurteilung des Ausmaßes der Gesamtstörung, weil sie die Entstehung des Typs 4 verhindern. Oft hemmt eine Bestrahlung des prospektiv mesodermalen Cytoplasmas den späteren Zusammenschluß der Dotterzellen zum Gewebe. Damit wird der Schaden eindeutig nachweisbar.

Die im 2-Zellstadium durchgeführten Versuche zeigen, daß die große Blastomere  $\overline{CD}_2$  für die Mesodermbildung verantwortlich ist. Wo ihre Abtötung gelingt, fehlt bei dem entstehenden Tier der Keimdotterstock. Wenn sie nur geschädigt ist, stellen sich vorwiegend schwere Störungen am Ekto- und Mesoderm ein. Bei der Bestrahlung von  $\overline{AB}_2$  dagegen bleibt das Keimbahnmaterial ungeschädigt. Damit kann die Blastomere  $\overline{CD}_2$  als Keimbahnzelle oder Urpropagationszelle bezeichnet werden. Auf dem 4-Zellstadium erweist sich die Zelle  $D_3$  als Keimbahnzelle mit gleichzeitig ektodermaler Potenz. Der ektodermale Anteil läßt sich aber jetzt bereits auf das ventrale Integument einschränken, was mit der späteren ventralen Lage der übrigen Abkömmlinge des D-Quadranten übereinstimmt. Mit dem 8-Zellstadium zeigt sich die prospektive Bedeutung der Zelle  $d\ 4,1$  bereits sehr klar.

Die letzte Möglichkeit einer selektiven Bestrahlung der Keimbahnzelle fällt gerade mit dem ersten Stadium ihrer rein mesodermalen Potenz zusammen. Auf dem 16-Zellstadium besitzt der Embryo mit der Urgeschlechtsmutterzelle  $d\ 5,1$  eine Blastomere, die ausschließlich den Keimdotterstock hervorbringt. Diese Tatsache ließ sich im Bestrahlungsexperiment mehrmals eindeutig beweisen. Die Bestätigung erbrachten histologische Untersuchungen an Schnittserien. Damit erweist sich die von NACHTWEY (1925) für *Asplanchna priodonta* aus Schnittserien erarbeitete, durch die „Ektosomen“ markierte Keimbahn auch für die Art *A. girodi* als voll zutreffend.

c) *Entodermschäden.* Den ersten Hinweis auf die Herkunft des Entoderms ergab eine schon vor der Reifungsteilung am animalen Pol

geschädigte Oocyte. Sie entwickelte sich zu einem Tier mit geringen, auf das Entoderm beschränkten Störungen. Mißbildungen des Verdauungstrakts lassen sich nur bei Typ 4 eindeutig erkennen, weshalb keine große Zahl von Versuchen zur Auswertung vorliegt. Besonders auffällig sind Verwachsungen zwischen dem Magendrüsen- und dem Magengewebe. In Schnittserien können frei in der Leibeshöhle liegende Zellen gelegentlich als Magen- oder Magendrüsen-gewebe bestimmt werden. Das Fehlen einzelner Magen-zellen verhindert die Ausbildung eines geschlossenen Magensäckchens nicht. Die sehr dehnbare Wand des Ösophagus übernimmt die Aufgabe, die Lücken zu schließen.

Vom Entwicklungsstadium unmittelbar nach der Reifungsteilung sind mehrere Versuche vorhanden, die auf eine entodermale Potenz des am animalen Pol liegenden Cytoplasmas schließen lassen. Dieses kommt später zur Hälfte in die Blastomere  $B_3$ . Deren Material baut den B-Quadranten auf, der vorwiegend dorsales Blastoderm liefert. Bestrahlungen der Blastomeren  $\overline{AB}_2$ ,  $B_3$  und  $b\ 4,1$  zielten in den drei nachfolgenden Entwicklungsstadien auf ein Störung des dorsalen Blastoderms bzw. des Entoderms und ergaben eine Bestätigung der Arbeitshypothese.

Vom 16-Zellstadium bis zur Gastrulation konnten dann das dorsale Blastoderm und das später am Blastoporus zur Einstülpung bereitliegende Material direkt bestrahlt werden. Als Folge der Bestrahlung entstehende größere Öltropfen wandern mit dem geschädigten dorsalen Blastoderm über den vorderen Pol zum Blastoporus. Manchmal werden sie mit dem einwandernden Gewebe unter das dorsale Ektoderm verlagert. Entwickelt sich das Tier zu Typ 4 weiter, zeigen sich Störungen des Verdauungstrakts. In besonders günstigen Fällen findet man in der Leibeshöhle frei liegende Magen- und Magendrüsenzellen. Viel häufiger jedoch unterbleiben die embryonalen Gestaltungsbewegungen. Dann entsteht der Typ 2, der die direkte Umwandlung des dorsalen Blastoderms in Entoderm erkennen läßt. Solange diese Tiere noch in der Eihaut liegen, kann man im optischen Schnitt erkennen, wie die Flimmerhaare der Magen-zellen von innen her direkt gegen die Eihaut schlagen. Sie werden von keiner auch noch so dünnen Gewebeschicht oder Plasmahaut überdeckt. Aus den Bestrahlungen des als prospektives Entoderm gedeuteten Gewebes aller Entwicklungsstadien entstehen eindeutige Entodermstörungen. Das nicht eingestülpte dorsale Blastoderm differenziert sich zu Entoderm aus. Mit diesen Tatsachen ist bei *Asplanchna girodi* die Entodermbildung durch Gastrulation eindeutig nachgewiesen.

d) *Ektoderm-schäden*. Selten beschränken sich die Auswirkungen einer partiellen Bestrahlung auf das Ektoderm. Entsteht bei einem Versuch Typ 1 oder 2, sieht man dem stark gefältelten Integumentstück die

Ursache dieser Mißbildung nicht mehr an. Sie kann ebenso eine direkte Strahlenwirkung wie eine Folge der unterbrochenen Gestaltungsbewegungen sein. Mit der Apikalfeldwunde und dem gestörten Cerebralganglion repräsentiert der Typ 3 eine spezifische, und zwar dorsale Ektodermeschädigung. Dorsales und ventrales Ektoderm gleichzeitig sind in den Fällen betroffen, in denen ein Tier des Typs 4 ausschließlich Mißbildungen im Bereich des Pharynx besitzt.

Schon sehr früh während der Eireifung können Ektodermeschäden verursacht werden. Sie treten entweder zusammen mit geschädigtem Entoderm oder Mesoderm auf, je nachdem, ob der animale oder der vegetative Pol der Oocyte bestrahlt wurde. In Ausnahmefällen läßt sich eine sehr starke Ektodermeschädigung daran erkennen, daß nur die aus Ektoderm entstandenen Zellen abgekugelt sind, während Meso- und Entoderm Gewebe bilden.

Bestrahlungen des animalen Pols früher Furchungsstadien verursachen ebenfalls gleichzeitige Schädigung von prospektivem Ekto- und Entoderm. Wenn Typ 4 ausgebildet wird, sind Verwachsungen zwischen Pharynx- und Magengewebe die Regel. Auch bei den Keimbahnzellen  $\overline{CD}_2$ ,  $D_3$  und  $d\ 4,1$  konnte ein ektodermaler Anteil nachgewiesen werden. Auf dem 16-Zellstadium und später erzeugte die Bestrahlung des Richtungskörperbereichs Tiere des Typs 3. Der Richtungskörper markiert demnach den Bildungsort des Cerebralganglions und wandert mit ihm während der Gastrulation zum vorderen Pol des Embryos.

### 5. Kälteschockversuche

Die Typen 1—4 sind nicht nur spezifische Reaktionen auf Strahlenschädigung, sondern stellen sich auch bei Störungen der Normogenese durch Abkühlung ein. Dies zeigte sich bei einer Reihe von 100 Kälteschockversuchen. Die zu etwa gleichen Teilen aus den fünf Entwicklungsstadien zwischen 4-Zellstadium und Gastrulation zusammengesetzte Versuchsreihe ergab neben 38 normal entwickelten Tieren und fünf abgetöteten Oocyten alle vier beschriebenen Typen geschädigter Tiere. Typ 1 war mit 21 Exemplaren am häufigsten vertreten.

Darüber hinaus bestätigte diese Versuchsreihe den durch Lebendbeobachtung und experimentelle Untersuchung analysierten Ablauf der Normogenese. Die Ektodermeschäden betragen für alle Entwicklungsstadien gleichmäßig etwa 20%. Mesoderm- und Entodermeschäden dagegen zeigten vom 4-Zellstadium bis zur Gastrulation eine gegenläufige Tendenz. Während Störungen im Entoderm bis zum 16-Zellstadium bei nur 5% lagen, stiegen sie für die Gastrulation auf fast 20% an. Der Anteil von Tieren mit Mesodermeschäden fiel dagegen von anfangs 15% rasch ab und erreichte schon für das Stadium der Umwachsung der Keimbahnzelle den Nullpunkt.

Die vorwiegend auf die außen liegenden prospektiven Gewebbezirke des Embryos einwirkende Kälteschädigung konnte demnach auf dem Stadium der Gastrulation das Material der Keimbahn nicht mehr erreichen. Dagegen muß zu diesem Zeitpunkt das prospektive Entoderm einen besonders großen Teil der Keimesoberfläche eingenommen haben. Ektodermales Material lag auf allen Entwicklungsstadien oberflächlich, konnte also durch die plötzliche Abkühlung stets gleich stark geschädigt werden.

#### D. Diskussion

Die zur Aufzucht von *Asplanchna girodi* im Labor angewandte Methode wurde unabhängig von den bei BIRKY (1964) für *A. girodi* und *A. brightwelli* beschriebenen Verfahren entwickelt. Statt *Paramecium caudatum* verwendet BIRKY *P. aurelia*, und *Haematococcus pluvialis* ist durch *Eudorina elegans* ersetzt. *Asplanchna girodi* läßt sich nach DE BEAUCHAMP (1935 und 1951) und VOIGT (1957) bestimmen. Darüber hinaus gibt BIRKY (1964) einen nützlichen histologischen und physiologischen Vergleich der beiden oft verwechselten Arten.

Die Embryonalentwicklung von *Asplanchna girodi* zeigt übereinstimmend mit allen anderen näher untersuchten Arten von Rotatorien sehr klar eine mehrphasige Gastrulation (WEYGOLDT, 1960), in deren Verlauf zunächst das mesodermale und dann das entodermale Material ins Innere des Embryos gelangen. Die erste Phase soll wegen ihrer räumlichen und zeitlichen Trennung auch weiterhin als „Umwachsung der Keimbahnzelle“ von der Gastrulation im engeren Sinn unterschieden werden. Die während der ersten Phase epibolisch umwachsene Keimbahnzelle wurde früher für die Entodermanlage bzw. einen Teil derselben gehalten (TESSIN, 1886; ZELINKA, 1891; JENNINGS, 1896; CAR, 1899). NACHTWEY (1925) konnte jedoch in genauer cytologischer Analyse die durch „Ektosomen“ markierten Keimbahnzellen bis zur vollendeten epibolischen Umwachsung verfolgen und ihre weitere Entwicklung zum Keimdotterstock aufklären. Die experimentelle Analyse hat diese Befunde bestätigt und außerdem den Beweis erbracht, daß die Blastomere  $D_3$  neben ihrer mesodermalen Potenz zwar prospektives Ektoderm, aber keinerlei prospektives Entoderm enthält. Damit ist die Annahme von KORSCHULT und HEIDER (1936) widerlegt, die D-Zelle liefere „vermutlich noch andere (entodermale) Elemente“ (S. 329). Von NACHTWEYs (1925) Ergebnissen ausgehend, glaubte HYMAN (1951), in der Urgeschlechtsmutterzelle  $d\ 5,1$  den Rest einer Entomesodermzelle sehen zu können. Die epibolische Umwachsung und vor allem die Abschnürung der degenerierenden Zellen interpretierte sie als die letzte Erinnerung an eine Gastrulation. Mit dem Nachweis der Entodermbildung durch einen völlig normalen Gastrulationsvorgang ist auch diese Überlegung

hinfällig geworden. NACHTWEY (1925) neigt dazu, die Abschnürung der drei kleinen Zellen als Diminution der chromatischen Substanz zu deuten (S. 362). Hier ergibt sich ein Gegensatz zu den Befunden bei *Ascaris*. Die P<sub>2</sub>-Zelle entspricht der Blastomere D<sub>3</sub> von *Asplanchna* und liefert wie diese ausschließlich Meso- und Ektoderm. Trotz dieser auffallenden Übereinstimmung unterscheidet sich die Embryonalentwicklung der beiden zellkonstanten Aschelminthen grundlegend, wenn NACHTWEYs Annahme zutrifft. Bei *Ascaris* findet nur in den Somazellen, nicht aber in den Zellen der Keimbahn eine Chromatindiminution statt. „Letztere führen den vollen Genschatz bis zu den Keimzellen“ (PFLUGFELDER, 1962, S. 74). Bei *Asplanchna* soll es gerade umgekehrt sein. Hier macht die Deutung einer auf die Keimbahn beschränkten Diminution des Chromatins so große Schwierigkeiten, daß vorläufig die Annahme rudimentärer, ursprünglich normaler Teilungsprozesse mindestens ebenso berechtigt erscheint.

An die Umwachsung der Keimbahnzelle schließt sich die eigentliche Gastrulation an, die zur Entodermbildung führt. Dieser Prozeß wurde schon von ZELINKA (1891) bei *Callidina* beschrieben (S. 71; Fig. 36—39), aber nicht richtig gedeutet. Er hielt die epibolisch umwachsenen „granulierten Zellen“ für prospektiv ektodermales Material. Deshalb glaubte er, außer den Keimdotterstöcken auch die entodermalen Organe von den Abkömmlingen der Urgeschlechtsmutterzelle *d* 5,1 ableiten zu können. Obwohl NACHTWEY (1925) die Aufklärung der Keimbahn gelang, erkannte er den augenfälligen Gastrulationsvorgang nicht als solchen. Das zeigt folgende Textstelle: „Während die Urgeschlechtszelle im Innern den Keimdotterstock erzeugt, stülpt sich gleichzeitig die vordere Keimregion als Schlundrohr in die Tiefe . . . Ohne daß irgendeine Scheidung in Ekto- und Entoderm erfolgt wäre, beginnt alsbald die mitotische Differenzierung der verschiedenen Organanlagen“ (S. 308). Die Fig. 20, Taf. VII, die den Entwicklungsstand vor der ersten Bildung der Magenanlage darstellen soll, fällt durch die starke Nukleolenbildung in den Kernen des „Blastoderms“ und der „Pharynxanlage“ auf. Auch in der Anlage des Dotterstocks hat ihre Ausbildung bereits begonnen. Von der Verwechslung der Dorsal- und Ventralseite abgesehen, stimmt dieser Sagittalschnitt mit der Abb. 10 sehr genau überein. Nach dem für die Altersbestimmung eines Embryos verläßlichen Kriterium der Nukleolenbildung (MARTINI, 1924) stellt er damit die letzte Phase der Gestaltungsbewegung dar, die Einsenkung des Cerebralganglions. Das als Pharynxanlage bezeichnete Gewebe ist nichts anderes als die längst ausdifferenzierte Magenanlage, die sogar bereits ein Lumen besitzt. NACHTWEY (1925) dagegen sieht in einer zweischichtigen Reihe von vier Blastodermzellen des nächsten Entwicklungsstadiums (Fig. 21, Taf. VIII) die Grundlage für seine These von der

Delamination des gesamten Entoderms aus dem dorsalen Blastoderm. Er schreibt dazu: „Posteriordorsal aber entstehen aus dem Blastoderm zwei Zellschichten, womit dorsale und ventrale Magenwand bereits angelegt sind“ (S. 308). „Ein etwas weiter fortgeschrittenes Stadium zeigt Fig. 32, Taf. IX im Frontalschnitt. Noch immer ist die Keimwand dorsal zweischichtig“ (S. 296). Tatsächlich zeigt diese Fig. 32 ebenso wie die Textfigur 3 den Schnitt durch ein kurz vor der Streckungsphase stehendes Tier mit einer bereits voll ausdifferenzierten Magenanlage, über der das Integument durch sekundäre Abflachung der Zellen kaum mehr sichtbar ist. So bleibt die zweischichtige Zellengruppe der Fig. 21 das einzige Belegstück für die These von der Entodermbildung durch Delamination, die wegen ihrer Ungewöhnlichkeit allgemein mit Vorbehalt aufgenommen wurde (REMANE, 1929, S. 453 und 459; KORSCHULT und HEIDER, 1936, S. 333; HYMAN, 1951, S. 105). Trotz intensiver Suche konnte bei *Asplanchna girodi* niemals weder ein zweischichtiges Blastoderm noch eine in einer Blastodermzelle zur Oberfläche des Embryos senkrecht stehende Teilungsspindel aufgefunden werden.

Erst von DE BEAUCHAMP (1957) wurde das Problem neu untersucht. Er fand an lebenden Embryonen von *Ploesoma hudsoni* eine aufeinanderfolgende Epibolie von prospektivem Meso- und Entoderm. Die in Fig. 2, I und II dargestellte Gastrulation durch Überwachsung einer völlig passiv terminodorsal liegenden Scheibe von prospektivem Entoderm ist nach den vorliegenden Ergebnissen bei *Asplanchna girodi* nicht richtig beobachtet worden. Das von dorsal und von den Seiten her vorrückende prospektive Entoderm stülpt sich mehr oder weniger aktiv nach innen um. Außerdem hat der Autor die Bewegung der wie bei *Asplanchna girodi* durch Öltropfen markierten Magenanlage von anterodorsal nach posteriodorsal übersehen und deshalb die Zeichnungen III bis VI seiner Fig. 2 falsch orientiert. Um in den letzten Stadien senkrecht orientierte Tiere darstellen zu können, hätte er wie ZELINKA (1891) schon das 2-Zellstadium mit oben liegender Blastomere  $\overline{CD}_2$  zeichnen müssen. Trotz seines beschränkten Untersuchungsmaterials konnte er jedoch zeigen, wie NACHTWEY (1925) zu seiner These von der Entodermbildung durch Delamination gekommen sein muß. Die kernlose Membran, die vom einsinkenden Entoderm gleichsam als Wundverschluß nach außen abgeschieden werden soll, erkannte er als das sekundär abgeflachte dorsale Integument. Der Prozeß dieser Abflachung geht aus den Abb. 51—56 von ZELINKA (1891) wie auch aus den vorliegenden Abb. 7—10 klar hervor. Bei *Ploesoma* wird das dorsale Integument bis zum Abschluß der PharynxEinstülpung so dünn, daß sich sogar die Öltropfen der darunter liegenden Magenanlage auf der Oberfläche des Embryos als Erhebungen abzeichnen. DE BEAUCHAMP (1957) schließt dann von der Übereinstimmung seiner Abbildungen mit den

anderweitig für verschiedene Gattungen dargestellten auf eine allgemeine Gültigkeit seiner Ergebnisse für die Klasse der Rotatorien. Diese Schlußfolgerung kann mit derselben Begründung, von den erwähnten Differenzen abgesehen, auch auf die vorliegende Untersuchung ausgedehnt werden.

Die experimentelle Analyse der Embryonalentwicklung von *Asplanchna girodi* ergab eine auffallend häufige Störung der Gestaltungsbewegungen. Sie äußert sich in der Entstehung der Typen I bis 3. Dabei wird die streng determinative Entwicklung auch von denjenigen Gewebebezirken beibehalten, die nicht in das Keimesinnere verlagert werden können, und es kommt zu einer Selbstdifferenzierung an Ort und Stelle. Die endgültigen Lageverhältnisse der Organe in den strahlengeschädigten Embryonen entsprechen dann dem Mosaik der Organanlagen in der Oocyte. Das von LILLIE (1906) geschilderte Beispiel larvaler Differenzierungen an ungeteilten Eiern von *Chaetopterus* ist wohl der extremste Fall derartiger Entwicklungsabläufe. Neben den direkten Auswirkungen der UV-Bestrahlung auf den Mechanismus der Zellteilung (ZIRKLE et al., 1960) sind auch die indirekten Strahlenschäden bekannt (REITH, 1938), die erst auf späteren Entwicklungsstadien die Differenzierungsvorgänge hemmen. Die Bestrahlung von *Asplanchna*-Embryonen hatte häufig erst nach Ablauf der gesamten Embryonalentwicklung eine sichtbare Schädigung zur Folge.

Sowohl Kälteschock als auch UV-Bestrahlung führten zur Exogastrulation und zur Hemmung der nachfolgenden Gestaltungsbewegungen. Eine Übersicht über die zahlreichen Möglichkeiten zur experimentellen Erzeugung der Exogastrulation (vgl. SPEMANN, 1936 und HOLTFRETER, 1938) gibt CHILD (1941). Er zählt die wirksamen Faktoren auf und beschreibt auch die Folgen einer verstärkten Einwirkung derselben. Sie führen stets zum partiellen oder totalen Verlust des epithelialen Charakters geschädigter Gewebe und als Folge davon zur Loslösung von Zellen und Organen (S. 229). Genau die gleichen Auswirkungen ergeben sich auch aus einer sehr starken UV-Strahlenschädigung. Nach ERRERA (1960) ist über die physiologischen Ursachen der beschriebenen Entwicklungsstörungen trotz der entscheidenden Bedeutung der Gestaltungsbewegungen für die embryonale Differenzierung bis jetzt wenig bekannt.

### Zusammenfassung

1. *Asplanchna girodi* DE GUERNE kann in einer verdünnten Erdlösung kultiviert werden. Als Futter dient ein Gemisch aus *Paramecium caudatum* und *Haematococcus pluvialis*. Die für embryologische Untersuchungen notwendige große Zahl von Individuen steht wegen der kurzen Entwicklungszeit sehr rasch zur Verfügung.

2. Die Untersuchung der Normogenese am lebenden Embryo und an Schnittserien ergab drei zur Ausbildung der Körpergrundgestalt

führende Gestaltungsbewegungen. In einer zweiphasigen Gastrulation wird zunächst die mesodermale Keimbahnzelle durch Epibolie ins Keimesinnere verlagert. Unmittelbar darauf folgt die epibolische Gastrulation des dorsalen Blastoderms, die zur Entodermbildung führt. Als dritte Phase stülpt sich das dorsale und ventrale Ektoderm zur Bildung des Pharynx ein.

3. Subitaneier und daraus entstehende frühe Entwicklungsstadien von *Asplanchna girodi* wurden im Uterus des Alttieres mit Hilfe eines UV-Mikrostrahlenstichapparates partiell bestrahlt. Die Markierung bestimmter Areale durch einen Bestrahlungsdefekt diente zur Analyse der Embryonalentwicklung.

4. Bei *Asplanchna* kann sich in strahlengeschädigten Oocyten und Embryonen grundsätzlich jeder Teil zu seiner endgültigen Gestalt und Funktion ausdifferenzieren, ohne von Nachbargewebe abhängig zu sein. Vom normalen Ablauf der Gestaltungsbewegungen ist der Vorgang der Selbstdifferenzierung weitgehend unabhängig.

5. Die strahlengeschädigten Tiere können zu vier Typen zusammengefaßt werden. Durch Exogastrulation vor und nach der epibolischen Umwachsung der Keimbahnzelle kommen Typ 1 und Typ 2 zustande. Typ 3 entsteht durch unvollständige Gestaltungsbewegungen im vorderen Ektoderm nach der Gastrulation. Typ 4 ist durch lokalisierbare Schädigung innerer Organe gekennzeichnet, die erst nach der Streckung des Tieres sichtbar werden.

6. Die Entwicklung von *Asplanchna girodi* geht von sehr früh determinierten Mosaikieiern aus. Schon vor der Reifungsteilung können Mesodermschäden durch Bestrahlung des vegetativen, Entodermschäden durch Bestrahlung des animalen Cytoplasmas hervorgerufen werden. Jedoch kann die Oocyte Strahlenschäden noch bis zu einem gewissen Umfang regulieren.

7. Eindeutig ektodermaler Herkunft sind nach experimentellen Befunden neben dem Integument und der Muskulatur folgende Organe: Cerebralganglion und Nervensystem, Pharynx, Mastax, Uterus und Exkretionssystem.

8. In den Keimbahnzellen  $D_3$  und  $d\ 4,1$  konnte neben dem mesodermalen ein ektodermaler Anteil nachgewiesen werden. Die Urgeschlechts-mutterzelle  $d\ 5,1$  enthält dagegen nur noch prospektives Mesoderm, was mit den Untersuchungsergebnissen NACHTWEYS (1925) übereinstimmt.

9. Durch die bei strahlengeschädigten Tieren häufig auftretende Exogastrulation (Typ 1 und Typ 2) wurde die Beobachtung bestätigt, daß sich das Entoderm durch einen Gastrulationsvorgang bildet. Damit ist die Ansicht NACHTWEYS (1925), das Entoderm bilde sich durch Delamination vom dorsalen Blastoderm, widerlegt.

## Literatur

- BEAUCHAMP, P. DE: Sur les caractères des deux sortes de femelles chez *Asplanchna girodi* DE GUERNE. C. R. Soc. Biol. (Paris) **120**, 126—128 (1935).
- Sur la variabilité spécifique dans le genre *Asplanchna* (Rotifères). Bull. biol. France et Belg. **85**, 137—175 (1951).
- Développement in *Ploesoma hudsoni*. Bull. Soc. zool. France **81**, 374—383 (1957).
- BIRKY, C. W.: Studies on the physiology and genetics of the rotifer, *Asplanchna*. I. Methods and physiology. J. exp. Zool. **155**, 273—291 (1964).
- Studies on the physiology and genetics of the rotifer, *Asplanchna*. II. The genic basis of a case of male sterility. J. exp. Zool. **158**, 349—355 (1965).
- CAR, L.: Die embryonale Entwicklung von *Asplanchna brightwelli*. Biol. Zbl. **19**, 59—74 (1899).
- CHILD, C. M.: Patterns and problems of development, 811 p. Chicago (Ill.): Chicago University Press 1941.
- CZIHAK, G.: Ein UV-Mikrostrahlenstichapparat. Zeiss-Mitt. **2**, 165—172 (1961).
- Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an *Echiniden*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **155**, 709—729 (1965).
- ERRERA, M.: Cellular radiation effects. Amer. Naturalist **94**, 111—128 (1960).
- GREEN, J.: Osmoregulation of contractile vesicle of *Asplanchna*. Nature (Lond.) **179**, 432 (1957).
- GUERNE, M. J. DE: Monographic note on the rotifera of the family *Asplanchnidae*. Ann. Mag. Natur. History (6) **2**, 28—40 (1888).
- GURDON, J. B.: The effects of ultraviolet irradiation on uncleaved eggs of *Xenopus laevis*. Quart. J. micr. Sci. **101**, 299—311 (1960).
- HOLTFRETER, J.: Differenzierungspotenzen isolierter Teile der *Anurengastrula*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **138**, 522—656 (1938).
- HYMAN, L. H.: The invertebrates: Acanthocephala, aschelminthes, and entoprocta, 572 p. New York: McGraw Hill Book Co. 1951.
- JENNINGS, H. S.: The early development of *Asplanchna herrickii* DE GUERNE. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. **30**, 1—117 (1896).
- KOEHLER, J. K.: A fine-structure study of the rotifer integument. J. Ultrastruct. Res. **12**, 113—134 (1965).
- KORSCHOLT, E., u. K. HEIDER: Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tiere, 314 S. Jena: Gustav Fischer 1936.
- LATARJET, R., P. MORENNE et R. BERGER: Un appareil simple pour le dosage des rayonnements ultraviolets émis par les lampes germicides. Ann. Inst. Pasteur **85**, 174—184 (1953).
- LIEBERS, R.: Untersuchungen an *Euchlanis* und *Proales*. Z. wiss. Zool. **150**, 206—261 (1938).
- LILLIE, F. R.: Observations and experiments concerning the elementary phenomena of embryonic development in *Chaetopterus*. J. exp. Zool. **153**—267 (1906).
- MARTINI, E.: Die Zellkonstanz und ihre Beziehung zu anderen zoologischen Vorwürfen. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **70**, 179—259 (1924).
- NACHTWEY, R.: Untersuchungen über die Keimbahn, Organogenese und Anatomie von *Asplanchna priodonta* GOSSE. Z. wiss. Zool. **126**, 239—492 (1925).
- NATHAN, H., and A. LADERMAN: Rotifers as biological tools. Ann. N. Y. Acad. Sci. **77**, 96—101 (1959).
- OELHAFEN, F.: Zur Embryogenese von *Culex pipiens*: Markierungen und Exstirpationen mit UV-Strahlenstich. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **153**, 120—157 (1961).
- PFLUGFELDER, O.: Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte und Entwicklungsphysiologie der Tiere, 347 S. Jena: Gustav Fischer 1962.

- REITH, F.: Über die Induktionsfähigkeit mit Ultraviolett bestrahlter Organisationsbezirke nach Implantation in eine Gastrula bei *Triton*. Z. wiss. Zool. **150**, 179—205 (1938).
- REMANE, A.: *Rotatorien*. In: BRONN, Klassen und Ordnungen des Tierreichs, 4, 576 S. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1929.
- RUTHMANN, A., u. K. HECKMANN: Formwechsel und Struktur des Makronucleus von *Bursaria truncatella*. Arch. Protistenk. **105**, 313—340 (1961).
- SEIDEL, F.: Körpergrundgestalt und Keimstruktur. Zool. Anz. **164**, 245—305 (1960).
- SPEMANN, H.: Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung, 296 S. Berlin: Springer 1936.
- TESSIN, G.: Über Eibildung und Entwicklung der *Rotatorien*. Z. wiss. Zool. **44**, 273—302 (1886).
- URSPRUNG, H.: Fragmentierungs- und Bestrahlungsversuche zur Bestimmung von Determinationszustand und Anlageplan der Genitalscheiben von *Drosophila melanogaster*. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **151**, 504—558 (1959).
- VOIGT, M.: *Rotatoria*. Die Rädertiere Mitteleuropas, 508 S. Berlin: Gebrüder Bornträger 1957.
- WATT, J. R.: The inheritance of hybrid vigor in the rotifer *Epiphanes senta*. Abstr. Doct. Diss. Univ. Nebraska **9**, 129—134 (1948).
- WEYGOLDT, P.: Mehrphasige Gastrulation bei *Arthropoden*. Zool. Anz. **164**, 7—10 (1960).
- ZELINKA, C.: Studien über Rädertiere. III. Zur Entwicklungsgeschichte der *Rädertiere* nebst Bemerkungen über ihre Anatomie und Biologie. Z. wiss. Zool. **53**, 323—481 (1891).

Dr. MARTIN LECHNER  
798 Ravensburg  
Franz-Liszt-Weg 9