

(Aus dem Institut für Entwicklungsmechanik und Vererbung der Universität Breslau
[Direktor: Prof. Dr. DÜRKEN].)

ÜBER DIE LOKALISATION DER ENTWICKLUNGSFAKTOREN IM INSEKTENKEIM.

I. ZENTRIFUGIERVERSUCHE AN AMEISENEIERN.

Von

FERDINAND REITH.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Mai 1932.)

Meine Versuche am Ei von *Camponotus ligniperda* (1931 a u. b) hatten ergeben, daß am Hinterpol des abgelegten, noch ungefurchten Eies ein Ort vorhanden ist, von dem aus die Bestimmung der einzelnen Eibereiche zu ihrem Entwicklungsschicksal geschieht und der darnach als Determinationszentrum bezeichnet wurde. Über das Wesen dieses Zentrums und über die Frage, ob und welche stofflichen Teile des hinteren Eipols als Sitz der determinierenden Faktoren anzusehen sind, konnte keine Klärung erzielt werden. Wenn dieses Zentrum durch eine besondere plasmatische Struktur ausgezeichnet ist, so ist es in erster Linie der sog. Polkörper, der das Interesse in Anspruch nimmt. Wie ich schon früher zeigen konnte, läßt das Verhalten dieses Körpers während des Determinationsgeschehens gewisse Schlüsse zu, die für seine kausale Bedeutung sprechen.

Man hat den „Polplasmen“ eine organisatorische Bedeutung bisher nicht nachweisen können. Die Polplasmen der Oligochäten und Hirudineen, der Pollappen der Mollusken und verschiedene Plasmastoffe des Ascidieeneies sind auf Grund experimenteller Analysen als „organbildende Substanzen“, d. h. als Stoffe, welche die Bildung eines bestimmten Organs determinieren, erkannt worden. Darüber hinaus hatten sie auf andere Keimteile zu Beginn der Entwicklung keinen Einfluß. Es liegt jedoch die Annahme, daß die organbildenden Substanzen der Mosaikierer auch Organisatoren darstellen, deren Organisatoreigenschaften sich schon im ungefurchten Ei bemerkbar machen, recht nahe. DÜRKEN (1928) und auch SCHLEIF (1929) rechnen mit dieser Möglichkeit.

Den am hinteren Ende des eben abgelegten, noch ungefurchten Eies von *Camponotus* gelegenen Polkörper daraufhin zu prüfen, war das Ziel

der vorliegenden Arbeit. Es war mir von vornherein klar, daß diese Frage einer experimentellen Lösung nur schwer zugänglich ist, da für den Nachweis einer Organisatoreigenschaft dem Polkörper ein indifferentes Material vorgelegt werden mußte. Ich versuchte dies durch Umordnung der Eisubstanzen mit Hilfe der Zentrifuge zu erreichen, einer Methode, die bei Insekteneiern schon von R. W. HEGNER (1909) und M. E. PAULI (1927) erfolgreich angewandt worden war.

Möglichst unmittelbar nach der Ablage, aber auch auf vorgeschrittenen Stadien, wurden die Eier mit ihrer Längsachse senkrecht zur Rotationsachse orientiert, in einer Motorzentrifuge 5—30 Min. einer Tourenzahl von 1300—2500 Umdrehungen pro Min. ausgesetzt; dabei war entweder der Vorderpol oder der Hinterpol zentrifugalwärts gerichtet. Ich folgte im allgemeinen der von HEGNER und PAULI beschriebenen Technik. Nach dem Zentrifugieren zog ich wiederum (siehe REITH, 1931 b) die Eier isoliert in kleinen Blechdosen auf Insektentorf einige Zeit auf, indem ich nach Möglichkeit die während der Umordnung innegehabte Orientierung beibehielt.

Die mir zu Beginn der Versuchsperiode 1931 zur Verfügung stehenden *Camponotus*-Weibchen, welche ich schon 1—2 Jahre in Gefangenschaft hielt, stellten vor Beendigung meiner geplanten Versuche ihre Ablage ein. Da es mir nicht mehr gelang, neue Weibchen zu erhalten, mußte ich diese Versuche vorzeitig abbrechen. Trotzdem scheint es mir geboten, die bisherigen Resultate kurz mitzuteilen.

Ferner benutzte ich zu den gleichen Versuchen die bedeutend kleineren Eier von *Lasius niger*, die leicht und in großen Mengen zu erlangen waren. Diese Eier besitzen allerdings keinen Polkörper. Es war mir trotzdem von Wichtigkeit, diese zur gleichen Unterfamilie gehörige Gattung zum Vergleich heranzuziehen. Die *Lasius*-Eier wurden bis zu mehreren Stunden zentrifugiert. Das abgelegte entwicklungsfähige Ei (zum Unterschied von den nichtentwicklungsfähigen sog. Zwergiern) ist etwa 0,7 mm lang und 0,3 mm breit, also wesentlich kleiner und gedrungenener wie das *Camponotus*-Ei. Wie bei diesem sind auch hier Vorder- und Hinterpol, Ventral- und Dorsalseite bei einiger Übung zu unterscheiden. Die isolierte Aufzucht ist hier bei weitem schwieriger als bei *Camponotus*, so daß die äußerlich kenntlich gemachten Keime häufig dem Weibchen zur Aufzucht für einige Tage zurückgegeben wurden. Nur in den seltensten Fällen wurden diese Eier aufgefressen; sie wurden also trotz der Umschichtung vom Weibchen angenommen.

Die Versuche.

1. Die Anordnung der Eisubstanzen.

Zunächst handelte es sich bei den Versuchen darum, über die Schichtungsverhältnisse in einem Ei unmittelbar nach dem Zentrifugieren

Aufschluß zu erhalten. Schon eine Zentrifugalwirkung von kurzer Dauer (5—15 Min. bei einer Umdrehungszahl von 2000—2500 pro Min.) genügte, um eine deutliche Schichtung am lebenden Keim zu erkennen. Das bei der Entnahme aus dem Nest gleichmäßig weiße, glänzend glatte Ei zeigte dann an seinem inneren Ende (zentripetaler Pol) eine besondere Dichte, war völlig weiß und gänzlich undurchscheinend. Meist war diese Zone von den übrigen Teilen des Eies scharf gesondert. Bei *Camponotus* waren neben dieser noch zwei weitere Zonen am lebenden Keim zu unterscheiden; eine mittlere, den größten Teil des Eies einnehmende Schicht, die ein körniges, fast glasig durchscheinendes, nicht sehr dichtes Gefüge aufwies, und eine kleine grauweiße, gleichfalls körnige Zone am zentrifugalen Ende, die meist weniger deutlich von der mittleren Zone gesondert war. Bei den Eiern von *Lasius* war diese dritte Zone kaum zu unterscheiden. Bei einer Tourenzahl von 1600—1800 pro Min. war natürlich eine längere Dauer der Einwirkung nötig, um die gleiche Schichtung zu erzielen. *Lasius* vertrug eine höhere Tourenzahl nicht so gut wie *Camponotus*. Diese Schichtung trat immer ein, ohne Rücksicht darauf, welcher Eipol zur Rotationsachse orientiert war.

Über den mikroskopischen Befund solcher Keime berichten die folgenden Protokolle:

Objekt C b IV 6: Zentrif. 10 Min. bei 2000 Umdrehungen pro Min., Vorderpol zentrifugal gerichtet. Alter des Eies: 2—4 Stunden. Aufzucht: 0.

Die Kernvermehrung hatte noch nicht begonnen. Der Polkörper liegt im Hinterpolbezirk, etwas exzentrisch, aber nur wenig nach innen zu verlagert. In seiner Umgebung ist das Eimaterial stark zerklüftet und vakuolig. Nur dünne Plasmastränge durchziehen diesen hintersten, in diesem Falle zentripetal gelegenen Eibezirk. Fast das ganze übrige Ei wird von einem gleichmäßig dichten Dottermaterial eingenommen, das fast gleichmäßig von Cytoplasma durchsetzt ist. Nur der vorderste Teil des Eies zeigt ein anderes Gefüge. Er ist von einer feinkörnigen, dichten, fast farblosen Substanz ausgefüllt, die von der Dotterzone nicht sehr scharf gesondert ist. Das Keimhautblastem umgibt in normaler Stärke die Eioberfläche und scheint durch die Zentrifugalkraft kaum nennenswert beeinträchtigt zu sein. Abb. 1 zeigt einen Längsschnitt durch dieses Ei.

Eine schon etwas schärfere Schichtung zeigte der folgende Keim, der allerdings nicht unmittelbar nach dem Zentrifugieren konserviert wurde.

Objekt C b IV 16: Zentrif. 15 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., Hinterpol zentrifugal gerichtet. Alter des Eies: 1—3 Stunden. Aufzucht: 24 Stunden (Temp. 18° C).

Die wenigen Furchungskerne liegen in der vorderen Hälfte (siehe Abb. 2). Da der Keim nicht genau mit der Vorn-Hintenachse senkrecht

zur Rotationsachse orientiert war, ist eine gewisse Schrägschichtung eingetreten. Am zentripetalen Ende, ventral übergreifend, liegt ein dotterfreier, sehr vakuoliger Bezirk, der nur etwas Cytoplasma enthält. Darauf folgt die Dotterzone, die auf dem Schnittbild als ein breites, etwas unscharf begrenztes Band schräg durch das Ei zieht. Am zentrifugalen Ende, das hier den hinteren Eipol einnimmt, breitet sich wiederum

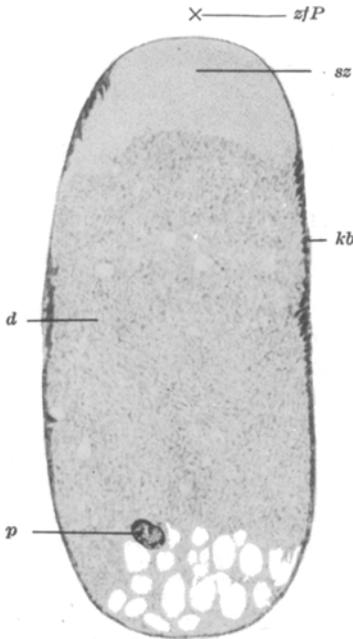


Abb. 1. Längsschnitt durch ein 10 Min. bei 2000 Umdrehungen pro Min. zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, das unmittelbar darnach fixiert worden war. Vorderpol zentrifugal gerichtet. *zfP* zentrifugaler Pol; *sz* schwere Zone; *kb* Keimhautblastem; *d* Dotter; *p* Polkörper. Der Vorderpol befindet sich in allen Abbildungen oben.

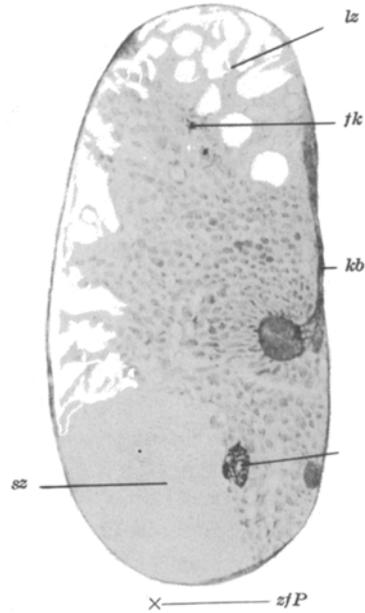


Abb. 2. Längsschnitt durch ein 15 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min. zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, das 24 Stunden später fixiert worden war. Hinterpol zentrifugal gerichtet; *fk* Furchungskerne; *lz* leichte Zone.

jene graue, dichte, feinkörnige Masse aus, die völlig frei von Plasma und Dotter ist. Die Abgrenzung dieser „schweren Zone“ ist hier entsprechend der höheren Anwendung der Zentrifugalkraft eine schärfere. Die zentrifugale Eihälfte ist fast völlig frei von Plasma. Auch das Keimhautblastem ist hiervon betroffen worden. Es ist nach vorne aufgerollt und liegt etwa in der Eimitte als ein halbkreisförmiger Wulst der Eioberfläche an. Der Polkörper ist als stark gelockertes, schon etwas in die Länge gezogenes Gebilde noch zu erkennen. Er liegt an der Grenze von Dotter und grauer Substanz, ist also auch hier aus seiner polaren Lage nach innen zu verlagert.

Diese Befunde unmittelbar nach Einwirkung der Zentrifugalkraft lassen erkennen, daß wohl eine geringe Verlagerung des Polkörpers eintritt, wobei es gleichgültig scheint, welcher Eipol nach außen orientiert ist. Ist der Hinterpol zentrifugal gerichtet, so wird der Polkörper durch die schwere graue Masse, die sich am zentrifugalen Ende ansammelt, von hier verdrängt und kommt an die innere Grenze dieser Zone zu liegen; liegt der Vorderpol am zentrifugalen Ende, so wird gleichfalls der polare Körper als Ganzes in das Innere gezogen. Eine stärkere lokale Veränderung konnte auf diese Weise, selbst bei einer relativ hohen Umdrehungszahl, die der Keim gerade noch aushielt und einer Einwirkungsdauer bis zu 30 Min., nicht erreicht werden. Eine längere Einwirkung wurde bisher bei *Camponotus* nicht versucht.

Darüber können uns nur die an *Lasius* angestellten Versuche Aufschluß geben. Die Anordnung der Eisubstanzen war hier im Prinzip die gleiche wie bei *Camponotus*. Am lebenden Ei war unmittelbar nach dem Zentrifugieren am zentripetalen Ende eine weiße, undurchscheinende Kappe zu erkennen, welche sich über etwa $\frac{1}{4}$ des Eies erstreckte und scharf vom übrigen Eimaterial gesondert war, das ein graues, glasig durchscheinendes, körniges Aussehen zeigte. Das zentrifugale Ende wies bisweilen gleichfalls eine etwas größere Dichtigkeit auf. Abb. 3 zeigt einen Frontalschnitt durch ein solches Ei.

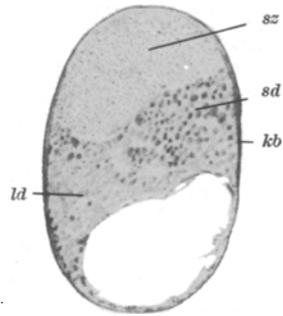


Abb. 3. Frontalschnitt durch ein 85 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min. zentrifugiertes Ei von *Lasius*, das unmittelbar darnach fixiert wurde. Vorderpol zentrifugal gerichtet. *sd* schwerer Dotter; *ld* leichter Dotter.

Objekt Las IV 202: Zentrif. 85 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min., Vorderpol zentrifugal gerichtet. Alter: 1—14 Stunden. Aufzucht: 0.

Am zentrifugalen Ende, dem Vorderpol, liegt jene graue bis farblose, dichte, feinkörnige Masse, die schwerste Substanz des Keimes (*sz*), scharf getrennt von der darauffolgenden Dotterzone; der Dotter ist so geschichtet, daß die gröberen Dotterkugeln mehr nach dem vorderen Ende zu liegen, der feinere Dotter dagegen, vermischt mit Cytoplasma, mehr zentripetalwärts. Am inneren Ende befindet sich ein großer, fast völlig hohler Raum, der von Plasma umgeben ist. Das Keimhautblastem ist in der zentripetalen Hälfte etwas verdickt, wird gegen das zentrifugale Ende zu immer dünner, bis es ganz verschwindet. Furchungskerne waren hier nicht nachweisbar.

Genau die gleiche Schichtung wurde auch in jenen Keimen erzielt, die mit dem hinteren Eipol nach außen gerichtet zentrifugiert wurden.

Diese Ergebnisse bilden eine willkommene Ergänzung zu den bisher bekanntgewordenen Verhältnissen bei Coleopteren und Dipteren.

HEGNER erzielte an den Eiern von *Leptinotarsa decemlineata* und anderer Chrysomeliden durch Zentrifugieren drei gesonderte Schichten: Am zentrifugalen Ende eine sog. graue Kappe, am zentripetalen Ende eine sog. Bläschenzone, die in der Hauptsache aus Fetten bestand, und dazwischen die Dotterzone. Bei stärkerer Anwendung der Zentrifugalkraft konnte auch das Plasma, welches leichter ist als der Dotter und etwas schwerer wie die Bläschenschicht, als eine besondere vierte Zone betrachtet werden. Diese Schichtung war um so deutlicher ausgeprägt, je später die Eier nach der Ablage zentrifugiert wurden. Insbesondere die „graue Kappe“ am äußeren Ende trat bei den jüngsten Stadien nicht in Erscheinung.

Die Formicideneier, sowohl die von *Camponotus* wie die von *Lasius* zeigen in ihrer Schichtung eine große Ähnlichkeit mit den Befunden am Chrysomelidenei. Ein Unterschied besteht eigentlich nur in der zeitlichen Bildung der beiden bemerkenswertesten Zonen, der schweren und der leichten Substanz. Während bei den daraufhin untersuchten Coleopteren die graue Substanz (grey cap, HEGNER) bei den jüngsten Entwicklungsstadien nicht auftrat, war sie in meinen Versuchen unmittelbar nach dem Zentrifugieren fast immer vorhanden, selbst bei geringer Anwendung der Zentrifugalkraft. In diesen Fällen war sie allerdings nicht sehr scharf vom Dottermaterial gesondert. Je früher der Keim zentrifugiert wurde, desto umfangreicher war diese Zone. Bei beginnender Blastodermbildung konnte diese Schichtung bereits nicht mehr hervorgerufen werden. Die leichte Zone (vesicular zone, HEGNER) dagegen trat in meinen Versuchen nur dann auf, wenn die Umordnung der Eisubstanzen auf etwas älteren Stadien erfolgte (siehe Abb. 6). Bei *Lasius* kann man von einer „Bläschenzone“ am inneren Eiende überhaupt nicht sprechen, sondern allenfalls von einer leichten Zone, wie sie PAULI am zentrifugierten *Muscae* beobachtet hat. Hier besteht ein Unterschied zwischen den beiden Formicideneiern.

Bei den Muscideneiern fehlte die graue Kappe am zentrifugalen Ende völlig. Die leichte Zone am zentripetalen Ende äußerte sich meist in einem Gerüstwerk, das eine etwas gröbere Struktur als das Cytoplasma aufwies. Die Dotterverteilung in den zentrifugierten Keimen scheint komplizierteren Verhältnissen zu unterliegen als bei *Camponotus* und *Lasius*, wo genau wie bei den Chrysomeliden im allgemeinen eine Schichtung in der Größe und damit in der Schwere der Dotterkörner eintrat.

Hinsichtlich des Cytoplasmas, insbesondere des Keimhautblastems, scheinen bei allen bisher daraufhin untersuchten Keimen keine prinzipiellen Differenzen zu bestehen. Bei kurzdauernder Anwendung der Zentrifugalkraft erfolgte kaum eine Veränderung. Bei stärkerer Anwendung kam es zu einer Verlagerung des Plasmas in zentripetaler Richtung. Das Keimhautblastem verdickte sich gegen das innere Eiende,

da es aus der zentrifugalen Hälfte, je nach dem Grade der Zentrifugalkraft, verdrängt wurde.

Der Polkörper des *Camponotuseies*, dem unser besonderes Interesse gehört, verhielt sich genau wie die Polscheibe des Chrysomelidenkeimes. Wie diese wurde er durch die Zentrifugalkraft eine nur geringe Strecke nach innen verlagert. Selbst bei zwei- und vierstündiger Einwirkungs-dauer im Chrysomelidenei wurde auch die Polscheibe kaum weiter nach innen verlagert als der Polkörper des *Camponotuseies* bei einer etwas höheren Tourenzahl und einer Dauer von 15—30 Min. Es ist dabei von besonderer Wichtigkeit, festzustellen, daß auch der Polkörper „als Ganzes“ aus seiner normalen Lage entfernt wurde.

Diese große Ähnlichkeit zwischen den Ameiseneiern und einigen Coleopteren-eiern hinsichtlich ihrer Schichtung bei Umordnung der Ei-substanzen, im Gegensatz zu den Verhältnissen in einem Dipteren-ei, verdient einen besonderen Hinweis.

2. Die Entwicklung der zentrifugierten Eier.

a) *Camponotus*.

Betrachten wir zunächst solche Fälle, die bestimmt vor Entstehung der Plasmabezirke, also vor der Determination der Keimteile, zentrifugiert wurden.

Objekt C b IV 8: Zentrif. 15 Min. bei 2000 Umdrehungen pro Min., Vorderpol zentrifugal gerichtet. Alter: 1—4 Stunden. Aufzucht: 6 Tage (18° C).

Das glänzend weiße und völlig glatte Ei zeigte nach der Versuchsbehandlung eine Schichtung, wie sie oben schon beschrieben worden war. Eine scharfe Trennung der Zonen lag nicht vor. Das Ei wurde isoliert, mit dem Vorderpol nach unten gerichtet, aufgezogen und behielt während der ganzen Dauer ein durchaus frisches und vitales Aussehen bei. Die Schichtung war auch noch nach 6 Tagen zu erkennen. Am Vorderpol machte sich eine gewisse Auflockerung des Eimaterials bemerkbar.

Befund, nach Aufhellung in Nelkenöl: Am zentrifugalen Ende (Vorderpol) ist eine sehr hell durchscheinende Zone unterscheidbar; dann folgt eine ziemlich gleichartige dunkle Schicht, und am zentripetalen Ende wieder eine hellere Zone.

Mikroskopischer Befund. Abb. 4 gibt einen Längsschnitt durch dieses Ei wieder. Am Vorderpol, der nach außen orientiert war, befindet sich die „graue Kappe“, die etwa $\frac{1}{5}$ des Eies einnimmt. Auf diese Schicht, nicht sehr scharf davon getrennt, folgt die Masse des Dotters, von einigen Furchungskernen und kleinen Plasmainseln durchsetzt. Der hintere Teil des Eies ist fast ganz dotterfrei; hier befinden sich ein sehr großer Hohlraum und viele kleine Vakuolen. In diesem Bezirk hat sich auch ein Blastoderm gebildet, das aus verhältnismäßig großen und plasmareichen Zellen besteht, also nicht ganz typisch ist. Ein Keimstreif

wurde nicht gebildet. Das Keimhautblastem hat sich stellenweise stark verdickt durch Aufrollung vom zentrifugalen Ende her, aber auch durch sekundären Plasmazustrom. In der Abb. 4, die einen Sagittalschnitt zeigt, ist diese Plasmaanhäufung an der ventralen Seite (im Bilde rechts) besonders auffallend. Zahlreiche Zellkerne, teilweise schon degenerativ, liegen darin regellos verteilt. Zu einer Blastodermbildung an dieser

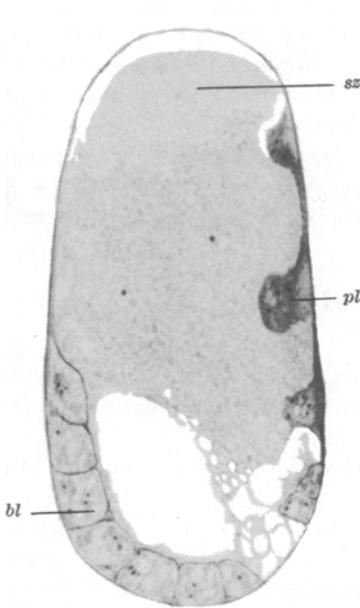


Abb. 4. Längsschnitt durch ein 15 Min. bei 2000 Umdrehungen pro Min., nur wenige Stunden nach der Ablage zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, das 6 Tage später fixiert wurde. Vorderpol zentrifugal gerichtet. *bl* Blastodermzellen; *pl* Plasmaanhäufung mit zahlreichen Zellkernen.

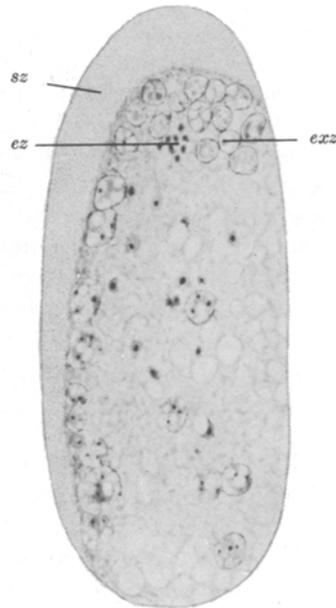


Abb. 5. Medianschnitt durch ein 17 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., auf frühestem Stadium zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, das 11 Tage später fixiert wurde. Vorderpol und Ventralseite zentrifugal gerichtet. *ez* embryonale Zellen, *exz* extraembryonale Zellen.

Stelle waren die Furchungskerne nicht fähig. In ihrer Teilung waren sie jedoch nicht gehindert.

Die einmal eingetretene Schichtung hat sich kaum zurückgebildet; nur innerhalb des Dottermaterials dürfte es teilweise zu einer Wiederherstellung des ursprünglichen Zustandes gekommen sein.

Solche Fälle kamen mehrfach vor. Bei stärkerer Anwendung der Zentrifugalkraft waren die einzelnen Zonen auch nach längerer Aufzucht noch scharf voneinander gesondert. In dem teilweise stark verdickten peripheren Plasma kam es niemals zu einer Keimstreifbildung. Nur am hinteren Ende des Eies trat häufig eine gewisse Blastodermbildung ein, wenn der Vorderpol während des Zentrifugierens nach außen gerichtet war.

Objekt C b IV 10: Zentrif. 17 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., Vorderpol zentrifugal gerichtet. Alter des Eies: 1—14 Stunden. Aufzucht: 11 Tage (19° C).

Das Ei hatte sich beim Einführen in die Zentrifuge etwas zur Seite geneigt, so daß nicht so sehr der Vorderpol, als vielmehr die ventrale Seite nach außen zu liegen kam. Die nach dem Zentrifugieren eingetretene Schichtung war auch am 11. Tage noch deutlich. Der Keim machte zu dieser Zeit einen noch recht vitalen Eindruck; Schrumpfung war nicht erfolgt. Am Hinterpol hatte eine geringe Ablösung von der Dotterhaut stattgefunden.

Mikroskopischer Befund. Die schwere Substanz, jene graue dichte Körnchenschicht, erstreckt sich entsprechend der Orientierung des Eies zur Rotationsachse nicht nur über den vorderen Pol, sondern auch über die ganze Ventralseite, nach dem hinteren Pol zu allmählich auslaufend. Eine scharfe Sonderung dieser Schicht vom übrigen Keimesinhalt liegt nicht mehr vor. In Abb. 5, welche einen Medianschnitt durch diesen Keim darstellt, ist diese Trennung ein wenig übertrieben gezeichnet. Der übrige hauptsächlich aus Dotter bestehende Inhalt läßt indessen seine ursprüngliche Schichtung trotz der erfolgten weitgehenden Restitution noch erkennen. An der Dorsalseite ist das Dottermaterial bedeutend lockerer und feiner und von zahlreichen kleinen Vakuolen durchsetzt, während es zentrifugalwärts dichter und gröber erscheint. Differenzierungen sind in diesem Ei nicht erfolgt, auch keine Blastodermbildung. Eine „Kernfurchung“ hat stattgefunden; doch verlief sie in extraembryonalem Sinne. Allenthalben im Ei, insbesondere der ventralen Seite genähert, liegen die großen schaumigen, meist schon degenerativen Zellen, dazwischen in kleinen Plasmainseln typische „embryonale Zellkerne“. In der vorderen Eihälfte liegen diese in kleinen Häufchen beisammen, ohne irgendwelche embryonale Bildung veranlaßt zu haben. Der Keim macht den Eindruck, als ob eine Determination nicht stattgefunden hätte (siehe REITH, 1931 b, Abb. 25).

Fast die gleichen Verhältnisse lagen vor, wenn der Hinterpol beim Zentrifugieren nach außen gerichtet war. In diesem Falle entstand am Hinterpol die schwere Körnchenschicht. In einigen Versuchen kam es auch hier in der hinteren Eihälfte zu einer gewissen Blastodermbildung von atypischem Charakter. Etwa in der Eimitte befanden sich an der Peripherie größere Plasmaansammlungen mit Furchungskernen; ein Keimstreif war nicht gebildet worden. Im vorderen Teil eines solchen Eies war der Dotter meist sehr zerklüftet und von großen Vakuolen durchsetzt.

Dieses Ergebnis ist in zweifacher Beziehung beachtenswert: *Alle auf sehr frühem Stadium, meist vor Sonderung der Plasmabezirke zentrifugierten Eier von Camponotus waren zu einer Keimstreifbildung nicht fähig. Hinsichtlich ihrer Schichtung ist zu bemerken, daß sich am*

zentripetalen Ende niemals eine sog. Bläschenzone bildete. Hier befanden sich gewöhnlich große Vakuolen und ein plasmaähnliches Gerüstwerk.

Wie die Verhältnisse bei den etwas später zentrifugierten Eiern lagen, werden uns die folgenden Fälle zeigen.

Objekt C b IV 9: Zentrif. 17 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., Vorderpol nach außen gerichtet. Alter: 14—36 Stunden. Aufzucht: 6 Tage (19° C).

Es war eine deutliche Schichtung eingetreten, die auch noch am Ende der Aufzuchtdauer zu erkennen war. Am Hinterpol schien eine gewisse Ablösung und Auflockerung erfolgt zu sein. Der Keim war etwas weich geworden.

Mikroskopischer Befund. Abb. 6 zeigt einen Frontalschnitt durch dieses Ei. Am Vorderpol liegt die „graue Kappe“ als eine relativ kleine Zone; daneben zahlreiche extraembryonale Zellen, wie sie in der normalen Entwicklung am Vorderpol typisch sind (siehe REITH, 1931 b, Abb. 5 u. 6). Ein Keimstreif ist gebildet und hat die der Aufzuchtdauer entsprechende Differenzierung erreicht. Die Blastodermzellen in der hinteren Hälfte des Keimes scheinen etwas atypisch zu sein. Der Dotter ist in der zentrifugalen Hälfte zusammengedrängt, in der hinteren Hälfte stark gelockert und vakuolig. Am Hinterpol des Eies, dem zentripetalen Ende, außerhalb des Blastoderms, liegt eine typische Bläschenzone, wie sie auch von HEGNER an seinen zentrifugierten Chrysomelideneiern beobachtet worden ist.

In allen Fällen, in denen Keime auf einem in der Entwicklung schon etwas fortgeschrittenem Stadium zentrifugiert wurden, bildete sich ein mehr oder weniger normaler Keimstreif. Da die Zentrifugaldauer in allen diesen Versuchen 30 Min. nicht überschritt, so kam es meist zu einer Keimstreif- und Blastodermbildung an normalem Orte. Die Bläschenzone am zentripetalen Ende war fast immer vorhanden, dagegen war die graue Körnenschicht in manchen Fällen nicht mehr nachweisbar. Wie ich schon weiter oben (S. 288) erwähnt habe, war ihre Entstehung von Anfang an bei Keimen, die auf dem Furchungsstadium zentrifugiert wurden, gehemmt. Beim Zentrifugieren auf dem frühen Blastodermstadium wurde sie nicht mehr gebildet.

Wurde nur eine geringe Zentrifugalkraft angewandt, so kam es zu einer normalen Entwicklung. Nur in wenigen Fällen war hier am inneren Ende die leichte Zone angedeutet. Die nur schwache Schichtung ging im Laufe der Aufzucht ziemlich verloren. Nur in der Anordnung des Dottermaterials war sie bei einigen Objekten noch zu erkennen. Abb. 7 zeigt einen Sagittalschnitt durch einen solchen Keim.

Objekt C b IV 2: Zentrif. 5 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., Hinterpol nach außen gerichtet. Alter: 1—20 Stunden. Aufzucht: 7 Tage (18° C).

Es war eine deutliche Schichtung eingetreten, die auch nach 7 Tagen noch etwas kenntlich war. Der Keim war mit dem zentrifugalen Pol nach unten aufgezogen worden und blieb durchaus lebensfrisch.

Mikroskopischer Befund. Fast normale Blastodermbildung. (Abb. 7). Beim Vergleich mit Abb. 6 werden die gerade umgekehrten Verhältnisse in der Dotteranordnung deutlich. Die zentripetale Eihälfte dürfte

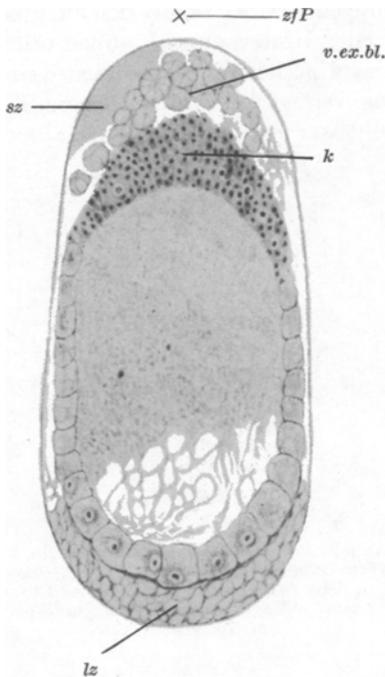


Abb. 6. Frontalschnitt durch ein 17 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min., 14–36 Stunden nach der Ablage zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, 6 Tage später fixiert. Vorderpol zentrifugal gerichtet. *v.ex.bl.* vordere extraembryonale Blastodermzellen; *k* Keimstreif; *lz* leichte Zone. (Bläschenzone!)

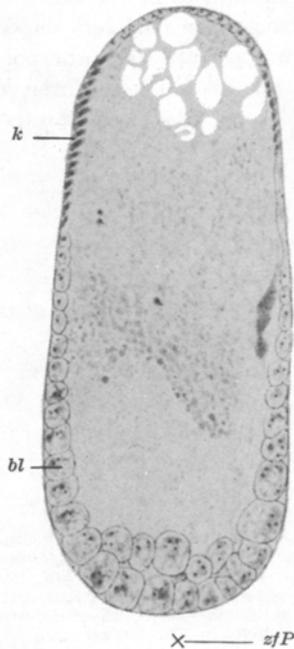


Abb. 7. Längsschnitt durch ein 5 Min. bei 2500 Umdrehungen pro Min. zentrifugiertes Ei von *Camponotus*, 7 Tage später fixiert. Hinterpol zentrifugal gerichtet.

in ihrer Entwicklung etwas gehemmt sein. Eine „leichte Zone“ am Vorderpol war hier nur schwach angedeutet.

b) *Lasius*.

Die Versuche am Ei von *Lasius niger* brachten im Prinzip die gleichen Ergebnisse. Die Schichtungsverhältnisse waren hier von jenen bei *Camponotus* insofern etwas verschieden, als hier beim Zentrifugieren auf dem Furchungsstadium selbst bei recht hoher Zentrifugalkraft niemals eine „graue Kappe“ gebildet wurde. Auch eine typische Bläschenzone war hier nicht zu beobachten; am zentripetalen Ende entstand meist ein plasmaartiges Gerüstwerk, ähnlich wie es PAULI bei *Musca* beschrieben

hat. Wurde das Ei möglichst bald nach der Ablage zentrifugiert und einige Tage aufgezogen, so kam es in keinem meiner Versuche zu einer typischen Blastoderm- und Keimstreifbildung. Geschah dies jedoch auf etwas späterem Stadium, so wurde auch ein Blastoderm, und soweit es auf dem Blastodermstadium zu überblicken ist, auch ein Keimstreif gebildet. Dieser war nicht immer normal angelegt; bei längerem Zentrifugieren kam es zu kleinen Verschiebungen. Dabei zeigte sich auch ein Unterschied, je nachdem der Vorder- oder Hinterpol nach außen orientiert war. War der Vorderpol zentrifugal gerichtet, so war der Keimstreif bisweilen nach hinten zu etwas verlagert, da der vordere Teil des Eies von Dottermassen dicht gefüllt war und das Cytoplasma doch

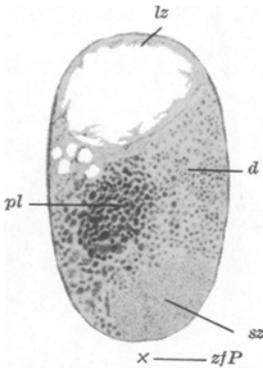


Abb. 8. Frontalschnitt durch ein 80 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min., auf frühestem Stadium zentrifugiertes Ei von *Lasius*, 2 Tage später fixiert; Hinterpol zentrifugal gerichtet. *pl* Plasmaanhäufung mit zahlreichen Furchungskernen.

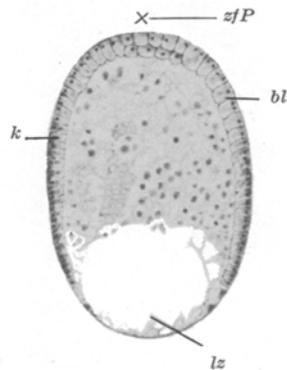


Abb. 9. Frontalschnitt durch ein 80 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min., 12–24 Stunden nach der Ablage zentrifugiertes Ei von *Lasius*, 2 Tage später fixiert. Vorderpol zentrifugal gerichtet.

erheblich nach hinten gedrängt worden war (Abb. 9). Die Zellen des Vorderpols waren dann merklich plasmaärmer. War dagegen das Hinterende bei der Umordnung nach außen gerichtet, so war das Blastoderm der hinteren Eihälfte sehr mäßig entwickelt. In der vorderen Hälfte war die Keimanlage in einigen Fällen recht weit differenziert. Wenn die angewandte Zentrifugalkraft eine relativ geringe war, also 30 Min. im allgemeinen nicht überschritt, so wurde der Keimstreif auch an normaler Stelle angelegt, da schon bald eine gewisse Rückschichtung der Eisubstanzen eintrat.

Zwei Beispiele sollen die Verhältnisse hier etwas beleuchten.

Objekt Las IV 207: Zentrif. 80 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min., Hinterpol nach außen gerichtet. Alter: 1–4 Stunden. Aufzucht: 2 Tage (20° C).

Am zentripetalen Pol war die dichte weiße Haube scharf vom übrigen Eimaterial, das ein glasig durchscheinendes Aussehen zeigte, gesondert.

Mikroskopischer Befund. Die Abb. 8 zeigt einen Frontalschnitt durch diesen Keim. Am zentrifugalen Ende, etwas schräg geschichtet, liegt die graue Kappe; darauf folgen die Dotterschichten in der Anordnung ihrer Schwere, die größeren Dotterkugeln nach außen, die feineren nach innen. In der Mitte des Eies hat sich das Plasma klumpenartig gesammelt. Zahlreiche Zellkerne liegen hier ungeordnet beisammen. Am zentripetalen Pol des Eies befindet sich ein großer Hohlraum, der von einer sehr dünnen plasmaähnlichen Schicht umsäumt ist. Zu einer Blastodermbildung ist es nicht gekommen, obwohl die Kernvermehrung nicht verhindert war.

Objekt Las IV 206: Zentrif. 80 Min. bei 1800 Umdrehungen pro Min., Vorderpol zentrifugalwärts gerichtet. Alter: 12—24 Stunden. Aufzucht: 2 Tage (20° C).

Scharfe Schichtung wie oben.

Mikroskopischer Befund. In Abb. 9 ist ein Frontalschnitt gezeichnet. Mit Ausnahme des inneren Eidrittels ist es zu einer Blastodermbildung gekommen, das sich gegen den Dotter bereits abgesondert hat. In der zentrifugalen Hälfte sind die Zellen relativ groß und plasmaärmer. Der Keimstreif ist entschieden etwas nach hinten zu verlagert. Am zentripetalen Ende liegt wiederum ein großer Hohlraum; eine Bläschenzone ist nicht vorhanden.

Die Ergebnisse.

Das Formicidenei verhält sich in der durch die Zentrifugalkraft hervorgerufenen Schichtung seiner Substanzen dem von HEGNER untersuchten Chrysolidenei bei weitem ähnlicher als dem Muscidenei (PAULI, 1927). Am zentrifugalen Ende sammelt sich die schwerste Substanz des Eies, eine feinkörnige, dichte, graue bis farblose Masse („graue Kappe“, HEGNER). Während jedoch in meinen Versuchen diese Zone besonders ausgeprägt war, wenn die Zentrifugalkraft möglichst bald nach der Eiablage angewandt wurde, entstand sie in den HEGNERschen Versuchen um so ausgeprägter, auf je vorgeschrittenerem Stadium die Umordnung erfolgte. Mit der sog. Bläschenzone, die am zentripetalen Ende sich bildete, war es gerade umgekehrt. Beim Chrysolidenei entstand diese auch schon auf frühesten Stadien, beim Formicidenei dagegen nur dann, wenn die Umordnung erst eine gewisse Zeit nach der Ablage erfolgt war. Zwischen *Camponotus* und *Lasius* selbst bestehen nur einige graduelle Unterschiede.

Der Polkörper von *Camponotus* wurde durch die Zentrifugalkraft genau wie die Polscheibe von *Leptinotarsa* eine kleine Strecke weit in das Innere verlagert, wobei es gleichgültig war, ob der Vorder- oder der Hinterpol nach außen gerichtet war. Es ist besonders erwähnenswert, daß sich auch der Polkörper dabei als Ganzes nach dem Innern bewegte.

Es wurden etwa 100 Eier isoliert oder mit Hilfe des entsprechenden Weibchens zur Aufzucht gebracht. Etwa 40% ging schon nach

spätestens 24 Stunden zugrunde. Die Sterblichkeit unmittelbar nach dem Zentrifugieren war insbesondere bei *Lasius* sehr hoch. Für das Entwicklungsergebnis war es von besonderer Wichtigkeit, auf welchem Stadium der Keim zentrifugiert wurde. Die nachfolgende Tabelle gibt eine Übersicht.

Das Ergebnis hing also sehr davon ab, ob das Ei unmittelbar bzw. nur wenige Stunden nach der Ablage zentrifugiert wurde oder erst eine gewisse Zeit später. Im ersteren Falle kam es niemals zu einer

Tabelle.

Alter des Eies beim Zentrifugieren	Keimstreifbildung	Kein Keimstreif
Unmittelbar nach der Ablage . . .	0	12
1—20 Stunden . .	26	3
12—48 Stunden . .	18	0

Keimstreifbildung, im letzteren immer. Bei einer relativ großen Anzahl war es allerdings nicht ganz bestimmt, auf welchem Stadium die Umordnung erfolgt war, aber man wird vielleicht nicht fehlgehen, wenn

man die in dieser mittleren Rubrik sich ergebenden Daten den in ihren Längsspalten vorkommenden Zahlen zurechnet.

Wie meine früheren Versuche an *Camponotus* ergeben haben, ist die Determination der einzelnen Eibereiche zu ihrem Entwicklungsschicksal bei der Eiablage bis wenige Stunden nachher noch nicht erfolgt. Erst wenn das Keimhautblastem besondere Zonen erkennen läßt, hervorgerufen durch lokale Verstärkung, und die Kernvermehrung begonnen hat, sind auch die einzelnen Teile des Eies determiniert. Diese Determination ist nach 12—18 Stunden, bei optimalen Bedingungen auch noch früher, vollzogen. Wenn auch die entsprechenden Verhältnisse bei *Lasius* im einzelnen nicht untersucht sind, so dürften prinzipielle Unterschiede jedoch kaum bestehen.

Daraus ist also zu schließen, daß Eier, die vor ihrer Determinierung bzw. vor vollzogener Determination einer immerhin erheblichen Zentrifugalkraft ausgesetzt werden, zu einer Keimstreifbildung nicht fähig sind; es kommt bestenfalls zu einer meist atypischen Blastodermbildung am hinteren Ende. Werden die Keime jedoch nach vollzogener Determination zentrifugiert, so entsteht offenbar immer ein Keimstreif, und auch eine gewisse Differenzierung kann erfolgen. Die Anordnung und die normale Differenzierung dieses Keimstreifs hängen ab von der Stärke und der Dauer der angewandten Zentrifugalkraft.

Auf Grund dieser Ergebnisse, die sich bisher allerdings auf keine sehr große Versuchszahl stützen, scheint das am Hinterpol des *Camponotuseies* nachgewiesene Determinationszentrum (REITH, 1931) bei frühzeitiger Umordnung der Eisubstanzen so gestört zu werden, daß das Determinationsgeschehen unterbleibt. Ferner ergeben die Versuche, daß der Polkörper, der beim Zentrifugieren als Ganzes verlagert wird, nicht als alleiniger Sitz der determinierenden Faktoren angesehen werden kann.

Diskussion der Ergebnisse.

Dieses Entwicklungsergebnis läßt sich den übrigen bei Insekten erzielten Befunden leicht einordnen. Bei den Zentrifugierversuchen HEGNERS am Coleoptereinei entstanden normale Embryonen um so leichter, je später die Keime zentrifugiert wurden. In den Versuchsreihen mit *Calligrapha bigsbyana* kommt dies besonders zum Ausdruck: Eier, die sofort nach der Ablage mehr als 30 Min. bis zu 4 Stunden einer Tourenzahl von 1600 Umdrehungen pro Min. ausgesetzt wurden, entwickelten niemals einen Embryo. Dieser Intensität entspricht in meinen Versuchen eine Dauer von 10—30 Min. und eine Umdrehungszahl von 2500 pro Min., die bereits eine erhebliche Umordnung des Keimesinhalts zur Folge hatte. Je älter jedoch das Coleoptereinei beim Zentrifugieren war, um so besser war seine Aussicht, sich mehr oder minder normal zu entwickeln. Da HEGNER ferner bei seinen Defektversuchen mit der heißen Nadel (1910) in einigen Fällen gewisse Regulationen erzielt hatte, so dürfte auch hier ein Zusammenhang zwischen dem operativen Eingriff bzw. der Anwendung von Zentrifugalkraft und dem jeweiligen Determinationszustand bestehen. Denn aller Voraussicht nach wird es möglich sein, auch im Coleoptereinei ein sog. Determinationszentrum feststellen zu können.

Der Befund HEGNERS, daß die im Mutterleib zentrifugierten Coleoptereinei sich mit wenigen Ausnahmen zu normalen Embryonen entwickelten, spricht nicht gegen diese Annahme. Denn bis zur Ablage dieser Eier war meist auch eine normale Verteilung der Eisubstanzen wieder eingetreten. Außerdem hatte das Zentrifugieren des Käferweibchens eine erhebliche Umordnung der Ovarialeier nicht hervorgerufen.

PAULI erzielte bei *Musca* und *Calliphora* nach dem Zentrifugieren fast immer eine Differenzierung des Keimstreifs. Je nach der Dauer und Intensität der angewandten Zentrifugalkraft waren die embryonalen Bildungen etwas abnorm, meist durch Zusammenschieben des Keimhautblastems deformiert. Da das Muscae bei der Ablage in bezug auf das Schicksal seiner einzelnen Keimteile determiniert ist, wie frühere Versuche (REITH, 1925) ergeben hatten, war dieses Ergebnis zu erwarten. Die schon determinierten Eier waren selbst bei starker Umordnung immer noch zu einer Keimstreifdifferenzierung fähig.

Alle bisher am Insektenkeim ausgeführten Zentrifugierversuche scheinen demnach darauf hinzudeuten, daß der Determinationszustand des Eies zur Zeit der Umordnung für das Entwicklungsergebnis von Bedeutung ist. Sind die einzelnen Teile des Keimhautblastems determiniert, so können die Eisubstanzen ungeordnet und geschichtet werden, es wird in den meisten Fällen zu einer Keimstreifbildung und je nach der Dauer und Intensität der angewandten Zentrifugalkraft zu einem mehr oder weniger verzerrten und mißgestalteten Embryo kommen. Wird das Ei jedoch zentrifugiert, bevor die periphere Plasmaschicht determiniert

ist, so wird in den meisten Fällen keine Keimstreifbildung erfolgen, außer in jenen Fällen, wo eine nur geringe Anwendung der Zentrifugalkraft eine alsbaldige Rückschichtung der Plasmasubstanzen zur Folge hat.

Das am Hinterpol des Ameiseneies befindliche Determinationszentrum muß durch die Umordnung des Keimesinhalts auf so frühem Stadium irgendwie gestört werden, so daß es seine Fähigkeiten nicht weitergeben kann. Dieser Befund läßt gewisse Schlüsse über die Natur dieses Zentrums und über das Determinationsgeschehen selbst zu.

Ziel der Untersuchung war die Prüfung des Polkörpers auf organisatorische Fähigkeiten. Durch das Zentrifugieren sollte eine Verlagerung dieses Körpers herbeigeführt und seine Wirkung am neuen Platze auf den Gesamtkeim studiert werden. Wie aus den Versuchen hervorgeht, wurde er durch die Zentrifugalkraft eine kleine Strecke weit in das Einnere verlagert, und zwar mit seiner gesamten Masse. Da es in keinem der hierhergehörigen Fälle zu einer Keimstreifbildung gekommen ist, können dem Polkörper keine Fähigkeiten zukommen, wie sie etwa dem Urmundorganisor eigen sind. Er allein kann daher wohl nicht als Sitz der determinierenden Faktoren angesehen werden. Das schließt jedoch nicht aus, daß dieser polare Plasmakörper für das normale Determinationsgeschehen notwendig ist.

Mag das „Zentrum“ in einer „Intimstruktur“ des Hinterpolbezirks begründet sein, oder einen energetischen Charakter tragen, der durch keine Zentrifugalkraft gestört werden kann, so sind es doch irgendwelche materielle Teile, die zur Aktivierung der Potenzen des Hinterpolbezirks notwendig sind. Da die angewandte Zentrifugalkraft im *Camponotusei* erhebliche Materialverlagerungen zur Folge hatte, wäre es denkbar, daß dies bestimmte Plasmastoffe des Hinterpolbezirks sind. *Dazu könnte in erster Linie auch das Polplasma gehören.* Durch das Fehlen dieser spezifischen Plasmastoffe ist die Reaktionskette (SEIDEL, 1931) unterbrochen bzw. kann überhaupt nicht ausgelöst werden. Man geht vielleicht nicht fehl, schon im Hinterpolbezirk, dem Ort des „Zentrums“, ein Determinationsgefälle anzunehmen. Durch das Zentrifugieren wird dieses Gefälle gestört, die Reaktionen unterbleiben und die determinierenden Potenzen dieses Bezirkes können nicht aktiviert werden. Die von hinten nach vorne verlaufende und zur Determinierung der Keimesteile führende Reaktionskette kann nicht ausgelöst werden. Nur wenn die Zentrifugalkraft gering war, und infolgedessen sehr bald eine Rückschichtung eintritt, kann es in gewissen Fällen zu einer normalen Determinierung des Keimes und damit zu einer Keimstreifdifferenzierung kommen.

Die Bedeutung des Polkörpers von *Camponotus* für das Determinationsgeschehen ist daher durch die vorliegenden Versuche noch nicht geklärt. Wenn ihm auch organisatorische Fähigkeiten wohl nicht zukommen, so gehört er vielleicht zu jenen spezifischen Plasmasubstanzen, die für die Auslösung des Determinationsgeschehens unerlässlich sind.

Andererseits besteht jedoch die Tatsache, daß auch andere nicht besonders hervortretende Plasmastoffe des Hinterpols den gleichen Zweck erfüllen, wie es wohl bei *Lasius* und auch bei der Libelle der Fall sein dürfte.

Diese vorläufigen Befunde müssen durch weitere Versuche in der gleichen Richtung, sowohl bei *Camponotus*, wie auch bei anderen Insektenvertretern, die durch ein Polplasma ausgezeichnet sind, ergänzt werden.

Literaturverzeichnis.

Buchner, P.: Vergleichende Eistudien. I. Die akzessorischen Kerne des Hymenoptereies. Arch. mikrosk. Anat. **91** (1918). — **Dürken, B.:** Lehrbuch der Experimentalzoologie. Berlin: Gebrüder Bornträger 1928. — **Hegner, R. W.:** Effects of Removing the Germ Cell Determinants from the Eggs of some Chrysomelid Beetles. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole **16** (1908). — The Effects of Centrifugal Force upon the Eggs of some Chrysomelid Beetles. J. of exper. Zool. **6** (1909). — Experiments with Chrysomelid Beetles. III. The Effects of Killing Parts of the Eggs of *Leptinotarsa Decemlineata*. Biol. Bull. Mar biol. Labor. Wood's Hole **20** (1911). — Studies on Germ Cells III. The Origin of the Keimbahn-Determinants in a Parasitic Hymenopteron, *Copidosoma*. Anat. Anz. **46** (1914). — **Pauli, M. E.:** Die Entwicklung geschnürter und zentrifugierter Eier von *Calliphora vomitoria* und *Musca dom.* Z. wiss. Zool. **129** (1927). — **Penners, A.:** Vergleichende Entwicklungsmechanik. Verh. dtsh. zool. Ges. Utrecht **1931**. — **Reith, F.:** Die Entwicklung des Muscaeies nach Ausschaltung verschiedener Eibereiche. Z. wiss. Zool. **126** (1925). — Zur experimentellen Analyse der Primitiventwicklung bei Insekten. Naturwiss. **19**, 398 (1931 a). — Versuche über die Determination der Keimesanlage bei *Camponotus ligniperda*. Z. wiss. Zool. **139** (1931 b). — Entwicklungsmechanische Untersuchungen am Insektenkeim. Schles. Ges. vaterl. Kultur **104** (1931 c). — **Schleip, W.:** Die Determination der Primitiventwicklung. Leipzig 1929. — **Seidel, F.:** Die Reaktionsfolge im Determinationsgeschehen des Libellenkeimes. Verh. dtsh. zool. Ges. Utrecht **1931**.
