

(Aus dem Zootomischen Institut, Stockholm.)

## ZUR EXPERIMENTELLEN ANALYSE DER DETERMINATION DER DORSOVENTRALACHSE BEIM SEEIGELKEIM.

### I. VERSUCHE MIT GESTRECKTEN EIERN.

Von

PER ERIC LINDAHL.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Juni 1932.)

#### Einleitung.

Als BOVERI (1901b) den von SELENKA entdeckten Pigmentring des Eies von *Paracentrotus lividus* wiedergefunden hatte, wurde der damaligen experimentellen Forschung ein sehr geeignetes Objekt zur Verfügung gestellt. Der Pigmentring ermöglicht nämlich die Orientierung der Eiachse sowie die Bestimmung der Herkunft von Eifragmenten. BOVERI nahm unter anderem Streckungsversuche mit den *Paracentrotus*-Eiern vor und erreichte dabei sehr wichtige Ergebnisse. Die Eier wurden in einer zur Achse schiefen Richtung gestreckt. Bei 3 Keimen hat sich diese Formstörung bis zur Anlage des Skelets aufs deutlichste erhalten. In diesen 3 Fällen fällt die bilaterale Symmetrie, wie sie sich in der Darmneigung und in der Stellung der Skeletanlagen äußert, mit der dem Ei aufgezwungenen bilateralen Symmetrie zusammen. BOVERI schließt daraus, daß man durch Deformierung des Eies die Medianebene künstlich bestimmen kann.

Ähnliche Versuche sind von RUNNSTRÖM (1929) wiederholt worden. Herr Professor RUNNSTRÖM hat mir mündlich mitgeteilt, daß die Streckung in diesen Versuchen unter dem Einfluß von verdünntem Meerwasser entstanden ist, sowie daß die larvale Symmetrie nicht immer mit der aufgezwungenen zusammenfällt.

Es ist der Zweck dieser Untersuchung, die Versuche BOVERIs in größerem Maßstabe zu wiederholen und sie weiter zu analysieren. Die Anregung zu dieser Untersuchung verdanke ich Herrn Professor RUNNSTRÖM, dem ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank ausspreche. Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor der zoologischen Station zu Neapel, Herrn Professor Dr. R. DOHRN, sowie seinen Herren Mitarbeitern für wohlwollende Unterstützung meiner Arbeit zu danken.

### Methodisches.

Ich habe dasselbe Material wie **BOVERI** gebraucht. Dadurch wurde es ermöglicht, den Winkel zwischen der Eiachse und der Streckungsachse einigermaßen zu bestimmen. Da die Untersuchung in Neapel ausgeführt wurde, wo der Pigmentring verhältnismäßig selten gut ausgebildet ist (vgl. **RUNNSTRÖM**, 1928c), war es notwendig Eier mit einem scharf abgesetzten Pigmentring auszuwählen. Es ist von größtem Gewicht für die Deutung der Ergebnisse, in welcher Weise die Eier gestreckt werden. **BOVERI** (1901b, 1907) hat wurstförmig gestreckte Eier durch Schütteln bekommen. Ich habe die Streckung in der Weise ausgeführt, daß die Eier durch eine feine Glaskapillare getrieben wurden. Die Kapillare, die schwach konisch sein muß, ist die Fortsetzung eines weiteren Glasrohrs (Abb. 1). Das grobe Ende wird in einen Mikromanipulator eingeklemmt, und die Knickungen ermöglichen das Eintauchen der Kapillare in ein offenes Gefäß mit Spiegelglasboden, das auf dem Objektisch des Mikroskops steht. Unmittelbar vor der Kapillare ist das Rohr aufgetrieben, wodurch eine Kammer entsteht, in der die Eier vor der Streckung weilen. Die Weite der äußeren Mündung muß so gewählt werden, daß sie dem gewünschten kleinsten Durchmesser des gestreckten Eies gleich ist oder ein wenig untersteigt. In der Mündung muß die Kapillare senkrecht und mit ebenen Kanten abgeschnitten sein, sonst werden

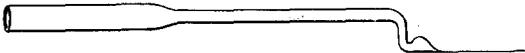


Abb. 1. Streckungskapillare mit Kammer und Ansatzrohr.

die Eier beschädigt. Man erreicht dies, indem die Kapillare nahe an der Abrißstelle beiderseits dieser angefaßt und in der Länge kräftig gezogen wird. Die Kapillare darf nicht zu lang sein, da sie sonst nicht genügend steif ist.

Durch die Rohrmündung wird eine ziemlich dicke Eisuspension eingefüllt bis die Ausbauchung mit Eiern gefüllt ist. Das Rohr wird in den Mikromanipulator eingespannt, ein Schlauch wird aufgesetzt und die Kapillare in die mit Meerwasser gefüllte Schale untertaucht. Durch Einpressen von Luft mit dem Munde durch den Schlauch werden die Eier durch die Kapillare mit gewünschter Geschwindigkeit getrieben. Diese Anordnung ermöglicht es, die Eier vom Eintritt in die Kapillare bis zum Austritt aus deren Mündung zu verfolgen.

Sobald die Eier die Kapillare verlassen haben, kugeln sie sich wieder ab und werden fast rund. Werden sie *unmittelbar* befruchtet, behalten sie ihre Form unverändert. **BOVERI** (1907) erklärt sich diese Erscheinung folgenderweise: „Die Eier wurden vor der Befruchtung durch Schütteln gestreckt und dann befruchtet. Indem die Dotterhaut die Form des Eies annimmt und dauernd beibehält, verhindert sie später ihrerseits das Ei zur Kugelgestalt zurückzukehren.“ Die Deutung muß aber eine andere sein. Die erwähnte Erscheinung ist die Folge des Viskositätsanstiegs bei der Befruchtung [**HEILBRUNN** (1915, 1920), **HYMAN** (1923), **RUNNSTRÖM** (1928b)] und zeigt, daß dieser Anstieg wenigstens in der Rinde augenblicklich einsetzen muß. Es wurde auch versucht, die Eier schon in der Kapillarmündung zu befruchten. Dies hatte aber keinen Erfolg. Bei der Befruchtung scheint die Eioberfläche klebrig zu werden. Sie haftet deswegen an der Kapillarwand fest, und das Ei wird beim Ausstoßen zerrissen.

Um die Streckungsachse zu markieren, wurde das eine Ende des gestreckten Eies mit Nilblausulfat gefärbt. Dies wurde mit Hilfe der bekannten, von **VOGT** (1923a) ausgearbeiteten Agar-Vitalfärbemethode ausgeführt. v. **UBISCH** (1925a) hat die Methode zuerst an Seeigelkeimen gebraucht; es sei auf seine Darstellung hingewiesen. Für kleinste Marken habe ich die Methode in der Weise modifiziert, daß der Farbstoffüberträger in einer feinen Kapillare eingeschlossen wird. Kapillaren von geeigneter Weite werden über der Mikroflamme spitz ausgezogen und in passende Stückchen zerlegt. Das stumpfe Ende wird zugeschmolzen und die Kapillaren werden

in einer Lösung von 1%igem Agar in Meerwasser eine Weile gekocht. Dann wird langsam abgekühlt. Die in der Kapillare eingeschlossene Luft zieht sich dabei zusammen, und die Agarlösung wird in die Mündung hineingezogen. Die Kapillaren werden außen gut gereinigt und einige Tage in eine 1%ige-Lösung von Nilblausulfat in Meerwasser gebracht. Vor dem Gebrauch werden sie mehrmals mit Meerwasser abgespült und an Glasstäben festgeschmolzen, die in dem Mikromanipulator eingespannt werden. Es ist darauf acht zu geben, daß die mit Agar gefüllten Kapillaren möglichst wenig mit der Luft in Berührung kommen. Wenn Wasser von dem Agar verdunstet, zieht sich dieser von der Mündung zurück. Beim Eintauchen setzt sich eine Luftblase in diese, und es kann kein Farbstoff hinüberdiffundieren.

Da der Pigmentring bei der Streckung ziemlich stark verdünnt wird, war es notwendig, in sehr hellem Lichte zu arbeiten. Als Lichtquelle wurde teils hellstes Tageslicht, teils eine Punktlichtlampe verwendet.

Es wurden nur Eier ausgelesen, die bei der Streckung unbeschädigt geblieben waren. Eier verschiedener Weibchen verhalten sich in dieser Beziehung sehr verschieden. Bei demselben Streckungsgrade findet man in einem Material nur 10%, in einem anderen 70—80% unbeschädigte Eier. Auch in der Entwicklung macht sich diese verschiedene Empfindlichkeit mechanischen Beschädigungen gegenüber bemerkbar, denn zuweilen entwickeln sich sehr stark gestreckte Eier von einem Material zu 100% zu Plutei, während von den viel weniger gestreckten Eiern eines anderen Materials nur 60—70% sich weiterentwickeln. Die übrigen sterben schon in frühen Furchungsstadien oder entwickeln sich höchstens zu einem pathologischen Blastulastadium. Diese Verschiedenheiten sind wahrscheinlich auf verschiedene Reifezustände der Eier zurückzuführen. Unten werden nur diejenigen Larven berücksichtigt, bei denen die Dorsoventralachse und die Eiachse leicht erkennbar sind. Die Larven wurden einzeln in BOVERI-Schalen gezüchtet. Die abgebildeten Eier und Larven, mit Ausnahme der Abb. 17, sind von *Paracentrotus lividus*. Abb. 17 bezieht sich auf eine Larve von *Psammechinus microtuberculatus*.

### Versuche und Ergebnisse.

Es wurden drei Versuchsreihen angestellt, die unter I.—III. getrennt behandelt werden.

I. Der erste Versuch verfolgte das Ziel, die Ergebnisse BOVERIs in größerem Maßstabe zu kontrollieren. Die Eier wurden aus der Kapillare in mit Sperma versetztes Meerwasser ausgestoßen. Da die gestreckten Eier leicht polysperm befruchtet werden, wartete ich die Bildung der ersten Spindel ab. Jetzt wurden monosperm befruchtete Eier ausgewählt, bei denen der Winkel zwischen Eiachse und Streckungsachse nicht  $45^{\circ}$  unterstieg. In 2 Fällen war der Winkel kleiner als  $45^{\circ}$  (vgl. weiter unten). Das eine Ende der Eier wurde gefärbt. Die Färbung wurde bei 2 Eiern vor der ersten, bei den übrigen nach der ersten oder zweiten Furchung ausgeführt. Die Grenze zwischen dem gefärbten und dem ungefärbten Gebiet muß senkrecht zur Streckungsachse stehen. Bei den schon abgefurchten Eiern wird dies sehr bequem erreicht, indem man die äußerste Zelle des zu färbenden Endes bis zur Zellgrenze färbt. Die zwei ersten Furchen — unter Umständen auch die dritte — stehen nämlich senkrecht zur Streckungsachse (BOVERI).

Fallen Medianebene und Streckungsachse zusammen, muß das gefärbte Gebiet *symmetrisch*, ventral oder dorsal in dem Ektoderm, in dem Entoderm oder in beiden liegen.

Von den 22 Larven der ersten Versuchsreihe hatten 3 ihre gestreckte Form behalten und in jedem Ende war eine Ventralseite ausgebildet (vgl. S. 315). Sie werden als biventrals Larven bezeichnet. Die eine Ventralseite ist bei diesen symmetrisch gefärbt. Bei denjenigen zwei, die einen kleineren Winkel zwischen Eiachse und Streckungsachse als  $45^\circ$  hatten, ist der animale Pol gefärbt. Die Marke ist in diesen Fällen zu grob gewesen um zu gestatten, die Streckungsachse und die Eiachse auseinander zu halten. Diese Larven können also nicht zur Lösung unseres Problems beitragen und werden deswegen außer acht gelassen. Von den übrigen sind 10 ventral symmetrisch, 6 dorsal symmetrisch und 1 ventrolateral gefärbt. Bei der letztgenannten ist die gefärbte Seite verkümmert, wodurch die ganze Larve schief wird. Zu diesen Larven fügt sich noch ein biventrales Exemplar, das aus einer Massenkultur isoliert wurde und seine gestreckte Form behalten hatte. Fassen wir diese Angaben zusammen, ergibt es sich, daß von 21 Larven bei 20 die Medianebene mit der Streckungsachse zusammenfällt. *Die Angaben BOYERIS sind damit bestätigt worden.*

II. Das eine Ende des gestreckten Eies wird zur ventralen, das andere zur dorsalen Seite der Larve. Es muß also zwischen den beiden Enden einen Unterschied geben. Bei der Passage durch die Kapillare kann das eine Ende des gestreckten Eies als „Vorderende“, das andere als „Hinterende“ bezeichnet werden. Um festzustellen, ob „Vorderende“ und „Hinterende“ zur Determination in Beziehung stehen, wurde in der zweiten Versuchsreihe jenes schon, wenn das Ei in der Kapillarmündung lag, gefärbt. Die Färbung wurde in den Fällen, wo eine kleine Marke notwendig war, d. h. bei Eiern mit kleineren Winkeln zwischen Eiachse und Streckungsachse als  $45^\circ$ , sowie in einigen anderen Fällen, mittels der oben beschriebenen Farbenkapillare ausgeführt. Sonst wurde die Mündung der Streckungskapillare an ein gefärbtes Stückchen Agar gedrückt. Es wurden Eier ausgewählt, bei denen der Winkel zwischen Eiachse und Streckungsachse nicht kleiner als  $30^\circ$  war. Ein Ausnahmefall mit dem Winkel etwa gleich  $15^\circ$  wurde auch weitergezüchtet. Alle Eier, mit Ausnahme von vier, wurden unmittelbar nach dem Ausstoßen aus der Mündung befruchtet. Diese vier wurden erst befruchtet als sie sich abgekugelt hatten. Die Befruchtung wurde in der Weise ausgeführt, daß einige Spermien mit einer feinen Mundpipette der Eioberfläche zugeführt wurden. Dabei wurde der ungefärbte Teil der Oberfläche bevorzugt, da das Eindringen der Spermien hier im allgemeinen schneller vor sich geht als in dem gefärbten Bereich.

Die Frage ist hier, welches Ende zur Ventral- oder Dorsalseite wird. Es genügt festzustellen, ob das gefärbte Gebiet ventral oder dorsal zu liegen kommt. Bei 33 Larven waren zwei am animalen Pol gefärbt, bei einer ist das Ektoderm lateral und das Entoderm ventral gefärbt (verschiedene Symmetrieebenen in Ekto- und Entoderm, die aufeinander

senkrecht stehen). In diesen 3 Fällen liegt der gefärbte Teil weder ventral noch dorsal. Von den übrigen 30 sind 25 ventral (4 ventrolateral) und 5 dorsal gefärbt. Schon diese Zahlen genügen, um zu zeigen, daß das vordere Ende zur Ventralseite wird, und dabei spielt es keine Rolle, ob dieses Ende aus ektodermalem oder entodermalem Material besteht. Die oben besprochenen 4 Eier, die sich vor der Befruchtung abgekugelt hatten, sind die einzigen gelungenen Fälle einer großen Reihe, deren Zweck war, zu untersuchen, ob die gestreckte Form an sich eine Rolle bei der Determination spielt. Die kleine Ausbeute hängt mit den Umständen zusammen, daß der Farbstoff vor der Befruchtung von den Granula nicht gespeichert wird [RUNNSTRÖM (1911)], sondern diffus im Plasma aufgenommen wird, sowie daß er sich bei unbefruchteten Eiern verhältnismäßig schnell auswaschen läßt [LOEB (1906), RUNNSTRÖM (1928b)]. Ehe die Eier sich wieder abkugelten, waren sie entweder total gefärbt oder war die Farbe fast verschwunden. Von den 4 gelungenen Fällen war einer bei der Befruchtung vollkommen sphärisch und die übrigen sehr wenig ellipsoid. Nach der Befruchtung waren sie alle vollkommen sphärisch. Alle 4 waren ventral gefärbt (1 ventrolateral). Es scheint also, als ob die gestreckte Form an sich nicht determinierend wirkt (vgl. auch die Ergebnisse RUNNSTRÖMS S. 300).

Die dorsal gefärbten Larven zeichneten sich durch stärkere Färbung aus als die übrigen.

III. Es ist allgemein bekannt, daß die Vitalfarbstoffe nicht ungiftig sind. RUNNSTRÖM (1928c) hat diese Eigenschaften des Nilblausulfats bei entwicklungsmechanischen Studien in der Weise verwendet, daß er damit den vegetativen Teil des Keimes gelähmt hat. Der Gedanke lag also nahe, daß die Giftwirkung des Nilblausulfats bei den stärker gefärbten Larven die Umkehrung der Dorsoventralachse bewirkt hätte. Diese Annahme wurde in der Weise geprüft, daß das vordere Ende der Eier wie in dem vorigen Versuch behandelt wurde, nur mit dem Unterschied, daß ich es viel stärker färbte. Von 8 Larven waren 3 ventral und 5 dorsal gefärbt. Um die Farbstoffkonzentration noch höher machen zu können und dabei die Verbreitung des Farbstoffes über das ganze Ei zu verhindern, wurden die Eier zuerst wie vorher in der Kapillarmündung stark gefärbt. Nachdem sie sich ein paarmal gefurcht hatten, wurden sie noch einmal stark gefärbt. Viele dieser Larven starben. In anderen Fällen überlebte nur der ungefärbte Teil der Keime diese Behandlung. Von 7 Larven, die sich ganz entwickelten, waren 1 ventral und 6 dorsal gefärbt. Je stärker die Färbung ist, um so zahlreicher sind die Larven, die dorsal gefärbt sind. Es scheint somit sehr wahrscheinlich, daß die 5 abweichenden Fälle unter II. durch ihre stärkere Färbung „abweichend“ gemacht worden sind. Damit gewinnt dieser Versuch an Beweiskraft und wir können jetzt das Resultat folgendermaßen zusammenfassen: *Das durch die Kapillare vorangehende Ende des Eies wird durch*

*irgendeine während der Passage entstehende Veränderung zur Ventralseite determiniert.* Wird dieses Ende mit Nilblausulfat vergiftet, wird offenbar das entgegengesetzte Ende zur Ventralseite.

### Über den Einfluß der Streckung.

Auf den bei den Streckungsversuchen wirksamen Mechanismus geht BOVERI nicht näher ein. Die Streckung hat keinen Einfluß auf die Polarität. Dieselbe determiniert aber die Symmetrieebene und damit auch die Dorsoventralachse. BOVERI (1901b, S. 160) schließt daraus, „daß die Momente, welche für die Polarität der Larve maßgebend sind, von denen, welche die Bilateralität bestimmen, essentiell verschieden sind“. HEFFNER (1908) folgert aus diesen Versuchen, „daß es nur von den geometrischen Verhältnissen abhängt, an welchen Stellen des Mesenchymkranzes sich die beiden Dreiecke ausbilden“. Es wird aber dadurch nicht verständlich, wie ventral und dorsal determiniert wird. Von ähnlichen Gesichtspunkten aus versucht RUNNSTRÖM (1920) die Ergebnisse DRIESCHS (1906, 1908a) an durch Hypotonie gestreckten Eiern zu erklären. Seine Ausführungen können ebensogut auf die gestreckten Eier BOVERIS bezogen werden. Die Ventralseite wird von gewissen Stoffen, die Dorsalseite von anderen charakterisiert. Diese Stoffe bauen einander ab und müssen deswegen ihre größten Konzentrationen in einem gestreckten Ei gegenseitig in den beiden Enden annehmen. In dieser Weise wird die Determination der Symmetrieebene erklärt, die der Polarität der Dorsoventralachse aber nicht.

Wir wenden uns zuerst der Frage zu, ob sich die Eier leichter in einer präformierten Medianebene strecken lassen. BOVERI (1907) lehnt diese Möglichkeit mit der Überlegung ab, daß, wenn es eine solche Ebene gäbe, „so müßte jedes in der Richtung seiner Achse gepreßte Ei im Äquator oval werden, was niemals der Fall ist“. Aus obigem wissen wir jetzt, daß nicht die Form der Eier an sich determinierend wirkt. Wir könnten deshalb von der Frage nach einer präformierten Streckungsebene absehen. Nehmen wir aber an, daß es eine solche Ebene gibt! Die Medianebene wäre also in dem Ei determiniert. Bei der Streckung nach der oben besprochenen Methode wurde nur die Polarität der Dorsoventralachse festgelegt. Durch die oben beschriebene Anordnung war es aber möglich, die Eier bei dem Eintritt in die Passage durch die Kapillare zu verfolgen. Nie wurde beobachtet, daß die Eier während der Streckung Drehungen ausführten. Wenn es eine präformierte Ebene gibt, in der sich die Eier strecken, muß aber die überwiegende Anzahl der Eier sich mehr oder weniger drehen, um sich so einzustellen, daß die Achse der Kapillare in dieser Ebene zu liegen kommt. Eine Drehung wäre bei Eiern, deren Eiachse mit der Mikroskopachse zusammenfällt, sehr leicht zu konstatieren. Dagegen kommt es oft vor, daß sich die Oberfläche der einen Seite beim Überschreiten einer Unebenheit der

Kapillarwand kräftig dreht. Die Drehung geht aber sofort zurück. Die Bewegung der Oberfläche ist leicht an den Pigmentkörnchen wahrzunehmen.

Die Streckung ruft außer der Deformation noch eine Veränderung bei den Eiern hervor. Dies ist besonders bei Eiern schön zu beobachten, die so orientiert sind, daß die Kapillarachse und die Mikroskopachse in der Äquatorialebene des Eies liegen. Wenn in dieser Weise orientierte Eier durch die Kapillare gehen, kann man beobachten, wie die Körnchen in dem Pigmentring an dem vorderen Ende immer spärlicher werden, während sie sich nach dem hinteren Ende immer mehr anhäufen. Es besteht also während des Durchganges ein Materialtransport von dem vorderen nach dem hinteren Ende des Eies hin. Dieser Vorgang äußert sich auch darin, daß das vordere Ende konvex, das hintere konkav ist. Es liegt hier eine Wirkung der Reibung zwischen dem Ei und der Kapillar-



Abb. 2. Ei in der Streckungskapillare. Schematisch. Der große Pfeil zeigt die Bewegungsrichtung des Eies, die kleineren die der Oberflächenschichten.

wand vor (Abb. 2). Die Oberfläche des Vorderendes muß folglich sehr stark gedehnt werden. Hier platzen die Eier sehr oft. Auch am Hinterende können die oberflächlichen Schichten platzen. Eine Dehnung liegt hier nicht vor.

Die Wand der obenerwähnten Einsenkung klebt sich indessen der Kapillarwand an und zerreißt beim Verschieben des Eies in der Kapillare. Sehr oft entsteht in der Mitte zwischen den beiden Enden eine Einschnürung, die zur Aufteilung des Eies in zwei Hälften führen kann. Die Oberflächenspannung muß bei der Entstehung dieser Einschnürungen eine große Rolle spielen. Solche Eier wurden nie für die Versuche verwendet. Bei Eiern, die erst mehrere Stunden nach der Entnahme aus dem Ovar behandelt werden oder die einige Stunden in dem Reservoir des Apparates vor der Streckung weilen, wird bei der Streckung ein Vorgang oft beobachtet, den ich als ein „inneres Platzen“ bezeichnen möchte. Wenn die Eier weit in die Kapillare vorgedrungen und schon verhältnismäßig stark gestreckt sind, tritt in der pigmentierten Oberfläche ein Riß auf, der sich schnell erweitert. Man hat den Eindruck, daß die inneren unpigmentierten Substanzen ausfließen und die Ränder des Risses auseinander drängen. Trotzdem fließt nichts aus dem Ei heraus. Die ausgeflossene Masse ist von einer dünnen, durchsichtigen Membran, der Ektoplasmaschicht, bedeckt. Der Riß ist in der „viskosen Schicht“ (vgl. LINDAHL) entstanden. Dies deutet daran, daß die erstgenannten Eier, wenn sie überreif zu werden anfangen, gegen mechanische Schädigung weniger widerstandsfähig sind und also eine niedrigere Viskosität als normal haben. Diejenigen Eier, die ein inneres Platzen aufwiesen, ließen sich noch befruchten und hoben eine schöne Membran ab. Es scheint also, als ob die Viskosität bei der Überreife erst unter den normalen Wert sinkt, um dann (PASPALLEFF 1927) in die

Höhe zu steigen. In dem Reservoir werden die Eier für Sauerstoffmangel ausgesetzt. Das „innere Platzen“ ist wahrscheinlich davon in diesem Falle die Folge. Das Platzen der viskosen Schicht tritt etwa ebensooft an dem einen oder dem anderen Ende des Eies auf.

Es wurden gestreckte Eier im Dunkelfeld untersucht. Die beiden leuchtenden Schichten [PASPALLEFF (1927,) RUNNSTRÖM (1928a), vgl. auch LINDAHL a. a. O.] des vorderen Endes sind einander mehr oder weniger genähert und können dicht aneinander liegen. Dazu sind sie beide mehr oder weniger verdünnt und können in extremen Fällen an dem vorderen Ende vollkommen fehlen. An dem hinteren Ende sind sie dagegen verdickt und die äußere leuchtende Schicht ist stark gerunzelt. Dasselbe gilt hier auch für die im Hellfeld sichtbare Ektoplasmaschicht. Diese Unterschiede zwischen den beiden Enden des Eies sind die Folge des oben besprochenen Materialtransports gegen das hintere Ende.

RUNNSTRÖM (1925a) hat Seeigeleier mit K-freiem Meerwasser behandelt. Das K ist für den normalen Hydrationsstand der Plasmakolloide notwendig. Diffundiert K aus den Zellen hinaus, wird der Zustand der Kolloide alteriert. RUNNSTRÖM findet, daß die Schädigung das vegetative Material sowie die künftige Ventralseite besonders betrifft. Er schließt daraus, daß diese Teile des Eies eine größere Permeabilität für K haben. Später (1928b) neigt er dazu, diese größere Empfindlichkeit gegen K-Mangel als Folge einer größeren Instabilität der Plasmakolloide zu erklären. Um zu untersuchen, ob die Eier von der Streckung in kolloidchemischer Hinsicht beeinflusst werden, wurden sie in mit Meerwasser isotonische Glykoselösung (19,88%) gebracht. Die Wirkung dieser Lösung muß prinzipiell dieselbe sein, wie die des K-freien Meerwassers, indem die Elektrolyte aus dem Ei hinausdiffundieren. Werden normale 16-Zellenstadien damit wiederholt gewaschen, fangen die vegetativen Zellen bald zu degenerieren an. Da für meine Fragestellung die Verschiedenheiten entlang der Streckungsachse von Interesse sind, wurden nur Eier ausgewählt, die senkrecht zur Eiachse gestreckt waren. Bei diesen enthält das vordere und hintere Ende ebensoviel vegetatives Material. Um das vordere bzw. hintere Ende zu markieren, wurden Eier ausgesucht, in denen der Kern dem einen oder dem anderen Ende genähert lag. Die beiden ersten Blastomeren werden dabei verschieden groß (vgl. unten S. 310). Kurz vor der ersten Furchung wurden die Eier mit Nilblausulfat schwach gefärbt, um den Eintritt der Cytolyse leichter beobachtbar zu machen. Nach vollendeter Teilung wurden sie in die Glykoselösung gebracht. *In sämtlichen untersuchten Fällen trat die Cytolyse viel früher in dem vorderen als in dem hinteren Ende ein.* Die Anzahl der in dieser Weise untersuchten Eier ist verhältnismäßig klein, da ich diese Versuche am Ende meines Aufenthaltes in Neapel ausführte. Es wurden nur 6 Eier untersucht; der Unterschied zwischen den beiden Enden war aber sehr auffallend.

Es sei an eine Tatsache erinnert, die in diesem Zusammenhang von Interesse ist. Stark gestreckte oder gedehnte Ovarialeier von *Paracentrotus lividus* oder Teile von diesen färben sich sehr kräftig mit Eisenhämatoxylin. Der mechanische Eingriff ruft eine Verdichtung der Plasmakolloide hervor, die oft gerichtet sein kann. Das ganze gestreckte Ei ist gedehnt, besonders gilt dies aber für das Vorderende. Eine Verdichtung der Plasmakolloide ist also hier zu erwarten, was eine Verkleinerung der Hydratation bedeutet. Infolgedessen müssen die Plasmakolloide instabiler werden, was tatsächlich in dem oben geschilderten Glykoseversuch zum Ausdruck kommt.

Wie hat man sich die Eigenschaften der gestreckten Eier BOVERIS vorzustellen, d. h., wie kommt die gestreckte Form bei dem Schütteln zustande? Wenn das Wasser, in dem das Ei suspendiert ist, gegen den Boden des Gefäßes beim Schütteln stößt, wird es unmittelbar abgebremst. Das Ei bewegt sich wegen seiner größeren lebenden Kraft weiter. Es entsteht dabei eine Potentialströmung, deren Strömungslinien am Äquator (auf der Bewegungsachse des Eies bezogen) zusammengedrängt sind. Die relative Geschwindigkeit und folglich auch die Reibung muß hier in einer Gürtelzone am größten sein. Die Reibungskräfte sind gegen die Bewegung des Eies gerichtet und treiben also die Oberflächenschichten gegen den hinteren Pol. Die äquatoriale Zone wird von diesen Kräften gebremst. Wegen der kleinen inneren Reibung wird die Bremsung nicht auf die innere Masse des Eies übertragen. Diese setzt sich auf Grund ihrer Trägheit mit abnehmender Geschwindigkeit fort und buchtet den vorderen Pol aus. Der hintere Pol muß bestrebt sein, sich in demselben Maße einzubuchten. Dem wirken aber Wirbelbildungen am hinteren Pol entgegen. Es kommt noch hinzu, daß die oberflächlichen Schichten gegen den hinteren Pol verschoben sind und die Oberfläche deswegen hier nicht so leicht deformierbar ist. Die der Ausbuchtung des vorderen Poles entsprechende Volumenkompensation muß also in dem Äquatorialgebiet stattfinden und das Ei nimmt Wurstform an. Nach dem Obenstehenden muß das vordere Ende des Eies stark gedehnt sein. Wenn ein Ei einmal gestreckt worden ist, stellt sich der größte Durchmesser vorwiegend der Bewegungsrichtung parallel ein. Die beiden Enden stellen vor allem bei den verschiedenen Schüttelbewegungen des Eies den „vorderen Pol“ dar, und diejenigen Eier, die in dieser Weise sich orientieren, werden mehr und mehr gestreckt.

Bei den gestreckten Eiern BOVERIS sind die beiden Enden am meisten gedehnt, und hier hat man also eine größere Instabilität der Plasmakolloide zu erwarten. Dasjenige Ende, das am meisten gedehnt worden ist, wird zur Ventralseite (vgl. unten).

*Durch die Streckung werden dem vorderen Ende diejenigen oder ähnlichen Eigenschaften zuerteilt, die normal die künftige Ventralseite charakterisieren.* Es scheint mir wahrscheinlich, daß diese Eigenschaften einen

stärkeren Stoffwechsel in diesem Teil des Eies bedingen. Wenn man das vordere Ende zu stark mit Nilblausulfat färbt, dürfte der Stoffwechsel infolge der Giftwirkung herabgesetzt werden. Wir finden in solchen Fällen, daß die Ventralseite am „hinteren Ende“ des Eies entsteht, was gemäß unserer hier ausgesprochenen Auffassung verständlich ist.

Nach HÖRSTADIUS (1928b) wissen wir, daß die Ventralseite nicht durch den Eintritt des Spermiums determiniert wird. Es muß also schon in dem unbefruchteten, normalen Ei ein Teil zur Ventralseite labil determiniert oder wenigstens prädisponiert sein. Dieser Teil stellt das ursprüngliche ventrale „Zentrum“ dar, und es ist nicht einzusehen, warum seine Eigenschaften durch die Streckung zum Verschwinden gebracht werden sollten. Umgekehrt muß es angenommen werden, daß das ursprüngliche ventrale „Zentrum“ auch nach der Streckung besteht. Es wird aber ein neues ventrales „Zentrum“ durch die Streckung induziert. Zwischen diesen beiden Zentren entsteht nun eine Konkurrenz, die dazu führt, daß das eine „Zentrum“ unterdrückt wird. Denn wir finden ja nur bei ganz wenigen Larven eine Verdoppelung der Ventralseite und diese ist, wenn sie vorkommt, auf ganz besondere Verhältnisse zurückzuführen. Daß das vordere Ende fast immer zur Ventralseite wird, deutet daran, daß das neugeschaffene ventrale „Zentrum“ mit dem Sieg aus dieser Konkurrenz geht, und also stärker „ventral“ als das alte ist. In dem Versuch II. findet man oft Larven, die zwar ventral, aber mehr oder weniger seitlich gefärbt sind. Es kann vielleicht hier von einer Auswirkung des alten ventralen Zentrums die Rede sein, das genügend nahe an dem vorderen Ende gelegen war, um mit den neuen Zentrum zu verschmelzen. Bei der in Abb. 9 dargestellten Larve richtet sich das Entoderm nach der Streckungsachse. Die Symmetrieebene des Ektoderms steht dagegen senkrecht zur Streckungsachse. Diese Verhältnisse können mit der Annahme zwei konkurrierender ventraler Zentren erklärt werden. Zuerst ist das durch die Streckung geschaffene Zentrum das stärkste gewesen. Später aber hat sich das ursprüngliche erholt und wird das vorherrschende. Diese Erklärungsweise setzt aber voraus, daß das Entoderm nicht so leicht sich umdeterminieren läßt als das Ektoderm (vgl. auch S. 312).

Meine Aufmerksamkeit war nicht auf die Asymmetrie der gestreckten Keime gerichtet. In den Protokollen finden sich aber 4 normale Larven aus der Versuchsreihe II. mit den Cölombblasen abgebildet. Das „Vorderende“ des gestreckten Eies ist bei sämtlichen zur Ventralseite geworden und die Asymmetrie ist normal.

#### Anhang.

In diesem Abschnitt werden einige Beobachtungen an gestreckten Eiern geschildert, die sich nicht unmittelbar auf das aufgestellte Problem beziehen.

BOVERI (1901b) hat eingehend die Einwirkung der Streckung auf die Richtung der Spindel der ersten Furchung geschildert. Besonders interessiert ihm der Einfluß der karyokinetischen Ebene auf die Spindelerichtung und er wählt deswegen Eier aus, die schief zu der Eiachse gestreckt sind. Meine Beobachtungen beziehen sich auf senkrecht zur Eiachse gestreckte Eier, die so stark ausgezogen sind, daß der größte Durchmesser sich zu dem kleinsten wie etwa 5 : 1 verhält. Die erste und zweite Furche steht senkrecht zur Streckungsachse. Auch die dritte Furche kann unter Umständen diese Richtung haben (Abb. 3). Es scheint, als ob diese Richtung der Furchen solange aufrecht gehalten wird, bis in den Zellen der Quotient  $\frac{\text{größerer Durchmesser}}{\text{kleinster Durchmesser}}$  unterhalb eines gewissen Wertes (wenig größer als 1) gebracht worden ist. Im allgemeinen

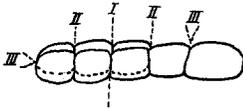


Abb. 3. Sich furchendes gestrecktes Ei. I, II und III, erste, zweite und dritte Furche. Freihandzeichnung.



Abb. 4. 8-Zellenstadium eines gestreckten Eies. Die Furche durch die Streckungsachse ist in jeder zweiten Zelle um etwa 90° gedreht. Freihandzeichnung.

fallen die Furchen der dritten Teilung mit der Streckungsachse zusammen, in den verschiedenen Zellen liegen sie aber selten in einer und derselben Ebene wie in Abb. 3, sondern zwei benachbarte Furchen stehen senkrecht zueinander (Abb. 4). Weiter habe ich die Furchung nicht verfolgt.

Nach BOVERI (1907) sind bei gestreckten Eiern „die beiden ersten Blastomeren häufig ungleich groß“. Er gibt aber nichts über die Ursache des Größenunterschiedes an. Die beiden ersten Blastomeren können nach meinen Beobachtungen sehr verschieden groß sein und die Größe hängt von der Lage des Kernes in dem unbefruchteten gestreckten Ei ab. Liegt der Kern in der Mitte zwischen den beiden Enden, werden die beiden Blastomeren gleich groß. Je mehr der Kern gegen das eine Ende des Eies verschoben ist, desto kleiner wird die an diesem Ende entstehende Blastomere. Die größere Zelle kann bis 5mal so groß wie die kleinere sein.

Es ist weiter zu beachten, daß die Größenunterschiede der beiden ersten Blastomeren einen Einfluß auf der Teilungsgeschwindigkeit ausübt. Die Abkömmlinge der kleineren Blastomeren teilen sich schneller als die der größeren. Die Größe der Blastomeren ist ohne Beziehung zu der induzierten Polarität. Bisweilen sind die dorsalen, bisweilen die ventralen Zellen die größeren.

Abb. 5 zeigt eine normale Larve der Versuchsreihe II. Das punktierte Bereich ist blau gefärbt und stellt somit das „Vorderende“ des gestreckten Eies dar. Die Färbung ist fast *symmetrisch*. Durch die

Streckung können aber allerlei Abnormitäten hervorgerufen werden. Vor allem kann die eine Seite der Larven gehemmt sein. Diese Seite bildet keine Fortsätze. Das Skelet ist hier in abnormer Weise verzweigt oder fehlt ganz (vgl. Abb. 6). Hier fehlt auch ein normaler Orallobus. Die Hemmung ist aber manchmal nicht lokalisiert wie in dem erwähnten Fall, sondern kann mehr allgemeiner Natur sein. In solchen Fällen fehlen die Oral- und Analfortsätze sowie der Orallobus ganz oder teilweise. Der Scheitel und die Körperstäbe sind aber normal entwickelt. Diese Abnormitäten sind auf eine Schädigung des Plasmas zurückzuführen. Interessante Verhältnisse zeigen vor allem gewisse, besonders stark

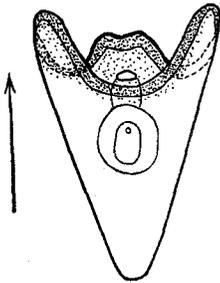


Abb. 5. Normaler Pluteus aus der Versuchsreihe II., ohne Skelet gezeichnet. Das punktierte Gebiet ist vital gefärbt. Der Pfeil gibt die Bewegungsrichtung in der Kapillare an. Freihandzeichnung.

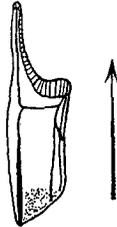


Abb. 6. Seitlich gehemmte Larve aus einem gestreckten Ei (das normale Entoderm nicht eingezeichnet). Das punktierte Bereich ist vital gefärbt. Der Pfeil gibt die Bewegungsrichtung in der Kapillare an. Freihandzeichnung.

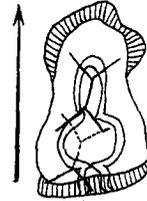


Abb. 7. Larve aus einem Ei entwickelt, das der Eiachse entlang gestreckt worden ist. Bewegungsrichtung in der Kapillare durch den Pfeil markiert. Freihandzeichnung.

gestreckte Larven der Versuchsreihe II. Ich habe hier zwei Keime gezüchtet, bei denen die Streckungsachse einen verhältnismäßig kleinen Winkel mit der Eiachse bildet. Die eine Larve (Abb. 7) ist fast radiärsymmetrisch. Die spiegelbildlich, aber unregelmäßig gelagerten Skeletstäbchen zeigen eine bilaterale Anordnung. Der Wimperschopf ist stark vergrößert. Der vegetativste Teil des Ektoderms ist von einem Flimmerband umsäumt. Die zweite Larve zeigt eine mehr ausgeprägte Bilateralsymmetrie, obwohl weder das Ektoderm noch das Entoderm ihre charakteristische Biegung durchgemacht haben. Ein kleines Oralfeld ist in der Nähe des animalen Poles ausgebildet, und ein vegetatives Flimmerband wie in dem vorigen Fall zu finden. In dieser Hinsicht stimmen diese Larven mit denen überein, die CHILD (1916b) bei Züchtung der Eier in KCN-haltigem Medium bekam. Auch seine Larven sind der Eiachse entlang ausgezogen und haben einen mehr oder weniger radiären Bauplan. *Die dorsoventrale Organisation ist stark geschwächt.* Das ventrale Flimmerband läuft deswegen nicht wie normal der Eiachse parallel, sondern steht wie oft bei den Li-Larven [HERBST (1893a), RUNNSTRÖM

(1928d)] senkrecht zu dieser. Bei den Li-Larven kommt eine Verschiebung des Flimmerbandes in animaler Richtung hinzu. Die Vergrößerung des Wimperschopfes erklärt sich aus der größeren Entfernung zwischen dem animalen und vegetativen Pol in dem vorliegenden Fall. Wenn die animale Hälfte des Eies isoliert wird, breitet sich die Wimperschopfzone aus [ZOJA (1895), DRIESCH (1900a), TERNI (1914) und HÖRSTADIUS (1928e)]. Das vegetative Material muß auf die Ausbildung des Wimperschopfes hemmend wirken [RUNNSTRÖM (1928)]. Wird die Entfernung von dem vegetativen Material wie in den hier beschriebenen Fällen vergrößert,

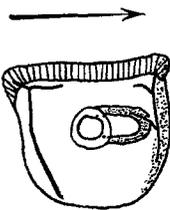


Abb. 8. Larve mit verschiedenen Symmetrieebenen in Ekto- und Entoderm, von der Analseite gesehen. Das punktierte Gebiet stellt das „Vordere“ des gestreckten Eies dar. Freihandzeichnung.

muß die Wirkung schwächer als normal sein; die Wimperschopfzone breitet sich aus.

Bei den gestreckten Larven kommen dann und wann Störungen der Symmetrie vor. Da die Keime während den früheren Stadien nicht verfolgt worden sind, ist es oft kaum möglich sie zu deuten. Bei der in Abb. 8 abgebildeten Larve können die Verhältnisse leichter überblickt werden. Die Symmetrieebene des Entoderms richtet sich nach der durch die Färbung markierte Streckungsachse, die des Ektoderms steht zu jener senkrecht. Ein Flimmerband und zwei der Symmetrie des Ektoderms zugeordnete Skeletstäbchen sind ausgebildet worden. Der linke Skeletstab ist verkrüppelt und besitzt einen überzähligen Zweig. RUNNSTRÖM (1917, 1929) hat gezeigt, daß während des Wachstums richtende Einflüsse vom Ektoderm auf

das Skelet wirken. „Das schon determinierte Ektoderm leitet die weitere Ausbildung des Skelets.“ Eine einseitige Hemmung des Skelets setzt also eine entsprechende Hemmung im Ektoderm voraus und von diesem Gesichtspunkt aus ist die oben beschriebene Hemmung von Interesse. Wir können nämlich schließen, daß das vordere Ende des Eies geschädigt worden ist. Es ist oben gezeigt worden, daß eine Vergiftung der schon durch die Streckung determinierten Ventralseite die Dorsoventralachse um  $180^\circ$  drehen kann. Hier ist die Schädigung nicht so stark gewesen, aber groß genug, um das durch die Streckung induzierte ventrale Zentrum zu schwächen. Infolge dieser Schädigung kommt das ursprüngliche ventrale Zentrum hier zur Geltung — so erkläre ich mir die paradox erscheinende Lage des Oralfeldes und des Skelets.

RUNNSTRÖM (1925d) hat eine ähnliche Abnormität wie die oben beschriebene bei Züchtung der Larven in verdünntem Meerwasser erhalten. Die abnormen Symmetrieverhältnisse sind hier durch rein mechanische Verhältnisse induziert.

Zuletzt sind einige Worte über die bei der Streckung erhaltenen Doppelbildungen zu sagen. Sie sind teils aus Keimen entstanden, bei denen die gestreckte Form früh verschwunden ist, teils aus Keimen, die

diese Form bis zur Ausbildung der dorsoventralen Differenzierung behalten haben. Ich habe nie wie BOVERI Larven mit zwei Darmeinstülpungen beobachtet. In meinen Fällen bezieht sich die Verdoppelung auf das Skelet sowie auf die Ventralseite des Ektoderms.

Wie wird die Lage und Anzahl der Skeletanlagen determiniert? In der normalen Entwicklung bilden die primären Mesenchymzellen zuerst zwei dreieckige Zellenpakete, die dorsal und ventral durch eine einfache Reihe von Zellen verbunden sind. Die Lage der Dreiecke wird von besonderen Eigenschaften der Blastulawand bestimmt, wie HERBST (1896) und vor allem DRIESCH (1896b) gezeigt haben. Die Dreiecke liegen nach vollendeter Gastrulation [vgl. v. UBISCH (1931)] auf gegebenem Abstand von dem Urmund. Sie liegen spiegelbildlich und sind der Ventralseite genähert. Man kann die Lage der Dreiecke durch ein Koordinatensystem definieren. Die eine Achse ist von der Eiachse und die andere von der Dorsoventralachse des Keimes repräsentiert.

BOVERI (1901b) nimmt entlang der Eiachse eine den ganzen Plasmakörper durchsetzende Schichtung an, die ihre Eigenschaften von dem einen zu dem anderen Pol kontinuierlich verändern. HEFFNER (1908) gibt für denselben Gedankengang Ausdruck, wenn sie schreibt: „Jene Lokalisierung (des Mesenchymkranzes) wäre also wohl nur in der Weise denkbar, daß das Ei senkrecht zur Eiachse geschichtet ist, etwa so, daß ein bestimmter Stoff in der Richtung vom animalen zum vegetativen Pol kontinuierlich an Konzentration zu oder abnehmen würde. Dann wäre unter allen Umständen eine Zone von bestimmter Konzentration im Verhältnis zu den Endpunkten der Achse vorhanden, welche für die Lagerung des Mesenchymkranzes als maßgebend zu betrachten wäre.“ Von RUNNSTRÖM (1914, 1929, 1931) ist diese Auffassung weiter ausgearbeitet worden, indem er 1929 „zur Erklärung der Determination entlang der Eiachse zwei gegeneinander gerichtete und sich gegenseitig beeinflussende Gefälle“ annimmt, vgl. HÖRSTADIUS (1932). Ohne auf Einzelheiten einzugehen schließe ich mich dieser Auffassung an. Jeder Punkt ist in dem normalen Ei von einem gewissen Zustande charakterisiert, und dieser Zustand ist von den Größen, die die beiden Gefälle in dem betreffenden Punkt erreichen, bestimmt. RUNNSTRÖM (1925d) ist zur Annahme eines ventrals dorsal gerichteten Differenzierungsgefälles gekommen. Später (1931) nimmt er eine schiefe Richtung des vegetativen Gefälles an. „Auf jeder Latitude sind die animalen Wirkungen . . . konstant, die vegetativen nehmen dagegen in dorsaler Richtung ab.“ In dieser Weise entsteht entlang der Dorsoventralachse ein Gefälle.

Ich nehme auch entlang der Dorsoventralachse ein Gefälle an mit dem höchsten Punkt auf der Ventralseite. Die Ausstreckung dieses Gefälles ist der Größe der Ventralseite proportional und diese hängt wiederum davon ab, wie das animale und vegetative Gefälle gegeneinander abgewogen sind. Die Ventralseite (das ventrale Zentrum) entsteht unter Zusammenwirkung der animalen und vegetativen Gefälle. Zu den Versuchen, die mich zu dieser Auffassung geführt haben, komme ich anderswo zurück. Nur in einer gewissen Zone, die durch einen ganz bestimmten animal-vegetativen Zustand charakterisiert ist, können sich die Skeletbildner ansammeln, und hier entsteht der Mesenchymkranz. Damit ist die animal-vegetative Lage der Dreiecke bestimmt. In dorsoventraler

Richtung wird ihre Lage durch einen gewissen Wert des dorsoventralen Gefälles bestimmt. Nur da, wo diese zwei „Koordinaten“ einander schneiden, können die Skeletanlagen gebildet werden.

Wie kann eine Verdoppelung oder eine Vervielfachung der Skeletanlagen zustande kommen? Das Auftreten von einem zweiten Paare symmetrisch gelagerter Skeletanlagen ist nach dem Obenstehenden nur da möglich, wo die animal-vegetative Achse von noch einem dorsoventralen Gefälle durchstrahlt wird, oder die animal-vegetativen Gefälle zum Teil und in der Weise gespalten sind, daß die dorsoventrale Skeletkoordinate in mehr als zwei Punkten von den animal-vegetativen geschnitten wird. Eine Vervielfachung der Anlagen kommt da zustande, wo das dorsoventrale Gefälle aus irgendwelchen Gründen nicht ausgebildet



Abb. 9. Larve aus der Versuchsreihe II., mit Skeletverdoppelung. Nur das Skelet der einen Seite ist gezeichnet. Der punktierte Teil ist das „Vorderende“ des Eies. Freihandzeichnung.

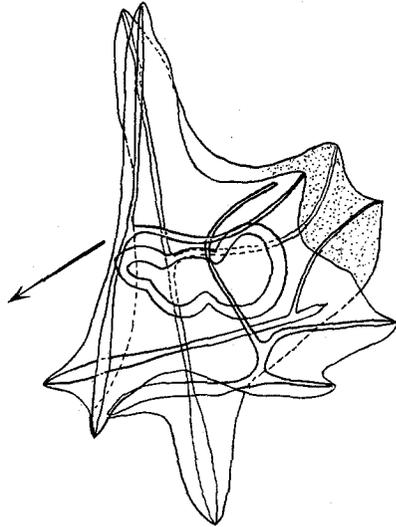


Abb. 10. Larve aus der Versuchsreihe II., mit Skeletverdoppelung. Das vital gefärbte vordere Ende punktiert. 320/1.

worden ist oder mit der animal-vegetativen Achse zusammenfällt, d. h. daß die Ventralseite terminal liegt. In diesem Falle fehlt die eine Koordinate und die Skeletbildner verbreiten sich regellos der anderen entlang. Wo sie zu mehreren zufälligerweise zusammenliegen, entsteht eine Skeletanlage. Dies kommt unter Einwirkung von Li [HERBST (1893a, 1895a)],  $SO_4$ -Mangel [HERBST (1903)], KCl-Überschuß [HERBST (1895a), FISCHEL (1909)], CO [RUNNSTRÖM (1928d)] und  $Na_2CO_3$  (eigene unpublizierte Versuche) vor.

Vor allem bei denjenigen Larven, die sich früh wieder abgekugelt haben, fällt die symmetrische Verdoppelung des Skelets in die Augen. Es müssen also hier das dorsoventrale oder die animal-vegetativen Gefälle verdoppelt sein. Links auf Abb. 9 ist ein normal ausgebildetes Skelet zu beiden Seiten des undifferenzierten Entoderms zu finden. Rechts auf der Abbildung, also abanal, liegt auch ein symmetrisches dünnes Skelet.

Von diesem zweigt ein sehr kleiner Stab ab, der zusammen mit dem Oralstab des größeren Skelets der Ventralseite zuwächst, und somit als Oralstab zu bezeichnen ist. Derjenige Punkt der Ventralseite, dem die Oralstäbe entgegenwachsen, muß als Orallobus angesprochen werden. Der rechts auf der Abbildung von diesem gelegene Teil der Ventralseite ist eine kleine sekundäre, mit der primären verschmolzene Ventralseite, die die Abanalseite des primären Keimes als eine kleinere Einheit organisiert hat. In einem anderen Fall (Abb. 10) ist die sekundäre Ventralseite fast so groß wie die primäre. Sonst herrscht größte Übereinstimmung zwischen den beiden Fällen. Die in Abb. 10 abgebildete Larve ist weiter entwickelt als die der Abb. 9. Es ist nicht nur die Ventralseite, sondern auch das Analfeld bei diesen Larven verdoppelt. Zwar gibt es nur einen After, da das Entoderm einheitlich ist.

Die Orientierung und Ausbildung der sekundären Dreistrahler zeigen aber, daß die ursprüngliche Abanalseite den Charakter einer Analseite erhalten hat. Die Abb. 9 und 10 zeigen also tatsächlich eine Art Verdoppelung oder Ausbreitung der Ventralseite (des Oralfeldes) über den animalen Pol hin, sowie eine partielle Spaltung der animal-vegetativen Gefälle im vegetativen Bereich.

Ich gehe jetzt zu einigen Larven über, bei denen zwei getrennte Ventralseiten ausgebildet worden sind (Abb. 11, 12, 13, 14, 15 und 16).

Diese Larven haben die gestreckte Form mehr oder weniger behalten. Der Winkel zwischen den beiden Dorsoventralachsen kann spitz (Abb. 11,

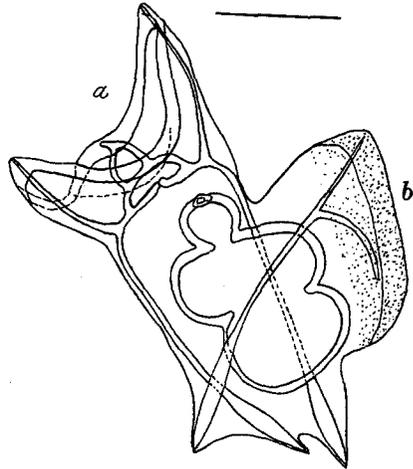


Abb. 11. Biventrals Larve. Das eine Ende vital gefärbt (punktiert). a und b die beiden Ventralseiten. Bewegungsrichtung in der Kapillare unbekannt. Der Strich zeigt die Streckungsrichtung. 320/1.

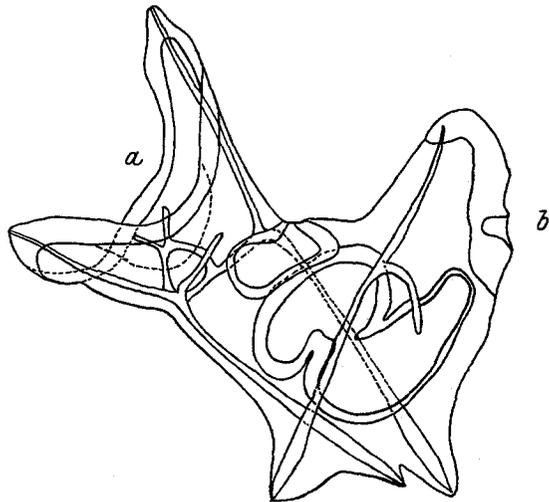


Abb. 12. Dieselbe Larve wie in Abb. 11, 1 Tag später. 320/1.

12 und 13) oder stumpf (Abb. 14) sein, oder sie können einen Geraden bilden. Bei dem in Abb. 11 abgebildeten Fall ist das Skelet der Ventralseite *b* nur einseitig ausgebildet. Infolgedessen ist diese Ventralseite sekundär seitlich verschoben, so daß die beiden Symmetrieebenen nicht zusammenfallen. Diese Ventralseite besteht nur aus Zylinderepithel. Das hier ausgebildete Skeletstück besitzt einen atypisch ausgebildeten Oralstab. Dieser ist dorsalwärts anstatt ventralwärts gebogen. Die Oralstäbe der Ventralseite *a* sind zu einem Bogen verschmolzen von dem

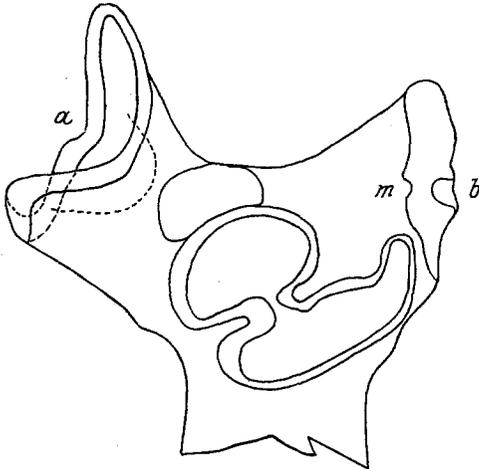


Abb. 13. Dieselbe Larve wie in Abb. 11, 2 Tage später. Skelet nicht eingezeichnet. *m* innere Mundanlage. 320/1.

später (Abb. 12) zwei Stäbe sich abzweigten. Diese haben sich bogenförmig vereinigt. Das Entoderm hat sich gegliedert und steht etwa in der Mitte zwischen den beiden Ventralseiten. Am folgenden Tag (Abb. 12) ist das Skelet stärker ausgewachsen. Der

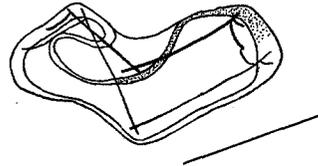


Abb. 14. Junge biventrale Larve. Das eine Ende des Eies vital gefärbt (punktiert). Bewegungsrichtung in der Kapillare unbekannt. Der Strich zeigt die Streckungsrichtung. Freihandzeichnung.

Oesophagus hat sich schlauchförmig in die Länge gestreckt und ist gegen die weniger differenzierte Ventralseite *b* gebogen. Hier ist eine Mundanlage eingestülpt worden. Auf der inneren Seite des Zylinderepithels, dem Mund gegenüber, tritt eine Andeutung zu einer Einsenkung auf. Diese ist am nächsten Tag (Abb. 13 *m*) tiefer, und der schlauchförmige Oesophagus ist der Mundanlage noch näher gekommen. In diesem Stadium wurde die Larve abgetötet, da der Enddarm zu degenerieren anfang. Die Analstäbe waren schon teilweise reduziert und der eine Analarm ist dadurch verkürzt worden (Abb. 13). Abb. 14 stellt einen ähnlichen Fall in einem späten Gastrulastadium dar. Die beiden Ventralseiten und ihre Skeletstäbchen stehen schräg zueinander, was durch ungleichförmiges Wachstum der Körperstäbe bedingt ist. Hier entsteht später (Abb. 15) der Mund. Die schon besprochene Asymmetrie des Skelets ist jetzt noch mehr ausgeprägt, indem der eine Skeletstab ganz zurückgebildet worden ist.

Es wurde eine wurstförmige, junge Gastrula (Abb. 16a) aus einer Massenkultur isoliert. 2 Tage alt, zeigte diese das Aussehen der Abb. 16b. Auch hier sind zwei Ventralseiten ausgebildet, von denen die eine nur aus hohem Zylinderepithel besteht, die andere sich als ein normales Oral-feld mit einer Wimperschnur differenziert hat. Das Entoderm krümmt

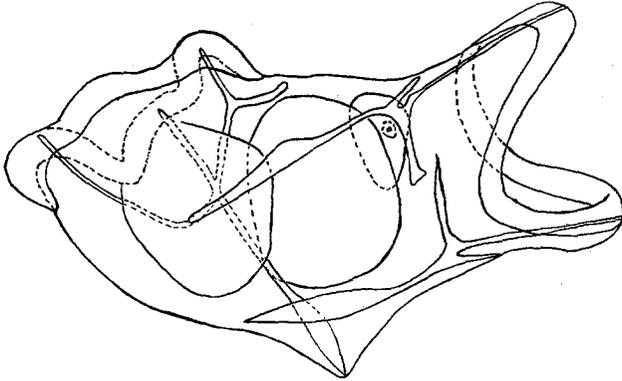


Abb. 15. Späteres Stadium von der Larve der Abb. 14. 320/1.

sich gegen die letztgenannte Ventralseite, wo es zur Bildung eines Mundes kommt. Den beiden Ventralseiten sind je zwei einigermaßen normal entwickelte Skeletanlagen zugeordnet, die allerdings auf der weniger differenzierten Seite keine Oralstäbe ausgebildet haben.

Die geschilderten drei biventralen Larven haben noch etwas gemeinsames. Diejenige Ventralseite, die dem Urmund am nächsten liegt, ist am besten differenziert, unabhängig davon, ob der Darm gegen diese geneigt ist oder nicht. Es ist interessant, diese Verhältnisse mit den BOVERIS [von HEFFNER (1908) mitgeteilt] an gestreckten Larven zu vergleichen. Er findet, „daß die künstlich aufgeprägte Form nicht nur das Rechts und Links des Keimes bestimmt, sondern auch die Lage von Scheitel- und Mundfeld determiniert, indem sich der Darm stets demjenigen Längsende der wurstförmig gestreckten Blase zuneigt, dem er benachbart ist“. Dies stimmt offenbar nicht immer (Abb. 13 und 15). Dagegen gilt die oben aufgestellte Regel, soweit ich sehen kann, ausnahmslos.

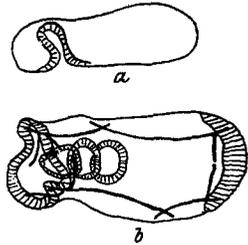


Abb. 16. Larve aus einer Massenkultur isoliert. a Gastrula, b späteres Stadium. Freihandzeichnung.

Es fragt sich jetzt: Wie kommen diese verschiedenartigen Verdopplungen der Ventralseite zustande. Aus den Abb. 9 und 10 kann man schließen, daß vegetatives Material verlagert worden ist. Diese Verlagerungen müssen in der Weise bei der Streckung stattfinden, daß sich verschobene Partien hinten oder vorn im gestreckten Ei im Verhältnis zu ihrer ursprünglichen Lage zu finden sind. In dem Fall der Abb. 9

liegt auch der sekundäre vegetative Bezirk des Ektoderms dem vorderen Ende des gestreckten Eies gegenüber, wie es die Vitalfärbung zeigt. Das Ei war etwas schief zur Eiachse gestreckt (Winkel zwischen Eiachse und Streckungsachse etwa  $70^{\circ}$ ). Das vegetative Material lag hauptsächlich am Vorderende des gestreckten Eies. Der pigmentierte Gürtel lief aber am Hinterende in einen langen, dünnen Lappen nach hinten aus. Als das Ei sich wieder abkugelte, war die Furchung schon ziemlich weit vorgeschritten. Die verschiedenen Teile konnten sich also hierbei gegen einander verschieben. Es ist wahrscheinlich, daß der Lappen aus vegetativem Material bei der Abkugelung von der Hauptmenge des vegetativen Materials abgetrennt worden ist. Die Larve der Abb. 10 ist etwa in derselben Weise wie die vorige gestreckt. Von der Färbung der ausgewachsenen Larve kann man schließen, daß der animale Pol gegen das Vorderende verschoben worden ist. Das vegetative Material liegt am Hinterende des gestreckten Eies und läuft in einen schmalen Lappen gegen das Vorderende aus. Im übrigen können dieselben Gesichtspunkte wie im vorigen Fall betreffs der Abkugelung angelegt werden. Mehrere von den Larven HEFFNERS (1908) lassen sich in Übereinstimmung mit unserer oben dargestellten Auffassung erklären. Eine symmetrische Verdoppelung des Skelets kommt oft vor wie eine Ausbreitung der Ventralseite (des Oralfeldes) über den animalen Pol hin. Beide Erscheinungen sind aus einer Verlagerung vegetativen Materials gegen den animalen Pol bei der Behandlung der Keime mit Ca-freiem Meerwasser abzuleiten. Die regellose Verdoppelung des Skelets hängt auch mit den Verlagerungen zusammen. Es sind Diskontinuitäten in dem dorsoventralen und dem animalen-vegetativen Gefälle entstanden, die nicht ausgeglichen worden sind. Die beiden Koordinaten sind „zerbrochen“ und die Teilstücke können einander in mehreren Punkten schneiden. Wir finden bei HEFFNER auch eine stark gestreckte biventrale Larve (Tafel I, Abb. 4). Von den Doppelbildungen DRIESCHS (1906, 1908) ist es schwer etwas auszusagen, denn seine Figuren sind sehr unvollständig. Auch scheint es, als ob die zwei Komponenten bis auf ein spätes Stadium voneinander getrennt gewesen sind. Sie sind deswegen für die oben diskutierten Probleme von geringerem Interesse.

Aus Versuchen, zu denen ich anderswo zurückkommen will, scheint es hervorzugehen, daß das animale sowie das vegetative Gefälle auf der Ventralseite langsamer als auf der Dorsalseite abnehmen, d. h. die vegetativen sowie die animalen Eigenschaften sind stärker auf der ventralen als auf der dorsalen Seite. Bei der Streckung kann vegetatives Material gegen den animalen Pol verschoben werden, wie es oben wahrscheinlich gemacht worden ist. Die so entstandenen Diskontinuitäten in den Gefällen gleichen sich wieder aus, falls die Verlagerung früh genug entsteht. In dem zwischenliegenden Bereich greifen aber die beiden Gefälle mit größerer Intensität ineinander. Auf diese Weise entstehen

dieselben Verhältnisse, die die Ventralseite auszeichnen. Es entsteht so eine zweite Ventralseite. In Einklang mit dieser Auffassung steht auch die oben diskutierte Tatsache, daß diejenige Ventralseite, die dem Urmund am nächsten liegt, sich am besten differenziert. Hier müssen die animalen sowie die vegetative Wirkungen stärker als auf der anderen Ventralseite sein. Eine Spaltung des vegetativen Materials genügt aber offenbar nicht, um weder eine derartige Verdoppelung der Ventralseite, noch eine Verdoppelung des Skelets hervorzurufen. Der Urdarm kann in größerer oder kleinerer Ausstreckung verdoppelt sein, es wird aber nur ein Skeletsystem ausgebildet [BOVERI (1901b), vgl. auch Abb.17]. Diese Larve (*Psammechinus microtuberculatus*) ist während der 10 ersten Stunden nach der Befruchtung mit verdünntem Meerwasser (70%) behandelt worden, und ist dann in normalem Meerwasser weitergezüchtet worden. Von dem vegetativen Pol aus ist ein tiefer Spalt bis in das präsumptive ektodermale Gebiet eingedrungen. Trotzdem ist nur ein Skeletsystem ausgebildet worden. Bei der senkrechten Lage des Spaltes im Verhältnis zur Dorsoventralachse kann der dorsoventralen Skeletkoordinate nur von der einen der beiden animal-vegetativen Skeletkoordinaten geschnitten werden. Eine zweite Ventralseite kann nicht durch den Spalt hervorgerufen werden, da kein Material dadurch verlagert wird.

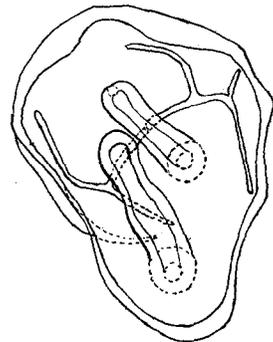


Abb. 17. Junger Pluteus von *Psammechinus microtuberculatus* von der Abanalseite gezeichnet. Siehe weiter im Text. 225/1.

Die Analseiten der biventralen Larven hängen zusammen und das Entoderm ist einheitlich. Die Verdoppelung muß hier die Folge einer Spaltung des animalen Materials sein. Da es bei der Streckung nie zu einer Schnürung des Keimes kommt, muß angenommen werden, daß vegetativeres Material sich zwischen zwei Partien von animalerem Material eingekeilt hat. Die physiologische Eiachse ist dadurch teilweise gespalten und auf zwei verschiedenen Orten sind diejenigen Verhältnisse zu finden, die die Entstehung eines dorsoventralen Gefälles bedingen. Da die Verlagerung bei der Streckung entstanden ist, ist sie natürlicherweise in ihrer Richtung von der Streckungsachse bedingt. Die Verlagerung am animalen Pol ist durchaus hypothetisch. Sie ist ja auch deswegen nicht wahrnehmbar, da es hier keine Pigmentierung gibt, die als Marke dienen kann. Eine andere Erklärungsweise scheint mir hier auch möglich. Jeder Teil rings um die Eiachse kann zu einer Ventralseite werden. Daß nur eine Ventralseite im normalen Keim entsteht, muß davon herrühren, daß ein ventrales Zentrum hemmend auf ähnliche Bildungen in demselben Keim wirkt. Ist ein Teil des Eies aber der Hemmung räumlich entzogen, kann hier eine zweite Ventralseite entstehen.

Nach dem oben (S. 309) Gesagten müssen von der Ventralseite hemmende Wirkungen ausgehen, die der Entstehung einer zweiten Ventralseite in demselben Keim entgegenwirken. Wie ist aber eine Verdoppelung der Ventralseite in den besprochenen Fällen möglich? Gemeinsam für diese Fälle ist, daß die Dorsoventralachsen vollkommen oder fast gleichgerichtet sind (Abb. 9, 10), oder daß die Ventralseiten weit voneinander entfernt sind (Abb. 11, 12, 16). In denjenigen Fällen, wo die Dorsoventralachsen gleichgerichtet sind, bilden die Ventralseiten ein mehr oder weniger einheitliches Gebilde, daß im großen und ganzen bezüglich seiner induzierenden Wirkung sich als eine Einheit verhält. Wenn zwei räumlich getrennte Ventralseiten vorhanden sind, steht nur die Hälfte des normalen Materials den zwei ventralen Zentren zur Verfügung. Die Wirkung der Ventralseite scheint von ihrer Masse abhängig zu sein und nimmt mit der Entfernung ab. Folglich kann eine Unterdrückung ausbleiben, auch wenn die Entfernung zwischen den beiden ventralen Zentren nicht sehr groß ist. Zwar greifen die dorsoventralen „Wirkungskreise“ [WEISS (1924)] teilweise ineinander über, indem die Keulen der Körperstäbe, die derselben Ventralseite nicht gehören, einander kreuzen. Es ist aber nicht sicher, daß das dorsoventrale Gefälle in dem späten Stadium, in dem sich die Keulen bilden, dasselbe ist, wie bei der Determination des primären Dreistrahlers zu einem differenzierten Skelet. Wenn der Körperstab nur einmal betreffs der Wachstumsrichtung determiniert worden ist, wächst er in dieser Richtung aus, ohne daß er unter dem Einfluß des dorsoventralen Gefälles steht. Sonst wäre auch die Kreuzung der beiden Körperstäbe eines Keimes unmöglich [vgl. auch RUNNSTRÖM (1931), S. 287]. Die Einzelheiten in der Ausbildung der Körperstäbe, der Keulen sowie ihrer dorsal gerichteten Spitzen, die mit gesetzmäßiger Abhängigkeit von der Entfernung von der Ventralseite entstehen, müssen von dem dorsoventralen Gefälle determiniert werden [RUNNSTRÖM (1931)].

Die oben angeführten Tatsachen sowie Versuche, zu denen ich anderswo zurückkommen will, haben mich zu der Ansicht geführt, daß die Ventralseite (das prospektive Oralfeld) des Seeigelkeimes dem „Organisationszentrum“ SPEMANNs gleichgestellt werden kann. Es bestehen natürlich erhebliche Unterschiede zwischen dem Determinationsgeschehen bei den Amphibien und den Echinodermen. Diese sind aber vor allem auf die frühe Festlegung der Determination in dem Amphibienkeim und die ausgesprochene Labilität der Determination im Echinidenkeim zurückzuführen.

### Zusammenfassung.

Es wurden Seeigeleier in der Weise wurstförmig gestreckt, daß sie durch eine Glaskapillare gepreßt wurden.

Die Streckungsachse des Eies liegt in der künftigen Medianebene.

Dasjenige Ende des gestreckten Eies, das während der Passage durch die Kapillare vorausgeht (als „Vorderende“ bezeichnet), wird zur Ventralseite. Eine starke Färbung dieses Endes mit Nilblausulfat macht es zur Dorsalseite.

Das „Vorderende“ des gestreckten Eies ist stark gedehnt und durch eine große Instabilität der Plasmakolloide gekennzeichnet.

Es wird versucht, die beobachteten Tatsachen unter die Gesichtspunkte einer Gefälletheorie zu bringen.

### Literaturverzeichnis.

- Boveri, Th.:** Über die Polarität des Seeigeleies. Verh. physik.-med. Ges. Würzburg 34 (1901b). — Zellenstudien VI: Die Entwicklung dispermer Seeigeleier. Jena. Z. Naturwiss., N. F. 43 (1907). — **Child, C. M.:** Experimental control and modification of larval development in the sea urchin in relation to the axial gradient. J. Morph. 28 (1916b). — **Driesch, H.:** Die taktische Reizbarkeit der Mesenchymzellen von Echinus microtuberculatus. Arch. Entw.mechan. 3 (1896b). — Die isolierten Blastomeren des Echinidenkeimes. Arch. Entw.mechan. 10 (1900a). — Studien zur Entwicklungsphysiologie der Bilateralität. Arch. Entw.mechan. 21 (1906). — Zur Theorie der organischen Symmetrie. Arch. Entw.mechan. 26 (1908a). **Fischel, A.:** Über die Entwicklung des Echinodermeies unter dem Einfluß chemischer Agentien. Arch. Entw.mechan. 27 (1909). — **Heffner, B.:** Über experimentell erzeugte Mehrfachbildungen des Skelets bei Echinidenlarven. Arch. Entw.mechan. 26 (1928). — **Heilbrunn, L. C.:** Studies in artificial parthenogenesis. II. The physical changes in the egg of Arbacia. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 29 (1915). — **Herbst, C.:** Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. II. Weiteres über die morphologische Wirkung der Lithiumsalze und ihre theoretische Bedeutung. Mitt. zool. Stat. Neapel 11 (1893a). — Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. III. Über das Ineinandergreifen von normaler Gastrulation und Lithiumentwicklung (Züchtung von Lithiumlarven mit Entoderm und Mund). Arch. Entw.mechan. 2 (1896). — Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. Arch. Entw.mechan. 17 (1903). — **Hörstadius, S.:** Über die Determination des Keimes bei Echinodermen. Acta zool. (Stockh.) 9 (1928b). — **Hyman, L.:** Some notes on the fertilization reaction in Echinoderm eggs. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 1923. — **Lindahl, P. E.:** Zur Kenntnis des Ovarialeies bei dem Seeigel. Arch. Entw.mechan. 1932. — **Loeb, J.:** Weitere Beobachtungen über den Einfluß der Befruchtung und der Zahl der Zellkerne auf die Säurebildung im Ei. Biochem. Z. 12 (1906). — **Paspaleff, G.:** Über Protoplasma-reifung bei Seeigeleiern. Publ. Staz. zool. Napoli 8 (1927). — **Runnström, J.:** Untersuchungen über die Permeabilität des Seeigeleies für Farbstoffe. Ark. Zool. (schwed.) 7, (1911). — Analytische Studien über die Seeigelentwicklung. Arch. Entw.mechan. 43 (1917). — Befruchtungs- und fosterutvecklings problem. Stockholm 1920. — Über den Einfluß des Kaliummangels auf das Seeigelei. Publ. Staz. Napoli 6 (1925a). — Zur experimentellen Beeinflussung der Asymmetrie bei dem Seeigelkeim. Arkiv Zool. (schwed.) 17B (1925d). — Über die Veränderung der Plasmakolloide bei der Entwicklungserregung des Seeigeleies. I. Protoplasma (Berl.) 4 (1928a). — Über die Veränderung der Plasmakolloide bei der Entwicklungserregung. II. Protoplasma (Berl.) 5 (1928b). — Plasmabau und Determination bei

dem Ei von *Paracentrotus Cividus Lk.* Arch. Entw.mechan. **113** (1928c). — Zur experimentellen Analyse der Wirkung des Lithiums auf den Seeigelkeim. Acta zool. (Stockh.) **8**, (1928d). — Über Selbstdifferenzierung und Induktion bei dem Seeigelkeim. Arch. Entw.mechan. **117** (1929). — Zur Entwicklungsmechanik des Skelettmusters bei dem Seeigelkeim. Arch. Entw.mechan. **24** (1931). — **Selenka, E.:** Studien zur Entwicklungsgeschichte der Tiere. II. Die Keimblätter der Echinodermen. Wiesbaden 1883. — **Terni, T.:** Studio sulli Larve atipiche (blastule permanente degli Echinoidi). Publ. Staz. zool. Napoli **22** (1914). — **Übisch, L. v.:** Über die Entodermisierung ektodermaler Bezirke des Echinoidenkeimes und die Reversion dieses Vorganges. Verh. physik.-med. Ges. Würzburg **50** (1925a). — **Vogt, W.:** Eine Methode lokalisierter Vitalfärbung an jungen Amphibienkeimen. Münch. med. Wschr. **1923a**. — **Weiss, P.:** Physiologie der Formbildung (Entwicklung und Regeneration). Jber. Physiol. **1924**. — **Zoja, R.:** Sullo sviluppo dei blastomeri isolati dalle uova di alcune meduse (e di altri organismi). II. Arch. Entw.mechan. **2** (1895).

---