- SCHLENK, H., GELLERMANN, L. J., TILLOTSON, J. A. and MANGOLD, H. K. 1957. *Paper Chromatography of Lipids*. J. Am. Oil Chem. Soc. 34: 377-86.
- SEHER, A. 1956. *Quantitative Bestimmung papierchromatographisch getrennter langkettiger Carbonsäuren auf photometrischem Wege*. Fette Seifen Anstrichmittel 58: 498.
- WHITEHOUSE, M., BRESLER, Ann and STAPLE, E. 1958. *The use of iodine for the detection of lipids*. J. of chromatography 1: 385.

N^o 9. **F. Baltzer** und **P. S. Chen**, Bern und Zürich. —
Über das zytologische Verhalten und die Synthese
der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden *Para-*
centrotus ♀ × *Arbacia* ♂ und *Paracentrotus* ♀
× *Sphaerechinus* ♂¹.

Aus der Zoologischen Station in Neapel und den zoologischen Instituten
der Universitäten Bern und Zürich.

Die beiden Verfasser haben seit drei Jahren die Entwicklung von Seeigelbastarden in verschiedener biochemischer Richtung untersucht. Dabei war die Zusammenarbeit immer dieselbe: F. BALTZER stellte das Material bereit, das dann P. S. CHEN zur biochemischen Untersuchung übernahm. Der Aufenthalt des letzten Jahres war der Messung der Nukleinsäuren gewidmet. Sie soll in diesem Jahr weitergeführt werden. Im vorliegenden Aufsatz dreht es sich um zwei Bastardkombinationen, um "PA,, d.i. *Paracentrotus lividus* ♀ × *Arbacia lixula* ♂ und um "PS,, d.i. *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus granularis* ♂ und um die beiden Nukleinsäuren: die Ribonukleinsäure (RNS), die vor allem im Nukleolus und im Plasma lokalisiert ist und um die Desoxyribonukleinsäure (DNS), lokalisiert in den Chromosomen. Der interessante Punkt unserer Untersuchung ist, dass die beiden Bastarde gerade im Verhalten der Kerne gegensätzlich sind.

¹ Ausgeführt mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

I. ZYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.

Bei PA bleibt das artfremde väterliche Chromatin während der ganzen, dem Bastard möglichen Entwicklung am Entwicklungsgang beteiligt. Dieser entwickelt sich also mit diploidem Chromosomensatz, d.h. mit 38 Chromosomen, wovon 18 zu *Par.* und 20 zu *Arb.* gehören. Die Entwicklung bleibt normal bis zur Ausbildung der alten Blastula mit eingewandertem Mesenchym. Dann werden die Keime abnormal. Sie erreichen noch ein gehemmtes Gastrulastadium und bleiben in diesem auch noch einen Tag am Leben. Dann sterben sie mit Kernpyknose ab. Plutei entwickeln sich nur sehr selten und kommen für die Nukleinsäure-Bestimmungen nicht in Betracht. (F. BALTZER et al. 1954. — WHITELEY and BALTZER, 1958).

ABB. 1.

Chromosomenelimination in der ersten Furchungsmitose bei PS (Kombiniert aus Baltzer, 1910, Fig. 25 a und b.) Die eliminierten Chromosomen sind die nicht getrennten Doppelemente im Äquator der Mitose. Vergr. 2150 $\times$.

Bei PS aber kommt es, wie BALTZER vor Jahren gefunden hat (BALTZER 1910), schon während der ersten Furchungsmitosen zu einer tiefgehenden Störung. Wie die mütterlichen treten auch die väterlichen Chromosomen aus dem Befruchtungskern hervor. Aber bei den meisten väterlichen Elementen können sich die Tochterchromosomen nicht voneinander lösen. Sie bleiben als Doppelemente im Äquator der Furchungsspindel liegen und werden aus der Mitose eliminiert (Abb. 1). Nur bei 3—4 Sphaerechinuschromosomen geht die Verteilung der Tochterelemente normal vor sich. Infolge dieser Elimination enthalten die Anaphaseplatten der nächsten Furchungsmitosen einen nahezu haploiden Chromosomenbestand, nämlich 18 Paracentrotus- und 3—4 Sphaerechinuschromosomen. Die 16—17 eliminierten Doppelemente, die den 32—34 einfachen

S- Chromosomen entsprechen, bleiben zunächst im Plasma liegen.

Diese schon 1910 gefundene Elimination wurde im letzten Frühjahr 1959 an Essigkarminpräparaten weiter untersucht. Es zeigt sich, dass sich die aus der Mitose eliminierten Elemente zunächst noch weiter vermehren. In Abb. 2 ist ein 4- 8- Zellen-

ABB. 2.

4-Zellenstadium von PS im Übergang zum 8-Zellenstadium. Alter 2 h. 30. (Zucht 151.) In allen 4 Zellen normale 2-polige Mitosen. 3 enthalten, den Mitosesphären seitlich zugeordnet, Haufen eliminierten Chromosomen. In der Anaphase der Zelle rechts oben ca. 21 Chromosomen gezählt. Vergr. 1010 $\times$.

stadium mit den vier Teilungsmitosen gezeichnet. Eine Zelle enthält eine Äquatorialplatte, drei Zellen enthalten Anaphasen. In der Tochterplatte einer dieser Anaphasen konnte die herabgesetzte Zahl von 21 Chromosomen festgestellt werden. Ausserhalb der Mitosenplatten aber enthalten diese Keime eine beträchtliche Zahl von eliminierten, den Mitosestrahlungen seitlich angelagerten Elementen. Sie sind auf die vier Zellen sehr verschieden verteilt. Zwei Zellen enthalten in Abb. 2 den Hauptbestand. Es lässt sich leicht feststellen, dass in diesem, wie in anderen Keimen des gleichen Stadiums die Gesamtzahl der nun

vorhandenen eliminierten Chromosomen die ursprüngliche Anzahl von 32—34 beträchtlich übersteigt. Im Fall von Abb. 2 waren im ganzen Keime ausserhalb der Mitose etwa 50 Chromosomen zu zählen. Mit andern Worten: auch die aus den Mitosen eliminierten Chromosomen haben sich zunächst weiter vermehrt, wenn auch

ABB. 3.

- a b.* Einzelteile aus approximativ 32—64-zelligen PS—Keimen. Alter 7 h. Keime in 13° gezüchtet.
- a.* 2 Zellen mit Metaphasen. Der inneren (der Morulahöhle zugekehrten) Sphäre liegen in beiden Zellen Haufen von eliminierten Chromosomen an. Ohne Camera gezeichnet.
- b.* Äquatorialplatte, vom Spindelpol aus gesehen, mit 20 Chromosomen (in der Fig. nur eine Sphäre gezeichnet). Der Spindel liegen seitlich 31 eliminierte Chromosomen an. Vergr. 2500 ×.

wahrscheinlich nicht im normalen Mass. In Abb. 3 sind Ausschnitte aus 16-32-zelligen Keimen gegeben. Auch hier haben die eliminierten Elemente noch deutlich den chromosomalen Typus. 3a zeigt, den Strahlungen anliegend, zwei Ansammlungen eliminierten Elemente. In 3b ist eine Einzelzelle aus einem solchen Keim gezeichnet. Ihre Äquatorialplatte enthält die reduzierte Zahl von 20 Chromosomen, ausserhalb liegen 34 ausgeschiedene Elemente.

In 8- stündigen jungen Blastulen hat sich das Bild geändert. Dann finden sich in der Wand grosse bis riesenhafte Kernblasen in verschiedener Zahl (Abb. 4), die wir auf das eliminierte Chromatin beziehen müssen, ausserdem zahlreiche Mitosen mit redu-

Abb. 4.

Junge PS- Blastula. Alter 8 h. Essigkarminpräparat. Wandung mit diminierten Kernen und Mitosen. Die überwiegende Masse des eliminierten Chromatins bildet 2 sehr grosse Kernblasen auf der linken Keimseite (Zucht 152.) Vergr. 1010 $\times$.

ziertem Chromosomenbestand (± 21 Chromosomen) und ruhende verkleinerte Kerne. In 14- stündigen, eben ausgeschlüpften Keimen ist das eliminierte Kernmaterial ins Blastocoel übergetreten (vgl. BALTZER 1910, Textfig. V u. VI.) Damit ist auch die weitere Entwicklung anormal. Die Gastrulation ist, wenn sie überhaupt begonnen wird, stärker gehemmt als bei PA.

Es war naturgemäss von Interesse, die Nukleinsäurewerte der beiden Bastardtypen, die das gleiche Eiplasma, aber verschieden sich verhaltendes väterliches Chromatin haben, unter sich und mit den Normalstadien der reinen Arten zu vergleichen.

II. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG.

In einer früheren Arbeit berichteten WHITELEY und BALTZER (1958), dass die Synthese der DNS bei PA, im Vergleich mit den entsprechenden Stadien der mütterlichen Art, eindeutig reduziert erscheint. In der Periode der morphogenetischen Hemmung, d.h. vom späten Blastulastadium an, ist der DNS-Gehalt von PA ungefähr intermediär zwischen den beiden elterlichen Arten. Der RNS-Gehalt dieses Bastards wurde nicht bestimmt. Es ist von Interesse, zu wissen, wie die Reduktion der DNS-Synthese auf das Verhalten der RNS wirkt.

Über das Verhalten beider Nukleinsäuren des PS-Bastards liegt keine Untersuchung vor. Es stellt sich nun die Frage, welchen Einfluss die frühzeitige Herabsetzung des regulären Chromosomenbestandes (auf nahezu die haploide Garnitur) auf die DNS-Synthese hat, und ob die eliminierten S-Chromosomen, mindestens für eine kurze Zeit, DNS zu synthetisieren vermögen. Ferner, wie bei PA, soll die Frage beantwortet werden, ob das Verhalten der RNS durch die Chromosomenelimination beeinflusst wird.

In beiden Bastardkombinationen bestimmten wir den Gehalt an DNS und RNS der 3 elterlichen Arten und verglichen mit den zugehörigen Hybriden.

Es wurde die von SCOTT, FRACCASTORO und TAFT (1956) ausgearbeitete mikrochemische Methode für die Bestimmung der Nukleinsäuren gebraucht. Für die DNS-Messungen an unbefruchteten Eiern betrug die Eizahl pro Bestimmung ca 6000. Für die übrigen Messungen, vom späteren Blastulastadium an, erwiesen sich 500—700 Keime pro Bestimmung als ausreichend. Aus dem Verlauf der Absorptionskurve, der linearen Beziehung zwischen Eizahl und Nukleinsäuremenge und dem Vergleich der Messwerte mit Angaben früherer Autoren ergab sich, dass das angewandte mikrochemische Verfahren für die Bestimmung der Nukleinsäuren an Seeigelkeimen geeignet ist.

1. *Die reinen Arten (PP, AA und SS).*

Wie aus Abb. 5, 6 und 7 ersichtlich ist, verhalten sich bei allen 3 untersuchten Seeigelarten die beiden Nukleinsäuren während

ABKÜRZUNGEN IN ABB. 5 UND 6.

h	Schlüpfen der jungen Blastula aus Befruchtungsmembran.
My	primäres Mesenchym.
Bl My-1	Blastula mit einwanderndem Mesenchym.
Bl My-2	Mesenchymzellen in Blastula zu Ring geordnet.
Ga-1	Beginn der Darm-Invagination.
Ga-I $\frac{1}{2}$ oder Ga- $\frac{1}{2}$	Gastrula mit halb invaginiertem Darm.
Ga-I $\frac{1}{3}$ oder Ga- $\frac{1}{3}$	Gastrula mit vollständig invaginiertem Darm.
Pri	Prisma.
Pl-1 und Pl-2.	Kegelförmige Pluteus-Stadien.

ABB. 5.

Veränderungen des DNS-Gehalts während der Entwicklung von PP (o), AA (x) und PA (⊗).

Ordinate: DNS ($\gamma \times 10^{-3}$) pro Embryo. Abszisse. Alter in Stunden nach der Befruchtung bei 18°C. Die Werte von PP und AA sind nach den Entwicklungsstadien eingetragen, und diejenigen von PA nach dem Entwicklungsalter. Jeder Punkt ist der Mittelwert von 2—3 Bestimmungen. Die vertikalen Linien zeigen die extremen Werte des gleichen Entwicklungsstadiums aus verschiedenen Zuchtserien. Die Kurve für PP vor BlMy-1 ist nach der Angabe von Whiteley und Baltzer (1958) eingezeichnet.

der Entwicklung bis zum jungen Pluteus völlig verschieden: der Gehalt an RNS bleibt nahezu konstant, während der Gehalt an DNS eindeutig zunimmt. Dieses Verhalten ist auch bei anderen Seeigelarten von zahlreichen Autoren nachgewiesen worden. (s. Literatur in CHEN 1959, S. 285).

ABB. 6.

Veränderungen des DNS-Gehalts während der Entwicklung von PP (o), SS (Δ) und PS (⊙). Für weitere Erklärungen siehe Abb. 5.

Die absolute RNS-Menge ist aber bei den 3 untersuchten Arten verschieden: der Mittelwert vom Ei bis zum frühen Pluteus (P1-1) beträgt $5,4 \times 10^{-3}$ pro Embryo für PP, $3,36 \times 10^{-3}$ für AA und $5,13 \times 10^{-3}$ für SS. Da die überwiegende RNS im Cytoplasma lokalisiert ist, sollen die Eigrößen dieser 3 Arten berücksichtigt werden. Das Eivolumen von AA ist 59-, und deren Total-N 64% von PP (WHITELEY and BALTZER 1958; BALTZER, CHEN und WHITELEY 1958; CHEN 1958). PP und SS haben das gleiche Eivo-

lumen und den nahezu gleichen Total-N. Werden die RNS-Mengen pro γ Total-N ausgerechnet, so ergeben sich für die 3 Arten fast die gleichen Werte: 0,42 für PP, 0,38 für AA und 0,35 für SS.

ABB. 7.

RNS-Gehalt der Keime von PP, AA, SS, PA und PS. Für weitere Erklärungen siehe Abb. 5 und 6.

Wie die Kurven in Abb. 5 und 6 zeigen, nimmt DNS bei allen 3 Arten im Laufe der Entwicklung regelmässig zu. Bei PP ist der DNS-Gehalt vom unbefruchteten Ei bis zum frühen Pluteus um das 13,2fache erhöht, bei AA um das 5,7fache und bei SS um das 8,8fache. Aus ihren eigenen Bestimmungen und einer Zusammenstellung der von verschiedenen Autoren angegebenen Messzahlen, stellten WHITELEY und BALTZER (1958, S. 443) fest, dass in der Periode von früher Blastula bis zum mittleren Pluteus die Erhöhung des DNS-Gehalts bei allen untersuchten Seeigelar-ten zwischen dem 6- und 14fachen variiert. Das vorliegende Resultat liegt also in diesem Variationsbereich. Im Alter von 43 Stunden beträgt die DNS-Menge von AA 44,2% von PP. Auch dieses Verhältnis stimmt mit dem Untersuchungsergebnis von WHITELEY und BALTZER gut überein.

2. Die Bastarde (PA und PS).

Für die Bastardkombination PA wurden 2 Entwicklungsstadien für die Bestimmung der Nukleinsäuren gewählt: (1) von später Blastula bis zum Beginn der Gastrulation (MyBl2/Ga-1); (2) das Hemmungsstadium, welches altersgemäss dem frühen bis mittleren Pluteus (P1-1/P1-2) der PP entspricht.

Die DNA-Synthese bei PA steht vom Ende der Blastulation bis zum Beginn der Gastrulation bereits hinter den mütterlichen Kontrollen (82-85% von PP, Abb. 5). Der relative DNS-Gehalt der alten PA (von "Pluteus-Alter"), ist 69-73% der PP im Stadium Pl-1 und 52% der PP im Stadium Pl-2. Die entsprechenden Werte sind 63-67% und 56% nach WHITELEY und BALTZER (1958), die eine ganz andere Methode für die DNS-Bestimmung angewandt haben. Diese Reduktion der DNS-Synthese ist wohl auf die genetische Konstitution des Bastardkeims zurückzuführen.

Die RNS-Werte von PA sind bei allen 3 untersuchten Serien nahezu gleich und unterscheiden sich kaum von denjenigen der mütterlichen Kontrollen (91-107% von PP, Abb. 7). Dies bedeutet, dass der Gehalt an RNS des Bastards nicht durch die Reduktion der DNS-Synthese beeinflusst wird.

Für die Kombination *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂ wurden PP- und SS-Keime von später Blastula (BlMy 1-2) oder früher Gastrula (Ga-1 oder Ga-I½) und PS-Bastarde des entsprechenden Alters aus Parallelzuchten gemessen. Ferner wurden Bestimmungen an PS-Stereoblastulen im Alter von 42h40 und 50h durchgeführt. Wie Abb. 6 zeigt, enthalten die PS-Keime bereits zu Beginn der Gastrulation eindeutig weniger DNS als die PP-Kontrollen (66-76%). Obwohl im Verlaufe der weiteren Entwicklung eine schwache Zunahme der DNS bei PS festgestellt wurde, beträgt der Gehalt solcher alten Stereoblastulen nur noch 32-35% von PP. Der DNS-Gehalt von PP ist ähnlich wie bei SS. Falls alle mütterlichen und die 3-4 zurückgebliebenen väterlichen Chromosomen normal funktionierten, wäre der DNS-Gehalt von PS 58% von PP zu erwarten. (Unsere neuen Untersuchungen im Frühling 1960 bestätigten, dass die DNS-Synthese

von PS nahezu auf die Hälfte der mütterlichen Art reduziert ist. Die genauen Messwerte sollen in einer späteren Publikation veröffentlicht werden.)

Unsere Bestimmungen zeigen also, dass schon in den jungen PS-Stereoblastulen weniger DNS synthetisiert wird, und dass die Diskrepanz, verglichen mit den PP- und SS- Werten, in den späteren Stereoblastulen noch zunimmt. Die eliminierten S-Chromosomen scheinen zuerst noch DNS zu synthetisieren. Der stark herabgesetzte DNS- Gehalt der alten Stereoblastulen ist vermutlich auf die zunehmende morphogenetische Störung des Bastards zurückzuführen.

Bis zum späten Blastula- oder frühen Gastrulastadium ist die RNS-Menge von PS normal (95-98%) (Abb. 7). Damit wird gezeigt, dass die Elimination der S-Chromosomen keine unmittelbare Wirkung auf den RNS-Gehalt hat. Im Alter von 42-50 Stunden ist aber die RNS-Menge von PS nur noch 69-74% von PP. Da das eliminierte Chromatin schon in der jungen PS-Blastula mit einem Teil des Plasmas ins Blastocoel abgestossen wird und verloren geht, könnte der Verlust des Zellmaterials für diesen herabgesetzten RNS-Gehalt verantwortlich sein.

LITERATURVERZEICHNIS

- BALTZER, F. 1910. *Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden.* Arch. Zellf. 5: 496.
- ET AL. 1954. *Über die Entwicklungshemmungen der Seeigelbastarde Paracentrotus ♀ x Arbacia ♀ und Psamechinus ♀ x Arbacia ♂.* Rev. suisse de Zool. Vol. 61: 402.
- CHEN, P. S. und WHITELEY, A. H. 1958. *Biochemical studies on sea urchin hybrids.* Exptl. Cell Research, Suppl. 6: 192.
- CHEN, P. S. 1958. *Further studies on free amino acids and peptides in eggs and embryos of different sea urchin species and hybrids.* Experientia 14: 369.
- 1959. *Über den Nukleinsäure- und Proteinstoffwechsel der Frühentwicklung bei Seeigeln.* Naturf. Ges. Zürich. 104: 248.
- SCOTT, J. F., A. P. FRACCASTORO und TAFT, E. B. 1956. *Studies in histochemistry: I. Determination of nucleic acids in microgram amounts of tissue.* J. Histochem. Cytochem. 4: 1.

- WHITELEY, A. H. und F. BALTZER. 1958. *Development, respiratory rate and content of desoxyribonucleic acid in the hybrid Paracentrotus ♀ x Arbacia ♂*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 30: 402.

N^o 10. **Renate Becker**, Basel. — Bau und Funktion des Genitalsystems von *Bosellia mimetica* Trinchese ¹.

Zoologische Anstalt der Universität Basel.

Bei einer Exkursion 1956 in Villefranche-sur-mer wurde *Bosellia mimetica* — seit 1890 verschollen — zum ersten Mal wiedergefunden (PORTMANN 1958). Der Grund zu diesem Übersehen ist die ungewöhnliche cryptische Wirkung in Gestalt und Färbung. *Bosellia* lebt ausschliesslich auf ihrer Futterpflanze *Halimeda tuna*.

Was ich in dieser Mitteilung zur Kenntnis von *Bosellia* beitragen möchte, soll sich auf Bau und Funktion des Genitalsystems beschränken, soweit ich beides an Hand von eigenen Beobachtungen am lebenden Tier in Neapel und Banyuls und durch das Studium von Schnittserien rekonstruieren konnte. Für meine Untersuchungen wurden von 85 Tieren vollständige Schnittserien hergestellt. Sie umfassen Exemplare von 0,8—10 mm Länge, die von Villefranche, Banyuls und Neapel stammen.

Wir gehen von einem reifen Exemplar von *Bosellia* aus, bei dem die Zwitterdrüsen sowohl reife Eier als auch Spermien entwickelt haben (Fig. 1). Ähnlich wie bei *Elysia* befindet sich die männliche Geschlechtsöffnung vor der weiblichen und auf der rechten Seite des Tieres unterhalb der Rhinophoren. Die Follikel der Zwitterdrüsen sieht man zahlreich im hinteren Körperabschnitt durch die Hautoberfläche durchscheinen. Von diesen gehen die Zwittergänge

¹ Diese Arbeit wurde durch die Unterstützung seitens des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht. Ich danke Herrn Prof. A. Portmann für seine Anregungen und Fräulein E. Sandmeier für ihre technische Hilfe und für die Herstellung der Zeichnungen.

Baltzer, Fritz and Chen, P. S. 1960. "Über das zytologische Verhalten und die Synthese der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden *Paracentrotus Arbacia* und *Paracentrotus* x *Sphaerechinus*." *Revue suisse de zoologie* 67, 183–194.
<https://doi.org/10.5962/bhl.part.75266>.

View This Item Online: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/126512>

DOI: <https://doi.org/10.5962/bhl.part.75266>

Permalink: <https://www.biodiversitylibrary.org/partpdf/75266>

Holding Institution

Smithsonian Libraries

Sponsored by

Biodiversity Heritage Library

Copyright & Reuse

Copyright Status: In Copyright. Digitized with the permission of the rights holder

Rights Holder: Muséum d'histoire naturelle - Ville de Genève

License: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>

Rights: <https://www.biodiversitylibrary.org/permissions/>

This document was created from content at the **Biodiversity Heritage Library**, the world's largest open access digital library for biodiversity literature and archives. Visit BHL at <https://www.biodiversitylibrary.org>.