

Schwebestoffe (cf. 9—11). Der Eisengehalt, der bei einem Trinkwasser 0,2—0,3 mg pro Liter nicht übersteigen soll, läßt sich mikroskopisch meistens noch bei Mengen von 0,1 mg pro Liter mikroskopisch feststellen. Auch mikrochemische Reaktionen (Jodreaktion bei Stärke, Salzsäure-Blutlaugensalz bei Eisenverbindungen, Chlorzinkjod oder Jodschwefelsäure für Zellulose u. a.) können mit Vorteil zugezogen werden.

(21) Die biologische Analyse bietet eine wertvolle Ergänzung der chemischen, physikalischen und bakteriologischen Wasserbeurteilung. Ihre Ergebnisse gehen an Wert sogar teilweise über den der genannten Untersuchungsarten hinaus, da die biologischen Verhältnisse besonders der Ufer- und Grundbeschaffenheit nicht die zur Zeit der Untersuchung bestehende Wasserbeschaffenheit offenbaren, sondern einen Zustand erkennen lassen, der nur durch eine längere Zeit hindurch bestehenden Wasserbeschaffenheit hervorgerufen worden ist.

Über Transplantationen an Amphibienembryonen im Gastrulastadium.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von H. SPEMANN, Dahlem.

Verschiedene Gründe sprechen dafür, daß bei den Amphibienembryonen durch die Gastrulation nicht nur Ektoderm und Entoderm sichtbar geschieden, sondern daß während dieser merkwürdigen Umlagerungsvorgänge schon, wenn auch zunächst noch nicht äußerlich erkennbar, die Anlagen der Hauptorgane des Körpers mehr oder weniger fest bestimmt, determiniert werden. In den Experimenten, über die ich im folgenden berichten will, wurde nun versucht, diese Determination nach der Zeit ihres Eintretens, dem Ort ihres Anhebens und der Art ihrer Ausbreitung genauer zu erforschen. Zu diesem Zwecke wurden größere oder kleinere Teile der ganz jungen Keime verlagert, dadurch dem Einfluß ihrer alten normalen Umgebung entrückt und unter den Einfluß einer neuen abnormen Umgebung gebracht, und zwar in verschiedenen Stadien der Entwicklung, vom ersten Beginn der Gastrulation an bis zum Sichtbarwerden der Medullarplatte.

Material. Operationstechnik.

Die Versuche wurden an den Eiern von *Triton taeniatus* ausgeführt. Diese sind auffallend verschieden gefärbt, und zwar

schwankt nicht nur der Grad der Helligkeit von fast weiß bis tief dunkel, sondern auch der Farbton. Es lassen sich zwei Reihen unterscheiden, die eine von hellgelb bis tief rotbraun, die andere von hellgrau oder hellsepiabraun bis fast schwarz. Da diese Unterschiede sich lange erhalten, so bilden sie ein äußerst wertvolles Mittel, um das transplantierte Stück, welches sonst spurlos in der neuen Umgebung verschwinden würde, noch in späteren Entwicklungsstadien zu erkennen.

Vor der Operation werden die äußeren Hüllen entfernt, am besten auf zweimal, Klebschicht und äußere Kapsel gleich nach der Eiablage oder kurz nach der künstlichen Befruchtung, solange sie noch ganz weich sind, das Dotterhäutchen erst unmittelbar vor der Operation.

Zur Ausführung der beabsichtigten Experimente mußte zunächst die Operationstechnik weiter ausgebildet, vor allem eine Methode ausgearbeitet werden, die es ermöglicht, dem ganz jungen und entsprechend weichen, empfindlichen Keim sehr kleine Stückchen von regelmäßiger Form zu entnehmen und durch gleichgeformte Stückchen eines anderen Keims zu ersetzen. Ich verwendete dazu eine besonders konstruierte Pipette. Die Spitze einer solchen wird kapillar ausgezogen, leicht gekrümmt und sehr genau quer abgeschnitten; seitlich wird ein großes Loch angeblasen und durch einen übergezogenen dünnen Gummischlauch verschlossen, am oberen Ende das gewöhnliche Saughütchen aufgesetzt. Vor dem Gebrauch wird diese Transplantationspipette erst mit der Flüssigkeit, in der man operiert — Wasser oder 0,2 %ige NaCl-Lösung — zum Teil gefüllt, dann mit der rechten Hand gehalten wie eine Feder beim Schreiben, wobei der Daumen auf der gespannten Gummimembran der seitlichen Öffnung liegt. Ein leichter Druck, der sehr genau bemessen werden kann, genügt nun, um eine minimale Menge Flüssigkeit auszupressen, die bei Nachlassen des Drucks wieder eingesogen wird. Zur Operation wird die Mündung der Pipette auf die zu entnehmende Stelle des Keims aufgesetzt; dann wird leicht angesaugt und die sich vorwölbende Papille mit einem in der Fläche gebogenen Lanzettmesserchen abgeschnitten, dem scharfen Rand der Pipettenöffnung entlang abgeschert. Man erhält ein rundes Gewebsscheibchen, nach innen konisch verjüngt, welches leicht gegen ein anderes gleich geformtes aus einer anderen Gegend oder von einem anderen Keim ausgetauscht werden kann.

Im übrigen wurden wieder die schon früher von mir beschriebenen Glasnadeln, Haarschlingen und Glasbrücken verwendet.

I. Experiment: Vertauschung der Anlagen von Hirn-Rückenmark und Epidermis.

Zu Beginn der Gastrulation wurde einem Keim mit der Transplantationspipette ein rundes Scheibchen reines (späteres) Ektoderm entnommen, median in mäßiger Entfernung über dem Urmund, aus einer Gegend also, wo sich nach anderweitigen Feststellungen später Medullarplatte bilden würde, einem anderen, gleich alten Keim ein eben solches Stückchen reines Ektoderm von der Seite gegenüber, welches zu Epidermis der Bauchseite geworden wäre; dann wurden beide Stichproben ausgetauscht und wieder eingeeilt. Da die Farbe der Keime möglichst verschieden gewählt wurde, waren die transplantierten Stücke noch unterscheidbar, nachdem sich die Medullarplatte deutlich mit Wülsten gegen die umgebende Epidermis abgegrenzt hatte, und jedes von ihnen zeigte zugleich die Stelle an, von der das andere stammte. Damit wird man von allen anderweitigen Feststellungen unabhängig und gegen jeden Zweifel über die Herkunft der Stückchen gesichert.

Dieses Experiment ergab nun, daß ein Stückchen Ektoderm, welches an seinem ursprünglichen Ort Epidermis geliefert hätte, zu Medullarplatte und später zu Gehirn oder Rückenmark wird, wenn es in den Bereich verpflanzt worden ist, aus welchem später diese Organe entstehen, während umgekehrt das Stückchen, welches aus diesem Bereich stammt, im Zusammenhang der Epidermis sich ebenfalls zu Epidermis ausbildet. So konnte z. B. der dunklere Keim vorn in der Medullarplatte einen scharf begrenzten helleren Fleck haben, und der hellere Keim hinwiederum vorn in der Haut, ventral vor der Medullarplatte, einen deutlichen dunkleren Fleck, und aus jedem der beiden Keime wurde ein normaler Embryo. Hebt sich das fremde Stück dunkel in der helleren Medullarplatte ab, so sieht man später das betreffende Stück des Gehirns deutlich dunkel durch die Epidermis hindurchschimmern, in einem derartigen Falle z. B. die rechte primäre Augenblase und das Vorderhirn. Die Untersuchung auf Schnitten ergab eine normale Entwicklung der ursprünglich ortsfremden Teile. Daraus lassen sich die folgenden Schlüsse ziehen.

Zu Beginn der Gastrulation ist das Keimmaterial, aus welchem später Medullarplatte und in der Folge Gehirn und Rückenmark werden, und dasjenige, welches später Epidermis bildet, noch nicht oder wenigstens noch nicht fest zu diesem seinem Schicksal bestimmt. Ob es noch ganz indifferent ist, das läßt sich nach diesem Experiment nicht entscheiden und müßte auf anderem Wege geprüft werden.

z. B. durch völlig isolierte Aufzucht einer solchen Stichprobe in einer Nährlösung (HARRISON) oder in einer indifferenten Körpergegend (LEWIS). Aber jedenfalls ist das Material noch in hohem Maße umbildungsfähig; es kann noch sowohl zu Gehirn wie zu Epidermis werden.

In dem Bereich, welcher zu Medullarplatte und später zu Gehirn und Rückenmark wird, muß irgendein Einfluß herrschen, welcher das hierher transplantierte Material veranlaßt, nicht Epidermis zu werden, sondern Gehirn und Rückenmark; dasselbe gilt wahrscheinlich auch für die Epidermis, in deren Bereich transplantiert „Hirnmaterial“, wenn man kurz so sagen darf, zu Epidermis wird.

Auf dieselbe Weise wie die Indifferenz oder Umbildungsfähigkeit des Ektoderms zu Beginn der Gastrulation läßt sich auch seine Determination nachweisen, die mit dem Ablauf der Gastrulation und dem Sichtbarwerden der Medullarplatte rasch fortschreitet und immer mehr ins einzelne geht.

Während der späteren Stadien der Gastrulation transplantiert, fügt sich ein solches präsumptives Stück Epidermis nicht mehr so vollkommen in die umgebende Medullarplatte ein, was um so mehr auffällt, als es zunächst ganz glatt verheilt; es kann aber noch zu einem normalen Teil des Gehirns, z. B. zu einem Auge, verarbeitet werden. Ein präsumptives Stück Medullarplatte, nach Schluß der Gastrulation in die spätere Epidermis verpflanzt, wird unter Umständen nicht mehr zu Epidermis, sondern zu Medullarplatte. Wenn gar die Medullarplatte erst einmal sichtbar geworden ist, so sind auch ihre Teile schon ziemlich bis ins einzelne bestimmt und ebenso die Epidermis. Ein Stück Epidermis, in die Medullarplatte verpflanzt, heilt zwar auch noch ein, wird aber später wieder ausgestoßen; ob regelmäßig, bleibt noch zu prüfen. Ein Stück Medullarplatte, in die Epidermis verpflanzt, heilt ebenfalls zunächst ganz glatt ein: dann aber wird es, ähnlich wie die normale Medullarplatte, von der Epidermis überwachsen und in die Tiefe versenkt. Es scheint also, daß sich in einem bestimmten Entwicklungsstadium der Zusammenhang zwischen Epidermis und Medullarplatte lösen muß, nicht nur an der typischen Stelle längs des normalen Randes, sondern wo immer beide zusammenstoßen. Sehr hübsch wird dies dadurch erläutert, daß ein Stück vom Rand, welches Medullarplatte und Epidermis enthält, in Epidermis eingeheilt nicht ganz in die Tiefe versinkt, sondern nur mit seinem Medullarplattenanteil. — Das überwachsene Stück entwickelt sich nun im Bindegewebe unter der Haut weiter, zu demselben Teil des Gehirns, den es an seinem normalen Ort gebildet hätte. Ein Stückchen z. B. vorn seitlich entnommen, bildet in der Hauptsache

ein Auge. Überschreitet dieses Stückchen die Medullarplatte und greift damit auf die Anlage der Riechgrube über, so bleibt diese letztere im Zusammenhang der Epidermis, etwa auf der rechten Seite des Tiers über der Vorniere, und unter ihr im Bindegewebe liegen Teile des Gehirns und das Auge. In der weit offenen Medullarplatte sind also schon die einzelnen Teile des Gehirns bestimmt; wie weit die Determination ins einzelne geht, bleibt noch festzustellen.

Wie mag nun diese Determination zustande kommen? Ergreift sie das ganze Material gleichzeitig, oder geht sie von einer begrenzten Stelle aus und pflanzt sich dann in bestimmter Richtung fort? Auch zur experimentellen Beantwortung dieser Frage liegt wenigstens ein Anfang vor.

In mehreren Fällen nämlich, wo das Stück zu Beginn der Gastrulation sehr nahe über der Urmundeinstülpung entnommen wurde, entwickelte es sich in der Epidermis eines anderen Keims nicht zu Epidermis, sondern zu Medullarplatte. Wäre in diesem Entwicklungsstadium das Stück in größerer Entfernung über dem Urmund, aber auch noch innerhalb der späteren Medullarplatte, entnommen worden, so hätte es nach den eben mitgeteilten Erfahrungen, in Epidermis verpflanzt, Epidermis geliefert.

Diese Tatsache läßt zwei Erklärungen zu. Endweder ist das Ektoderm in der Nähe des Urmunds schon weiter differenziert als in größerer Entfernung von ihm; oder aber ist zwar das Ektoderm noch indifferent, aber das transplantierte Stück enthielt außer dem Ektoderm noch etwas, was später dessen Differenzierung zu Medullarplatte bewirkt; das müßte die tiefe Schicht sein, welche das Dach des Urdarms bildet und im Bereich der Urmundlippe eng mit der oberflächlichen Ektodermschicht zusammenhängt. In beiden Fällen ist auf eine von hinten nach vorn fortschreitende Differenzierung des Ektoderms zu Medullarplatte zu schließen; aber im ersteren Fall würde sie sich innerhalb des Ektoderms fortpflanzen; im zweiten dagegen würde sie durch die von hinten nach vorn fortschreitende Unterlagerung des Ektoderms mit Ento-Mesoderm während der Gastrulation bedingt. Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten muß durch neue Experimente gesucht werden.

II. Experiment: Änderung der Orientierung des Materials für Gehirn und Rückenmark.

Angenommen, das Ektoderm der oberen Urmundlippe trage schon zu Anfang der Gastrulation, wenn das übrige Ektoderm noch indifferent ist, die Bestimmung zur Bildung von Medullarplatte in

sich, und diese Bestimmung verbreite sich rein im Ektoderm nach vorn und wohl auch etwas nach den Seiten, so müssen wir wohl in den nacheinander in die Differenzierung eintretenden Zellen irgendeine innere Orientierung voraussetzen, durch welche die Ausbreitung des differenzierenden Einflusses geleitet wird; denn es ist doch unwahrscheinlich, daß ein solcher langsam fortschreitender Einfluß — denken wir ihn als Diffusion eines Stoffes — ein Beharrungsvermögen besitzt, durch welches er sich in einem isotropen Material in einer einmal eingeschlagenen Richtung weiter bewegt; und selbst in diesem Fall müßten wir wenigstens für den Anfang der Ausbreitung des differenzierenden Agens eine vorbestimmte Bahn annehmen. Dann ist aber zu erwarten, daß durch eine Störung in der Orientierung der Ektodermzellen, aus denen Medullarplatte werden soll, auch die Ausbreitung des Einflusses und damit die Bildung einer Medullarplatte von normaler Form und Ausdehnung gehindert oder gestört wird. Eine solche Störung einer etwaigen Orientierung würde nun bewirkt durch das folgende Experiment, über welches ich schon vor Jahren (1906) kurz berichtet habe.

Transplantierte kleine runde Scheibchen des Ektoderms lassen sich naturgemäß nicht orientieren; sie sehen ringsum gleich aus. Deshalb wurde die ganze animale Hälfte des Keims zu Beginn der Gastrulation abgeschnitten und, um 90° oder 180° gedreht, wieder aufgeheilt. Das Experiment wird in folgender Weise ausgeführt. Man befreit den Keim im gewünschten Entwicklungsstadium aus dem Dotterhäutchen und wälzt ihn so lange auf dem Wachsboden des Schälchens, bis der Urmund genau symmetrisch liegt, nach oben gerichtet, nach der vegetativen Hälfte hin verschoben. Dann schneidet man mit der Glasnadel die animale Kappe ab. Die Abplattung des breiweichen Keims und der quetschende Druck der Nadel bringen es mit sich, daß der freie Schnitttrand nicht rund, sondern länglich oval ist; dadurch wird es möglich, die beiden Stücke sehr genau um 90° oder 180° gegeneinander zu drehen und in dieser Lage zur Verheilung zu bringen. Verwendet man außerdem zu dem Experiment nicht einen Keim, sondern zwei von verschiedener Farbe, deren Kappen man unter Vornahme der gewünschten Drehung austauscht, so kann man sich zugleich überzeugen, daß die Medullarplatte sich wirklich aus beiden Stücken zusammensetzt und nicht etwa nur an dem unteren sich bildet, welches den Urmund enthält.

Das Ergebnis des Versuchs ist überraschend. Trotz der tiefgreifenden Desorientierung der animalen Kappe entsteht eine normale Medullarplatte, deren vorderer Teil deutlich aus dem gedrehten Stück gebildet worden ist; und zwar findet diese normale Entwicklung

nicht nur nach Drehung um 180° statt, sondern auch nach einer solchen um 90° , also nicht nur dann, wenn bloß vorn und hinten vertauscht worden ist, die sagittale Richtung der Zellplatte dagegen nicht oder nur wenig geändert, sondern auch dann, wenn das vordere Stück der präsumptiven Medullarplatte gradezu quer zum hinteren liegt. Einen solchen Embryo habe ich konserviert und geschnitten, als er stark verzweigte Kiemen und die erste Andeutung von Gabelung an den Vorderbeinchen hatte; ich konnte keine Abnormität irgendwelcher Art an ihm auffinden.

Die Medianebene des Tieres richtet sich nach dem unteren Stück, welches den Urmund enthielt; von dem unteren Stück also geht die Bestimmung des oberen aus. Daß sie sich von der oberen Urmundlippe her durchs Ektoderm ausbreitet, ist im Fall des Experiments sehr unwahrscheinlich; denn das würde, wie oben ausgeführt, eine innere Orientierung der Ektodermzellen in der animalen Kappe zur typisch geregelten Ausbreitung des differenzierenden Einflusses voraussetzen, und diese Orientierung wäre ja gerade durch die Drehung, namentlich die um 90° , in durchgreifender Weise gestört worden. Nun könnte man allerdings annehmen, daß zuerst die innere Orientierung des oberen Stücks vom unteren aus wieder hergestellt wird; aber da dieses sogar größer sein kann als das untere, so hat diese Annahme wenig Wahrscheinlichkeit. Dann bliebe aber nur die Annahme eines differenzierenden Einflusses von seiten des Ento-Mesoderms, welches sich bei der Gastrulation unter das Ektoderm schiebt.

Eine Entscheidung könnte vielleicht erreicht werden, wenn man die Verlagerung erst in späteren Stadien der Gastrulation vornähme und beide Schichten der Rückenplatte zusammen drehte, und zwar um 90° , so daß die präsumptive Medullarplatte und das darunter liegende Stück Dach des Urdarms quer zum übrigen Keim stände. Dieses Experiment habe ich noch nicht ausgeführt, wohl aber die Drehung eines großen Stücks der Rückenplatte um 180° , bei kreisförmigem Urmund und ziemlich kleinem Dotterpfopf. Das Experiment beweist in unserer Frage nicht viel, ist aber in anderer Hinsicht interessant.

Führt man eine solche Umdrehung später aus, nach Sichtbarwerden der Medullarplatte, so entsteht bekanntlich Situs inversus viscerum et cordis (SPEMANN 1906, PRESSLER 1911, MEYER 1913), den ich darauf zurückführte, daß das ausgeschnittene Stück des Urdarmdaches schon eine bestimmte Krümmungstendenz hat, durch die es den ganzen Situs determinieren kann, nach seiner Inversion in inversem Sinn. Da diese Krümmungstendenz eine typische

ist, so muß sie auch auf typische Verhältnisse in früheren Entwicklungsstadien als Ursachen zurückgehen. Es ist daher zu erwarten, daß auch in jenem früheren Entwicklungsstadium gleich nach Ablauf der Gastrulation die Inversion eines mittleren Teils des Darmdachs eine Inversion des ganzen Situs viscerum zur Folge hat, und das ist in der Tat der Fall. Während aber bei jenem früheren Experiment die Teile des umgedrehten Stücks schon so fest determiniert sind, daß sie sich in der einmal eingeschlagenen Richtung unbeirrt weiter entwickeln, sind sie hier, wie aus den oben geschilderten Experimenten hervorgeht, noch in hohem Maße umbildungsfähig. An keinem der Organe, deren Bildungsmaterial aus dem alten Zusammenhang getrennt und in einen neuen gebracht worden war, sind Spuren davon zu bemerken, weder am Zentralnervensystem, noch an Chorda und Muskulatur, noch am Darm; der Embryo ist völlig normal und lebensfähig, weil alles sich ausgleichen konnte. Nur die typisch asymmetrische Wachstumstendenz des gedrehten Dachstückes des Urdarms konnte sich verständlicherweise nicht ändern, und so war Situs inversus die Folge. Der betreffende Embryo wurde mit stark verzweigten Kiemen und schwach gegabelten Vorderbeinchen konserviert und auf Horizontalschnitten untersucht; alle Verhältnisse sind völlig klar und eindeutig.

III. Experiment: Vereinigung gleichseitiger Hälften zweier verschiedener Keime.

Es erhebt sich nun die Frage, ob sich der bestimmende oder umstimmende Einfluß auch nach der Seite hin verbreiten kann. Zur Lösung dieser Frage müßte man eine seitliche Hälfte der beginnenden Gastrula mit einem Keimmaterial in Verbindung bringen, welchem bei normaler Entwicklung ein ganz anderes Schicksal bevorstände. Das läßt sich auf folgende einfache Weise erreichen.

Man wählt zwei gleich große und gleich alte Keime, im ersten Beginn der Gastrulation stehend, spaltet sie genau median, was sich mit einer feinen Glasnadel sehr exakt ausführen läßt, und tauscht die Hälften aus, nun aber nicht so, daß man wieder links mit rechts und rechts mit links zu je einem normalen Embryo verbindet, sondern so, daß rechts mit rechts und links mit links vereinigt wird, wobei die durch den oberen und unteren Pol der Keimhälften gelegten Achsen gleich gerichtet sind und annähernd zusammenfallen. Dann grenzt also das Material, welches später etwa die linke Hälfte der Medullarplatte zu bilden hätte, an solches, dessen normales Schicksal die Bildung von Bauchhaut der linken Seite wäre.

Das Ergebnis des Experiments ist ein ganz klares. Jede Hälfte des Urmunds ergänzt sich zunächst aus dem anstoßenden Material zu einem ganzen Urmund, und dann geht die Entwicklung allem Anschein nach weiter wie normal. An jedem der beiden kombinierten Keime entstehen zwei Medullarplatten, auf entgegengesetzten Seiten gelegen, die zum Teil der einen, zum Teil der anderen Komponente angehören, zum Teil also aus Material sich bilden, welches auch normalerweise zu Medullarplatte und später zu Gehirn und Rückenmark geworden wäre: wir können das die primäre Hälfte nennen, zum Teil dagegen aus Material entstehen, welches ohne den seitlichen Einfluß des angeheilten Partners Bauchhaut geliefert hätte: das ist die sekundäre Hälfte der Platte. Sehr schön sind die beiden Bestandteile zu unterscheiden, wenn man auch zu diesem Experiment verschieden gefärbte Keimhälften verwendet. Man sieht dann auch, daß die Grenze zwischen den beiden Hälften von verschiedener Herkunft keineswegs genau der Medianlinie der Medullarplatte entspricht.

Die beiden Medullarplatten eines jeden Keimes stoßen mit ihrem Hinterende zusammen, anfangs immer durch den querspaltförmigen Urmund getrennt. Die Vorderenden können ineinander übergehen, so daß der Keim von einem Ring von Medullarsubstanz umzogen ist, oder können sie einander genau opponiert sein; am häufigsten aber wachsen sie aneinander vorbei. Die sekundären Hälften sind nämlich meistens etwas schwächer entwickelt als die primären, die Platten daher auf der sekundären Seite eingebogen; nach dieser sekundären Seite hin weichen dann die Köpfe einander aus. Bei dem Keim „rechts—rechts“ z. B. sind an beiden Medullarplatten die rechten Hälften die primären, die linken die sekundären; die Platten sind nach der schwächer entwickelten sekundären Seite, also nach links, ein- oder umgebogen, und nach dieser Seite hin weichen ihre Vorderenden und nachher die Köpfe beim Längenwachstum einander aus. Es sieht aus, als umarmten sich die Embryonen und jeder sähe dabei über die rechte Schulter des anderen. — Häufig, vielleicht meistens, kommt dieses regelmäßige System später aus dem Gleichgewicht, indem sich die Medullarrohre auf der einen Seite einander nähern; ihre Hinterenden drängen den After nach der andern Seite heraus und wachsen dann, teilweise verschmolzen, zusammen weiter. Doch soll hierauf erst in der ausführlichen Darstellung eingegangen werden.

Damit ist gezeigt, daß der fragliche Einfluß, welcher indifferentes Ektoderm zu Medullarplatte umbildet oder wenigstens die Vorbedingung dazu schafft, sich auch nach der Seite hin fortpflanzen

kann. Aller Wahrscheinlichkeit nach gibt die Seite, welche die primäre Urmundhälfte besitzt, der anderen Seite nur den Anstoß zur Gastrulation, und dann erfolgt die weitere Differenzierung von dem ergänzten Urmund aus. Denn würde zuerst die primäre Hälfte von hinten nach vorn fortschreitend differenziert, und griffe die Determinierung erst von da aus auf die andere Hälfte über, so müßte man erwarten, daß diese in der Entwicklung etwas zurückbliebe, was, wie wir gleich sehen werden, keineswegs der Fall sein braucht.

In einigen Fällen war nämlich die eine seitliche Hälfte der zusammengesetzten Keime von Anfang an ein wenig älter als die andere. Diese Hälfte übt nun nicht nur denselben differenzierenden Einfluß auf ihren jüngeren Partner aus, wie eine gleichaltrige Hälfte, sondern sie erleidet auch von ihm denselben Einfluß; d. h. es entstehen auch in diesem Fall die beschriebenen zusammengesetzten Medullarplatten. Daraus folgt zunächst, daß die Möglichkeit zu einer solchen differenzierenden Wirkung einen gewissen zeitlichen Spielraum hat. Das Interessante ist nun aber, daß das ältere Stück den anfänglichen Vorsprung in der Entwicklung beibehält. Es ist nämlich die Medullarplatte auf der Seite des älteren Partners weiter entwickelt als auf der Seite des jüngeren, und zwar nicht etwa nur da, wo die primäre Hälfte der Medullarplatte vom älteren Partner gebildet wird, sondern auch auf der gegenüberliegenden Seite, wo die ältere Hälfte erst nachträglich durch die anstoßende jüngere zur Bildung von Medullarplatte veranlaßt worden ist. Daraus lassen sich mit Wahrscheinlichkeit zwei Schlüsse ziehen. Einmal der soeben erwähnte und begründete, daß der differenzierende Einfluß der primären Urmundhälfte zunächst nur deren Ergänzung aus dem angeheilten Ektodermmaterial bewirkt, und daß dann von diesem ganzen Urmund aus die Differenzierung der Medullarplatte erfolgt, ohne Rücksicht auf die Herkunft des Bildungsmaterials. Sodann der andere Schluß, daß das Material, aus welchem die sekundäre Hälfte der Medullarplatte entsteht, wirklich noch indifferentes Ektoderm ist, d. h. noch nicht in der speziellen Richtung auf Epidermis hin differenziert. Denn hätte es schon den Punkt, wo die Wege zu Medullarplatte und Epidermis sich trennen, in der Richtung auf Epidermis hin überschritten, so müßte sich wohl der Umweg, den das in der Richtung auf Medullarplatte bedeutet, in einer Verspätung der Entwicklung bemerkbar machen. Daß aus dem älteren Stück unter Einfluß des jüngeren eine weiter entwickelte Medullarhälfte entstanden ist, weist darauf hin, daß es vor der differenzierenden Einwirkung in der Zeit, um die es älter ist, Vorstufen durchgemacht

hat, die sowohl für Medullarplatte wie für Epidermis unerlässlich und beiden gemeinsam sind.

IV. Experiment: Erzeugung von Janusbildungen.

Die Vorstellung, welche wir uns auf Grund der geschilderten Experimente gebildet haben, hat nun auch schon eine Probe bestanden, indem sich aus ihr ein Versuchsergebnis ableiten ließ, welches dann tatsächlich eintraf.

Wenn man an zwei Keimen die animalen Kappen abschneidet und dann die unteren Hälften in gleicher Orientierung zur Verheilung bringt, so müssen die von den beiden oberen Urmundlippen ausgehenden „Differenzierungsströme“ nach einiger Zeit aufeinanderprallen und dann nach beiden Seiten aneinanderweichen, bis sie sich erschöpft haben, bis das für die Keimart spezifische Gleichgewicht zwischen Epidermis und Medullarplatte erreicht ist. Mit anderen Worten, es ist bei dem Experiment die Entstehung jener Art von Doppelbildung zu erwarten, welche Janus genannt wird. Und diese entstand in der Tat in mehreren Fällen, wo die Strecken über den oberen Urmundlippen genügend verkürzt waren. Freilich ließe sich dieses Ergebnis des Experiments auch von einer anderen Voraussetzung aus erklären, als von derjenigen, von welcher es abgeleitet worden war, nämlich aus einer Aufstauung des Ektodermmaterials der präsumptiven Medullarplatte, welche in einer gewissen Entwicklungsperiode stärker in die Länge wächst als die präsumptive Epidermis. Jedoch konnte ich trotz besonders auf diesen Punkt gerichteter Aufmerksamkeit im Ektoderm kein Anzeichen einer solchen Aufstauung beobachten; auch spricht die sehr regelmäßige Ausbildung der beiden Vorderenden gegen diese Erklärung. Dagegen muß wohl im Innern ein Zusammenstoß und eine Aufstauung der beiden aufeinander zuwachsenden Vorderenden des Urdarms stattfinden, dessen Material ja nicht verringert worden war, und das würde wieder sekundär die entsprechende Differenzierung der Medullarplatte nach sich ziehen.

Zusammenfassung. Neue Möglichkeiten.

Jedes der mitgeteilten Experimente fordert zu seiner Erklärung die Annahme bestimmter Zustände in den einzelnen Teilen des Keims, bestimmter Arten des Geschehens bei ihrer Entwicklung; es liegt nahe, sich aus ihnen den normalen Entwicklungsprozeß aufzubauen. Ektoderm in gewisser Entfernung vom Urmund kann je nach Umständen zu Medullarplatte oder zu Epidermis werden; der nächstliegende Schluß scheint zu sein, daß es noch indifferent

ist, und auch normalerweise den Anstoß zu spezifischer Entwicklung von anderen Keimteilen her erhält. Es werden das die Teile der nächsten Umgebung sein; aber da diese sich in jenem frühen Entwicklungsstadium als gleich bestimmbar erweisen, so werden sie entweder selbst erst von weiter entfernten Teilen fortschreitend bestimmt werden, oder aber werden ursprünglich entfernte Teile durch Materialverlagerungen in die Nähe gebracht werden. In jenen entfernteren Teilen wird man also die Ursache zur Differenzierung suchen müssen. Nun zeigt sich, daß schon in jenem frühen Stadium das Keimmateriale näher dem Rand der oberen Urmundlippe nicht mehr indifferent ist; es ist also die gegebene Annahme, daß von hier die Differenzierung ausgeht. Diese Annahme schien auch am besten den Tatsachen gerecht zu werden, welche die gemeinsame Entwicklung zusammengeheilter gleichnamiger Gastrulahälften ergab. Nachdem sich der Urmund, wie sich beobachten läßt, aus dem angeheilten Stück ergänzt hat, scheint sich die Differenzierung ohne jede Rücksicht auf die verschiedene Herkunft des Bildungsmaterials von hinten nach vorn auszubreiten. — Diese Ausbreitung erfolgt nun entweder rein im Ektoderm fortschreitend oder durch Vermittlung des sich unterlagernden Ento-Mesoderms. Die erstere Möglichkeit, die Ausbreitung rein im Ektoderm, scheint so gut wie ausgeschlossen in jenem Experiment, bei welchem die animale Kappe der Gastrula um 90° gedreht wurde. Es müßte also die Differenzierung unter Vermittlung des Urdarmdaches, auf welche man in diesem Falle verwiesen wird, dem Keime zum mindesten möglich sein. Zu dieser Auffassung der Entwicklung stimmt auch die Erklärung, welche die geschilderte Erzeugung des Janus nahelegt.

Aber wenn auch die experimentell nachgewiesenen oder wahrscheinlich gemachten „Fähigkeiten“ des Keims völlig hinreichen, um die normale Entwicklung zu erklären, so mahnen uns Erfahrungen, die sich beständig mehren, zur Vorsicht in dem Schluß, daß die normale Entwicklung nun auch wirklich im Geleise dieser unter abnormen Verhältnissen enthüllten Fähigkeiten verläuft. So müßte erst geprüft werden, wozu sich Material der präsumptiven Medullarplatte, welches in Epidermis verpflanzt noch zu Epidermis werden kann, entwickelt, wenn es in ein Medium gebracht wird, von welchem keine differenzierende Wirkung ausgehen kann. Wenn es auch da nicht etwa zu Medullarplatte, sondern zu Epidermis wird oder ganz indifferent bleibt, wenn also ein äußerer Einfluß für seine Differenzierung zu Medullarplatte unerläßlich ist, so fragt es sich, ob dieser Einfluß sich nicht doch rein im Ektoderm ausbreiten kann und vielleicht sogar bei der normalen Entwicklung so aus-

breitet, obgleich sich experimentell ein Fall erzielen läßt, wo die Ausbreitung aller Wahrscheinlichkeit nach nicht in dieser Weise stattfindet. Denn es ist wohl denkbar, daß beim Experiment ein Einfluß von seiten des Ento-Mesoderms aushilfsweise einspringen kann, wenn der etwaige normale Einfluß von seiten des weiter hinten gelegenen Ektoderms unterbrochen oder gestört ist. Wenn es ferner bei der Entwicklung zusammengefügtter gleichnamiger Gastrulahälften sehr wahrscheinlich ist, daß der bestimmende Einfluß von seiten der primären Hälfte sich auf die Ergänzung des Urmunds beschränkt und daß die Bestimmung der Medullarplatte rein von hinten nach vorn von dem ergänzten Urmund aus fortschreitet, so ist damit keineswegs gesagt, daß dieser Einfluß nicht unter anderen Bedingungen auch rein im Ektoderm in seitlicher Richtung fortschreiten könnte, wie es z. B. Roux für gewisse Fälle seiner Postgeneration annimmt.

Wenn nun auch die Fähigkeiten des werdenden Organismus, die sich uns unter gewissen abnormen Bedingungen enthüllen, noch nicht notwendig zugleich die Faktoren sind, welche die normale Entwicklung beherrschen, so sind sie darum nicht weniger vorhanden und nicht weniger interessant, ist darum vor allem ihre Kenntnis nicht weniger wichtig als methodische Voraussetzung tieferen Eindringens. Darüber zum Schluß noch einige Worte.

Die Vervollkommnung der Operationstechnik durch die oben geschilderten Methoden läßt manche neuen Versuche ausführbar erscheinen, die bisher aussichtslos waren. So hat die Kleinheit der transplantierten Stücke in verschiedener Hinsicht ihre eigenen Vorteile. Der nächstliegende ist der, daß eben verhältnismäßig kleine Keimbezirke auf ihr Schicksal und ihre selbständige Entwicklungsfähigkeit hin geprüft werden können. So habe ich damit begonnen, die Medullarplatte ganz systematisch auf die Lokalisation ihrer Anlagen zu prüfen, in der oben schon angedeuteten Weise, daß am einen Embryo der Defekt festgestellt wird, den das entnommene Stück hinterläßt, am andern die Entwicklung eben dieses durch Transplantation isolierten Stücks unter der Haut. Wenn man einmal auf diese Weise eine topographische Karte der Hirnregionen in der Medullarplatte hergestellt hat, so kann man später einzelne Anlagen nach Belieben ausschalten oder durch andere ersetzen.

Wenn man die Keime von verschiedener Farbe wählt, so können die kleinen, transplantierten Stücke als Marken für Materialverschiebungen und Wachstumsverschiedenheiten dienen, und zwar sowohl das Stück als Ganzes, als auch die Form seines Umrisses. So behält ein Stück Ektoderm im vorderen Teil der Medullarplatte

seinen anfänglich runden Umriß nahezu unverändert bei, während es sich weiter hinten zu einem langen, schmalen Streifen auszieht, ein sicheres Zeichen dafür, daß vom Beginn der Gastrulation bis zur Ausbildung der Medullarplatte in deren hinterem Teil ein ausgiebiges Längenwachstum stattfindet, im vorderen Teil dagegen nicht. Bisher hat man solche Marken immer durch Anstich erzielt; die neue Methode kann als Ergänzung dienen und hat in manchen Fällen ihre eigenen Vorzüge. Wenn solche Marken ins Innere des Keims verlagert werden, z. B. bei der Gastrulation, so entziehen sie sich der weiteren Beobachtung während des Lebens, und wenn es sich um Defektmarken handelt, wohl auch meist der späteren Feststellung auf Schnitten. Dem letzteren ließe sich abhelfen, wenn es gelänge, solche transplantierte Stücke als Marken zu verwenden, welche dauernd einen histologischen Unterschied bewahren; das heißt also, wenn es gelänge, artfremdes Material zu transplantieren. Das wäre auch in anderer Hinsicht wertvoll.

Über die Einheilung und Erhaltung artfremden Materiales liegen schon seit BORNS ersten Versuchen Erfahrungen vor. Ich selbst habe durch Ersatz des rechten Vorderendes der Medullarplatte von *Rana esculenta* durch das entsprechende Stück von *Bombinator* ein Auge erzeugt, dessen Retina *Bombinator* angehörte, während die Linse von *Rana* geliefert war. Eine weitere Ausdehnung solcher Versuche scheint mir einmal dadurch möglich, daß man sehr kleine Stücke transplantiert, welche vielleicht weniger schädigend wirken, und dann dadurch, daß man möglichst nahe-stehende Formen kombiniert. Das wären nach den Rassen, deren Gewebe wohl nicht unterscheidbar sein werden, vor allem die Bastardformen, namentlich solche mit derselben Art als Mutter, welche also das Eiprotoplasma gemeinsam haben, z. B. Keimteile von *Triton cristatus* ♂ × *Triton taeniatus* ♀ in *Triton taeniatus*.

Das Experiment der Vereinigung ganzer Gastrulahälften läßt mehrere Variationen zu. Die nächstliegende und dabei vielleicht interessanteste ist die, daß man von zwei gleich alten Keimen die gleichen Seiten austauscht, also die linke Hälfte des Keimes A mit der rechten Hälfte des Keimes B und umgekehrt zu zwei neuen, normalen Keimen vereinigt. Dabei könnten halbseitige Zwitter entstehen, welche bei Amphibien besonders interessant wären, weil hier die Geschlechtsdrüsen einen Einfluß auf die sekundären Sexualcharaktere zu haben scheinen. Das Experiment geht; es fehlte mir bloß die Zeit, es in größerem Umfang auszuführen und die Embryonen lang genug aufzuziehen.

Der wichtigste methodische Fortschritt liegt aber vielleicht in der jetzt gegebenen Möglichkeit, in so frühem Stadium zu operieren, daß das Keimmaterial zum Teil wenigstens noch ganz indifferent oder umbildungsfähig ist. Man kann also gewissermaßen dem Keim fremdes Material zur Verarbeitung darbieten, welches in irgendeinem Punkt abnorm ist. Als Beispiel mag die Umdrehung eines Stücks der Rückenplatte dienen, das eine Mal kurz vor Beendigung der Gastrulation, das andere Mal nach Sichtbarwerden der Medullarplatte vorgenommen. Beide Male entsteht Situs inversus viscerum. Aber während im einen Fall die von der Umdrehung betroffenen Teile schon so fest determiniert sind, daß die Spuren des Eingriffs nicht mehr verwischt werden können und die Entstehung eines normalen Embryos unmöglich ist, können sich im anderen Fall noch alle etwaigen Unstimmigkeiten ausgleichen; nur die dem Darmdach innewohnende asymmetrische Wachstumstendenz kann sich nicht ändern, und so entsteht ein im übrigen ganz normal gebauter, lebensfähiger Embryo mit Situs inversus.

Als noch größer würde sich der eben erwähnte Vorteil der frühzeitigen Operation heraus stellen, wenn der Keim imstande sein sollte, auch artfremdes Material zu verarbeiten. Ich will ein bestimmtes Beispiel herausgreifen. Ein Stück Ektoderm, gleichgültig aus welcher Gegend, in das Gebiet der späteren Epidermis gebracht, liefert Epidermis, welche sich nach meinen bisherigen Erfahrungen weiter genau so verhält, als wäre sie von Anfang an für diesen ihren neuen Ort bestimmt gewesen. Sollte sich nun ein Stück Ektoderm einer anderen Art ebenso verhalten, so könnte man zusammengesetzte Organe erzeugen, etwa ein Beinchen, dessen Skelett, Muskulatur, Bindegewebe dem *Triton taeniatus* angehört, die Epidermis dagegen *Triton cristatus* oder dem Bastard. Aus solchen Kombinationen ließen sich dann wertvolle Schlüsse ziehen auf die Rolle, welche die einzelnen Gewebsarten, z. B. die Epidermis, bei der Formgebung spielen. Auch für das Gelingen dieses Experiments habe ich schon bestimmte Anhaltspunkte.

Über einige sibirische Wühlmäuse, insbesondere *Microtus oeconomus* (AUCT.).

VON A. JACOBI.

Eine Sammlung kleiner Säugetiere, die von K. und O. FRITSCHÉ 1908 in der Landschaft Kultuk an der Südwestecke des Baikalsees angelegt worden war, ist im Kgl. Zoologischen Museum in Dresden verwahrt und gibt mir Anlaß zu den folgenden Bemerkungen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin](#)

Jahr/Year: 1916

Band/Volume: [1916](#)

Autor(en)/Author(s): Spemann Hans

Artikel/Article: [Über Transplantationen an Amphibienembryonen im Gastrulastadium. 306-320](#)