

# Über Störungen der Eientwicklung bei Kreuzungen von *Epilachna chrysomelina* F. mit *Epilachna capensis* Thunb.

VON

Eduard H. Strasburger

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Hirnforschung, Berlin-Buch)

Mit 5 Textfiguren

Eingegangen 13. Mai 1936

Die Eier der von K. Zimmermann<sup>1)</sup> beschriebenen Formen von *Epilachna chrysomelina* und *capensis* wurden von mir histologisch untersucht. Es hatte sich nämlich ergeben, daß aus den Kreuzungen der *E. capensis* aus Kapstadt (K) mit der Alger- und Cypernrasse von *E. chrysomelina* niemals Larven hervorgehen. Es sollte der Zeitpunkt und die Art des Entwicklungsstillstandes ergründet werden. Es wurden untersucht: Normalbefruchtete Eier von Alger (A), Cypern (C) und Kapstadt (K), unbefruchtete Eier dieser drei Formen und sodann die Kreuzungen  $K\text{♀} A\text{♂}$ ,  $A\text{♀} K\text{♂}$ ,  $K\text{♀} C\text{♂}$ ,  $C\text{♀} K\text{♂}$ . Die Eier wurden an Kürbispflanzen abgelegt. Sie wurden täglich einmal eingesammelt und im Thermostaten bei 25° C weitergezogen.

Fräulein L. Körner und Frl. I. von Guttenberg, die mir beim Sammeln und Präparieren des Materials behilflich waren, möchte ich meinen herzlichsten Dank sagen.

Zuvor sei ganz kurz die normale Embryonalentwicklung von *Epilachna chrysomelina* geschildert, soweit sie für den vorliegenden Fall von Interesse ist.

An den Eiern lassen sich die beiden Pole mit Sicherheit voneinander unterscheiden infolge der polaren Struktur des Chorions. Ausnahmslos ist das Chorion am Hinterende glatt und trägt dort meist eine scheibenförmige Bildung: die Anheftungssubstanz des Eies. Im übrigen trägt das Chorion eine wabenförmige Struktur und diese Waben sind am Vorderende besonders tief. Die Furchungszellen wandern wie bei zahlreichen anderen Insekten mit gleicher Geschwindigkeit gegen die Eioberfläche hin, so daß eine Zellsphäre von elliptischem Längsschnitt entsteht. Die Zellen treten alle fast zu gleicher Zeit in das Keimhautblastem ein, jedoch pflegen sie ein wenig früher an den Eiseiten und am Vorderpol einzutreten als hinten. Die eintretenden Zellen wölben die Ei-Oberfläche etwas nach außen vor, teilen sich weiter und grenzen sich gegeneinander und gegen das Eiinnere durch Wände ab. Im Innern sind einige Vitellophagen sichtbar geworden (Fig. 1a). Das Blastoderm wird nun an der

<sup>1)</sup> Siehe vorstehende Arbeit in diesem Heft!

Dorsalseite flacher und an der Ventralseite höher: die erste Anlage des Keimstreifs (Fig. 1b). Die Verdickung ist dabei auf ein Gebiet beschränkt, das

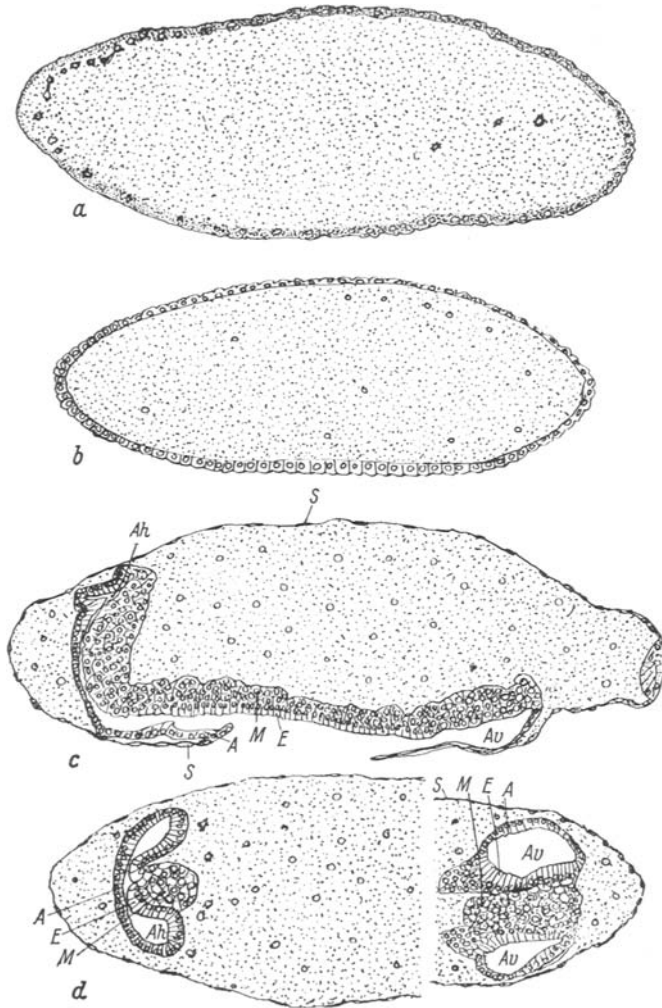


Fig. 1. Fixierung aller Eier in Carnoy. Im absoluten Alkohol wurden sie angestochen und über Methylbenzoat-Celloidin weitergeführt. Färbung Hämatoxylin nach Heidenhain. Schnittdicke  $9\ \mu$ . Alle Figuren wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat entworfen. Fig. 1; Vergr. 65, Normalentwicklung. Hinterenden links, Ventralseiten unten, Eihäute fortgelassen. a) Algier befruchtet, 0—1 Tag alt. Im Innern Vitellophagen. — b) Algier befruchtet, 1—2 Tage alt, sagittal. Im Innern Vitellophagen. Verdickung des Blastoderms gleich Anlage des Keimstreifs. — c) Cypren befruchtet, 1—2 Tage alt, sagittal. — d) Cypren befruchtet, 1—2 Tage alt, horizontal (Kombination aus zwei Schnitten desselben Eis, das Vorderende ist ventraler getroffen). *E* = Ektoderm; *M* = Mesoderm; *A* = Amnion; *S* = Serosa. *Av* = vordere, *Ah* = hintere Amnionhöhle.

die Ventralseite und die Seiten umfaßt und die Rückenseite in der hintersten Eiregion, nicht aber das Vorderende des Eies. Dies ist wesentlich im Hinblick auf die Beurteilung der abnormen Eier. In der bekannten Art senkt sich der Keimstreif in der Medianlinie ein (unteres Blatt) und lagert sich unter die äußere Zellschicht, das Ektoderm (Fig. 1c). Währenddem senkt sich der Keim auch an den Polen in den Dotter ein, wobei die Embryonalhüllen, Amnion und Serosa gebildet werden, die (in einem etwas älteren Keim als dem der Fig. 1c) ganz über dem Keim zusammenwachsen. Die Serosa wird dabei äußerst dünn, nur am Vorderpol des Eies bleiben die Zellen immer höher. Der Keim schiebt sich dann, besonders mit seinem Caudalende, noch tiefer in den Dotter hinein, so daß er sich auf die Dorsalseite herüberbewegt. In

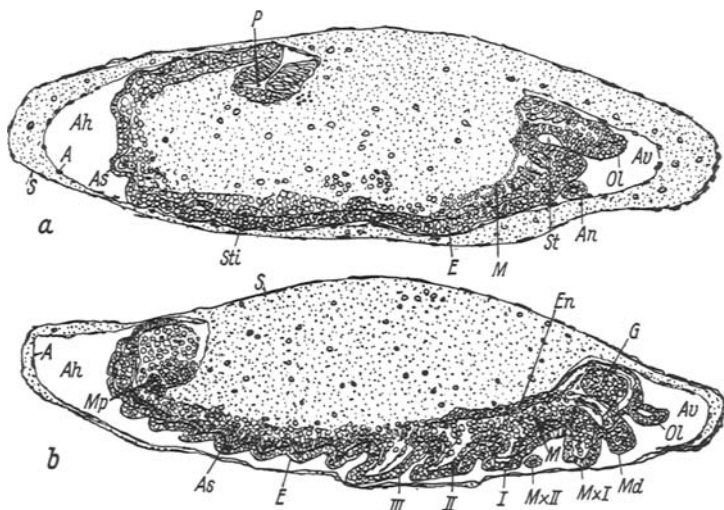


Fig. 2. Vergr. 65, Normalentwicklung. Orientierung der Eier wie in Fig. 1, Eihäute fortgelassen. *a*) Cypern befruchtet, 3—4 Tage alt, sagittal, *b*) Kapstadt befruchtet, 3 bis 4 Tage alt, sagittal. *Av* = vordere Amnionhöhle, *Ah* = hintere Amnionhöhle, *A* = Amnion, *S* = Serosa, *Ol* = Oberlippe, *St* = Stomodaeum, *An* = Antenne, *E* = Ektoderm, *M* = Mesoderm, *Sti* = Stigmen, *As* = Abdominalsegmente, *P* = Proctodaeum, *G* = Gehirn, *Md* = Mandibel, *Mx1*, *Mx2* = Maxillen, *I—III* = Beine, *En* = Entoderm, *Mp* = Malpighische Gefäße.

Fig. 2 *a* sind auch bereits alle Körperanhänge ausgebildet, der Keim ist aber etwas windschief getroffen, so daß die Stigmen und zugleich Vorder- und Enddarm zu sehen sind. Die von dem Amnion ausgekleideten Höhlen sind gut ausgebildet. Fig. 2 *b* zeigt das etwas ältere Stadium des wieder verkürzten Keimes.

Bei der Untersuchung der nicht entwicklungsfähigen Eier der Kreuzungen mußte zunächst entschieden werden, ob die Eier auch wirklich befruchtet waren. Dies ist nur auf zweierlei Art möglich: 1. Durch Chromosomenzählungen; 2. wenn sicher unbefruchtete Kontrolleier sich histologisch wesentlich von den

Kreuzungseiern unterscheiden. — Die diploide Chromosomenzahl beträgt 18 (Fig. 5). Die Fig. 5*g* und *h* sind nach Mitosen eines unbefruchteten Keimes gezeichnet, über welchen ich unten Näheres sagen werde. Sie zeigen die haploide Chromosomenzahl. Demgegenüber ist nun in den daraufhin untersuchten Kreuzungseiern eindeutig die diploide Anzahl festzustellen (Fig. 5*b*, *c*: K♀ A♂, *d*—*f*: K♀ C♂).

Die histologische Untersuchung von mehreren hundert unbefruchteten Eiern der Kapstadt-, Alger- und Cypernform ergab nun folgendes. Die Eier bleiben auf verschiedenen frühen Stadien stehen. Eine große Anzahl der unbefruchteten Eier zeigt überhaupt keine Entwicklungsspuren. Furchungszellen werden nicht sichtbar, und die Eier verfallen schließlich vollkommen.

In anderen findet man wenige verstreute Plasmainseln, die auch hin und wieder in gleichem Abstand von der Eioberfläche unter dem Blastem liegen. In keinem Falle konnte ich Kerne in ihnen finden. Offenbar sind diese schon degeneriert. Dies und die unregelmäßige Verteilung dieser Plasmainseln läßt

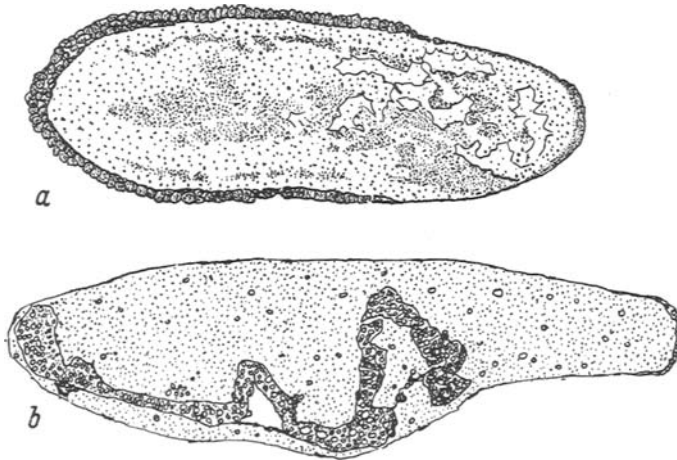


Fig. 3. Vergr. 65. Unbefruchtete Eier, Hinterenden links, Eihäute fortgelassen. *a*) Alger, 2—3 Tage alt, wahrscheinlich horizontal, *b*) Cypern, 2—3 Tage alt, sagittal. Beschreibung s. im Text.

den Schluß zu, daß diese Eier auf einem etwas älteren Stadium versagen als die zuerst erwähnten. In einer Anzahl der unbefruchteten Eier findet man nun auch ein Blastoderm. Dieses kann (wie bei einigen unbefruchteten Kapstadt-Eiern) regelmäßig ausgebildet sein, und noch Kernreste zeigen. In allen anderen Fällen waren keine Kerne darin nachzuweisen. Es ist meistens einseitig ausgebildet und zwar am Hinterende stets bedeutend stärker als vorne, wo nur ganz minimale Zellreste nachweisbar sind (Fig. 3*a*). Es ist hinten vielschichtig, die Zellen ungewöhnlich klein und unregelmäßig angeordnet. Aber das ganze Lageverhältnis läßt doch mit großer Wahrscheinlichkeit sagen, daß sich in diesen Eiern noch ein Einfluß geltend machte, der in normalen Eiern zu der Anlage des Keimstreifs in der oben beschriebenen Lage führt.

Weiter fortgeschrittene Stadien waren bei den unbefruchteten Eiern nie auffindbar mit einer einzigen Ausnahme (Fig. 3 b). Dieses Ei befindet sich in dem Stadium der Fig. 2 a etwa. Das untere Blatt ist abgeschnürt, der Keim hat sich stark gestreckt, ohne aber dabei in typischer Weise auf die Rücken-  
seite überzugreifen. Er ist dafür stark gestaucht. Vorder- und Hinterende sind stark mißgebildet und gehen in große Blasen über. Mitosen sind zahlreich vorhanden. Das Amnion und seine Höhlen sind nicht oder nur ganz anormal

ausgebildet. Die Serosa ist aber weitgehend normal, ebenso die Verteilung der Vitellophagen. Die Chromosomenzählung (Fig. 5 g, h) ergab die haploide Anzahl. — Eine allgemeine Betrachtung zeigt aber, daß die unbefruchteten Cypren-Eier im übrigen meist mangelhafter entwickelt sind als die von Kapstadt und Algier, da sie nur in seltensten Fällen überhaupt Blastodermdeutungen zeigen.

Bei der Besprechung der Kreuzungseier können zuerst die Kreuzungen  $K\varnothing A\delta$ ,  $A\varnothing K\delta$  und  $K\varnothing C\delta$  gemeinsam behandelt werden, da sie keine wesentlichen Unterschiede erkennen lassen. Dagegen unterscheidet sich  $C\varnothing K\delta$  von ihnen. Es wurden rund 500 Kreuzungseier untersucht. Da die Eiablage sehr zu wünschen übrig ließ, konnten die Eier nur täglich einmal eingesammelt werden. Dies schließt also eine zu genaue Feststellung der Entwicklungsgeschwindigkeit aus.

Wie bei den unbefruchteten Eiern findet sich eine ziemlich große Anzahl solcher, die gar keine Entwicklungsspuren zeigen, weder Kerne noch Plasmainseln im Einnern. Aber gegenüber den

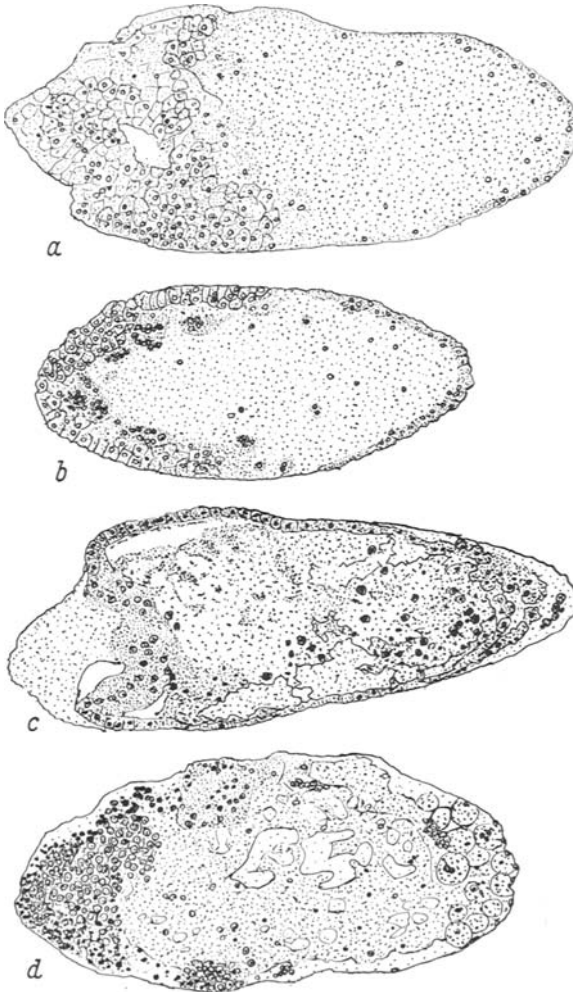


Fig. 4. Vergr. 65. Eier von Kreuzungen, Hinterenden links, Eihäute fortgelassen, Beschreibung s. im Text. a)  $K\varnothing C\delta$ , 0—1 Tag alt; b)  $K\varnothing C\delta$ , 0—1 Tag alt, anderes Ei; c)  $A\varnothing K\delta$ , 1—3 Tage alt; d)  $K\varnothing A\delta$ , 3—4 Tage alt.

unbefruchteten ist der Prozentsatz hier erheblich geringer. In den meisten der Kreuzungseier sind im Gegensatz zu den unbefruchteten Eiern eindeutig Kerne zu sehen, die in allen Stadien der Degeneration, aber auch ganz normal (in Mitose) sein können. In den Fig. 4 *a—d* sind verschiedene Phasen dieser pyknotischen Kerndegeneration zu sehen. Das Endstadium besteht darin, daß nur noch schwarze Körnchen (Chromatin und Nukleolensubstanz) zurückbleiben, die Kernwand oder -vakuole aber verschwunden ist. Nun sind im Gegensatz zu den unbefruchteten Eiern auch normale Furchungsbilder zu finden; ebenso aber kommen wiederum pathologische Formen dieses Stadiums zur Beobachtung in Gestalt von verzerrten Sphären oder kernlosen, unregelmäßig verteilten kleinen Inseln. Normal aussehende Blastodermstadien sind gar nicht selten. In einem regelmäßig entwickelten einschichtigen Blastoderm liegen normal aussehende Kerne, häufig in Mitosen. Unter diesen Blastodermen liegen aber nun bereits in manchen Fällen ungewöhnlich viele freie Zellen, die vielleicht in älteren Eiern zu den in Fig. 4 *b* gezeigten Zellnestern führen (s. u.). Gehen die Eier bereits im Stadium des frühen Blastoderms (noch ohne Zellgrenzen) zugrunde, so resultieren eigenartige perlschnurartige gebaute Blasteme, in denen kernlose Plasmainseln aneinander gereiht liegen. Bleibt die Entwicklung etwas später stehen, so ergeben sich wieder die schon für die unbefruchteten Eier beschriebenen kernlosen, vielschichtigen und unregelmäßigen Blastoderme, die, falls die Anlage des Keimstreifs schon erfolgt war, einseitig am Hinterende gelegen sind. — Einen anderen häufigen Typus der Mißbildung des Keims zeigt die Fig. 4 *b*. Wie immer ist das Blastoderm am Hinterende bedeutend stärker ausgebildet als vorne, aber auch vorne ist es deutlich erkennbar. Es ist hinten vielschichtig und enthält Kerne. Im Eiinnern liegen Vitellophagen. Auffallend sind die eigenartigen Zellnester, die überall hinten unter dem Blastoderm liegen. Sie sind in dieser Lage unter der Eioberfläche sehr typisch, sind oft kugelig und bestehen aus sehr zahlreichen Kernen, die in eine relativ geringe Plasmamasse eingebettet sind. Wieder ein anderer Typus ist in Fig. 4 *a* dargestellt. Das Ei enthält in den vorderen zwei Dritteln nur einige wenige Kerne. Das hintere Drittel ist erfüllt von einer kompakten kernhaltigen Zellmasse, die den ganzen Eiquerschnitt durchsetzt. Auch dieses Ei enthält in anderen Schnitten die erwähnten Zellnester. Gegenüber diesen beiden Typen sind an dem dritten ebenso häufigen (Fig. 4 *c*) noch einige normale Züge zu erkennen. In diesem Ei nämlich ist ein ziemlich normal aussehendes kernhaltiges Blastoderm sichtbar, welches hier nur vorne unterbrochen ist. Dort liegen in einer serösen Masse große kugelige Zellen, die sicher keine Vitellophagen sind. Etwas dahinter aber ist das Eiinnere von ungewöhnlich vielen pyknotischen Vitellophagen erfüllt. Das Hinterende zeigt eine Art Invagination des dort stark verdickten Blastoderms. Dieses Bild ist dem der normalen Invagination des Keimstreifhinterendes in den Dotter sehr ähnlich. Die Entwicklung ist aber an diesem Punkte stehen geblieben und das Ei begann zu verfallen. — Man findet noch weiter fortgeschrittene Eier (bei K♀ C♂ in mehreren Fällen); in diesen ist die Invagination des unteren Blattes und der Pole in den Dotter weit gediehen. Die Zellen

sehen normal aus. Aber das Fehlen jeglicher Andeutung von Embryonalhüllen kennzeichnet diese Eier als nicht normal. In Kreuzungseiern, die das Alter besitzen (4 Tage), in dem die normalen kurz vor dem Schlüpfen stehen (bei 25° C nach 5—6 Tagen) fand ich nur noch Bilder extremen Verfalls (Fig. 4*d*). Im Eiinnern flottieren Ballen locker aneinandergfügter Zellen, deren Kerne häufig schon ganz degeneriert sind. Diese Ballen liegen nur ganz selten in der vorderen Eihälfte, aber stets sind sie am Hinterende vorhanden. Das abgebildete Ei zeigt auch noch verstreute Vitellophagen, die zum Teil (vorne) mit ihrem ganzen Zelleib sehr deutlich hervortreten, weil sie nur von homogener Ei-flüssigkeit umgeben sind. Auch die Zellnester finden sich hier wieder. Die Serosa ist nicht vorhanden. Andere Eier dieses Alters sind naturgemäß weitere Verfallsformen der verschiedenen Stadien ihres Entwicklungsstillstandes. — Die qualitative Mannigfaltigkeit der Absterbeformen und die vielerlei Übergänge machen eine klassenmäßige Erfassung und prozentuale Vergleichung der Entwicklungsfähigkeit der einzelnen Gruppen undurchführbar. —

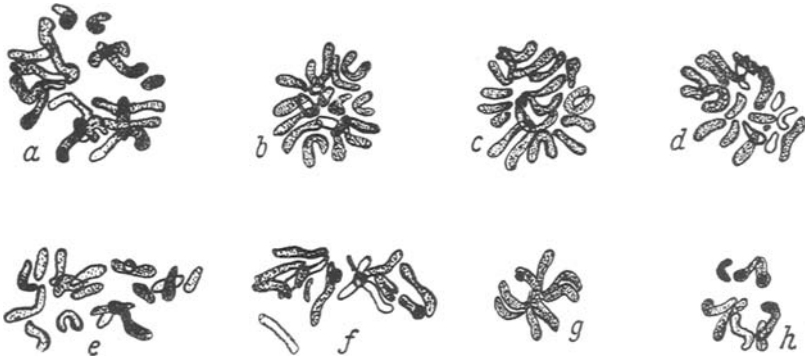


Fig. 5. Vergr. 2400. Chromosomenzählung. Späte Prophasen bis Metaphasen. *a*) Kapstadt befruchtet, etwa 18 Chromosomen zählbar; *b*) K♀ A♂, 18 Chromosomen. Das Ei ist im Zustand der Fig. 4*d*; *c*) Derselbe Schnitt wie in *b*), 18 Chromosomen; *d*—*f*) K♀ C♂. *d*) und *e*) 18 Chromosomen; *f*) etwa 18 Chromosomen; *d*) Ei im Zustand der Fig. 4*b*; *e*) Ist das Ei der Fig. 4*a*); *g*) und *h*) Cypren unbefruchtet, das gleiche Ei; 8—9 Chromosomen, aus dem Ei der Fig. 3*b*.

Die Eier der Kreuzung C♀ K♂ unterscheiden sich in meinem Material insofern von den bisher beschriebenen, als sie viel weniger weit gelangen. Sie kommen nur äußerst selten bis zur Bildung eines Blastoderms, welches in zwei Fällen Kerne enthielt, aber schon degenerativ aussah. Ob diese geringe Entwicklungsfähigkeit der C♀ K♂-Kreuzung mit der geringen Entwicklungsfähigkeit der unbefruchteten Cypren-Eier in irgendeinem Zusammenhang steht, ist natürlich nicht zu entscheiden. Es muß auch daran erinnert werden, daß bei so unentwickelten Eiern infolge Fehlens von auszählbaren Mitosen die Entscheidung nicht möglich ist, ob überhaupt eine Befruchtung eingetreten war.

Als Ergebnis kann festgehalten werden, daß von allen Eiern der vier Kreuzungen bestenfalls das Stadium der Fig. 1*c* etwa erreicht wird. Dann

steht die Entwicklung still, die Kerne werden pyknotisch, die Zellen kugeln sich ab und die Gewebe ballen sich zu Komplexen in der hinteren Eihälfte zusammen. Dotter und Eiflüssigkeit scheiden sich voneinander. Es entstehen Vakuolen, und die Eier fallen schließlich stark zusammen.

Um einen Vergleich mit den normalbefruchteten Eiern zu erlangen, wurde auch bei diesen eine Feststellung der pathologischen Fälle versucht. Dies ist nicht ganz exakt möglich, da naturgemäß in den jüngeren Stadien die Feststellung, wie weit das Entwicklungsbild normal ist, schwer fällt und selbstverständlich kann nie sicher vorausgesagt werden, wie sich diese Eier zu Ende entwickelt hätten. Aber mit großer Wahrscheinlichkeit läßt sich doch sagen, daß von etwa 1000 durchsuchten normalbefruchteten Eiern wenigstens 90 % normal waren. Die restlichen 5—10% bieten Bilder der Degeneration, die sich ohne weiteres mit denen bei den Kreuzungseiern und zum Teil den unbefruchteten Eiern vergleichen lassen. Neben ganz kernlosen Eiern, die keine Spur einer Entwicklung (z. B. auch der üblichen Umschichtung des Eiplasmas) zeigen, findet man wieder die kernlosen vielschichtigen Blastodermreste, aber auch Stadien in Art der Fig. 4d mit Ballen abgekugelter Zellen im Eihinterende und Zellnestern unter der Oberfläche.

Um die Ergebnisse nun zusammenzufassen, kann folgendes gesagt werden. Die normalbefruchteten Eier der Algier-Cypern- und Kapstadt-Populationen von *Epilachna* entwickelten sich zu 90—95 % normal. Eier der Kreuzungen  $K\varnothing A\delta$ ,  $A\varnothing K\delta$ ,  $K\varnothing C\delta$ ,  $C\varnothing K\delta$  entwickelten sich in keinem Falle normal bis zum Ende. Sie erreichten bestenfalls das Stadium des Keimes mit unterem Blatt, dessen Enden in den Dotter eingesenkt sind. Sie starben auf den verschiedensten Entwicklungsstufen ab. In ihnen waren fast immer Kerne oder deren Reste aufzufinden. Chromosomenzählungen ergaben die diploide Zahl.

Die unbefruchteten Eier der drei Formen entwickelten sich ein Stück weit, aber bedeutend schlechter als die der Kreuzungen; diese hatten vielleicht vor ihnen die kräftige Entwicklungsanregung durch das Spermium voraus, wenn auch die Zusammenarbeit der verschiedenen Keimplasmen nur bis zu frühen Entwicklungsstadien funktionierte. Kerne waren in ihnen nie (in ein paar Eiern zweifelhafte Reste) nachzuweisen. Das weiteste erreichte Stadium war das des Blastoderms. Ein Ei war weiter entwickelt und zeigte Mitosen. Es wurde die haploide Chromosomenzahl festgestellt. In allen degenerierten Eiern lagen die Zellmassen in der hinteren Eihälfte. In dieser konzentrieren sich auch in der normalen Frühentwicklung die größten Zellmassen. Die Typen der Degeneration waren bei allen Eiern im Grunde die gleichen. Bei den unbefruchteten Eiern fehlten natürlich die Degenerationsformen der älteren Stadien.