

to have an important bearing on the problem. However, no substance tested so far matches the many-sided action of tryptamine described above.

D. M. ROSS

Department of Zoology, University College, London,  
January 22, 1957.

#### Zusammenfassung

Es wird über pharmakologische Versuche mit Tryptamin an den Sphinctermuskeln und den ringförmigen Muskeln der Seeanemonen *Calliactis parasitica* und *Metridium senile* berichtet.

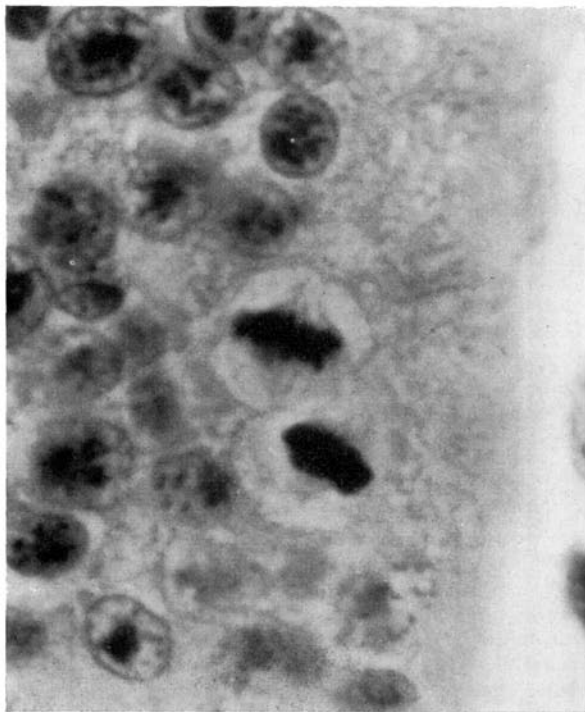
### Der Einfluss der Befruchtung mit Spermagemisch auf die Ribonukleinsäure während der embryonalen Entwicklung der Regenbogenforelle

Eine wichtige Frage der chemischen Embryologie ist die Klarlegung des Zusammenhanges zwischen den Nukleinsäuren und der Vitalität des Embryos. BRACHET<sup>1</sup> zeigte, dass das Absterben der Letalhybriden während der Gastrulation von einer gestörten Nukleinsäuresynthese begleitet ist. Diese konnte auch von anderen Forschern (CHEN<sup>2</sup>, GREGG und LØVTRUP<sup>3</sup>) nachgewiesen werden. Für die Voraussetzung, dass zwischen den Nukleinsäuren und der Vitalität des Embryos ein Zusammenhang besteht, sprechen auch die Befunde von TRIFONOVA<sup>4</sup>. Auch unsere früheren Versuche an Forelleneiern zeigen einen wahrscheinlichen Zusammenhang zwischen der Resistenz des Embryos gegen ungünstige Einflüsse der Umwelt und der Menge der Nukleinsäuren im Embryo (CHURÝ und PÁNEK<sup>5</sup>).

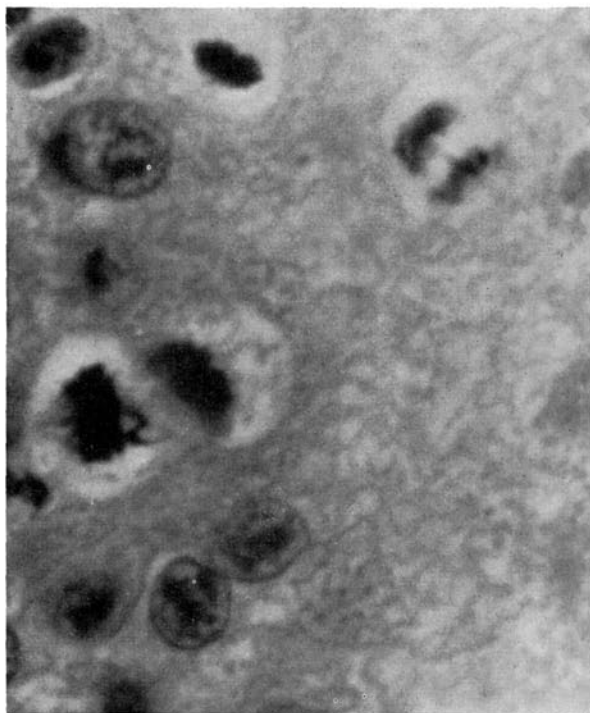
An diese Versuche anknüpfend verfolgten wir die täglichen Veränderungen der Ribonukleinsäure während der embryonalen Entwicklung der Regenbogenforelle einerseits und den Einfluss der Befruchtung mit Spermagemisch auf die Ribonukleinsäure andererseits. Die Befruchtung der Forelleneier wurde künstlich durchgeführt. Insgesamt wurden 1500 Eier benutzt. Die Eier wurden in zwei Gruppen von je 750 geteilt. Die eine Gruppe (I) wurde mit 1 ml Sperma, die zweite Gruppe (II) mit 1 ml Spermagemisch befruchtet. Das Spermagemisch wurde aus zwei gleich grossen Spermamengen hergestellt. Die Befruchtung wurde immer nur mit gut beweglichen Spermien durchgeführt. Diese wurden mikroskopisch kontrolliert. Nach der Befruchtung wurden die Eier in Brutapparaten mit Wasserleitungswasser bis zum Ausschlüpfen aufbewahrt. Während der Entwicklung der Eier schwankte die Wassertemperatur um 11,5°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Die Ribonukleinsäure wurde täglich im Zeitintervall von 24 h nach der Methode von DAVIDSON *et al.*<sup>6</sup> bestimmt. Zur Bestimmung dienten nur Eier, welche in der Hoferschen Lösung (DEMOLL und MAIER<sup>7</sup>) aufbewahrt wurden. Jede Bestimmung wurde an 5 Eiern durchgeführt und fünfmal wiederholt.

Die Menge der Ribonukleinsäure wurde auf ein Ei umgerechnet. Gleichzeitig mit der Bestimmung der Ribonukleinsäure wurde die Entwicklung makro- und mikro-



a



b

Schnitt durch den Embryo der Regenbogenforelle am 10. Tage der Entwicklung. Abbildung a Gruppe I. Zwei Metaphasen. Gut ausgebildete Spindel. Abbildung b. Gruppe II. Anaphasenbrücke und Abspaltung der Chromosomen in der Metaphase. Färbung: Hämatoxylin/Eosin.

<sup>1</sup> J. BRACHET, *Embryologie chimique* (Paris 1947).

<sup>2</sup> P. S. CHEN, *Exper.* 10, 212 (1954).

<sup>3</sup> J. R. GREGG und S. LØVTRUP, *Biol. Bull.* 108, 29 (1955).

<sup>4</sup> A. N. TRIFONOVA, *Izv. Akad. Nauk SSSR, biol.* 1, 67 (1955).

<sup>5</sup> J. CHURÝ und K. PÁNEK, *Scripta med.* 27, 203 (1954); 29, 128 (1956).

<sup>6</sup> J. N. DAVIDSON *et al.*, *Biochem. J.* 44, 5 (1949).

<sup>7</sup> R. DEMOLL und H. N. MAIER, *Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas* (Stuttgart 1924), S. 438.

Entwicklungs- tag	Stadium	Gruppe I	Gruppe II
		Ribonukleinsäure γ/Ei	Ribonukleinsäure γ/Ei
0	O . . . . .	unbestimmbar	unbestimmbar
1	4 Blastomeren . . . . .	18	22
2	Morula . . . . .	21	18
3	Blastula . . . . .	18	16
4	Frühgastrula . . . . .	11	15
5	Frühgastrula . . . . .	21	19
6	Mittelgastrula . . . . .	20	24
7	Mittelgastrula . . . . .	18	20
9	Spätgastrula . . . . .	16	32
10	Spätgastrula . . . . .	14	24
11	Gehirn und Organe Differentiation . . . . .	35	28
12		12	23
13		13	23
14		15	25
15		19	22
16	makroskopisch sichtbare Augenpigmentierung	21	16
17		14	17
18		16	19
19		17	20
21	makroskopisch sichtbare Augenpunkte . . .	20	23
22		23	20
23		21	19
25	Schlüpfen . . . . .	25	24

skopisch verfolgt und die Bilder mit den Angaben und Abbildungen von PASTEELS<sup>8</sup> verglichen.

Bei den angegebenen Temperaturverhältnissen begann die Gastrulation am 4. Tag und endete am 10. Tag nach der Befruchtung der Eier. Vergleichen wir die Geschwindigkeit der Entwicklung der Eier mit den Angaben im Schrifttum, zum Beispiel mit jenen von DEVILLIERS und ROSENBERG<sup>9</sup>, so verlief die Gastrulation in unseren Versuchen schneller. Dies kann durch höhere Wassertemperatur erklärt werden, da die Geschwindigkeit der Entwicklung der Regenbogenforelle von der Temperatur stark abhängig ist (SCHÄPERCLAUS<sup>10</sup>).

Makroskopisch konnten keine Unterschiede in der Entwicklung zwischen der 1. und der 2. Gruppe festgestellt werden. Mikroskopisch wurden bei den Embryonen der 2. Gruppe am 9. und 10. Tag der Entwicklung Mitoseaberrationen aufgefunden. Diese bestanden meistens in Chromosomenklumpung, Chromosomenabspaltung und Anaphasebrücken (Abb. 1b).

Die Veränderungen der Menge der Ribonukleinsäure während der Entwicklung der Regenbogenforellen-embryonen in der 1. und 2. Gruppe sind übersichtlich in der Tabelle angeführt.

Die Angaben der Tabelle zeigen, dass unbefruchtete Eier der Regenbogenforelle keine chemisch bestimmbare Ribonukleinsäure enthalten. Diese Tatsache wurde früher von VAN DER GHINST<sup>11</sup> festgestellt. Die Frage, ob wirklich gar keine Ribonukleinsäure in den unbefruchteten Eiern der Regenbogenforelle vorkommt, bleibt aber weiteren Untersuchungen offen. Ich möchte hier nur an die Arbeit von MARSHAK<sup>12</sup> erinnern, in der gezeigt wurde, dass das Ausbleiben einer positiven Reaktion auf Nukleinsäuren nicht immer mit der völligen Abwesenheit dieser Säuren verknüpft sein muss. Andererseits zeigen die Angaben der Tabelle, dass während der embryonalen Entwicklung eine Synthese der Ribonukleinsäure in den Forelleneiern stattfindet, entsprechend früheren Angaben (VAN DER GHINST<sup>11</sup>). Unsere Befunde zeigen weiter, dass während der embryonalen Entwicklung der Regenbogenforelle die Ribonukleinsäuremenge um einen durchschnittlichen Wert mehr oder weniger schwankt. Die Schwankungen werden durch Befruchtung mit einem Spermagemisch verstärkt, am stärksten während der zweiten Hälfte der Gastrulation und während der Entwicklung des Embryos zwischen der beendeten Gehirndifferentiation und der makroskopisch sichtbaren Augenpigmentierung. Die Unterschiede zwischen der Ribonukleinsäuremenge in der 1. und der 2. Gruppe sind am 9., 11., 12., 13. und 14. Tag nach der Befruchtung der Eier statistisch hoch bedeutsam ( $P = 0,002$  oder kleiner). Zur Zeit der stärksten Schwankungen des Ribonukleinsäuregehaltes in den Eiern der 2. Gruppe gibt es häufige Mitosestörungen. Es ist unsicher, ob diese auf eine Störung der Thymonukleinsäuresynthese zurückzuführen sind, weil diese Säure nicht bestimmt wurde. Vergleicht man die Kerne der Abbildung 1a und 1b und die Mitosefiguren, so kann man mit Vorsicht die Voraussetzung machen, dass bei den Eiern der 2. Gruppe doch eine Störung der Thymonukleinsäuresynthese während der Mitose vorhanden sein könnte.

Während der ganzen Entwicklungszeit beträgt die durchschnittliche Menge der Ribonukleinsäure pro Ei in der 1. Gruppe 18 γ, in der 2. Gruppe 21 γ. Da die Sterblichkeit der Embryonen während der embryonalen Entwicklung in der 2. Gruppe um 42% kleiner war als die Sterblichkeit der Embryonen der 1. Gruppe, kann angenommen werden, dass der Ribonukleinsäure während der embryonalen Entwicklung eine wichtige Rolle bei der Gestaltung der Vitalität zukommt. Unsere Befunde stützen somit die Voraussetzung von TRIFONOVA<sup>4</sup>.

J. CHURÝ

<sup>8</sup> J. PASTEELS, Arch. biol. 47, 205 (1939).

<sup>9</sup> CH. DEVILLIERS und J. ROSENBERG, C. r. Acad. Sci. Paris 237, 1561 (1953).

<sup>10</sup> W. SCHÄPERCLAUS, Lehrbuch der Teichwirtschaft (Berlin 1933).

<sup>11</sup> M. VAN DER GHINST, Arch. Biol. 45, 729 (1934).

<sup>12</sup> A. MARSHAK und C. MARSHAK, Exp. Cell. Res. 5, 288 (1953).

Biologisches Institut der Fakultät für Veterinärmedizin,  
Brno (Tschechoslowakei), den 3. Januar 1957.

## Résumé

La fécondation des œufs de la truite avec du sperme mélangé influence la quantité d'acide ribonucléique au cours de la gastrulation. L'augmentation de l'acide ribonucléique est accompagnée d'une réduction de la mortalité des embryons. L'œuf non fécondé ne contient pas d'acide ribonucléique chimiquement déterminable. Cet acide est synthétisé au cours du développement à partir de la fécondation des œufs. Il n'est pas certain que la fécondation avec du sperme mélangé trouble la synthèse de l'acide thymonucléique pendant la mitose.

## Larvale und imaginale Mitteldarmchromosomen von *Drosophila repleta*

Die morphologische Untersuchung der Chromosomen in Interphasekernen ist – abgesehen von heterochromatischen oder künstlich aus Interphasekernen isolierten Chromosomen – hauptsächlich an den Riesenchromosomen der Dipterenlarven möglich. Deren Ausbildung und Struktur variiert von Art zu Art wie auch von Gewebe zu Gewebe in der gleichen Larve<sup>1</sup>. Sie sind in ihrem Entwicklungsgrad und in ihrer endgültigen Form stark von äusseren Faktoren abhängig. Sie stellen somit dynamische Elemente dar<sup>2</sup>, deren Ausbildung entweder während der Metamorphose der Larve oder mit dem Absterben der Imago beendet ist. Da zum Beispiel die Malpighischen Gefässe nicht histolysiert, sondern von der Imago übernommen werden (vgl. BODENSTEIN<sup>3</sup>) kann die Entwicklung der larvalen Chromosomen in diesen Organen in der Imago fortschreiten, und in älteren Fliegen erreichen die Chromosomen fast die Grösse der Speicheldrüsenchromosomen der Larven. Ausser diesen ursprünglich larvalen Chromosomen kann man bei *Drosophila repleta* (auch bei *D. subobscura*) in imaginalen Zellen des Darms der älteren Fliegen deutlich Inter-

phasechromosomen beobachten, die aber im Vergleich zu grossen larvalen Chromosomen sehr klein sind<sup>4</sup> (Abb. a–e). Sie bestehen in manchen Kernen aus fast vollkommen despiralisierten, nicht gepaarten dünnen Fäden, auf denen sehr kleine chromomerenartig gefärbte Stellen erkennbar sind. In anderen Kernen kommen in verschiedenem Grade kontrahierte, gepaarte oder völlig synaptische Chromosomen vor. Die Chromomeren auf den gepaarten Chromosomen scheinen grösser und stärker gefärbt als die auf nicht gepaarten, während sie im synaptischen Zustand der Homologen nicht erkennbar sind. Diese Chromosomen sind homogen gefärbt und spiralig. Ihre Länge und Färbbarkeit variiert von Zelle zu Zelle wie die der nicht synaptischen Chromosomen. Solche Stadien werden auch an larvalen Chromosomen zu Entwicklungsbeginn beobachtet (Abb. b). Hier folgen sie normalerweise so hintereinander, dass in jüngeren Kernen die despiralisierten Typen vorliegen, die spiraligen Chromosomen aber in grösseren Kernen vorkommen. Da eine solche Reihenfolge in imaginalen Zellen nicht festgestellt werden konnte, lässt es sich nicht entscheiden, ob die spiraligen Stadien der larvalen und der imaginalen Chromosomen einander entsprechen und die Entwicklung der letzteren aus unbekannten Gründen stehen bleibt<sup>5</sup> oder ob eine neue Despiralisation und Trennung der Homologen stattfindet.

Die kontrahierten Chromosomen der nicht zerplatzten Kerne vereinigen sich mit einem oder beiden Enden in der Nähe des Nukleolus. Hier bilden sie ein Chromozentrum, welches aus einigen schwach chromatischen Fäden besteht und mit dem Nukleolus in Verbindung steht. Von dieser Stelle aus verteilen sich die spiraligen Chromosomen, vielfach gewunden, in einer offenbar regelhaften regionalen Verteilung im Kernraum.

Dieses auch an larvalen Mitteldarmchromosomen zu Entwicklungsbeginn beobachtete Verhalten der Chromosomen ähnelt den Übergangsstadien der Chromosomen von Prophase zu Metaphase in sich teilenden Zellen und spricht für die Auffassung, dass jedes Chromatid einen um seine Längsachse gewundenen, an manchen

<sup>1</sup> W. BEERMANN, Naturwissenschaften 37, 543 (1950); Chromosoma 5, 139 (1952). – M. BREUER und C. PAVAN, Chromosoma 7, 371 (1955). – A. SENGÜN, Comm. Fac. Sci. Univ. Ankara 1, 187 (1948); Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul, Ser. B 20, 267 (1955).

<sup>2</sup> T. S. PAINTER, Cold Spring Harbor Symposium on quantitative Biology 9, 47 (1941). – E. BORYSKO, Bull. John Hopkins Hosp. 92, 151 (1953).

<sup>3</sup> D. BODENSTEIN, in *Biology of Drosophila* (New York 1950).

<sup>4</sup> Präparation der Fliegen in physiologischer Kochsalzlösung. Vorfixierung in 60% Essigsäure mit stark verdünntem Orcein. Färbung mit 2% Aceto-Orcein. Auswaschen in Alkohol. Einbetten in Euparal.

<sup>5</sup> Die Beobachtung von quergestreiften Chromosomen im Darmepithel einer unbestimmten Dipterenart macht es wahrscheinlich, dass die Entwicklung bei *D. repleta* auf dem spiraligen Stadium stehen bleibt.



Interphasechromosomen aus zerplatzten Kernen des Mitteldarmes einer Fliege (a, d und e) und einer Larve (b und c). Abbildung b stammt aus einer kleinen, c einer grossen Zelle. – Alle Abbildungen sind mit einem Reichert-Mikroskop, Ok. 10× und Ölimmer. Obj. 100× gezeichnet.