



Embryonalentwicklung des Knochenfisches *Epiplatys dageti*, Cyprinodontidae

Sigurd Heinig

Die Begleitpublikation zum Film E 2147

„*Epiplatys dageti* (Cyprinodontidae) – Embryonalentwicklung, Discoidale Furchung“

von Sigurd Heinig besteht aus 2 Teilen:

dem Text zur Filmveröffentlichung aus dem Jahr 1975

und aktualisierten, zusätzlichen Informationen aus dem Jahr 2009.

© IWF Wissen und Medien gGmbH, 2009

IWF Wissen und Medien gGmbH
Nonnenstieg 72, 37075 Göttingen
Fon: +49 (0)551 5024 0
www.iwf.de

IWF

WISSEN UND MEDIEN
KNOWLEDGE AND MEDIA

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 2147/1975

Epiplatys dageti (Cyprinodontidae)
Embryonalentwicklung, Discoidale Furchung

Mit 4 Abbildungen

GÖTTINGEN 1975

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Epiplatys dageti (Cyprinodontidae) **Embryonalentwicklung, Discoidale Furchung**

S. HEINIG, Marburg

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Jede Embryonalentwicklung ist gekennzeichnet durch eine Vielzahl von Bewegungsvorgängen, Zellteilungen und Umschichtungen der im Ei vorhandenen Strukturen und der neu entstehenden Blasteme. Unsere Kenntnisse über die Vorgänge in der Knochenfischentwicklung stützen sich vorwiegend auf Untersuchungen an *Salmo*, *Fundulus* und *Oryzias* (LUTHER [12], OPPENHEIMER [13], [14], TRINKAUS [18] u. a.).

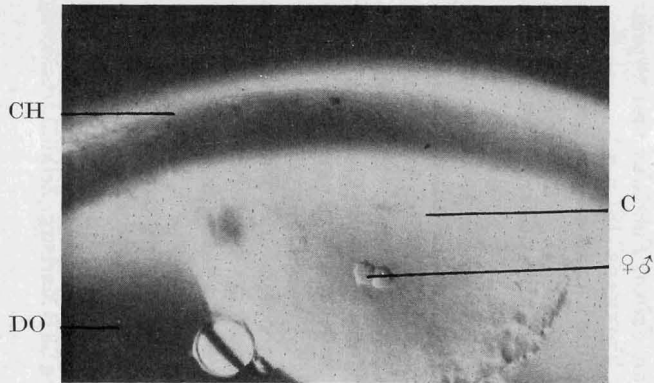
Zum größten Teil handelt es sich dabei um kausalanalytische Arbeiten eng begrenzter Entwicklungsabschnitte (PASTEELS [15], TRINKAUS [18], u. a.), ohne daß die Normalentwicklungen in allen Einzelheiten bekannt wären (vgl. HERTWIG [6]).

Erst in neuerer Zeit (ARMSTRONG [1], BALLARD [2], [3], [4], WOURMS [20], [21], [22]) sind einige Beschreibungen von Normalentwicklungen erschienen, ohne aber die genaue histologische Analyse zu betreiben.

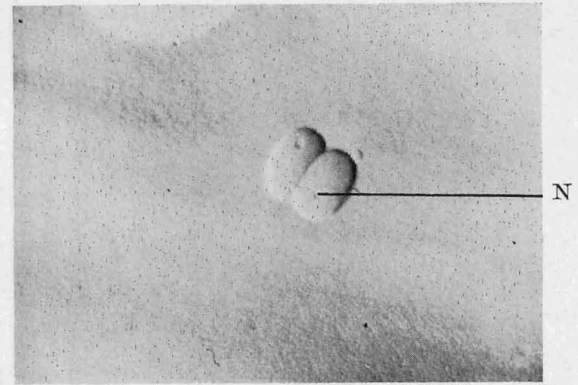
Die vorliegende Serie von Filmen soll die vorhandenen Untersuchungen ergänzen und einen Beitrag leisten zum besseren Verständnis der Bewegungsvorgänge im Teleosterei.

Direkt nach der Besamung treten starke Veränderungen zuerst an der Eioberfläche auf: Durch Abgabe der unter der Eioberfläche gelegenen Vakuolen tritt eine völlige Umschichtung der gesamten Eioberfläche ein, in deren Verlauf zum einen die Cortex (Deckschicht), zum anderen der perivitelline Raum entsteht (DEVILLERS [5], LEWIS [10], TRINKAUS [17]). Dieser Vorgang dauert nur wenige Sekunden, analog den Vorgängen am Seeigleis. Aber auch Untersuchungen an *Physarum* (WOHLFAHRT-

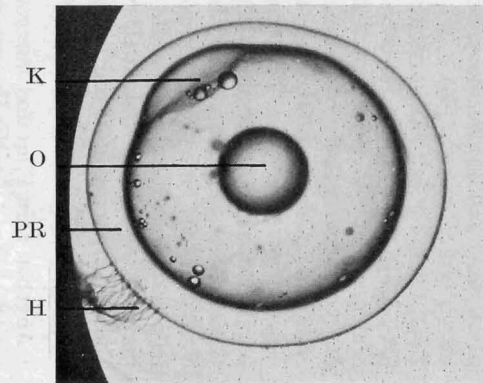
¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 12. — Mit Unterstützung des SFB Marburg, Zelldifferenzierung u. Zellenergetik.



1a



1b



2

Abb. 1 a. Die Abbildung zeigt den animalen Pol zum Zeitpunkt maximaler Einwölbung des Cytoplasmas ins Eiinnere

C: Cytoplasmaansammlung; Ch: Chorion; Do: Dotter, ♀♂: weiblicher und männlicher Vorkern

Abb. 1 b. Weiblicher und männlicher Vorkern in engem Kontakt. Deutlich sind die Nucleolen zu erkennen

N: Nucleolus

Abb. 2. Das Keimscheibenplasma wölbt sich vor und überragt die Peripherie der Eizelle. Hierauf erfolgt die erste Furchungsteilung

H: Haftfäden am Chorion, in deren Mitte die Mikropyle liegt; K: Keimscheibenplasma; O: Oeltropfen; PR: perivitelliner Raum

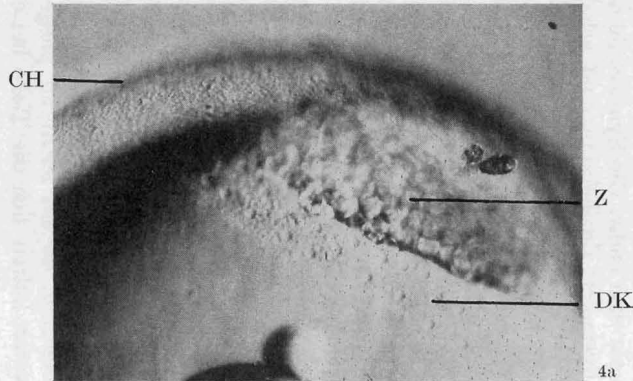
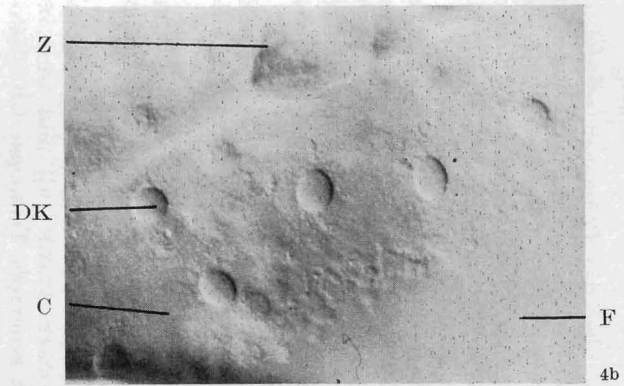
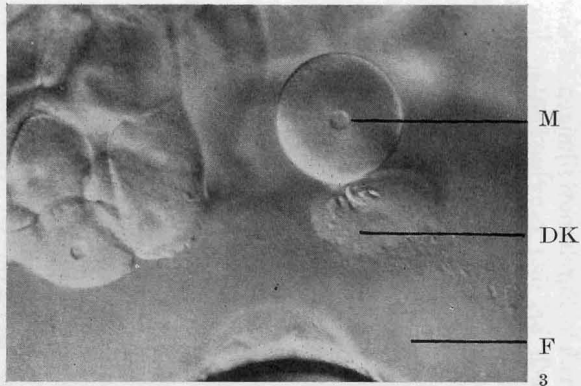


Abb. 3. Von der Marginalzelle wird durch differentielle Zellteilung eine kleinere Zelle mit einem Kern abgegeben. Die Wände dieser Zelle lösen sich auf, so daß der Kern frei im Periblasten liegt

Dk: Dotterkern; F: freie Eioberfläche; M: Marginalzelle
 Abb. 4a. Die Dotterkerne liegen in mehreren Kränzen vor der Blastomerenkappe und bilden jetzt das Dottersyncytium

Ch: Chorion; Dk: Dotterkern; Z: Zellen der Blastula
 Abb. 4b. Bei stärkerer Vergrößerung ist deutlich die Veränderung des peripheren Cytoplasmas im Wirkungsbereich der Dotterkerne zu erkennen

C: Cytoplasma stark granuliert; Dk: Dotterkerne; F: freie Eioberfläche; Z: Zellen der Blastula

BOTTERMANN [19]) geben Aufschlüsse über das Phänomen sekundenschneller Veränderung und Reparatur von Zelloberflächen. Ausgelöst durch die Besamung hebt eine Umlagerung des Cytoplasmas an, welches sich am animalen Pol konzentriert. In dieser Plasmaansammlung laufen die Reifungs- und Befruchtungsprozesse ab. Für *Fundulus* konnte HUYER [8] zeigen, daß das ablagereife Ei auf Metaphase II steht.

Während das Plasma zum animalen Pol hinströmt, zunächst nach innen eingewölbt, liegen weiblicher und männlicher Vorkern sehr lange nebeneinander, ohne daß sichtbare Veränderungen eintreten (Abb. 1). Später wölbt sich das Cytoplasma als Kappe vor, die beiden Vorkerne lösen ihre Membranen auf und gehen sofort in die erste Furchungsteilung ein (Abb. 2).

Vom Seeigel ist bekannt (LONGO [11]), daß die beiden Vorkerne sehr bald ein Syncarion bilden, welches die für die folgende Furchungsteilung notwendige DNS-Synthese durchmacht.

Auf Grund der Aufzeichnungen scheint bei *Epiplatys* die DNS-Synthese in den Vorkernen abzulaufen, was aber durch autoradiographische Untersuchungen noch zu bestätigen wäre.

Die Plasmakappe am animalen Pol vergrößert sich durch Zuströmen peripher gelegenen Cytoplasmas (ROOSEN-RUNGE [16]) und wird im Laufe der weiteren Entwicklung durch synchrone Teilungen den Blastomeren zugeordnet. Ab dem 9. Teilungsschritt verliert sich die Synchronie mehr und mehr. Die Synchronie der frühen Furchungsteilungen ist eine allgemeine Erscheinung und erhält sich bei den verschiedensten Vertretern bis ungefähr zum 9. Teilungsschritt. Morphologische Unterschiede der Blastomeren treten ab dem 7. Teilungsschritt derart auf, daß sich die Marginalzellen deutlich in Form und Größe von den übrigen Blastomeren absetzen.

Durch differentielle Teilungen werden aus den Marginalzellen in einem offensichtlich einmaligen Vorgang die sog. Dotterkerne ausgeschleust. Diese neue Population von Kernen vermehrt sich mehrmals synchron und besiedelt sowohl den zentralen als auch peripheren Periblasten (KOPSCH [9]) (Abb. 3 u. 4).

Über die Bedeutung dieses Dottersyncytiums lassen sich nur Vermutungen anstellen: So soll es eine Bedeutung bei der Epibolie und der Determination der Embryonalachsen spielen (DEVILLERS [5]). Sicher aber erfüllt es eine Mittlerfunktion zwischen Dotter und dem darüber gelegenen Kapillarsystem während der späten Embryonalentwicklung, wenn der Dotter resorbiert wird und dem Embryo als Nahrung dient.

Zur Entstehung des Films

Epiplatys dageti (früher *chaperi*) (Cyprinodontidae), der Querbandhechtling, ist ein leicht zu pflegender, eierlegender Zahnkarpfen. Am besten halten sich die Tiere bei ca. 19—23°C; das Wasser sollte über

einen Kiesfilter mit Torfeinlage gesäubert werden. Härtegrade und pH-Werte des Wassers können über einen großen Bereich schwanken, ohne daß die Tiere Schaden nehmen.

Als ideales Futter erweist sich die stummelflügelige Form (vestigial) von *Drosophila melanogaster*, doch wird auch jedes andere Lebend- und Trockenfutter genommen.

Unter diesen Bedingungen konnten im IWF in Göttingen mehrere Pärchen mühelos gepflegt werden.

Zur Eigewinnung braucht man nur künstliche Algenwatte in das Aquarium zu geben. Zu Beginn der Hellperiode (im IWF in Göttingen Hell : Dunkel = 14 h : 10 h) laichen die Tiere in diesem Substrat ab. Die Eier bleiben mit ihren Haftfäden in der Watte hängen. Sie sind so widerstandsfähig, daß sie leicht mit den Fingern von dem Laichsubstrat „gepfückt“ werden können.

Von großem Vorteil ist, daß die Tiere über einen langen Zeitraum pro Tag ca. 5—10 Eier produzieren, so daß während des ganzen Jahres Eimaterial zur Verfügung steht.

Die Aufnahmen erfolgten auf 35-mm-Film. Ein großer Teil der Einstellungen wurde erst durch Anwendung des „Roto-Compressor“ (HEUNERT [7]) möglich.

Filmbeschreibung¹

4 B/min und 15 B/min

1. u. 2. Die Einstellung beginnt mit einem befruchteten Ei. Der perivitelline Raum hat sich gebildet. Am animalen Pol (im Bild bei 12°) ist eine linsenförmige Plasmaansammlung zu erkennen, die rasch durch zuströmendes Plasma wächst und gleichzeitig ins Innere der Eizelle vorstößt.

Kurz darauf wölbt sich die Plasmaansammlung vor und erhebt sich über die Peripherie der Eizelle — die Keimscheibe ist entstanden. In einer zweiten Aufnahme sind die zur Keimscheibenbildung führenden Vorgänge noch einmal festgehalten. Im Laufe der Entwicklung strömt weiterhin Plasma der Keimscheibe zu und läßt sie anwachsen.

Parallel mit diesen Vorgängen aber wird das Cytoplasma am animalen Pol in Blastomeren aufgeteilt. Deutlich ist zu erkennen, daß in den ersten 8 Furchungsschritten sich die Blastomeren synchron teilen.

Die Einstellung endet mit einem einer Blastula vergleichbaren Entwicklungsstadium.

Zum Zeitpunkt der Eiablage sind neben zwei bis drei großen viele kleinere Vakuolen im Ei gleichmäßig verteilt. Während der Bildung der

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Keimscheibe und der anschließenden Furchungsteilungen wandern die kleinen Tropfen zum vegetativen Pol und vereinigen sich, dicht unter der Eioberfläche liegend, zu großen Aggregaten, die Verbindung zu den von Anfang an zentral gelegenen Tropfen erhalten. Dieser Zusammenfluß erfolgt nicht kontinuierlich, sondern rhythmisch synchron mit den Furchungsteilungen, so daß die Entwicklungsgeschehen am animalen und vegetativen Pol gleichgeschaltet scheinen. Ähnliches gilt für Formveränderungen des ganzen Eies.

Mit der Verlagerung von Plasma und Öltropfen im Ei werden die Massenverhältnisse verändert. Der sich entwickelnde Embryo orientiert sich entsprechend der Schwerkraft nach unten, während sich die Öltropfen, an feinen Plasmafäden aufgehängt, innerhalb des Eies nach oben bewegen. Der perivitelline Raum, anfangs von Vakuolen erfüllt, erlaubt dem Ei, sich entsprechend den Schwereverhältnissen einzurichten.
Bildfeldbreite 1,6 mm; Hellfeld; Aufn.-Freq. 15 und 4 B/min

Vereinigung der Vorkerne

Erste Furchungsteilung

2 B/s bis 30 B/min

3. In einer flachen linsenförmigen Plasmaansammlung am animalen Pol liegen der weibliche und männliche Vorkern. Sie nähern sich einander und halten Kontakt, solange die ins Eiinnere eingesenkte Keimscheibe sich vergrößert. Während des anschließenden Vorwölbens der Keimscheibe verschwinden die beiden Kerne. Kurz darauf sind in der flachen konvexen Cytoplasmakappe die beiden Furchungskerne zu erkennen.

Bildfeldbreite 490 μm ; Interferenzkontrast (Inko); Aufn.-Freq. 15 B/min

4. Die folgenden Bilder geben genaueren Aufschluß über die Kernverhältnisse während dieser frühen Entwicklungsphase: Die beiden Kerne nehmen Kontakt auf. Deutlich sind in den Kernen die Nucleolen zu erkennen. Über einen langen Zeitraum sind Veränderungen nicht zu beobachten. Dann lösen sich sehr schnell die Kernmembranen auf; zuletzt tritt die Lysis an den Kontaktflächen auf.

Zu erkennen ist im Film jetzt die Ausbildung der Teilungsspindel. Ohne vorherige Verschmelzung der Vorkerne ordnen sich die Chromosomen zur Metaphaseplatte der ersten Furchungsteilung an.

Am oberen Bildrand tauchen kurze Zeit später die beiden Furchungskerne auf. Zunächst noch mit unregelmäßigen Konturen, nehmen die Kerne während des Auseinanderweichens feste Gestalt an. Die Nucleolen sind klar zu erkennen.

Bildfeldbreite 120 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 2 B/s und 30 B/min

5. Diese Kernverhältnisse liegen zu Beginn der folgenden Aufzeichnung vor, welche in einer Übersicht die erste Furchungsteilung zeigt. Die Kerne sind schon weit auseinandergewichen, bevor die erste Furche ein-

schneidet. Deutlich sind unterschiedliche Plasmazusammensetzungen in der Keimscheibe zu erkennen, die sich im Verlauf der Furchung über die Kontur der Eizelle hervorhebt.

Bildfeldbreite 490 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 30 B/min

Teilung der Blastomeren in Aufsicht

4 B/min bis 8 B/min

6. In der Aufsicht wird deutlich, daß die ersten drei Furchungsteilungen vergleichsweise meridional in die Plasmakappe einschneiden. Erst die vierte Teilung wäre einer aequatorialen Furchungsebene vergleichbar. Im Verlauf der weiteren Entwicklung entsteht ein Zellhaufen, dessen periphere Zellen eng aneinanderliegen, während im Inneren Hohlräume zwischen den Zellen entstehen. Der synchrone Furchungsmodus ist erkennbar.

Bildfeldbreite 490: μm ; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/min

7. Im Verlauf der siebten Teilung tritt eine morphologische Differenzierung ein: Durch differentielle Zellteilungen entstehen aus randständigen Zellen (Marginalzellen) der Blastomerenkappe die Dotterkerne (Periblastkerne). Dieser Vorgang ist am oberen Bildrand zu erkennen, soll aber im folgenden genauer betrachtet werden.

Bildfeldbreite 490 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/min

Differenzierung der Dotterkerne aus Marginalzellen

2 B/min bis 8 B/min

8. In einer orientierenden Übersicht sind die Dotterkerne in ihrer Lage zur Blastomerenkappe dargestellt. Auf dem gezeigten Blastulastadium liegt ein Teil der Dotterkerne im sogenannten peripheren Periblasten, der Übergangszone zwischen Blastomerenkappe und der restlichen Eioberfläche. In nahezu synchronen Teilungsschritten vermehren sich die Kerne; ein Teil wandert unter die Keimscheibe, in den sogenannten zentralen Periblasten, der andere Teil bleibt ringförmig vor den Blastomeren liegen.

Bildfeldbreite 450 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 2 B/min

9. Die folgende Einstellung gibt Aufschluß über die Entstehung der Dotterkerne: Auf dem 128—256 Blastomerenstadium setzen sich die Marginalzellen durch Form und Größe deutlich von den übrigen Blastomeren ab. Durch differentielle Teilungen geben die Randzellen kleinere Zellen ab, deren Zellwände sich auflösen, so daß ihre Kerne frei im peripheren Periblast liegen. Die Schwesterzelle bleibt im Verband der Keimscheibe.

Bildfeldbreite 380 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/min

10. Aus den folgenden Bildern geht hervor, daß die Abgabe der Dotterkerne mehr oder weniger synchron aus den Marginalzellen vor sich geht, und daß dieser Vorgang pro Marginalzelle offensichtlich nur einmal abläuft.

Entsprechend des Besiedelungsmodus durch die Kerne müssen wir den Periblasten als ein Syncytium betrachten.

Bildfeldbreite 450 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 2 B/min

11. Die anschließenden Aufnahmen zeigen, wie sich die Dotterkerne synchron vermehren, sich unter die Keimscheibe schieben, und das oberflächliche Plasma in ihrem Wirkungsbereich verändern und damit der Blastomerenkappe neues Substrat zuführen.

Bildfeldbreite 195 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/min

Beginn der Epibolie

2 B/min

12. Die bisher aufgezeichneten Entwicklungsabläufe spielen sich auf einem eng begrenzten Areal der Eioberfläche ab und führen zu mindestens zwei Differenzierungen: den Blastomeren und dem Dottersyncytium. Die Einstellung beginnt mit der hochgewölbten vielschichtigen Blastomerenkappe, deren Zellen heftige pulsierende Bewegungen vollführen. Im peripheren Periblasten sind deutlich die Dotterkerne erkennbar. Zunächst vermehren sich die Blastomeren durch weitere Teilungen. Dann beginnt sich der hochaufgewölbte Zellhaufen abzuflachen, und die Zellen breiten sich über die Eioberfläche aus — es beginnt die Epibolie.

Wenn die wandernden Zellen ungefähr die halbe Eioberfläche vereinahmt haben, lassen sich klar folgende Besonderheiten erkennen: Ein Teil der Dotterkerne liegt ringförmig vor der Front der wandernden Zellen, ein anderer Teil unterlagert die Keimscheibe. Auf diesem zentralen Periblasten sind stark bewegliche Zellen zu erkennen, welche gehäuft am Rande der vorwandernden Zellen auftreten.

Über diesen Bildungen liegt ein einschichtiges Epithel als abschließende Decklage. Im weiteren Verlauf der Entwicklung breiten sich diese verschiedenen Zelltypen über die gesamte Eioberfläche aus.

Bildfeldbreite 1,2 mm, Hellfeld; Aufn.-Freq. 2 B/min

Literatur

- [1] ARMSTRONG, P. B., et al.: Stages in the normal development of *Fundulus heteroclitus*. Biol. Bull. **128** (1965), 143—168.
- [2] BALLARD, W. W.: Normal embryonic stages for Salmonid fishes, based on *Salmo gairdneri* Richardson and *Salvelinus fontinalis*. Z. exp. Zool. **184** (1973), 7—26.
- [3] BALLARD, W. W.: Morphogenetic movements in *Salmo gairdneri* Richardson. J. exp. Zool. **184** (1973), 27—48.

- [4] BALLARD, W. W.: A new fate map for *Salmo gairdneri*. *J. exp. Zool.* **184** (1973), 49—74.
- [5] DEVILLERS, CH.: Le cortex de l'œuf de truite. *Ann. Stat. Centr. Hydrobiol. Appl.* **2** (1948 b), 229—249.
- [6] HERTWIG, O.: *Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere*. G. Fischer, Jena 1906.
- [7] HEUNERT, H. H.: Präparationsmethoden für Vitalbeobachtungen an Mikroorganismen. *Zeiss-Inform.* **20** (1972/73), 40—49.
- [8] HUVER, C. W.: The stage of fertilization of the egg of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.* **119** (1960), 320.
- [9] KOPSCH, F.: Die Entstehung des Dottersackentoblasts und die Furchung bei *Belone acus*. *Internat. Monatsschr. Anat. u. Phys.* Bd. XVIII (1901), 1—85.
- [10] LEWIS, W. H.: Gel layers of cells and eggs and their role in early development. *Lect. Ser. Roscoe. B. Jackson Mem. Lab.* 1949, 59—77.
- [11] LONGO, F. J.: The onset of DNA-synthesis and its relation to morphogenetic events of the pronuclei in activated eggs of the sea urchin, *Arbacia punctulata*. *Develop. Biol.* **30** (1973), 56—68.
- [12] LUTHER, W.: Entwicklungsphysiologie der Fische. *Fortschritte der Zoologie* **17** (1966), 313—340.
- [13] OPPENHEIMER, J. M.: Potencies for differentiation in the teleostean germ ring. *J. exp. Zool.* **79** (1938), 185—212.
- [14] OPPENHEIMER, J. M.: Extraembryonic transplantation of the *Fundulus* embryonic shield. *J. exp. Zool.* **140** (1959 a), 247—267.
- [15] PASTEELS, J.: Études sur la gastrulation des vertébrés méroblastiques. I. Téléostéens *Arch. Biol.* **47** (1936), 205—308.
- [16] ROOSEN-RUNGE, E. C.: On the early development—bipolar differentiation and cleavage—of the zebra fish, *Brachydanio rerio*. *Biol. Bull.* **75** (1938), 119—133.
- [17] TRINKAUS, J. P.: The surface gel layer of *Fundulus* eggs in relation to epiboly. *Proc. nat. Acad. Sci.* **35** (1949 a), 218—225.
- [18] TRINKAUS, J. P.: A study of the mechanics of epiboly in the egg of *Fundulus*. *J. exp. Zool.* **118** (1951), 269—319.
- [19] WOHLFAHRT-BOTTERMANN, K. E., et al.: Die Regeneration des Plasmalemmas von *Physarum polycephalum*. *Roux' Archiv*, **164** (1970), 321—340.
- [20] WOURMS, J. P.: Developmental biology of annual fishes. I. Stages in the normal development of *Austrofundulus myersi*. *Dahl. J. exp. Zool.* **182** (1972), 143—168.
- [21] WOURMS, J. P.: Naturally occurring dispersion and reaggregation of blastomeres during the development of annual fish eggs. *J. exp. Zool.* **182** (1972), 169—200.
- [22] WOURMS, J. P.: Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes. *J. exp. Zool.* **182** (1972), 389—414.

Anschrift des Verfassers:

Dr. S. Heinig, Fachbereich Biologie der Universität Marburg, D-3550 Marburg.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1975 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 98 m, 9 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden in den Jahren 1973 und 1974. Veröffentlichung aus dem Fachbereich Biologie der Universität Marburg, Dr. S. HEINIG, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE; Aufnahme: H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

In einer Übersicht wird der Ablauf der discoidalen Furchung eines Knochenfisches gezeigt. Eine intensivere Betrachtung erfahren folgende Vorgänge: 1. Umlagerung des Cytoplasmas, 2. Bildung des Synkarions, 3. Synchrone Teilung der Blastomeren, 4. Entstehung und Verteilung der Dotterkerne, 5. Ausbreitung der Zellen über die Eioberfläche.

Summary of the Film

The progress of discoidal segmentation in a boned fish is shown in a survey. Closer observation illustrates the following processes: 1. displacement of the cytoplasm, 2. formation of the syncarion, 3. synchronous separation of the blastomeres, 4. emergence and separation of the yolk nuclei, 5. propagation of the cells over the surface of the ovum.

Résumé du Film

Un tableau synoptique nous est présenté qui permet de suivre l'évolution de la segmentation discoïde d'un téléostéen. L'observation intensive permet de distinguer les phases suivantes: 1. déplacement du cytoplasme, 2. formation du synkaryon, 3. segmentation synchrone des blastomères, 4. apparition et distribution des noyaux de jaune d'œuf, 5. diffusion des cellules à la surface de l'œuf.

Aktualisierte, zusätzliche
Informationen zu den
Begleitpublikationen der Filme
E 2147, E 2148, E 2149, E 2150



Embryonalentwicklung des Knochenfisches *Epiplatys dageti*, Cyprinodontidae

Sigurd Heinig

© IWF Wissen und Medien gGmbH, 2009

IWF Wissen und Medien gGmbH
Nonnenstieg 72, 37075 Göttingen
Fon: +49 (0)551 5024 0
www.iwf.de

IWF

WISSEN UND MEDIEN
KNOWLEDGE AND MEDIA

Embryonalentwicklung des Knochenfisches *Epiplatys dageti*, Cyprinodontidae

Jede Embryonalentwicklung ist durch eine Vielzahl von Zellteilungen, Bewegungsvorgängen und Umschichtungen der im Ei vorhandenen Strukturen und der neu entstehenden Zellverbände (Blasteme) gekennzeichnet. Besonders eindrucksvoll lassen sich diese Prozesse an lebenden Embryonen beobachten.



Abb. 1
Männchen des Querbandhechtlings (*Epiplatys dageti*).

Am Beispiel von *Epiplatys dageti* soll ein Einblick in die Entwicklung eines Knochenfisches (Teleostei) gegeben werden. Der Querbandhechtling (*Epiplatys dageti*, Abb. 1) gehört zu den eierlegenden Zahnkarpfen (Cyprinodontidae). Die Gattung ist im tropischen Westafrika (Ghana – Liberia) mit circa 40 Arten verbreitet. Die 5 – 6 cm messenden Fische leben in kleinen, pflanzenreichen Gewässern des Regenwaldes mit weichem, schwach saurem Wasser. Für Kurszwecke ist besonders vorteilhaft, dass die Weibchen mehrere Wochen lang Eier legen.

Zur Ablage drängen sich die Fische in den Pflanzenbestand, in welchem die Eier haften bleiben (Haftlaicher). Hälterungstemperaturen von 20–23°C eignen sich sowohl für die Brut als auch für die Adulten. Die Eier können mit Daumen und Zeigefinger aus den Pflanzen abgelesen und in Petrischalen übertragen werden. Die circa 1 mm großen Eier gewähren bei transparenter Eihülle einen eindrucksvollen Blick in die Embryonalentwicklung eines Fisches.

Besamung, Befruchtung, Meiose

Abb. 2a zeigt ein soeben abgelegtes Ei. Die Eihülle (Chorion) liegt zunächst der Eizelle eng an. Ein Büschel Haftfäden sitzt dem Chorion auf. Unter diesem Areal liegt eine linsenförmige Plasmazone. Dazu enthält die Eizelle ein Nahrungsdepot (Dotter) in Form von Öltröpfen, Eiweißen, Kohlenhydraten und Zellorganellen.

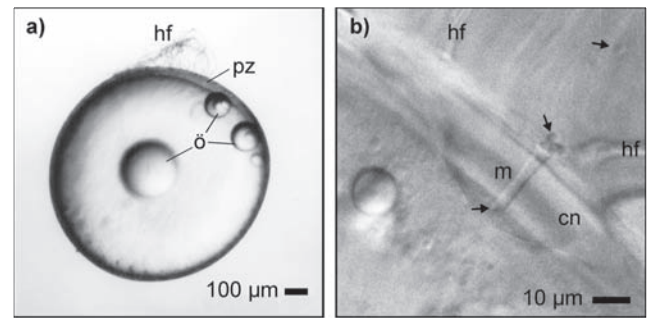
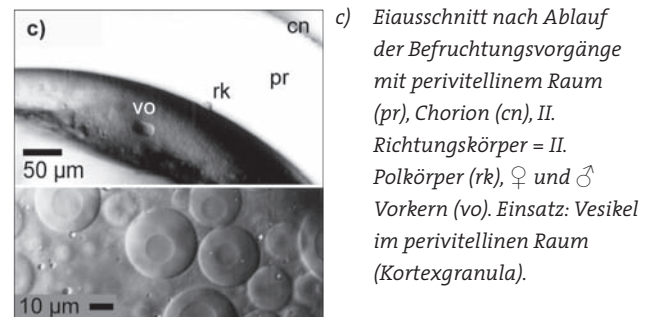


Abb. 2

- a) Soeben abgelegtes Ei mit Haftfäden (hf), verdickter Plasmazone (pz) und Öltröpfen (ö).
b) Chorion (cn), Spermien (→) und Micropyle (m).



- c) Eiausschnitt nach Ablauf der Befruchtungsvorgänge mit perivitellinem Raum (pr), Chorion (cn), II. Richtungskörper = II. Polkörper (rk), ♀ und ♂ Vorkern (vo). Einsatz: Vesikel im perivitellinen Raum (Kortexgranula).

Eine stärkere Vergrößerung im Basisbereich der Haftfäden (Abb.2b) lässt im Chorion eine Verdickung erkennen, welche ein Kanal (Micropyle) durchzieht. Ein Spermium hat diesen Kanal passiert, während noch vier weitere Spermien am Eingang des Kanals liegen. Das eingedrungene Spermium löst eine Reaktion aus, welche weitere Spermien an der Passage hindert und eine Folge von Veränderungen in der Eioberfläche anregt – die so genannte Cortikalreaktion [5]: Die Eizelle schrumpft, gleichzeitig werden Vesikel aus der Eizelle ausgeschleust. Unter deren Einfluss hebt sich das Chorion von der Eizelle ab und es entsteht ein Freiraum zwischen Chorion und Eizelle (perivitelliner Raum). Männlicher und weiblicher Vorkern liegen nebeneinander, werden später verschmelzen und in die erste Furchungsteilung eingehen.

Bei der Bildung der Samenzellen führen Prozesse im Hoden zu einer Halbierung der Chromosomenzahl der Spermien. Bei der Eizelle der Fische sind diese Vorgänge zum Zeitpunkt der Eiablage noch nicht abgeschlossen. Vielmehr verharrt der Eikern auf der Metaphase II der Meioseteilung [7,9]. Erst unter dem Einfluss des Spermiums laufen diejenigen Prozesse ab, welche auch in der Eizelle mit der Halbierung der Chromosomenzahl enden. So verfügt die kleine Erhebung in Abb. 2 c (II. Polkörper) über einen halben Chromosomensatz, während der Eikern die andere Hälfte enthält.

Nach der Besamung verklebt die Micropyle und verhindert somit eine Mehrfachbesamung [5,6,16]. Mit Besamung, Befruchtung und Bildung des perivitellinen Raumes sind Prozesse im Ei abgelaufen, in deren Folge aus der Eizelle durch Furchung eine wachsende Zahl von Zellen entsteht.

Furchung

Abb. 3a zeigt ein Entwicklungsstadium circa eine Stunde nach der Ablage (1 h.n.d.A). Die ehemals flache Plasmalinse ragt nun über die Eioberfläche hinaus. Zwei Funktionsbereiche lassen sich unterscheiden: die Plasmakappe mit zwei Kernen, die an der Basis in den anderen – den Dotterbereich – übergeht. Im Plasmabereich (animaler Pol der Eizelle) wird der Embryo entstehen, der Dotter (vegetativer Pol der Eizelle) dient als Nahrungsdepot für den heranwachsenden Fisch.

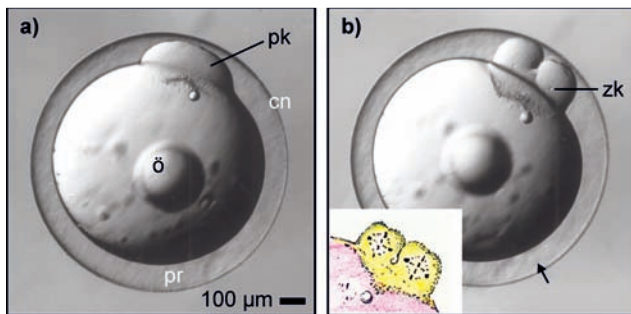
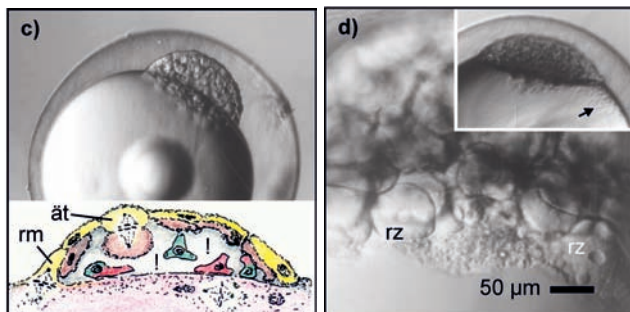


Abb. 3

- a) Ei circa 1 Stunde nach der Ablage bei 23°C. Chorion (cn), Öltropfen (ö), perivitelliner Raum (pr), Plasmakappe (pk).
- b) Circa 1½ Stunden nach der Ablage. Es liegen vier Blastomeren vor, an ihrer Basis sind die Zellkerne (zk) zu sehen, ebenso die Vesikel (→) im perivitellinen Raum. Schema: 2 Blastomeren-Stadium.



- c) Circa 11 Stunden nach der Ablage. Blastomerenkappe mit > 256 Zellen. Schema: Randzellen in Mitose (rm), äquatoriale Teilung (ät), Furchungshöhle (!).
- d) Circa 12 Stunden nach der Ablage. Randzellen (rz). Einsatz: Keimscheibe in Seitenansicht mit vorgelagerten Dotterkernen (→).

Schützend hüllt das Chorion den Embryo ein. Im perivitellinen Raum liegen gleichmäßig verteilt aus der Eizelle ausgetretene Vesikel (Einsatz in Abb. 2c, Abb. 3b) und halten den Embryo auf Abstand zur Hülle, wodurch ein wirksamer „Puffer“ entsteht.

Im Laufe der weiteren Entwicklung geht Stadium 3a in Stadium 3b über, indem die beiden Kerne seitlich auseinander weichen und von der Oberfläche eine trennende Zellmembran zwischen den beiden Kernen entsteht (meridionale Teilung), so dass nun dem Dotter zwei Zellen (Blastomeren) aufsitzen, die an ihrer Basis mit dem Dotter in offener Verbindung stehen (vgl. Schema in Abb. 3b). Dieser Vorgang der Kernvermehrung mit Neubildung von Zellmembranen charakterisiert die so genannte Furchung.

Nach drei Teilungen besteht der Embryo aus 2 x 4 bilateral-symmetrisch angeordneten Blastomeren. Beim Übergang von 16 auf 32 Blastomeren erfolgt bei einigen Blastomeren eine Umstellung der Mitosespindel (äquatoriale Teilung, vgl. Schema in Abb.3c); dies führt zu einer Mehrschichtigkeit der Keimscheibe unter Bildung der Furchungshöhle. Bis zum achten Teilungsschritt laufen die Teilungen synchron ab [1,2,6,8].

Nach dem achten Teilungsschritt tritt eine Unregelmäßigkeit im Teilungsmodus ein, so dass die verschiedenen Zellen jetzt unterschiedlich lange für eine neue Teilung benötigen. So folgt dem 64-Blastomerenstadium binnen 3–4 Stunden eine Zellansammlung mit mehreren hundert Zellen. Die bisherigen Entwicklungsprozesse überführen die „einfache“ Plasmakappe (Abb.3a) in eine Ansammlung vieler Zellen (Abb.3c); das Gesamtvolumen der Blastomerenkappe bleibt dabei nahezu konstant, d.h. es erfolgt eine Verminderung der Zellgröße (Kern-Plasma-Relation).

Unter weiterer Zellvermehrung nimmt die Blastomerenkappe circa 12 h.n.d.A. Scheibenform an. Die Furchung der Knochenfische (Teleostei) folgt damit dem discoidalen Modus.

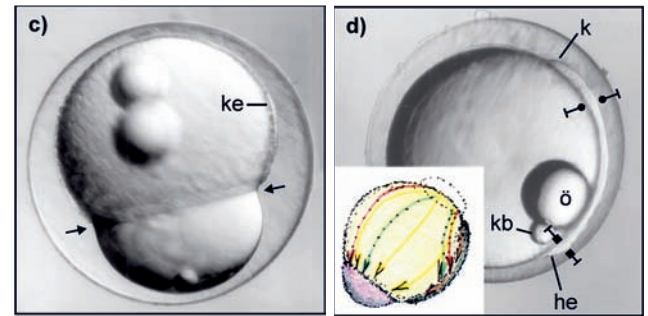
Jetzt liegen schon morphologisch und physiologisch unterschiedliche Zelltypen vor. Ein rings um die Basis der Blastomerenkappe verlaufender Kranz von Zellen (Randzellen=Marginalzellen) fällt durch zwei Merkmale auf: Erstens sind diese Zellen größer als die übrigen Blastomeren (Abb.3d), zweitens geht das Zellplasma dieser Zellen in die oberste Schicht des Dotters über [6]. In zwei bis drei Vermehrungsschritten entsteht aus den Kernen dieser Randzellen eine Gruppierung von Kernen, die ohne trennende Zellmembranen in der obersten Schicht des Dotters liegen (Schema in Abb. 3c).

Nachdem die Marginalzellen diese so genannten Dotterkerne abgegeben haben, trennt eine Zellmembran die Plasmaverbindung zum Dotter hin ab (Schema Abb.3c rechts). Die Dotterkerne unterlagern die Blastomerenkappe und rahmen sie ringförmig ein (Dottersyncytium). Diese freien Kerne führen noch einige Teilungen durch, dann erlischt ihre Teilungsfähigkeit. Sie werden im Laufe der Entwicklung ihr Genom vervielfältigen (Aneuploidie) und sich am Aufschluss des Dotters beteiligen. So führt die Furchung zum einen zur Ausbildung einer vielkernigen, spezialisierten Dotterzelle, zum anderen zur Entstehung der Blastomerenkappe (Blastula).

Epibolie: Einhüllung der Dotterzelle

Wie die Filmaufnahmen zeigen, beginnen die Zellen der Blastomerenkappe ca. 12 h n. d. A. (Abb.3d) lebhafte Bewegungen auszuführen und leiten damit zu einem neuen Entwicklungsabschnitt über (Abb.4b) [2, 6, 17,20].

Im Verlauf der nächsten 8–9 Stunden wandern die Blastulazellen über die Eizelle – nun Dotterzelle – zum gegenüberliegenden Eipol (Epibolie, Schema Abb.4d) und hüllen die Dotterzelle ein.



c) Circa 18 Stunden nach der Ablage, optischer Schnitt der Keimanlage (ke) und wandernder Rand der Blastomeren (→).

d) Circa 20 Stunden nach der Ablage, Seitenansicht des Keimstreifs. Kopf (k), Hinterende (he). Kreismarkierungen kennzeichnen die optische Schnittebene in Abb. 4e; Quadratmarkierungen die optische Schnittebene in Abb. 4f; Kupffersche Blase (kb), Öltropfen (ö). Schema: Epibolie, Pfeile deuten die Bewegungsrichtung des Deckepithels an.

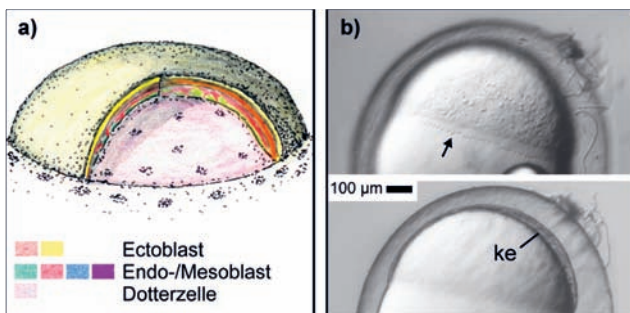
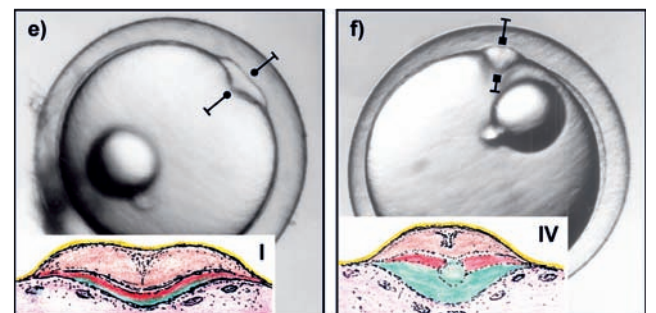


Abb. 4

a) Schema: Blastula mit Farbangaben zu den nachfolgenden Schemata.

b) 14 Stunden nach der Ablage. Oben: am Rande der Blastomerenkappe eine Reihe von Dotterkernen (→), unten: optischer Schnitt durch die Keimanlage (ke).



e) Optischer Schnitt auf Höhe der Markierungen in Abb. 4d, stark ausgeprägter Neuroblast: Gehirnanlage (Neuralplatte); Schema: Keimblätter (Bereich I, vgl. Abb. 5c).

f) Optischer Schnitt auf Höhe der Quadratmarkierungen in Abb. 4d; schmaler Endteil des Keimstreifs mit undifferenzierten Zellen; Schema: Keimblätter (Bereich IV, vgl. Abb. 5c).

Ein frühes Stadium der Umhüllung stellt Abb.4b dar. Die Aufsicht zeigt neben einer gleichmäßigen Struktur auch kontrastreiche Zellen. Diese vermögen frei auf der Dotterzelle zu kriechen [6]. Das flache Deckepithel der Blastula haftet der Dotterzelle an. Die Einschnürung am Rand der Blastula (Abb. 4b,c) deutet auf einen „Zugzwang“ hin. Untersuchungen weisen nach [11], dass das Dottersyncytium für die Bewegung des Deckepithels verantwortlich ist: Dieses wird quasi über die Dotterzelle gespannt (Epibolie, Schema Abb. 4d).

Gleichzeitig breiten sich die amöboiden Zellen aus – konzentriert längs eines Meridians – andere schließen sich auf Umwegen seitlich dieser Zellansammlung an. Die Asymmetrie der Zellpopulation mit ersten Anzeichen der Keimanlage (Keimstreif, Embryo) zeigen Abb. 4b,c. Filmaufnahmen belegen [1, 2, 6, 7], dass zu diesem frühen Zeitpunkt mindestens drei unterschiedliche Zellpopulationen existieren:

Aus der dünnen Deckschicht (Epidermis) und einer Schicht locker zusammenhängender Zellen – beide dem Ektoblast zugehörig – entstehen vorwiegend Organe der Haut, Sinnesorgane, das Zentralnervensystem (Neuroblast). Die beweglichen Zellen lassen einerseits Muskulatur, Bindegewebe und Knorpel entstehen (Mesoblast), andererseits bilden sie auch den Ursprung für den Verdauungstrakt, seine Anhangsorgane und die Rückenseite (Chorda dorsalis, Endoblast). Schema 4 a gibt eine Vorstellung über die Anordnung der Epithellagen (Keimblätter) in der Blastula [1, 2, 6, 7, 10, 17].

Bildung des Keimstreifs

Die Furchung der Eizelle führt zu einer Vielzahl von Zellen unterschiedlicher Qualitäten. Diese Zellen müssen zueinander in ganz bestimmte Lageverhältnisse gebracht werden, um eine höhere Organisationsstufe zu gewinnen. Im Verlauf einer totalen Furchung erfolgt diese Neuordnung durch die Gastrulation. Im Falle der partiellen discoidalen Furchung der Knochenfische sorgt die Gastrulation in Form einer Delamination in einer Blastomerenkappe für eine Umorientierung der Zellen. Die Anlage dazu zeigt sich bereits mit beginnender Epibolie [1, 2, 7, 12], (Abb. 4 a).

Mit fortschreitender Entwicklung rücken die verschiedenen Zelltypen immer enger zusammen, so dass circa 20 h n. d. A. ein wohldefinierter Keimstreif dem Ei aufliegt (Abb. 4 d). Fischtypische Strukturen sind noch nicht zu erkennen. Der Embryo liegt kielförmig in den Dotter eingesenkt (Abb. 4 e, f), eingebunden in eine flache Zellschicht (Epidermis), welche ebenfalls die Dotterzelle umhüllt.

Der Neuroblast (Anlage des ZNS) bildet einen soliden Zellstrang (als Anlage des Gehirns, Schema in Abb. 4 e), durch einen Spalt gegen den Meso-/Endoblasten abgegrenzt, welcher der Dotterzelle aufliegt. Zu den Rändern des Keimstreifens verliert sich der Spalt. Im Gegensatz zur Kopfanlage bildet der Schwanzbereich einen schmalen Strang (Schema Abb. 4 f). In diesem Areal deuten sich Spalträume zwischen den Zelllagen an. Circa 38 h n. d. A. erreicht der Embryo nahezu den halben Eiumfang und weist schon typische Merkmale eines Wirbeltieres auf (Abb. 5 d).

In der Seitenansicht wird deutlich (Abb. 5 d), dass auf diesem Entwicklungsstadium die Gehirnanlage (Prosenkephalon (1), Rhombencephalon (2,3) und Rückenmark (rü) nahezu 50% des Embryos bilden. Daran schließen sechs Muskelsegmente (Somiten, Myomeren) an. Der abschließende Körperbereich lässt noch keine weiteren Differenzierungen erkennen. Wohl aber markiert die so

genannte Kupffersche Blase (unbekannte Funktion) die Grenze zwischen Rumpf und Schwanz (Abb. 4 d, 5 d).

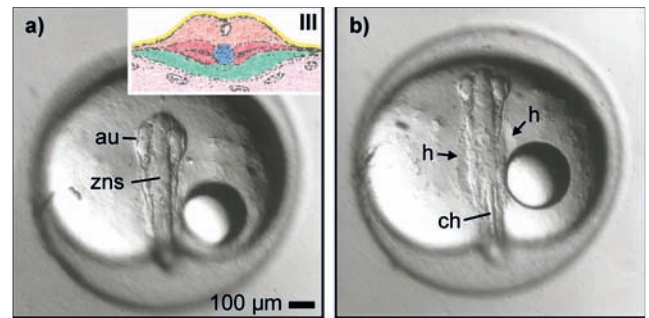
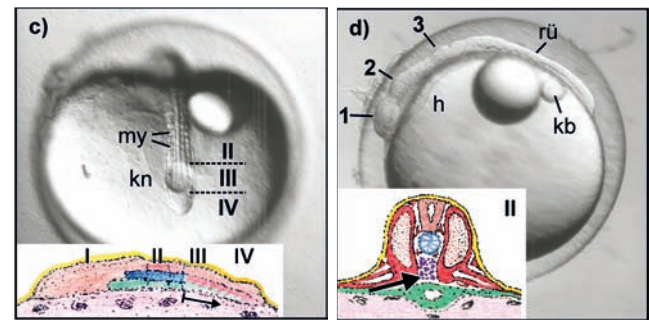


Abb. 5

- a) Circa 38 Stunden nach der Ablage. Kopf mit Zentralnervensystem (zns) und Augenanlagen (au); Schema: Knospungszone im Bereich III, vgl. Abb. 5c).
 b) Embryo kopfwärts gedreht; im Kopf-Rumpf-Übergang paarige Anlagen des Herzens (h); die Chorda (ch) als Stützelement liegt unterhalb des Nervensystems.



- c) Hinterende des Embryos mit der Knospungszone (kn); darunter liegt die Kupffersche Blase; Myomeren (my). Schema: Längsriss des Keimstreifs mit den Bereichen I–IV. Bereich III als „Bildungszone“ wandert in Pfeilrichtung zum Ende des Embryos.
 d) Seitenansicht eines Embryos mit 8 Muskelsegmenten; Zentralnervensystem mit drei primären Hirnbläschen: 1=Vorderhirn (Prosenkephalon), 2=Mittelhirn (Mesencephalon), 3=Hinterhirn (Metencephalon) und Rückenmark (rü), Kupffersche Blase (kb), Herz (h). Schema: differenziertes Segment im Bereich II, vgl. Abb. 5c, intermediäre Zellen (→).

Eine Aufsicht auf den Kopfbereich (Abb. 5 a) zeigt eine frühe Phase der Augenentwicklung, die mit paarigen Ausstülpungen des Vorderhirns beginnt (vgl. Abb. 7). Dahinter folgen als trapezförmige Anlagen die paarigen Vorläufer des Herzens (Abb. 5 b, Abb. 6 b). Eine weitere Drehung des Embryos kopfwärts verschafft Einblick in den

Rumpf-Schwanz-Bereich (Abb.5c) mit den Muskelsegmenten, die ein Zellstrang (Rückenseite, Chorda dorsalis) voneinander trennt. Seitlich der Chorda ziehen zwei feine Linien: die äußere Begrenzung des Rückenmarks. Im Bereich der Kupfferschen Blase, besonders zum Ende des Embryos hin, verschwinden zusehends die genannten Strukturen in einer Zellansammlung.

Aus diesem Areal (Bildungszone, Endknospe, Sprossungszone) (Abb.5c) erfolgt – sukzessiv von kranial nach kaudal fortschreitend – die weitere Trennung der drei Keimblätter, mit anschließender Differenzierung der Achsenorgane: Chorda, Zentralnervensystem (ZNS), Somiten (Myomeren) und Mitteldarm. An den Kopfbereich schließen wohl differenzierte Muskelsegmente an, deren Differenzierungsgrad zur „Bildungszone“ hin stetig abnimmt. Somit entsteht auch der segmentierte Wirbeltierkörper durch einen Sprossungsvorgang (vgl. Arthropoden, Anneliden). In der Bildungszone laufen bisher völlig unverständliche Prozesse ab, die den noch undifferenzierten embryonalen Zellen spezielle Funktionen zuweisen [14, 19].

Die Schemata in den Abbildungen 4e,f und 5a,d in Verbindung mit dem Schema in Abb.5c sowie den Zonenangaben I–IV helfen, die Prozesse in der Sprossungszone und damit die unterschiedlichen Organisationsstufen längs des Embryos nachzuvollziehen.

Differenzierung der Achsenorgane

Während der weiteren Entwicklung schieben sich die Zellen zusammen. Damit einhergehend nehmen die Achsenorgane immer deutlicher Gestalt an: Der Neuroblast (ZNS) formt zunächst einen kompakten Strang, in welchem zentral durch Lockerung des Zellverbandes (schizogen) sekundär der Zentralkanal entsteht (Schema Abb.4e,5a). In der Ontogenese der Hirnbläschen entwickeln sich zunächst das Prosencephalon und das Rhombencephalon als vorübergehende Anlagen (Abb.5d u. Abb.6a, Abschnitt 1 u. Abschnitte 2 u. 3). Sehr bald bildet das Prosencephalon (primäres Vorderhirnbläschen) das Telencephalon (sekundäres Vorderhirn) und das Diencephalon (Zwischenhirn) aus. Dem Rhombencephalon entspringen Mesencephalon (Mittelhirn) und primäres Metencephalon (Hinterhirn). Eine weitere Untergliederung erfährt das primäre Metencephalon in sekundäres Hinterhirn (Kleinhirn, Cerebellum) und Myelencephalon (Nachhirn, Abb.6a). Das Myelencephalon mit seinen fünf Rhombomeren als Ausdruck einer Segmentierung (Neuromerie) des ZNS geht in das Rückenmark über. Damit sind alle Abschnitte des Wirbeltiergehirns entwickelt [18].

Die Chorda (Schema Abb.5a,d) entsteht median an der Grenze der drei Keimblätter, bildet einen Strang turgeszenter Zellen als Stützorgan und geht später in der verknöcherten Wirbelsäule auf.

Der Mesoblast erfährt eine Unterteilung in eine Folge paariger Muskelsegmente (Myomeren) (Abb.5c; Schema Abb.5d), die lateral abflachen und Hohlräume ausbilden (Seitenplattencoelome), welche die sekundäre Leibeshöhle der Wirbeltiere entstehen lassen. Aus den ventralen Myomerenbereichen wandern Zellen aus und formieren einen im Vorderkörper gelegenen Strang [6, 16]. Aus diesen Zellen (intermediäre Zellmasse) entstehen die großen Rumpfgefäße und die ersten Blutzellen. Die paarige Seitenplattencoelome im Kopfbereich erfahren eine Sonderentwicklung. Sie schieben sich unter den Darm und rücken medial zusammen. Dabei schließen sie die medianen Zellen ein, welche mittlerweile ein Gefäß bilden (Endokard). Unter Faltenbildung der Seitenplatten entsteht ein weiteres Hohlorgan (Epimyokard). Endokard und Epimyokard bilden die kontraktile Abschnitte des Herzens, umhüllt vom Herzcoelom (Pericardialcoelom), vgl. Abb. 6b. Im Laufe der Entwicklung verlagert sich die Herzanlage aus dem Areal Kopf-Rumpfübergang zunehmend kopfwärts (vgl. Abb.5 b,6 a).

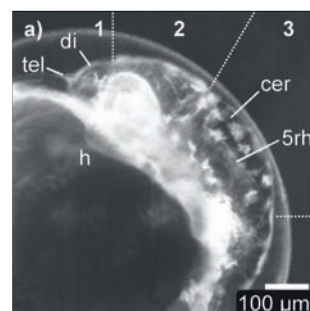
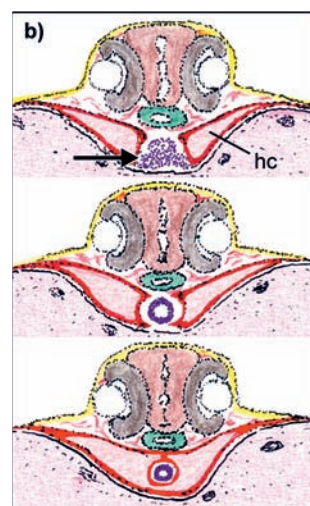


Abb. 6

a) Zustand der Gehirnentwicklung:
1: Telencephalon (tel)= sek. Vorderhirn und Diencephalon (di)= Zwischenhirn,
2: Mesencephalon= Mittelhirn,
3: Metencephalon = sek. Hinterhirn mit Cerebellum (cer)= Kleinhirn und Myelencephalon= Nachhirn mit 5 Rhombomeren (5rh), Herz (h).



b) Schema Herzbildung:
Oben: intermediäre Zellen, bei (→) beidseitig ausgewandert.
Mitte: intermediäre Zellen zu einem Rohr umgeformt: Endokard (Endothel des Herzens).
Unten: Die medianen Abschnitte der zum Herzcoelom (hc) umfunktionierten Kopfcoelome umhüllen als Epimyokard das Endokard, beide Herzanteile gelagert im Pericardialcoelom (sekundäre Leibeshöhle).

Die der Dotterzelle aufliegenden Endoblastzellen rücken ebenfalls mediad zusammen. Auch in dieser Zellpopulation entsteht sekundär ein Hohlraum, das zukünftige Darmlumen, womit der Übergang vom Endoblasten zum definitiven Entoderm vollzogen ist. Lücken zwischen den Organen besiedeln Abkömmlinge des Mesoblasten (Mesenchymzellen).

Differenzierung von Organen

Die Entstehung des Auges soll etwas genauer betrachtet werden, lassen sich doch daran einige Probleme der Entwicklungsbiologie erklären. Am Vorderhirn (Abb. 7a) entstehen circa 32 Stunden nach Ablage des Eies seitlich zwei Ausstülpungen. Der feine Zentralkanal zieht in diese Blasen ein und trennt dadurch zwei Zellschichten voneinander. Diese Zellschichten nehmen eine unterschiedliche Entwicklung in eine dickere und eine dünnere Lage (Abb. 7b). Ektodermzellen überdecken das Augenbläschen. Durch stoffliche Wechselwirkung veranlasst das Augenbläschen in einem eng begrenzten Areal Ektodermzellen zur Vermehrung, d.h. zur Bildung der zukünftigen Linse (Abb. 7b). Das Augenbläschen gleicht einem eingedellten Ball. Die äußere Schicht bildet Pigmentzellen aus, die innere Schicht die Netzhaut (Abb. 7c, 8c). Später überzieht nur noch eine dünne Lage aus Ektodermzellen die Linse, und Muskelzellen zur Beweglichkeit treten hinzu.

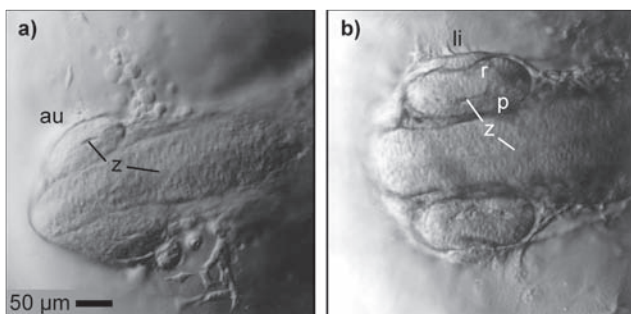
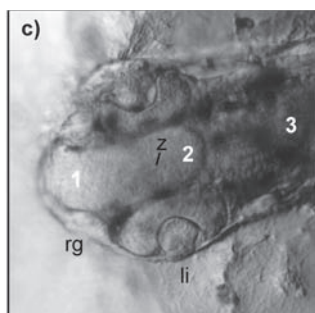


Abb. 7

- a) Circa 32 Stunden nach der Ablage: Augenanlage (au), Zentralkanal (z).
 b) Circa 38 Stunden nach der Ablage: Becherform der Augenanlage, Netzhaut (r), Pigmentschicht (p), zukünftige Linse (li).



- c) Circa 58 Stunden nach der Ablage: Ektoblastzellen bilden die paarige Riechgrube (rg), 1, 2, 3: Hirnabschnitte wie Abb. 6a.

Am Aufbau des Auges beteiligen sich also Zellen ganz unterschiedlicher Herkunft [6, 7]: Linse als Abkömmling des Ektoblasten, Netzhaut und Pigmentschicht entstammen dem Neuroblasten und der Mesoblast steuert Muskelzellen bei. Entscheidend ist, dass nur unter dauernder Wechselwirkung der einzelnen „Bauteile“ ein funktionsfähiges Auge heranwachsen kann.

Am circa 32 Stunden alten Embryo wandern aus dem zukünftigen Nervensystem [6, 10, 15] wieder Zellen aus dem Keimstreif aus und lagern zwischen den entstehenden Organanlagen. Dieses Aussondern von Zellen dauert circa 10 Stunden an. Damit existiert eine Gruppierung von Zellen, die erst in viel späteren Stadien zum Aufbau des Embryos beitragen. Dazu gehören z.B. die Pigmentzellen. Zwischen 38 und 50 h.n.d.A. besetzen teilweise schon Pigmentkörnchen enthaltende Zellen den Embryo, treten aber auch auf den Dottersack über.

Das embryonale Pigmentmuster zeigt zunächst dauernde Veränderungen: Die Zellen nehmen an Größe zu, verändern ihre Form, legen sich zu größeren Einheiten [6, 13] zusammen. Erst wenn der Dottersack vollständig von Pigmentzellen besiedelt ist, bleibt das Muster weitgehend konstant. Mit diesem Muster schwimmt der Jungfisch einige Zeit umher. Wie kommt aber der Querbandhechtling zu seinen Querbändern? Nicht alle Zellen, aus denen Pigmentzellen entstehen können, werden beim Aufbau des Jungfisches benötigt. Einige bleiben undifferenziert und bilden erst circa 3–4 Monate nach dem Schlüpfen das arttypische Muster: die rote Kehle der Männchen (Erythrophoren; Carotinoide), die schwarzbraunen Querbander (Melanophoren; Melanin), die braune Grundfärbung (Xanthophoren; Flavin und Pterin) und die irisierenden Bereiche (Iridophoren; Adenin und Guanin).

Pigmentzellen stammen aus dem Zentralnervensystem. Im erwachsenen Fisch nehmen sie wieder Kontakt zu diesem auf. Damit verfügen die Knochenfische über nervös gesteuerte Farbmusterwechsel, wodurch die raschen „Gemütschwankungen“ beispielsweise brutpflegender Fische für uns sichtbar werden.

Dass Zellen in der frühen Embryonalentwicklung zunächst nicht an Organbildungen teilhaben und erst zu einem späteren Zeitpunkt daran mitwirken, ist ein gängiges Prinzip jeder Embryogenese und schon seit Beginn des 20. Jahrhunderts bekannt. In der aktuellen Stammzellen-Diskussion wird allerdings der Eindruck erweckt, als seien diese Erkenntnisse völlig neu.

Ein weiteres Beispiel für dieses Phänomen der späteren „Aufgabenteilung“ der Zellen liefert der Dotterkreislauf. Aus dem circa 32 Stunden alten Embryo wandert eine weitere Gruppe [6] von Zellen in den Raum zwischen Dotterzelle und Deckepithel. Sie bilden zunächst ein lockeres Netz, nehmen aber zunehmend festen Kontakt auf. Indem in den Zellen Kanäle entstehen, entwickeln sich die extraembryonalen Dottergefäße.

Der Jungfisch

Beim Jungfisch liegt das Herz zunächst vor und unterhalb des Kopfes. Die großen Körpergefäße sind 74 h n. d. A. wohl entwickelt (Abb. 8a, b). Eine erste Verbindung zwischen den Körpergefäßen und den Dotterkapillaren erfolgt über die Arteria caudalis und die Vena vitellina. Mit der nun einsetzenden Zirkulation des Blutes verlassen die Blutzellen ihren Bildungsort (Aortenbögen, Arteria caudalis) [6]. Das Blut gelangt in den Sinus venosus (Abb. 8c, vor dem Kopf gelegen), Vorkammer und Hauptkammer. Für kurze Zeit kann dieser einfache Kreislauf beibehalten werden. Bald erfolgt die Versorgung des Kopfes mit Blut und damit der Rückfluss des venösen Blutes über die vorderen Kardinalvenen zu den Ductus cuvieri. Diese paarigen Gefäße treten in Höhe der Labyrinthanlagen (Abb. 8a, b) auf den Dottersack über und nehmen mit den Dottersackgefäßen Verbindung auf.

Schon sehr früh erreichen Nervensystem, Chorda, Muskulatur und Herz einen hohen Entwicklungsgrad. Leibeshöhle mit Darm und Anhangsorganen, Nieren und Schwimmblase (Ausstülpung des Vorderdarms) wirken zunächst rudimentär (Abb. 8a, b, d). Während der discoidalen (partiellen) Furchung erhielten die Blastomeren nur wenig Dotter zugeteilt. Entsprechend liegen die embryonalen Gewebe eng dem Dottersyncytium an, um aufgeschlossene Dottersubstanzen resorbieren zu können, da der Darm zu keinem Zeitpunkt der Entwicklung über einen Zugang zum Dotter verfügt. Effektiver wird die Nährstoffverteilung, wenn am dritten Tag der Entwicklung die Blutzirkulation einsetzt. Dottersyncytium und Dottergefäße bilden somit eine vorübergehende embryonale Dotteraufbereitung [6]. Diese Art der Dotterumsetzung steht im Gegensatz zum Modus bei Haien, Reptilien, Vögeln u. a., bei denen der Dotter gleich in den Darm übernommen wird.

In diesem Zusammenhang erklärt sich auch die embryonale Ausrichtung des Herzens. In dem Maße, wie durch Dotterabbau der „Bauch“ des Jungfisches schrumpft, rückt das Herz in die für Teleosteer korrekte Lage: Die Ductus cuvieri verkürzen sich und Sinus venosus, Vorkammer und Hauptkammer schwenken schwanzwärts.

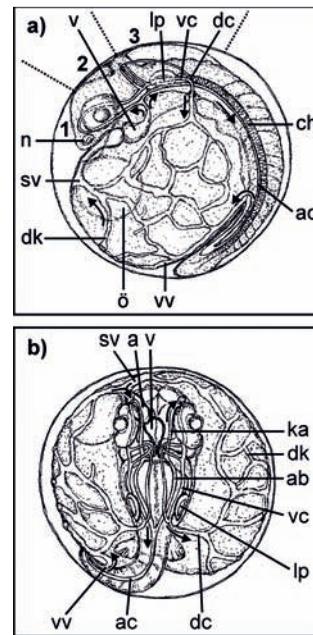


Abb. 8

a–b) Schema Blutkreislauf:

In einer Seitenansicht (a) und einer Aufsicht (b) sind die funktionstüchtigen Gefäße eines circa 3 ½ tägigen Embryos dargestellt.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden nicht eingezeichnet:

Pigmentzellen, Organe des Verdauungstraktes, Rückenmark und Chorda.

Atrium (a), Aortenbogen (ab), Arteria caudalis (ac), Chorda (ch), Ductus cuvieri (dc), Dotterkapillaren (dk), Kopfarterie (ka), Labyrinthplakode (lp), Nasenanlage (n), Öltropfen (ö), Sinus venosus (sv), Ventrikel (v), Vordere Cardinalvene (vc), Vena vitellina (vv).

Die Pfeile geben die Strömungsrichtung des Blutes an.

Die Gewebe des schwindenden „Bauches“ werden resorbiert, soweit sie nicht in die Epithelien der Bauchseite übergehen.

Das Kapillarnetz des Dottersacks erfüllt zudem eine weitere Aufgabe. Da die Kiemen noch ungenügend ausgebildet sind, erfolgt der Gasaustausch des Embryos über die Dotterkapillaren, unterstützt durch die Brustflossen, welche die Flüssigkeit im perivitellinen Raum zirkulieren lassen. Zum Schlupfzeitpunkt (circa 12 Tage n. d. A.) sind Verdauungstrakt und Schwimmblase ausdifferenziert. Am Kopf gelegene Drüsen [3,4] sondern Substanzen ab, welche das Chorion anlösen, so dass eine heftige Bewegung den Jungfisch aus der Hülle befreit. Durch einmaliges Luftschnappen wird die Funktion der Schwimmblase angeregt.

Die für *Epiplatys* beschriebenen Abläufe können bei den einzelnen Fischarten variieren. Dies geschieht immer in Abhängigkeit von Größe und Anordnung des Dotters, letztlich eine Antwort auf unterschiedliche ökologische Bedingungen, unter denen die Arten leben.

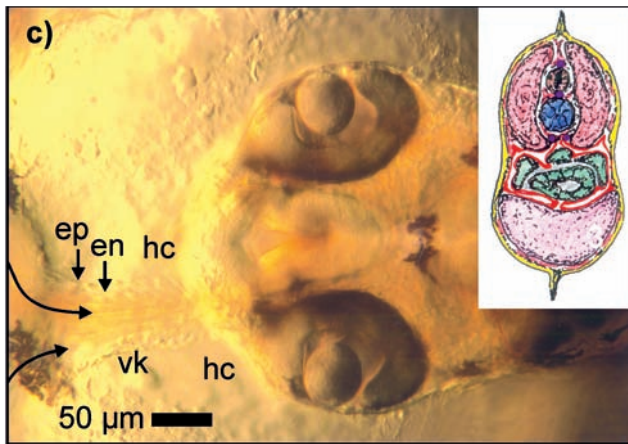
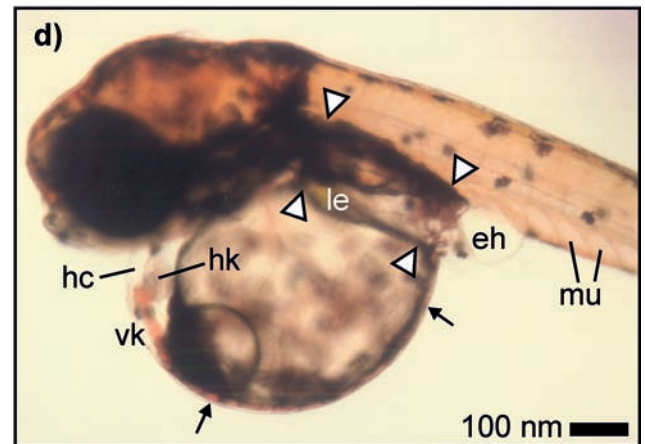


Abb. 8

c) Circa 65 Stunden nach der Ablage. Aufsicht auf Kopf und Vorkammer (vk), Epithellagen des Herzens von außen nach innen: Epimyokard (ep) und Endokard (en), die Blutkörperchen erscheinen in Form ihrer Stromlinien, Herzcoelom (hc) mit Herz, Pfeile markieren den Blutstrom vom Sinus venosus zum Herzen.

Schema: Schnitt durch die Rumpffregion eines Jungfisches; Nervensystem, Chorda und Myomere als Achsenorgane; Coelomepithelien umfassen den Darm und geben ihm Halt; Mesenchymzellen in Lücken zwischen den Organen; ventral noch ein Rest der Dotterzelle.

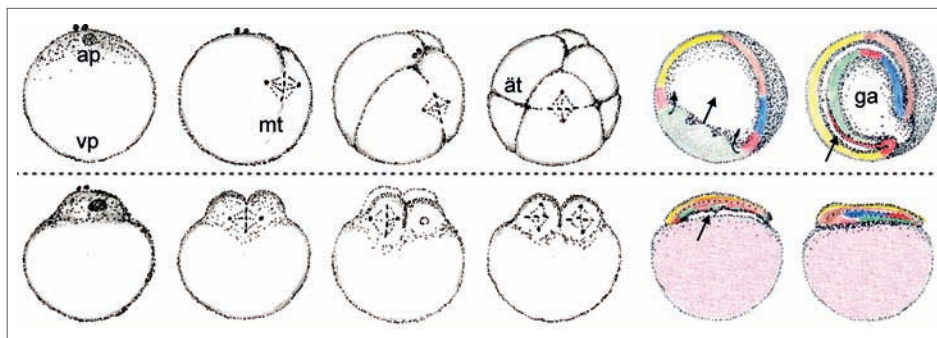


d) Jungfisch circa 80 Stunden nach der Ablage. Herzcoelom (Pericardialcoelom, hc) enthält Vorkammer (vk) und Hauptkammer (hk), Lage und Ausdehnung der Leibeshöhle mit ihren Organen ist durch Dreiecke beschrieben; embryonale Harnblase (eh), Leber (le), Muskelsegmente (mu), Pfeile weisen auf Dotterkapillaren.

Begriffe zur Embryonalentwicklung

Ei: Spezialisierte Zelle von meist kugliger Gestalt. Der Pol mit Plasmaansammlung und Eikern/Richtungskörper ist als animaler Pol der Ursprung für Sinnesorgane und das Nervensystem. Dem animalen Pol (ap) gegenüber liegt der vegetative Pol (vp) mit Dotteransammlung (Ursprung für Ernährung und Wachstum). Die Achse animal-vegetativ legt im Embryo vorne-hinten fest und die Medianebene dorsal-ventral.

Meridionale Teilung (mt): Am animalen Pol beginnend schreitet die Trennung zum vegetativen Pol fort; äquatoriale Teilung (ät): senkrechte Trennung zum Meridian.



Totale Furchung (obere Reihe, z.B. bei Schwämmen, Nesseltieren, Säugetieren u.a.): Das Ei wird in mehr oder weniger gleichförmige Zellen unterteilt. Alle Blastomeren erhalten einen Dottervorrat. Bildung einer Blastomerenkugel mit innerem Hohlraum. Die Blastomeren arrangieren sich oft zu einem Hohlkeim (Blastula, mit Blastocoel, Furchungshöhle, primärer Leibeshöhle (†)) aus einschichtigem Epithel. Die Einstülpung des Hohlkeimes vom vegetativen Pol her führt zur Bildung des Darmsystems (Urdarm, Gastrulation (ga)). Zusätzlich geraten unterschiedliche Organanlagen untereinander in Kontakt. Dies führt zu Wechselwirkungen, welche erst weitere Organisationsstufen entstehen lassen.

Partielle Furchung (untere Reihe, beispielsweise bei Knochenfischen, Haien, Reptilien, Vögeln u.a.): Alle Begriffe der totalen Furchung lassen sich übertragen, jedoch beschränken sich die Zellteilungen auf die Keimscheibe, die der ungeteilten Dottermasse aufsitzt. Die Blastomeren halten an der Basis lange eine offene Verbindung mit dem Dotter. Das Blastocoel entsteht schizogen, d.h. Lücken zwischen den Blastomeren schließen sich sekundär zu einem Hohlraum zwischen Dotter und Blastomeren zusammen. Die Zellen der verschiedenen Blasteme (Keimblätter) liegen geschichtet vor, so dass durch Klüfte eine schichtweise Trennung (Delamination, „Abblätterung“) und Neuordnung zum Keimstreif erfolgt.

Zusammenfassung

In zwölf Tagen vom befruchteten Ei zum Jungfisch: Dank einer praktisch durchsichtigen Eihülle lassen sich die vielfältigen Entwicklungsschritte am lebenden Embryo beobachten – was insbesondere für Kurszwecke vorteilhaft ist.

Literatur

- [1] P. B. Armstrong, Stages in the normal development of *Fundulus heteroclitus*, *Biol. Bull.* 1965, 128, 143–168.
- [2] W. W. Ballard, A new fate map for *Salmo gairdneri*, *J. Exp. Zool.* 1973b, 184, 49–74.
- [3] L. Dimichele et al., The mechanism of hatching in *Fundulus heteroclitus*: Development and Physiology, *J. Exp. Zool.* 1981, 217, 73–79.
- [4] H. E. Hagenmaier et al., Zum Schlüpfprozess bei Fischen. I. Eihüllen, *Experientia*, 1972, Vol. 28, Fasc. 5, 605–606.
- [5] N. H. Hart, Cortical granule exocytosis and cell surface reorganization in eggs of *Brachydanio*, *J. Exp. Zool.* 1980, 213, 137–159.
- [6] S. Heinig, *Epiplatys dageti* (Cyprinodontidae) Embryonalentwicklung, Filme E 2147, E 2148, E 2149, E 2150 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1975.
- [7] S. Heinig, Über die Zelllagen früher Entwicklungsstadien von *Epiplatys dageti* (Cyprinodontidae), studiert am lebenden Ei, *Zool. Jb. Anat.* 1979, 101, 537–555.
- [8] O. Hertwig, *Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere*. Fischer, Jena, 1906.
- [9] C. W. Huver, The stage of fertilization of the egg of *Fundulus heteroclitus*, *Biol. Bull.* 1960, 119, 320.
- [10] Y. J. Jiang et al., Mutations affecting neurogenesis and brain morphology in the zebra-fish (*Danio rerio*), *Development* 1996, 123, 205–216.
- [11] P. A. Kane et al., The zebrafish epiboly mutants, *Development* 1996, 123, 47–55.
- [12] C. B. Kimmel et al., Origin and organization of the zebrafish fate map, *Development* 1990, 108, 581–594.
- [13] F. Kirschbaum, Untersuchung über das Farbmuster der Zebrabarbe (*Brachydanio rerio*) (Cyprinidae) Teleostei, *Roux' Archiv* 1975, 129–152.
- [14] M. C. Mullins et al., Genes establishing dorsoventral pattern formation in the zebrafish embryo: the ventral specifying genes, *Development* 1996, 123, 81–93.
- [15] R. K. Nelsh et al., Zebrafish pigmentation mutations and the processes of neural crest development, *Development* 1996, 123, 369–389.
- [16] T. Oellacher, Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Knochenfische nach Beobachtungen am Bachforellenei. *Cap. III–V, Z. wiss. Zool.* 1873, 23, 1–115.
- [17] R. Rugh, *Experimental Embryology*. Burgess Publishing Company, 1962.
- [18] R. Siewing, *Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Tiere*. Verlag Paul Parey, 1969.
- [19] L. Solnica-Krezel et al., Mutations affecting cell fates and cellular rearrangements during gastrulation in zebrafish, *Development* 1996, 123, 67–80.
- [20] J. P. Wourms, The developmental biology of annual fishes. I. Stages in the normal development of *Austrofundulus myersi* Dahl, *J. Exp. Zool.* 1972a, 182, 143–168.

Dank

Frau Dr. Sabine Dietrich und Frau Heike Worth, Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg, danke ich für sachlich-kritische Stellungnahmen und die pflegliche Bearbeitung von Bild und Wort.

Der Autor

Dr. Sigurd Heinig, geb. 1933, Abitur 1954 am Realgymnasium Dillenburg; 1966 Promotion über ein entwicklungsphysiologisches Thema an Grillenembryonen bei Prof. Seidel, Marburg. 1968–1999 wissenschaftlicher Mitarbeiter mit Lehrverpflichtung in Spezieller und Allgemeiner Zoologie, Entwicklungsbiologie und Systematik an der Philipps-Universität Marburg. 30 Jahre meeresbiologische Exkursionen nach Helgoland und Sylt.

Korrespondenz:

Dr. Sigurd Heinig
Meisenweg 11
35 274 Kirchhain