

Über den Nukleinsäure- und Proteinstoffwechsel der Frühentwicklung bei Seeigeln¹⁾

Herrn Prof. Dr. H. Steiner zum 70. Geburtstag gewidmet.

Von

PEI SHEN CHEN

(Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich)

Die Seeigelenwicklung ist durch die Untersuchungen zahlreicher Forscher eines der am besten bekannten Gebiete der experimentellen Embryologie geworden. Die Echinideneier erwiesen sich als geeignetes Material für die entwicklungsphysiologisch-biochemische Forschung. Sie lassen sich unter günstiger Bedingung leicht künstlich besamen und aufziehen, wodurch Keime in grosser Anzahl in gleichen Entwicklungsstadien gewonnen werden. Dies ist besonders wichtig für die biochemischen Untersuchungen, die oft homogenes Material in grosser Quantität erfordern. Schon seit mehr als zwei Jahrzehnten hat man sich bemüht, die stoffliche Grundlage der morphologischen Entwicklung mit Hilfe verfeinerter biochemischer Methoden zu erforschen und damit die kausalen Beziehungen in der Morphogenese aufzuklären. Wohl ist es nicht immer einfach, die chemischen Befunde in eine direkte Beziehung zu den morphogenetischen Vorgängen zu bringen, doch hat diese Forschungsrichtung viele neue Einsichten und nützliche Anregungen in die Entwicklungsphysiologie gebracht. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, eine Übersicht über die bisherigen Untersuchungsergebnisse des Nukleinsäure- und Proteinstoffwechsels während der Frühentwicklung bei Seeigeln zu geben.

Die Synthese der Nukleinsäuren

Nach den bisherigen biochemischen Ergebnissen über die Funktion der Nukleinsäuren besteht kein Zweifel, dass die Desoxyribonukleinsäure (DNS) die genetische Trägersubstanz der Erbmerkmale darstellt, während die Ribonukleinsäure (RNS) eine zentrale Rolle in der Eiweissynthese spielt (CASPERSSON 1950). Während der Furchung wird die Anzahl der Kerne durch jeden Zellteilungsschritt verdoppelt. Es liegt deshalb nahe, anzunehmen, dass im Verlaufe der Entwicklung DNS sukzessiv synthetisiert wird. Ferner werden während der Morphogenese neue spezifische Proteine gebildet. Wahrscheinlich finden auch quantitative und qualitative Änderungen der RNS in dem sich entwickelnden Keim statt.

BRACHET (1933) hat zum erstenmal bei *Paracentrotus lividus* festgestellt, dass

¹⁾ Herausgegeben mit Unterstützung durch die Karl-Hescheler-Stiftung. Den Herren Prof. F. BALTZER und E. HADORN bin ich für ihre wertvolle Kritik zu herzlichem Dank verpflichtet.

der DNS-Gehalt während der Entwicklung bis zum Pluteus deutlich zunimmt. Dieses Resultat wurde durch die späteren Untersuchungen an zahlreichen Seeigelarten bestätigt. Die DNS-Menge wird im Zeitraum von der Furchung oder jungen Blastula bis zum Prisma- oder mittleren Pluteusstadium bei verschiedenen untersuchten Arten um das 6- bis 14fache erhöht (siehe WHITELY und BALTZER 1958, S. 443).

Auf Grund der Tatsache, dass die Totalmenge der Nukleinsäuren während der Embryonalentwicklung konstant bleibt, und der Gehalt an RNS im Gegensatz zu DNS abnimmt, stellte BRACHET (1937, 1950) die Hypothese auf, dass RNS in DNS übergeführt wird. Die späteren Untersuchungsergebnisse wiesen aber darauf hin, dass eine solche Umwandlung sehr unwahrscheinlich ist (vgl. BRACHET 1957, S. 182 bis 185). Die Angabe, dass der Nukleoproteingehalt vom Ei bis zur Pluteuslarve konstant bleibt (MASING 1910; NEEDHAM und NEEDHAM 1930), erwies sich als unrichtig. Trotz der Zunahme von DNS bleibt der RNS-Gehalt im wesentlichen unverändert (SCHMIDT, HECHT und THANNHAUSER 1948; VILLEE et al. 1949; ELSON, GUSTAFSON und CHARGAFF 1954, AGRELL und PERSSON 1956 a, BALTZER und CHEN, unveröffentlicht). Ausserdem bewiesen die Versuche mit Isotopen, dass die spezifische Aktivität der DNS 2- bis 15mal grösser ist als die der RNS (VILLEE et al. 1949, ABRAMS 1951, SCARANO und KALCKAR 1953). VILLEE et al. (1949) konnten zeigen, dass die Synthese der RNS durch Malononitril herabgesetzt wurde, aber nicht diejenige der DNS.

Nach ELSON, GUSTAFSON und CHARGAFF (1954) nimmt der RNS-Gehalt bei *Paracentrotus lividus* kurz nach der Befruchtung ab. Er nimmt von der Furchung bis zur Blastula zu, sinkt ab und steigt bei Beginn der Gastrulation wieder. Während der Gastrulation werden neue Eiweisse synthetisiert. Die Differenzierungsprozesse, wie die Bildung der Mitochondrien und Fermente, sind in der letztgenannten Entwicklungsphase besonders intensiv (vgl. GUSTAFSON 1953, 1954). Möglicherweise ist der zweite Anstieg des RNS-Gehalts mit dem Proteinstoffwechsel korreliert. Andererseits wissen wir, dass der Gehalt an Nukleinsäuren in den Eiern je nach der Versuchsserie stark variiert. Deshalb scheint es noch verfrüht zu sein, den Befund der genannten Autoren in eine direkte Beziehung mit den morphogenetischen Vorgängen zu setzen. Nach der neuen Untersuchung von AGRELL und PERSSON (1956a) bleibt der Gehalt an RNS bei *Paracentrotus lividus* und *Psammechinus miliaris* während der Frühentwicklung konstant. Bei *Echinus esculentus* ist vom 400-Zellenstadium an eine deutliche Zunahme der RNS bemerkbar.

Die bisherigen chemischen Bestimmungen der DNS bei Seeigeln zeigten, dass das Ei 28- bis 290mal mehr DNS enthält als das Spermium (SCHMIDT, HECHT und THANNHAUSER 1948, VENDRELY und VENDRELY 1949, ELSON und CHARGAFF 1952). Für eine Erklärung dieser Tatsache bestehen zwei Möglichkeiten: entweder enthält der Eikern tatsächlich mehr DNS als der Spermakern, oder der DNS-Gehalt ist bei beiden gleich, und die zusätzliche DNS im Zytoplasma des Eies lokalisiert. Um zwischen diesen beiden Erklärungsmöglichkeiten zu entscheiden, muss die Frage zuerst aufgeklärt werden, ob die Hypothese der «Zellkonstanz der DNS», das heisst der konstanten DNS-Menge pro Chromosomensatz, auch für den See-

igelkeim gültig ist. Nach LISON und PASTEELS (1951) variiert der DNS-Gehalt pro Kern bei *Paracentrotus lividus* je nach dem Entwicklungsstadium sehr stark. Diese Variation hängt wahrscheinlich mit der Differenzierung der Organanlagen zusammen. Eine ähnliche Situation wurde auch bei Amphibienkeimen nachgewiesen (B. C. MOORE 1952, 1957). Andererseits deuten verschiedene Arbeiten darauf hin, dass die DNS-Menge pro Zelle während der Seeigelentwicklung doch konstant bleibt. (ELSON, GUSTAFSON und CHARGAFF 1954, McMASTER 1955, WHITELY und BALTZER 1958). Wenn dies der Fall ist, muss die zusätzliche DNS im Eiplasma lokalisiert sein.

Für eine zytoplasmatische Lokalisation der DNS spricht ferner die folgende Tatsache: wie bereits angeführt (S. 285), nimmt der DNS-Gehalt des Seeigelkeims während der Entwicklung zu. Eine nähere Analyse zeigt jedoch, dass diese Zunahme erst im Verlaufe der Furchung eintritt. Es wurde deshalb die Ansicht vertreten, dass das Eiplasma DNS-Reserve besitzt, und die Keime sich in den früheren Stadien auf Kosten des DNS-Vorrats entwickeln (ZEUTHEN 1951, AGRELL 1953). Bei der Amphibienentwicklung scheint dies auch der Fall zu sein (ZEUTHEN 1951, HOFF-JØRGENSEN und ZEUTHEN 1952, SZE 1953). Nach den bisherigen Resultaten ist diese Reserve jedoch recht gering. ELSON, GUSTAFSON und CHARGAFF (1954) schätzten, dass das Seeigelei etwa das 5- bis 15fache der Diploidmenge von DNS besitzt. Nach WHITELY und BALTZER (1958) würde der DNS-Vorrat im Eiplasma nur für die Entwicklung bis zum 32-Zellenstadium ausreichen. Die Angabe, dass das Eiplasma grosse DNS-Reserve besitzt, ist vermutlich auf die Verunreinigung des Versuchsmaterials zurückzuführen (MARSHAK und MARSHAK 1956). Da das Zytoplasma des Eies eine negative Feulgenreaktion aufweist, fragt man sich, in welcher Form diese DNS-Reserve vorkommt. Weitere Untersuchungen sind hier notwendig.

AGRELL und PERSSON (1956 a) berichteten, dass die Blastomeren sich nicht mehr synchron teilen, sobald die DNS-Reserve erschöpft ist. Je nach den Seeigelarten beginnt die DNS-Synthese vom 32- bis 400-Zellenstadium an. Werden die Keime im 2-Zellenstadium mit Testosteron behandelt, so treten Mitosestörungen erst mit dem Beginn der DNS-Synthese auf. Offenbar greift dieses Hormon in den Bildungsprozess der DNS ein (AGRELL 1955, AGRELL und PERSSON 1956 b).

Nach WHITELY und BALTZER (1958) ist eine deutliche Zunahme des DNS-Gehaltes von der Furchung bis zur Pluteuslarve sowohl bei *Paracentrotus lividus* wie auch bei *Arbacia lixula* feststellbar. Trotz des grossen Unterschieds in ihrem Ei- und Chromosomvolumen scheint die Totalmenge der DNS bei beiden Arten anfänglich gleich zu sein. Mit fortgeschrittener Entwicklung ist sie bei *Arbacia* jedoch eindeutig geringer: sie beträgt im Alter von 43 Stunden (Prisma/Pluteus) nur noch rund 44% derjenigen von *Paracentrotus*. Bei dem Bastard *Paracentrotus* ♀ x *Arbacia* ♂ ist die DNS-Synthese wahrscheinlich von 16 bis 20 Stunden an bereits herabgesetzt. In der gehemmten Entwicklungsphase zeigen die hybriden Keime ein intermediäres Verhalten zwischen den beiden Elternarten bezüglich der DNS-Bildung.

Der Proteinstoffwechsel

Eines der wichtigsten Probleme in der Entwicklungsphysiologie ist die Veränderung des Proteinstoffwechsels während der Morphogenese. Nach MONROY (1950, 1951, 1957) treten bei Seeigeleiern bereits unmittelbar nach der Befruchtung molekuläre Veränderungen der Zellproteine ein. Besonders in der Frühentwicklung werden Dottereiweiße ständig abgebaut und Embryonalproteine aufgebaut. Wahrscheinlich spielt der Proteinstoffwechselprozess in der Determinationsphase der verschiedenen Bereiche des Embryos auch eine wichtige Rolle. Nach der Vorstellung RUNNSTRÖM's (1954) reagieren die animalen und vegetativen Cofaktoren zuerst mit den Eiweissmolekülen und bilden die Protein-Cofaktor-Komplexe, welche als Zentren für die weitere Synthese spezieller Eiweiße dienen.

HULTIN (1950, 1952, 1953 a,c) hat zahlreiche Versuche über den Einbau des N^{15} und C^{14} in die Proteine während der Seeigelentwicklung durchgeführt. Nach seinen Ergebnissen werden die markierten Stoffe sowohl in die Proteine wie auch in die Nukleinsäure eingebaut. Der Einbauprozess ist bei Beginn der Entwicklung relativ gering aber deutlich verstärkt von der Mesenchymblastula an. Dies ist besonders der Fall bei den löslichen Proteinen. Interessant ist ferner der Befund, dass die zugeführten Stoffe während der Furchung vorwiegend in die Mikrosomen und erst im Mesenchymblastula-Stadium in die Mitochondrien eingebaut werden (HULTIN 1953 b). Nach der Ansicht RUNNSTRÖM's (1954) dienen die Mikrosomen vor allem als Bildungszentren der Cofaktor-Protein-Komplexe, die wiederum die Grundvorgänge des Determinationsgeschehens darstellen.

Die sukzessiven Veränderungen des Proteinstoffwechsels während der Furchung bis zur Pluteuslarve wurden von KAVANAU (1953, 1954) eingehend untersucht. Er stellte fest, dass der Abbau des Dotters und Aufbau des Embryonalproteins während der ganzen Entwicklung abwechseln. Die Eiweiss-synthese ist besonders auffallend in den folgenden drei Stadien: mittlere Blastula, Mesenchymblastula und Gastrula bis Prisma mit Skelettanlage. Diese Ergebnisse erinnern uns an die drei Entwicklungsperioden, die LINDAHL (1939) bei der Analyse des Atmungsverlaufes nachgewiesen hat. Mit Hilfe der immunologischen Technik stellten PERLMANN und COUFFER-KALTENBACH (1957) ebenfalls charakteristische quantitative Änderungen der Zellproteine während der Seeigelentwicklung fest.

Im Zusammenhang mit ihrem Studium an Seeigelbastarden führten CHEN und BALTZER (1958) und CHEN (1958) Untersuchungen des Gehalts an freien Aminosäuren verschiedener Seeigelarten durch (vgl. auch BALTZER, CHEN und WHITELY 1958). Es wurden die von HADORN und seinen Mitarbeitern ausgearbeiteten papierchromatographischen Methoden benutzt (HADORN und STUMMZOLLINGER 1953, CHEN und HADORN 1954). Es zeigte sich, dass sowohl der sogenannte «Aminosäurenpool» als auch die Veränderungen der einzelnen Aminosäuren artspezi-

fisch sind. Die bisherigen Ergebnisse der beiden Autoren können wie folgt zusammengefasst werden:

a) Das Muster der freien Aminosäuren

Im ganzen werden 27 freie Ninhydrin-positive Substanzen nachgewiesen: 20 Aminosäuren, 6 Peptide und ein nicht näher analysierter, unbekannter Stoff. Nach der papierchromatischen Analyse erwies sich das Muster solcher Substanzen als teilweise artspezifisch. In Übereinstimmung mit den früheren Autoren (ÖSTRÖM 1941, BERG 1950, KAVANAU 1953, 1954) wurde bei *Paracentrotus lividus* das Glycin als die stärkste Aminosäure festgestellt. Ausserdem sind noch zwei «spezifische» Peptide bei dieser Art nachgewiesen worden (Flecke 21 und 22 in CHEN und BALTZER 1958, Fig. 1 A). Das Glycin bildet ebenfalls den konzentriertesten Fleck bei *Sphaerechinus granularis*, *Echinocardium cordatum*, *Psammechinus microtuberculatus* und *Genocidaris maculata* (CHEN 1958). Das Muster für *Arbacia lixula* zeichnet sich durch eine neue Substanz aus, die nach ihrem Verhalten auf dem Chromatogramm wahrscheinlich eine Aminobuttersäure ist (Fleck 17 in CHEN und BALTZER 1958, Fig. B). Das Glycin ist bei dieser Art nur schwach konzentriert. *E. cordatum* erweist sich im Vergleich zu den übrigen Seeigelarten als besonders aminosäurereich (vgl. Tab. 2). Dies kommt deutlich in der hohen Konzentration von Valin und Leucin zum Ausdruck (Flecke 9 und 16 in CHEN 1958, Fig. 1A). Der Fleck 17 wurde in der vorliegenden Art ebenfalls regelmässig registriert. Die übrigen von uns untersuchten Arten, *S. granularis*, *Ps. microtuberculatus* und *G. maculata*, unterscheiden sich in ihren Peptiden. Weitere Einzelheiten sind aus Tab. 1 ersichtlich.

Unter den Peptiden kommt das Glutathion bei allen untersuchten Arten vor. Nach den bisherigen Ergebnissen wissen wir, dass es bei der Biosynthese der Eiweisse eine wichtige Rolle spielt. Mit S³⁵-Methionin konnten NAKANO und MONROY (1958) nachweisen, dass das Glutathion als intermediäres Stoffwechselprodukt dient, durch welches der S³⁵ in die Embryonalproteine eingebaut wird.

Es muss betont werden, dass die eben beschriebene Artspezifität sich ausschliesslich auf das Muster der freien Ninhydrin-positiven Stoffe bezieht. Dagegen enthalten die Hydrolysate aus den Proteinen bei den verschiedenen Arten die gleichen Aminosäuren und sind auch in der Verteilung dieser Substanzen bei allen untersuchten Arten auffallend ähnlich. Das Glycin, das bei den meisten Seeigelarten sehr stark akkumuliert wird, zeigte keine übermässige Konzentration im Hydrolysat. Der «Arbaciastoff» (Fleck 17) kommt im Proteinhydrolysat derselben Art nie in nachweisbarer Menge vor. Aus diesen Ergebnissen kann man die folgenden Schlüsse ziehen: 1. Die freien Aminosäuren besitzen ausser ihrer Funktion als Bausteine der Proteine noch andere Aufgaben, wie die Osmoregulation und Energiezufuhr (vgl. Diskussion in KAVANAU 1953, S. 310 und 315). 2. Die artspezifischen Proteine, die wir aus den serologischen Untersuchungen kennen (PERLMANN 1953, 1956), unterscheiden sich vermutlich nicht in der Qualität der Aminosäurezusammensetzung, sondern in ihrer «Ar-

Tabelle 1 Freie Ninhydrin-positive Substanzen in methanolischen Extrakten der Eier und Embryonen verschiedener Seeigelarten. («!» bezeichnet die Substanzen, die für die betreffenden Arten spezifisch oder besonders konzentriert sind.)

Freie Ninhydrin-positive Substanzen	<i>Para-centrotus lividus</i>	<i>Arbacia lixula</i>	<i>Sphaerechinus granularis</i>	<i>Echino-cardium cordatum</i>	<i>Psammechinus microtuberculatus</i>	<i>Genocidaris maculata</i>
1 α -Alanin	+	+	+	+	+	+
2' β -Alanin	+	—	—	+	—	—
2 Arginin	+	+	+	+	+	+
3 Asparagin	+	—	+	—	—	—
4 Asparaginsäure	+	+	+	+	+	+
4' Cystein	—	—	+	—	—	—
5 Cystin	+	+	+	+	+	+
6 Glutaminsäure	+	+	+	+	+	+
7 Glutamin	+	+	+	+	+	+
8 Glycin	+	+	+	+	+	+
8' Histidin	+	—	—	+	—	—
9 Leucin (iso-Leucin)	+	+	+	+!	+	+
10 Lysin	+	+	+	+	+	+
11 Ornithin	+	—	—	—	—	—
12 Prolin	+	—	—	+	+	—
13 Serin	+	+	+	+	+	+
14 Threonin	+	+	+	+	—	—
15 Tyrosin	+	+	+	—	—	—
16 Valin (methionin)	+	+	+	+!	+	+
17 «Fast-aminobuttersäure»	—	+!	—	+!	—	—
18 Peptid 1	+	+	+	—	—	—
19 Peptid 2	+	+	+	+	+	+
20 Peptid 3 (Glutathion)	+	+	+	+	+	+
21 Peptid 4	+!	—	—	—	—	+!
22 Peptid 5	+!	—	—	—	—	—
23 Peptid 6 (Tripeptid)	—	—	+!	—	+!	—
24 Unbekannter Stoff	—	—	—	—	+!	—

chitektur» des Molekülbaus. Nähere Untersuchungen sind hier erforderlich.

Es wurden die folgenden drei Bastarde papierchromatographisch untersucht: *P. lividus* ♀ x *A. lixula* ♂ (PA), *S. granularis* ♀ x *P. lividus* ♂ (SP) und *E. cordatum* ♀ x *P. lividus* ♂ (EP). Der Bastard PA ist letal: der Keim entwickelt sich bis zur späten Blastula normal, bleibt während der Gastrulation stehen und geht dann am Ende des zweiten Tages rasch zugrunde (vgl. BALTZER, CHEN und WHITELY 1958). Die Bastarde SP und EP können bis zum Pluteusstadium aufgezogen werden und zeigen sowohl mütterliche wie auch väterliche Charaktere (BALTZER 1910, NÜMANN 1933, v. UBISCH 1955). Nach den bisherigen Ergebnissen zeigen die freien Aminosäuren aller drei Bastardtypen, im Gegensatz zur serologischen Untersuchung (HARDING et al. 1954), zumindest qualitativ, ein rein mütterliches chromatographisches Muster (BALTZER, CHEN und WHITELY 1958). Wir wissen nicht, inwiefern das Muster der Ninhydrin-positiven Stoffe im Ei-plasma durch die mütterlichen Erbfaktoren prädeterniniert ist (HADORN 1955, S. 110),

und von welchem Entwicklungsstadium an die väterlichen Gene im Stoffwechsel der freien Aminosäuren beteiligt sind (vgl. hierfür die Hypothese vom stufenweisen Einsatz der Gene in der Ontogenese von HADORN 1948, 1953, 1958).

b) Gesamtstickstoff und Totalmenge der Ninhydrin-positiven Substanzen

Bekanntlich sind die Seeigelarten stark verschieden in ihrer Eigrosse. Quantitative Messungen an unbefruchteten Eiern ergaben, dass der Gesamtstickstoff (Total-N) und die Totalmenge der freien Ninhydrin-positiven Substanzen bei *P. lividus*, *S. granularis* und *E. cordatum* entsprechend ihrem Volumenverhältnis variieren (Tab. 2). Eine Ausnahme bilden die *Arbacia*eier. Ihr Extinktionswert pro Stoffstoffeinheit ($E. / \gamma N$ in Tab. 2) ist rund dreimal kleiner als der der

Tabelle 2 Grösse, Total-N und Totalmenge der freien Ninhydrin-positiven Substanzen verschiedener Seeigeleier.

Arten	Durchmesser mm/Ei*	Volumen- verhältnis (D ³) mm ³ /Ei	Total N $\gamma/10^3$ Eier	Totalmenge der freien Ninhydrin-positiven Substanzen	
				E./10 ³ Eier	E./ γN
<i>Arbacia lixula</i>	0,080	512×10^{-6}	8,50	0,080	0,0094
<i>Paracentrotus lividus</i>	0,095	857×10^{-6}	13,32	0,390	0,0293
<i>Sphaerechinus granularis</i>	0,095	857×10^{-6}	14,51	0,410	0,0282
<i>Echinocardium cordatum</i>	0,122	1816×10^{-6}	17,24	0,549	0,0318

übrigen drei Arten, obwohl ihr Total-N noch einen dem Volumenverhältnis nahestehenden Wert aufweist. Das Ei-plasma von *Arbacia* ist offensichtlich besonders arm an freien Aminosäuren und reich an Proteinen.

Unsere Messwerte zeigen, dass sowohl der Total-N als auch die Totalmenge der freien Aminosäuren während der Entwicklungsdauer vom Ei bis zum Prisma- oder Pluteusstadium (38 bis 42 Stunden) deutlich abnehmen. Bei *P. lividus* beträgt die Abnahme rund 32% im Total-N und 10% in den freien Aminosäuren, bei *S. granularis* 17% und 36%. EPHRUSSI et al. (1928) und HAYES (1934) berichteten ebenfalls eine Abnahme des Total-N während der Frühentwicklung. Die Reduktion der freien Aminosäure ist grösstenteils auf den Einbau dieser Substanzen in die Embryonalproteine zurückzuführen. Es wurde aber auch die Ansicht vertreten, dass gewisse Aminosäuren während der Morphogenese oxydativ abgebaut und als Energielieferanten gebraucht werden (ÖSTRÖM 1937, HUTCHENS et al. 1942). Insbesondere für die frühe Entwicklung sind vermutlich Fett- und Eiweissstoffwechsel charakteristisch, während für die späteren Phasen ein Kohlehydratabbau vorliegt (LINDAHL 1941). Bei *Arbacia* beträgt die Abnahme des Total-N bloss 10%. Die Totalmenge der freien Aminosäuren bleibt konstant. Der Erhaltungsstoffwechsel der vorliegenden Art ist offenbar im Vergleich zu den übrigen Arten geringer. Nach WHITELY und BALTZER (1958) ist die Atmungsintensität bei *Arbacia* nur halb so gross wie bei *Paracentrotus*.

In allen untersuchten Stadien zeigen die beiden Bastarde PA und SP höhere Werte in ihrem Total-N und ihrer Totalmenge der Ninhydrin-positiven Substanzen.

* Messungen durchgeführt von Herrn Prof. F. BALTZER. E = Extinktion. D = Durchmesser.

zen als die mütterlichen Arten. Wahrscheinlich sind der Einbau der freien Aminosäuren in die Körpereiwisse sowie der Energiestoffwechsel infolge einer, allerdings verschieden grossen, Inkompatibilität zwischen dem artfremden Kern und dem Zytoplasma gehemmt.

Ferner wurde bei *P. lividus* und *A. lixula* festgestellt, dass der Total-N bei Fütterung mit *Chlamydomonas* und *Nitzschia*, wie zu erwarten war, steil ansteigt. Der Gehalt an freien Ninhydrin-positiven Substanzen nimmt jedoch nur unbedeutend oder überhaupt nicht zu. Dies beruht wohl darauf, dass während dieser Wachstumsperiode der Aufbau der Körpereiwisse sehr intensiv ist, und die Aminosäure nach ihrer Zufuhr in den Organismus sofort für die Synthese gebraucht wird. Eine augenfällige Veränderung im chromatographischen Muster fanden wir in der Fütterungsperiode nur bei *Arbacia* plutei. Wie bereits erwähnt wurde (S. 288), bildet das Glycin bei *Arbacia* im Gegensatz zu den meisten Seeigelarten auf dem Chromatogramm während der ganzen Entwicklung nur einen schwachen Fleck. Im Laufe der Fütterung trat aber diese Aminosäure in immer konzentrierterer Menge auf. Kontrollversuche bewiesen, dass sie nicht von den im Verdauungstraktus befindlichen Algen stammte. Offenbar ist hier eine Veränderung des Proteinstoffwechsels während der Fresszeit eingetreten.

Literaturverzeichnis

- ABRAMS, R. (1951): Synthesis of nucleic acid purines in the sea-urchin embryo. *Exp. Cell Res.*, 2, p. 235.
- AGRELL, J. (1953): A mitotic gradient in the sea-urchin embryo during gastrulation. *Arkiv Zool. Ser. 2*, 6, p. 213.
- (1955): L'action de l'oestradiol sur les premières phases du développement embryonnaire de l'Oursin *Psammechinus miliaris*. *C. R. Soc. Biol.*, 149, p. 1322.
- AGRELL, J. and PERSSON, H. (1956 a): Changes in the amount of nucleic acids and free nucleotides during early embryonic development of sea-urchins. *Nature*, 178, p. 1398.
- (1956 b): The action of oestradiol on desoxyribonucleoprotein as the cause of its inhibitory effect upon mitosis in the sea urchin embryo. *Biochem. Biophys. Acta*, 20, p. 543.
- BALTZER, F. (1910): Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. *Arch. Zellf.*, 5, S. 496.
- BALTZER, F., CHEN, P. S. and WHITELY, A. H. (1958): Biochemical studies on sea-urchin hybrids. *Exp. Cell Res.*, Suppl. 6, p. 192.
- BERG, W. E. (1950): Free amino acids in sea-urchin eggs and embryos. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 75, p. 30.
- BRACHET, J. (1933): Recherches sur la synthèse de l'acide thymonucléique pendant le développement de l'œuf d'Oursin. *Arch. biol. (Liège)*, 44, p. 519.
- (1937): Remarques sur la formation de l'acide thymonucléique pendant le développement des œufs à synthèse partielle. *Arch. biol. (Liège)*, 48, p. 529.
- (1950): *Chemical Embryology*. Interscience, New York.
- (1957): *Biochemical Cytology*. Academic Press Inc., New York.
- CASPERSSON, T. O. (1950): *Cell Growth and Cell Function*. New York.
- CHEN, P. S. (1958): Further studies on free amino-acids and peptides in eggs and embryos of different sea-urchin species and hybrids. *Experientia*, 14, p. 369.

- CHEN, P. S. and BALTZER, F. (1958): Species-specific differences in free amino-acids and peptides in sea-urchin eggs and embryos (pure species and hybrids). *Nature*, *181*, p. 98.
- CHEN, P. S., und HADORN, E. (1954): Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Hämolymphe von *Drosophila*, *Ephesia* und *Corethra*. *Rev. suisse Zool.*, *61*, p. 437.
- ELSON, D. and CHARGAFF, E. (1952): On the desoxyribonucleic acid content of sea-urchin gametes. *Experientia*, *8*, p. 143.
- ELSON, D., GUSTAFSON, T. and CHARGAFF, E. (1954): The nucleic acid of the sea-urchin during embryonic development. *J. Biol. Chem.*, *209*, p. 258.
- EPHRUSSI, B., et RAPKINE, L. (1928): Composition chimique de l'œuf d'oursin *Paracentrotus lividus* LK. et ses variations au cours de développement. *Ann. Physiol. Physiochim. Biol.*, *4*, p. 386.
- GUSTAFSON, T. (1953): Sea-urchin development in the light of enzymic and mitochondrial studies. *J. Embryol. exp. Morph.*, *1*, p. 251.
- (1954): Enzymatic aspects of embryonic differentiation. *Int. Rev. Cyto.*, *3*, p. 277.
- HADORN, E. (1948): Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese. *Folia Biotheoretica*, *3*, S. 109.
- (1953): Genetik und Entwicklungsphysiologie. *Naturwiss.*, *40*, S. 85.
- (1955): Letalfaktoren in ihrer Bedeutung und Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung. Stuttgart.
- (1958): Roles of genes in developmental processes. In «A Symposium on the Chemical Basis of Development», p. 779—791 (W. D. McELROY and B. GLASS), The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- HADORN, E., und STUMM-ZOLLINGER, E. (1953): Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutation «letal-translucida» (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. *Rev. suisse Zool.*, *60*, p. 506.
- HARDING, C. V., HARDING, D. and PERLMANN, P. (1954): Antigens in sea-urchin hybrid embryos. *Exp. Cell Res.*, *6*, p. 202.
- HAYES, F. R. (1934): Variation in size and in nitrogen requirements during early development of the sea-urchin *Echinometra lucunter*. *Carnegie Inst. Wash.*, Tortugas Lab., *28*, p. 183 (zitiert in KAVANAU 1953).
- HOFF-JØRGENSEN, E. and ZEUTHEN, E. (1952): Evidence of cytoplasmic desoxyribosides in the frog's egg. *Nature*, *169*, p. 245.
- HULTIN, T. (1950): The protein metabolism of sea-urchin eggs during early development studied by means of N¹⁵-labeled ammonia. *Exp. Cell Res.*, *1*, p. 599.
- (1952): Incorporation of N¹⁵-labeled glycine and alanine into the proteins of developing sea-urchin eggs. *Exp. Cell Res.*, *3*, p. 494.
- (1953a): Incorporation of N¹⁵-labeled ammonium chloride into pyrimidines and purines during the early sea-urchin development. *Arkiv Kemi*, *5*, p. 267.
- (1953b): Incorporation of N¹⁵-DL-alanine into protein fractions of sea-urchin embryos. *Arkiv Kemi*, *5*, p. 559.
- (1953c): Incorporation of C¹⁴-labeled carbonate and acetate into the sea-urchin embryos. *Arkiv Kemi*, *6*, p. 195.
- HUTCHENS, J. O., KELTCH, A. K., KRAHL, M. E. and CLOWES, G. H. A. (1942): Studies on cell metabolism and cell division. VI. Observations on the glycogen content, carbohydrate consumption, lactic acid production, and ammonia production of eggs of *Arbacia punctulata*. *J. gen. Physiol.*, *25*, p. 717.
- KAVANAU, J. L. (1953): Metabolism of free amino acids, peptides and proteins in early sea-urchin development. *J. exp. Zool.*, *122*, p. 285.
- (1954): Amino acid metabolism in the early development of the sea-urchin *Paracentrotus lividus*. *Exp. Cell Res.*, *7*, p. 530.
- LINDAHL, P. E. (1939): Zur Kenntnis der Entwicklungsphysiologie des Seeigeleies. *Z. vergl. Physiol.*, *27*, p. 233.
- (1941): Physiologische Probleme der Entwicklung und Formbildung des Seeigelkeimes. *Naturwiss.*, *29*, S. 673.

- LISON, L., et PASTEELS, J. (1951): Etudes histophotométriques sur la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux au cours du développement embryonnaire chez l'oursin *Paracentrotus lividus*. Arch. Biol. (Liège), 62, p. 1.
- MARSHAK, A. and MARSHAK, C. (1956): On the question of the DNA content of sea-urchin eggs. Exp. Cell Res., 10, p. 246.
- MASING, E. (1910): Über das Verhalten der Nucleinsäure bei der Furchung des Seeigeleies. Z. physiol. Chem., 67, S. 161.
- MCMASTER, R. (1955): Desoxyribose nucleic acid in cleavage and larval stages of the sea-urchin. J. exp. Zool., 130, p. 1.
- MONROY, A. (1950): A preliminary electrophoretic analysis of proteins and protein fractions in sea-urchin eggs and their changes on fertilization. Exp. Cell Res., 1, p. 92.
- (1957): Studies of proteins of sea-urchin egg and of their changes following fertilization. In «The Beginnings of Embryonic Development», p. 169, Washington.
- MONROY, A. and MONROY-ODDO, A. (1951): Solubility changes of proteins in sea-urchin eggs upon fertilization. J. gen. Physiol., 35, p. 245.
- MOORE, B. C. (1952): Desoxyribose nucleic acid in embryonic diploid and haploid tissues. Chromosoma, 4, p. 563.
- (1957): DNA in diploid and androgenetic amphibian hybrids. J. Morph., 101, p. 227.
- NAKANO, E. and MONROY, A. (1958): Some observations on the metabolism of S³⁵-Methionine during development of the sea-urchin eggs. Experientia, 14, p. 367.
- NEEDHAM, J. and NEEDHAM, D. M. (1930): On phosphorus metabolism in embryonic life. I. Invertebrate eggs. J. exp. Biol., 7, p. 317.
- NÜMANN, W. (1933): Untersuchungen der Skelette an Varianten, Bastarden und Chimären von regulären und irregulären Seeigeln (*Echinus miliaris*, *Echinus microtuberculatus*, *Echinocyamus pusillus*, *Echinocardium cordatum*). Z. Vererbungslehre, 65, S. 447.
- ÖSTRÖM, A. (1937): Über den Ammoniakstoffwechsel im Seeigelei. Naturwiss., 25, S. 300.
- (1941): Über die Stickstoffreaktionen im Ei von *Paracentrotus lividus* vor und nach der Entwicklungserregung und über ihre Bedeutung für den osmotischen Druck und den Stoffwechsel. Arkiv Kemi, Mineral., Geol. 15 A, Nr. 1.
- PERLMANN, P. (1953): Soluble antigens in sea-urchin gametes and developmental stages. Exp. Cell Res., 5, p. 394.
- (1956): Response of unfertilized sea-urchin eggs to antiserum. Exp. Cell Res., 10, p. 324.
- PERLMANN, P. and COUFFER-KALTENBACH, J. (1957): Quantitative changes in soluble protein antigens during early development of the sea-urchin. Exp. Cell Res., 12, p. 185.
- RUNNSTRÖM, J. (1954): Die Analyse der primären Differenzierungsvorgänge im Seeigelkeim. Verh. dtsh. Zool. Ges. Tübingen, S. 32.
- SCARANO, E. and KALCKAR, H. M. (1953): Nucleic acid synthesis in developing sea-urchin embryo. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 24, p. 188.
- SCHMIDT, G., HECHT, L. and THANNHAUSER, S. J. (1948): The behavior of the nucleic acids during the early development of the sea-urchin egg (*Arbacia*). J. gen. Physiol., 31, p. 203.
- SZE, L. C. (1953): Changes in the amount of desoxyribonucleic acid in the development of *Rana pipiens*. J. exp. Zool., 122, p. 577.
- VON UBISCH, L. (1955): Über Seeigelbastarde: *Sphaerechinus granularis* ♀ × *Paracentrotus lividus* ♂. Exp. Cell Res. Suppl. 3, p. 358.
- VENDRELY, C. et VENDRELY, R. (1949): Sur la teneur individuelle en acide désoxyribonucléique des gametes d'oursins *Arbacia* et *Paracentrotus*. C. R. Soc. Biol., 143, p. 1386.
- VILLEE, C. A., LOWENS, M., GORDON, M., LEONARD, E. and RICH, A. (1949): The incorporation of P³² into the nucleoproteins and phosphoproteins of the developing sea-urchin embryo. J. Cell. Comp. Physiol., 33, p. 93.
- WHITELY, A. H. and BALTZER, F. (1958): Development, respiratory rate and content of desoxyribonucleic acid in the hybrid *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 30, p. 402.
- ZEUTHEN, E. (1951): Segmentation, nuclear growth and cytoplasmic storage in eggs of echinoderms and amphibia. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 23, Suppl., p. 47.