Der Axolotl und die Wissenschaft – eine „Entwicklungsgeschichte“

Von Joachim Wistuba, Bielefeld

Zusammenfassung

Der Axolotl (*Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798)) ist für die Wissenschaft einer der am besten untersuchten Modellorganismen. Seit seiner Einführung nach Europa in der Mitte des 19. Jahrhunderts hat dieser neotene mexikanische Querzahnmolch viele Forscher fasziniert. Ihre wissenschaftliche Karriere verdankt diese Urodelenart wohl den Tatsachen, dass ihre durchgängig aquatische Lebensweise, ihre relativ einfache erfolgreiche Vermehrung unter Gefangenschaftsbedingungen und auch ihre Ernährung mit leicht zu beschaffenden Futtersorten sie zu einem gut händelbaren Modell macht. Während diese Tierart im Laufe ihrer Entwicklungsgeschichte der zunehmenden Austrocknung ihres Lebensraumes noch durch die Entwicklung vermehrungsfähiger neotener Dauerlarven begegnen konnte, führte die Begegnung mit der menschlichen Zivilisation zum Aussterben, da das Verbreitungsgebiet im mexikanischen Hochland durch die wachsende Metropole Mexico City weitgehend vernichtet wurde. Somit stellen die in Forschungsinstituten und bei privaten Haltern vorhandenen Tiere wohl den gesamten Weltbestand der Art dar, die dadurch vom Aussterben verschont bleiben dürfte. Die neotene Arretierung der Tiere hat Wissenschaftler seit jeher fasziniert, daher war der Axolotl in den letzten 150 Jahren, in denen sich die Biowissenschaften rasant entwickelten, immer wieder aufs Neue Untersuchungsobjekt: in der *Entwicklungsmechanik*, in der *Endokrinologie*, bei der *Zellkerntransplantation*, in der *Genetik*, in der *Proteomik* oder in der *Stammzellenforschung*. Die Fähigkeit zur Regeneration von Organen oder ganzer Extremitäten nach Verletzung oder Erkrankung ist ein alter Menschheitstraum, der allerdings auch in Zeiten der Stammzellforschung nach wie vor unerfüllt geblieben, im Tierreich jedoch Realität geworden ist. So wird derzeit untersucht, wie der Axolotl die dafür nötigen Stammzellen rekrutiert und ob auch innere Organe, wie z.B. die Keimdrüsen, nach Verletzungen regeneriert werden können. Dabei zeichnet sich ab, dass solche Organe, die der beim Axolotl im Zuge evolutiver Anpassung entstandenen Teilmetamorphose unterliegen, ein deutlich schlechteres Regenerationspotential haben als solche, die aufgrund der arttypischen Neotenie larval bleiben. Dieser Artikel zeichnet die Geschichte des Axolotls als Modellorganismus für die Wissenschaft nach und zeigt auf, in welchem Umfang die Forschung von *Ambystoma mexicanum* bereits gelernt hat und aufgrund seiner besonderen Eigenschaften sicher auch weiterhin lernen wird.

Summary

The Axolotl and the sciences – a „history of development“: The Axolotl (*Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798)) is one of the best, most established model organisms used in biological and medical research today. Since its introduction to Europe in the mid 19th century, this Mexican neotenic ambystomatid salamander has been the source of fascination and inspiration to generations of scientists. The newt's remarkable scientific „career“ has been driven by its abilities to stay permanently aquatic, to bred readily and easily in captivity and their acceptance of a broad „easy to obtain“ spectrum of food. During its phylogenetic history, the species has managed to escape the potentially fatal consequences of the dry environmental conditions resulting from the tectonic changes, by adapting a neotenic form. However, no evasive adaptation could save it, once the animals' natural habitat, the Mexican highlands, was overgrown by the rapidly sprawling metropolis of Mexico City. Brought to the cusp of extinction by civilisation's environmental ravages, the animals' survival is now completely dependent on human intercession as the entire population is kept in captivity, be it by universities or in the tanks of private individuals. Over the passed 150 years, the neotenic capacity of these newts has provided the impetus and means for pioneering studies in *developmental dynamics*, *endocrinology*, *genetics*, *cloning*, *proteomics* and *regenerative medicine*. The ability to regenerate organs or entire limbs is a longstanding dream of mankind, a dream that forms much of the stimulus behind the very modern interest in stem cell research. Still far from actuality in humans, limb regeneration is a reality for axolotls and as such has placed the animals in the vanguard of research into the recruitment, differentiation and transformation of stem cells. In contrast, the inner organs of the axolotl are unable to regenerate, a finding that has fuelled the current hypothesis that in tissue systems that undergo partial metamorphosis as a result of evolutionary adaptation, neoteny stifles the ability to regenerate compared to the larval form where it is facilitated.

This article charts the history of the axolotl as a model organism for research and chronicles the extraordinary contribution of *Ambystoma mexicanum* to scientific progress.

Historie

Die Wissenschaftsgeschichte des Axolotls beginnt im Zuge der „*Conquista*", also mit der iberischen Kolonisation Mittelamerikas, in deren Kielwasser auch Naturkundler nach Lateinamerika gelangten, die die fremde „Neue Welt" im Auftrag ihrer Finanziers beschrieben und besammelten. Zu diesem Zeitpunkt ist dieser Molch den Menschen der mexikanischen Hochebene längst bekannt und vertraut und spielt bereits eine wichtige Rolle in ihren Mythen und auf ihrem Speiseplan. Im Sinne der europäischen Wissenschaft jedoch ist er wissenschaftlich noch nicht beschrieben. Glücklicherweise behielt dieser Schwanzlurch bis heute weltweit seinen aztekischen Namen, der mit „Wassermonster" wohl am Zutreffendsten übersetzt werden kann. In der Zoologie heißt er *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1798).

Es war Francisco Hernandez de Toledo (*1517-1587*), der als erster über den Axolotl berichtete. In seinem 1615 posthum erschienenen Werk über die Pflanzen und Tiere „Neu-Spaniens" findet der Axolotl als „*ein Fisch mit Beinen*" Eingang in die wissenschaftliche Literatur, aus der er fortan nicht mehr verschwinden sollte. Trotzdem dauerte es noch knapp 200 Jahre, bis in die Blütezeit der systematischen Kategorisierung der belebten Welt, die auf die Abbildung der göttlichen Ordnung der Schöpfung abzielte, ehe der Axolotl anhand konservierter Typusexemplare wissenschaftlich korrekt beschrieben wurde. Dieses Verdienst gebührt dem britischen Zoologen George Shaw (*1751-1813*), der 1798 gemeinsam mit dem Illustrator Frederick Polydore Nodder (ca. *1770-1800*) den mexikanischen Axolotl als *Gyrinus mexicanus* in der Reihe „*The Naturalist's Miscellany*" in die Systematik einordnete.

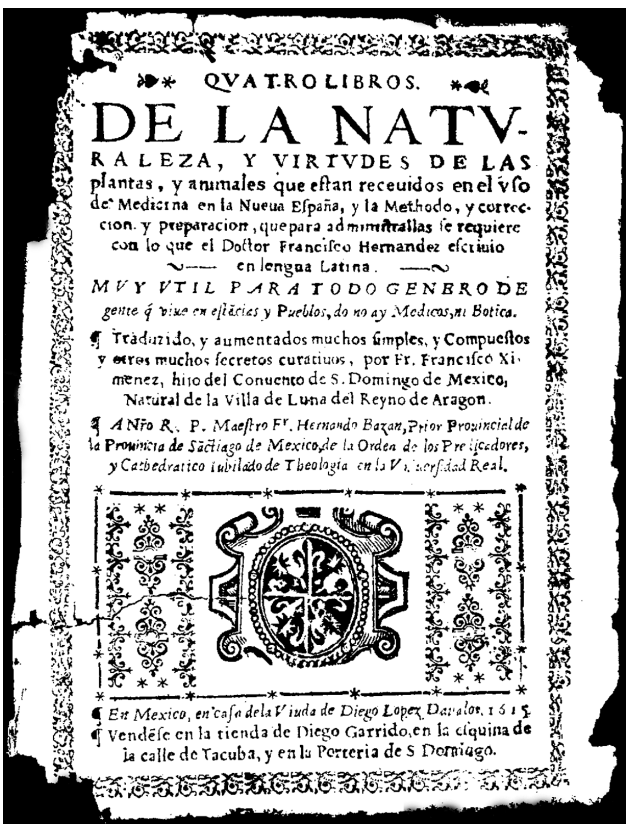
QVATRO LIBROS.
DE LA NATV-
RALEZA, Y VIRTVDES DE LAS
plantas, y animales que eſtan receuidos en el vſo
de Medicina en la Nueua España, y la Methodo, y correccion, y preparacion, que para administrallas ſe requiere
con lo que el Doctor Franciſco Hernandez eſcriuio
en lengua Latina.
MVY VTIL PARA TODO GENERO DE
gente q̃ viue en eſtãcias y Pueblos, do no ay Medicos, ni Botica.
Tradurido, y aumentados muchos ſimples, y Compueſtos
y otros muchos ſecretos curatiuos, por Fr. Franciſco Ximenez, hijo del Conuento de S. Domingo de Mexico,
Natural de la Villa de Luna del Reyno de Aragon.
A Nro R. P. Maeſtro Fr. Hernando Bazan, Prior Prouincial de la Prouincia de Sãctiago de Mexico, de la Orden de los Preiſcadores, y Cathedratico Iubilado de Theologia en la Vniuerſidad Real.
En Mexico, en caſa de la Viuda de Diego Lopez Daualos. 1615
Vendeſe en la tienda de Diego Garrido, en la eſquina de la calle de Tacuba, y en la Porteria de S. Domingo.

Abb. 1: Reproduktion der Original-Titelseite des Werkes von De Toledo (1615). Aus Ximenez (1888).

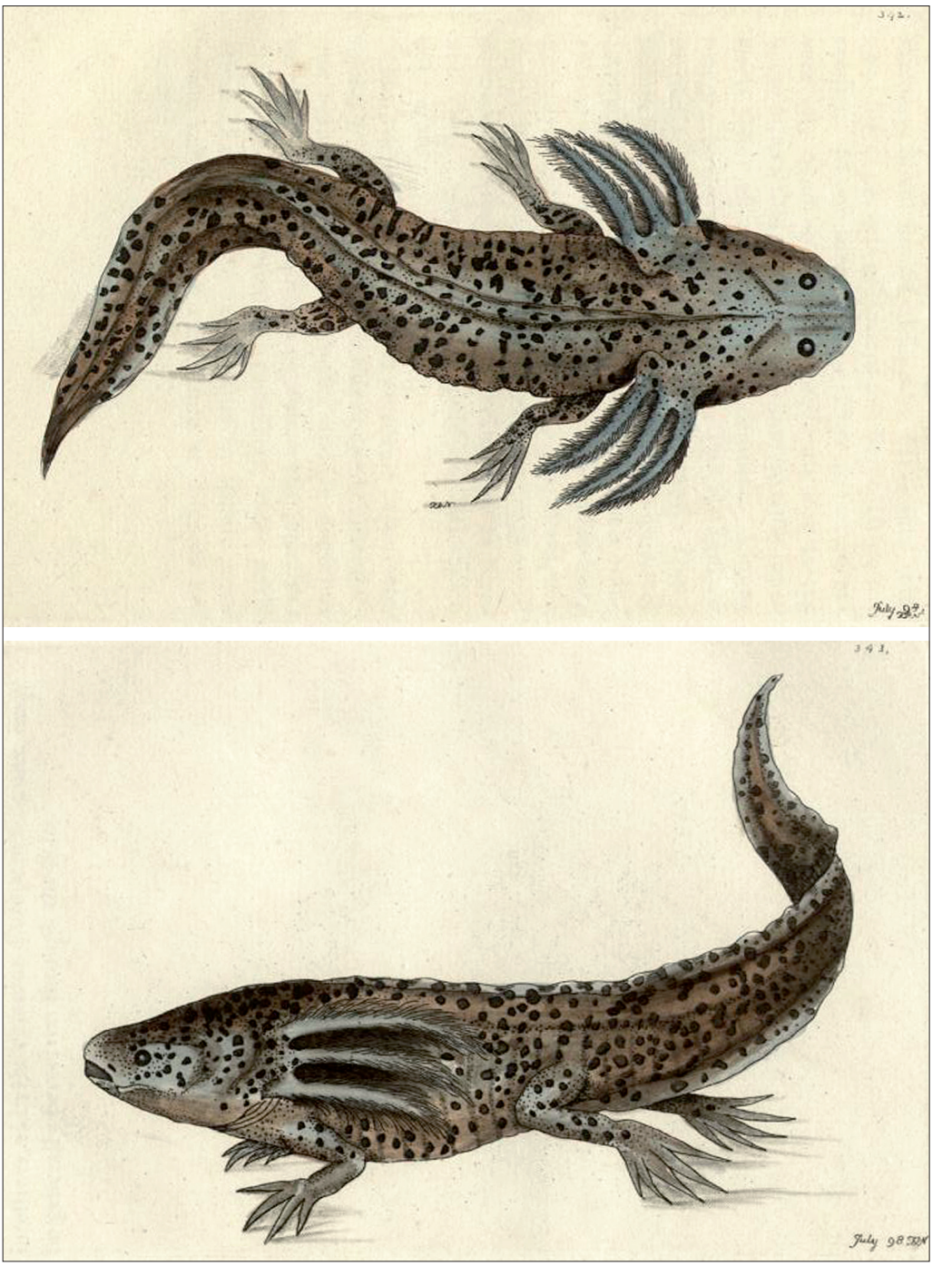

Abb. 2: Die beiden Tafeln des als *Gyrinus mexicanus* beschriebenen Axolotls aus der Originalbeschreibung von Shaw & Nodder (1798).

Abb.3: George Shaw (Kupferstich von Ambroise Tardieu (*1788-1841*)).
In „The Naturalist's Miscellany" beschrieb der Systematiker als erster den mexikanischen Axolotl wissenschaftlich korrekt.

Die Beschreibungen und die Einordnung der Tiere war bis ins beginnende 19. Jahrhundert dennoch recht unsicher, und die systematischen Zuordnung und Benennung blieb oft verworren. Es war fast nichts bekannt außer den Tatsachen, dass es die Tiere in den mexikanischen Seen gab und dass es sich um Molche handelte. Das mag hauptsächlich daran gelegen haben, dass die Wissenschaft bis zu diesem Zeitpunkt nur wenige, zudem wahrscheinlich unzureichend konservierte Exemplare zur Verfügung hatte. Ein Blick in die Liste der Synonyme zeigt das deutlich. Folgende Namen waren im Gebrauch:

Gyrinus mexicanus — Shaw & Nodder, 1798,

Siren pisciformis — Shaw, 1802,

Triton mexicanus — Oppel, 1811,

Philhydrus pisciformis — Brookes, 1828,

Hypochton pisciformis — Gravenhorst, 1829,

Siredon axolotl — Wagler, 1830,

Axolotus pisciformis — Cuvier, 1831,

Phyllhydrus pisciformis — Gray *In* Cuvier, 1831,

Sirenodon pisciformis — Wiegmann, 1832,

Stegoporus pisciformis — Wiegmann, 1832,

Stegoporus mexicanum — Wiegmann, 1832,

Hemitriton (Siredon) mexicanum — Van der Hoeven, 1833,

Siredon mexicanus — Schinz, 1833,

Axolotl pisciformis — Guérin-Méneville, 1838,

Axolotes guttata — Owen, 1844

Siredon mexicanum — Baird, 1850

Siredon Humboldtii — Duméril, Bibron, & Duméril, 1854,

Siren axolotl — Schlegel, 1858,

Stegoporus mexicanus — Leunis, 1860,

Axoloteles guttatus — Wood, 1863,

Siredon spec.? var. alba — Duméril, 1869

Siredon pisciformis — Wiedersheim, 1877,

Amblystoma weismanni — Wiedersheim, 1879,

Ambystoma mexicanum — Garman, 1884,

Siredon edule — Dugès, 1888,

Ambystoma edule — Dugès, 1888,

Ambystoma mexicanum — Lafrentz, 1930,

Ambystoma (Ambystoma) mexicanum — Tihen, 1958,

Siredon alba — Smith, 1969

(Nach: Frost (1998-2011)).

Erst Alexander von Humboldt (*1769-1859*) brachte von seiner Südamerikareise die beiden ersten lebenden Tiere nach Europa. Die in seinem Reisebericht enthaltenen Skizzen sind folgerichtig auch die bis dahin exaktesten anatomischen Darstellungen von *Ambystoma mexicanum* (von Humboldt 1806). Die beiden weiblichen Tiere wurden an das *Pariser Naturkundemuseum* zu Baron Georges Cuvier (*1769-1832*) zum genaueren zoologischen Studium weitergegeben. Dennoch sollte es fast weitere sechs Jahrzehnte dauern, bis die erste Zuchtkolonie in Europa etabliert werden konnte und

damit weitere lebende Exemplare für die exakte wissenschaftliche Analyse zur Verfügung standen (siehe unten). Cuvier nahm den Axolotl 1822 in sein Werk „*Le Regne Animal*“ als eigenständige Art auf, ging jedoch davon aus, dass es sich hierbei um die Larve eines bis dato unbekannten Salamanders handeln müsse. Dieser Punkt sollte unter den zeitgenössischen Experten jedoch lange umstritten bleiben und konnte erst nach der Begründung einer Gefangenschaftskolonie anhand nun verfügbarer lebender Tiere weiter aufgeklärt werden.

Im Jahr 1863 erreichten die ersten Axolotl Paris – eingefangen und mitgebracht vom französischen Expeditionskorps unter dem General Elie Frederic Forey (*1804-1872*). Von diesen 34 Tieren, unter denen bereits neben der wildfarbenen auch die „weiße“, leuzistische Form befindlich war, wurden sechs an Auguste Henri André Dumeril (*1812-1870*) weitergegeben, dem mit fünf Männchen und einem Weibchen die ersten Nachzuchten auf europäischem Boden gelangen (Hanken 1989). Die Tiere hatten sich in larvaler Gestalt vermehrt – damit wurden sie zu den Perennibranchiata („Dauerkiemer“ – Molche, die auch im geschlechtsreifen Zustand ihre Kiemenäste nicht verlieren, also larval bleiben) gestellt und in eine eigene Gattung, *Siredon*, eingeordnet. Umso größer war die Verblüffung, als einige Tiere (zunächst vier, später angeblich noch einige weitere) einige Monate später spontan in Metamorphose gingen und sich zu Salamandern entwickelten,

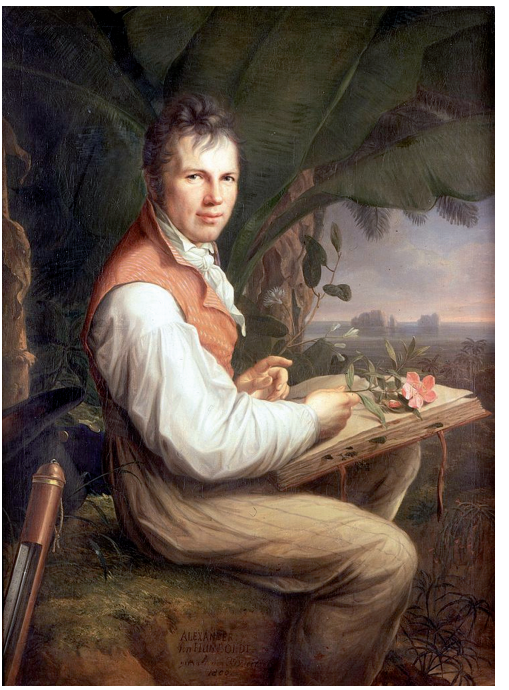

Abb. 4: Alexander von Humboldt (*1769-1859*) (1806 porträtiert von Georg Weitsch (*1758-1828),* Alte Nationalgalerie, Berlin). Alexander von Humboldt brachte von seiner Südamerikareise die beiden ersten lebenden weiblichen Tiere nach Europa.

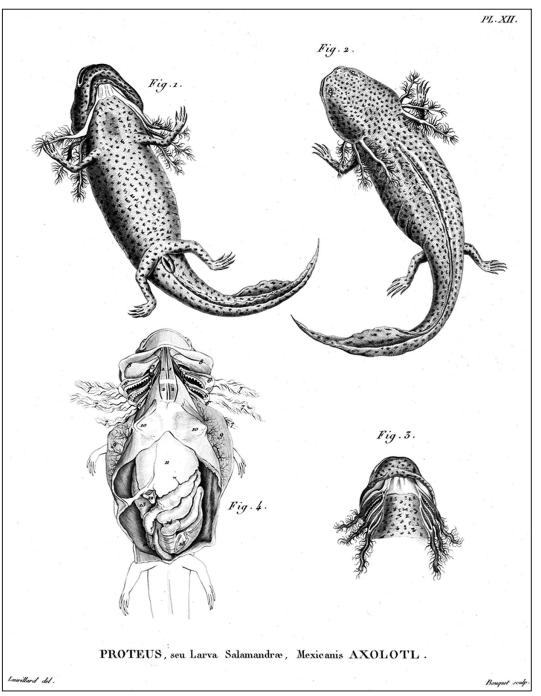

Abb. 5: Anatomische Skizzen des Axolotl aus dem Reisewerk von Humboldts.
Diese Zeichnungen sind auch die bis dahin exaktesten anatomischen Darstellungen von *Ambystoma mexicanum*.

Abb. 6: General Elie Frederic Forey (*1804-1872)* (Künstler unbekannt).
Im Jahr 1863 erreichten die ersten lebenden 34 Axolotl Paris – eingefangen und mitgebracht vom französischen Expeditionskorps unter dem Kommando Foreys.

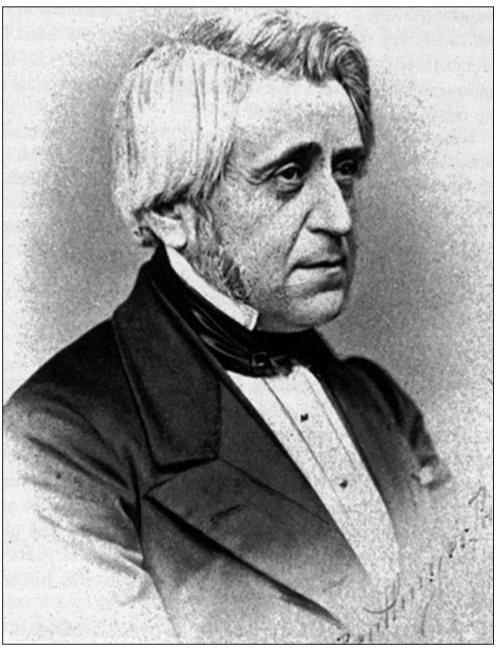

Abb. 7: Auguste Henri André Dumeril (*1812-1870)* (Künstler des Portraits unbekannt).
Dumeril erhielt 6 Tiere aus Paris, mit denen er züchtete. An diesen Nachkommen konnte er vereinzelte Metamorphosen beobachten – die Landform war entdeckt und die Debatte über die Neotenie der Tiere begann.

die eindeutig der Gattung *Ambystoma* zuzuordnen waren. Damit war die Landform des Axolotls entdeckt worden. Diese Metamorphosen erfolgten ohne eine bewusste experimentelle Manipulation der Tiere – was auch aus heutiger Sicht noch immer überrascht, da moderne Erkenntnisse vorliegen, die diesen Vorgang in unprovozierter Form extrem unwahrscheinlich machen (siehe unten). Wodurch auch immer die Umwandlung seinerzeit ausgelöst wurde, so kann dies doch als glücklicher Umstand gewertet werden, denn er brachte die neotene Anpassungsform des Axolotls ans Licht und ermöglichte nach reichlich Verwirrung um die systematische Zugehörigkeit seine korrekte Einordnung in die Urodelensystematik (Hanken 1989). In der älteren Literatur findet man u.a. die Gattungsnamen *Siren*, *Siredon*, *Amblystoma* und *Ambystoma* für den mexikanischen Axolotl, und nicht selten gibt es Verwechslungen mit dem Tigersalamander (*Ambystoma tigrinum*) (vgl. o.a. Synonymliste).

Der mexikanische Axolotl war nun charakterisiert, systematisch eingeordnet und vollständig beschrieben. Er ließ sich unter Gefangenschaftsbedingungen unkompliziert halten und vermehren. Damit stand er der Wissenschaft bequem zur Verfügung. Bevor sein einzigartiger Werdegang als Modellorganismus beschrieben wird, soll zunächst kurz auf die Biologie und die Ansprüche der Tiere eingegangen werden, da sie für die wissenschaftliche Verwendung dieser Molche von Bedeutung waren und sind.

Abb. 8: Wildfarbene Axolotl (Foto: Alice Pantone).
Die Wildform des Axolotls ist von braun-grauer Färbung. Erwachsene Tiere werden etwa 25-30 Zentimeter lang und erreichen ein Alter von bis zu 25 Jahren.

Abb. 9: Leuzistische Axolotl (Foto: Alice Pantone).
Bereits unter den ersten der 34 nach Europa importierten Tiere befanden sich leuzistische Formen. Die Melaninproduktion ist bei ihnen eingeschränkt, Augen, Krallen und Teile der Haut sind jedoch noch dunkel pigmentiert. Das Vorhandensein von Farbschlägen hat sich besonders bei der Verwendung der Tiere in frühen Transplantations-Experimenten der Entwicklungsmechanik als vorteilig erwiesen.

Herkunft und Biologie von *Ambystoma mexicanum*

Mexikanische Axolotl sind Urodelen aus der Unterordnung der Salamandroidea und gehören zur Familie der Querzahnmolche (*Ambystomatidae*), die in den gemäßigten Zonen Nordamerikas und im nördlichen Mittelamerika artenreich verbreitet ist (Freytag 1970, Shaffer 1984, Duellmann & Trueb 1985, Brandon 1989). *Ambystoma mexicanum* war im Freiland endemisch im Seensystem des Xochimilco- und Chalcosees auf der mexikanischen Hochebene beheimatet, exakt in *jener* Region Mexikos, die heute durch die sich stetig ausdehnende Hauptstadt *Mexico City* beansprucht wird (Freytag 1970, Zucchi & Gonschorek 1983). Die Verinselung seines Habitates geht auf erdgeschichtliche Prozesse zurück, die in den tektonischen Verschiebungen und nachlaufend in der zunehmenden Aridisierung der Umgebung dieser Seen resultierten (Sanders et al. 1979). Diese Austrocknung des ursprünglichen Landhabitats hat entwicklungsgeschichtlich die obligat neotene Erscheinungsform des mexikanischen Axolotl selektiert, da die Umweltbedingungen für eine terrestrische Lebensweise, wie sie bei anderen Ambystomatiden, etwa *Ambystoma gracile* und in einigen Tigersalamander-Populationen (*Ambystoma tigrinum*) durchaus vorkommt, nicht mehr gegeben waren.

Wirbeltiere gelten als neoten, wenn sie bereits in der Lage sind, sich zu reproduzieren, während sie noch larvale Merkmale zeigen (Just et al. 1981). Nach Gould (1977) ist die

Abb. 10: Axolotl: Perennibranchiata: Permanenz larvaler Merkmale (Foto: Alice Pantone).
Erwachsene Tiere zeigen im geschlechtsreifen Zustand noch den larvalen Habitus: Neben den Kiemenästen tritt besonders der Ruderschwanz hervor.

Neotenie bei Urodelen das Ergebnis einer verzögerten somatischen Entwicklung bei normal verlaufender reproduktiver Entwicklung (siehe Wistuba 2008). Der Axolotl wurde in der Zeit seiner systematischen Erfassung wie viele andere Arten zunächst als Larve eines noch unbeschriebenen terrestrischen Salamanders dargestellt (Cuvier 1822). Erst in der Mitte des 19. Jahrhunderts wurde verstanden (siehe oben), dass einige Molche geschlechtsreif werden können, obwohl sie in ihrer larvalen Erscheinungsform verharren. Mit der Erkenntnis, dass zwischen den Hormonen der Schilddrüse und dem Metamorphosegeschehen ein Zusammenhang besteht, wurde klar, dass Störungen der Schilddrüsenfunktion oder -regulation oder der Rezeptoren der thyroidealen Hormone das Phänomen der Neotenie auslösen (Gudernatsch 1912). Der mexikanische Axolotl gehört zu den sogenannten induzierbar-obligatorisch neotenen Urodelen (Norris 1985, Kühn & Jacobs 1989); d.h., er metamorphosiert natürlicherweise nie, hat aber ausreichend sensitive Zielorgane, um unter experimentellen Bedingungen auf die Gabe von Schilddrüsenhormonen mit der Umwandlung zu reagieren, wenn diese Gabe während eines Zeitfensters geschieht, das als „semiadulte“ Phase (hier beginnt die Teilmetamorphose) bezeichnet wird, die etwa bei einer Körperlänge von 12 Zentimetern erreicht ist (vgl. Wistuba 2008). Beim Axolotl wird die Neotenie also durch das Ausbleiben des nötigen Schilddrüsenhormons ausgelöst. Lediglich einige wenige Organe – etwa die Gonaden, die Anlage der Luftsäcke (Vorläuferorgane der Lungen terrestrischer Salamander), aber auch Teile der Haut, das Zungenepithel und die Bezahnung – verändern sich bei Axolotl mit der Geschlechtsreife in einer partiellen Metamorphose (Wistuba 1996, 2008, Wistuba & Clemen, 1998, Wistuba et al. 1999, 2002). Letztere Veränderungen finden sich bei Urodelen, wenn sie an Land gehen und sich durch diese Umstellungen an veränderte Nahrung und Wasserversorgung anpassen. Mehr passiert beim Axolotl jedoch – anders als bei voll metamorphosierenden Urodelen – nicht, der restliche Körper behält seine Larvengestalt. Dennoch gibt es inzwischen relativ viele Berichte darüber, dass bei *Ambystoma mexicanum* Spontanmetamorphosen beobachtet wurden. Die älteste Beobachtung stammt dabei von Dumeril selbst, der immerhin bei vier Tieren Metamorphosen bereits in der Pariser Ursprungskolonie beobachtete und beschrieb (Dumeril 1867). Danach tauchten solche Berichte immer wieder auf. Leider sind die Wenigsten wirklich seriös dokumentiert und können daher keinen Aufschluss über das tatsäch-

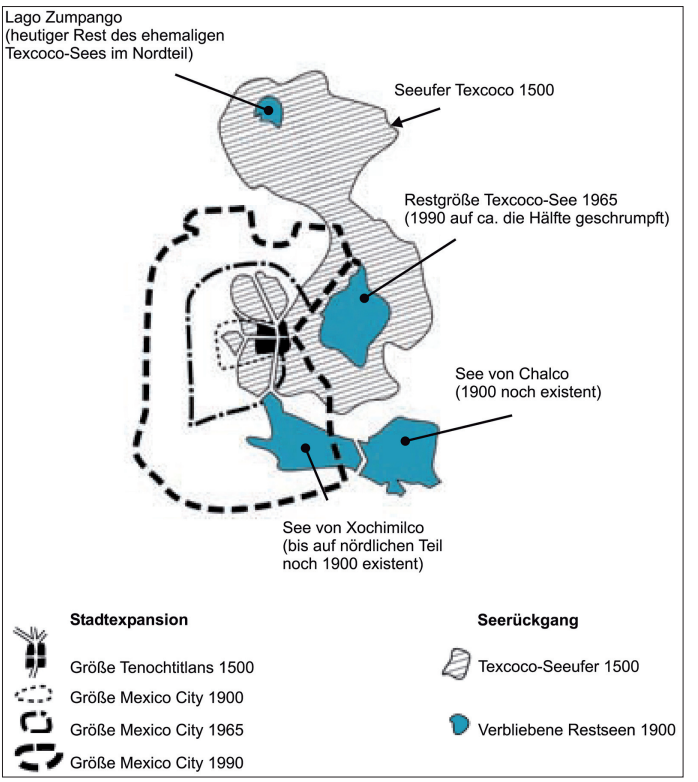

Abb. 11: Die Seen der Mexikanischen Hochebene. Im Jahr 2006 wurde der mexikanische Axolotl durch die *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) als unmittelbar vom Aussterben bedroht eingestuft. Das Wachstum von Mexiko Stadt, das als Tenochtitlan auf einer Insel im Texcoco-See errichtet wurde, hat die Biotope (der aus dem Ursprungsgewässer hervorgegangenen Xochimilco- und der Chalcosee) von *Ambystoma mexicanum* überwuchert und dadurch weitestgehend zerstört (aus: Wistuba 2008, mit freundlicher Genehmigung der Natur und Tier-Verlag GmbH, „Axolotl“ 2. überarbeitete Auflage 2008). Die Karte nach Mehnert (1992) zeigt die Expansion von Mexiko Stadt und den Rückgang der Seeflächen vom 15. bis zum 20. Jahrhundert.

liche Geschehen geben. Inzwischen konnte geklärt werden, dass bei *Ambystoma mexicanum* mutationsbedingt *Thyroidea Stimulierendes Hormon* (TSH) – der Botenstoff, der die Schilddrüse zur Aktivität anregt – nicht ausgeschüttet wird. Diese Mutation ist stabil, was die Erklärung von Spontanmetamorphosen ohne experimentelle Manipulation schwierig macht, da sie nach der Theorie eigentlich gar nicht vorkommen sollten (Wistuba & Bettin 2003).

Die Mehrzahl der berichteten Spontan-Metamorphosen, besonders aus älterer Zeit, dürfte auf ungewollte Kontaminationen des Futters oder des Wassers mit Schilddrüsenhormonen zurückzuführen sein. Die in jüngerer Zeit mitgeteilten Metamorphose-Ereignisse könnten vielleicht durch Einkreuzung von Tigersalamandern (*Ambystoma tigrinum*) erklärt werden. Tatsächlich einwandfrei klären lassen wird sich das nicht mehr. Dennoch bleiben einige Fälle übrig, wie der von Wolfgang Böhme (2001) berichtete, in denen solche Faktoren ausgeschlossen werden können und dennoch einzelne Tiere spontan zur Metamorphose kamen. Über die Gründe kann nur spekuliert werden: Gibt es vielleicht in Einzelfällen eine individuelle Schwellenwert-Erniedrigung, also etwa eine Hypersensitivität der Zielgewebe? Oder kommen stimulierende Veränderungen der Schilddrüsenfunktion vor, also quasi Tiere mit einer Schilddrüsenüberfunktion? Zurzeit sind diese Fragen noch immer offen, auch 150 Jahre, nachdem die ersten Metamorphosen beobachtet wurden.

Gesichert bleibt jedoch: im Freiland konnte die Art trotz Aridisierung der Umgebung innerhalb der Gewässer aufgrund ihrer rein aquatischen Lebensweise überdauern.

Nicht überdauert hat der Axolotl jedoch die anthropogene Überformung seines Habitats, oder vereinfacht gesprochen, das Wachstum von *Mexico City* während der letzten Jahr-

zehnte! Die Stadt hat die Biotope von *Ambystoma mexicanum* überwuchert und dadurch in einem Umfang zerstört, der den Axolotl im Freiland hat aussterben lassen. Im Jahr 2006 wurde der mexikanische Axolotl durch die *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) als unmittelbar vom Aussterben bedroht eingestuft. Eine Erhebung der Bestände in den Jahren 2002/2003 und eine weitere im Jahr 2006 hatten das nahezu vollständige Verschwinden der Tiere aus dem Biotop belegt. Konnten in der ersten Nachsuche immerhin noch 31 Tiere nachgewiesen werden, hatte sich der Bestand drei Jahre später auf einen einzigen Fund reduziert (Contreras et al. 2009). Somit wurde der Axolotl zu einem Kuriosum: Ein Querzahnmolch, der durch Lebensraumverlust in der Natur quasi ausgestorben ist, ist als Tierart nicht im Geringsten bedroht, weil er in zahllosen privaten und institutionellen Haltungen in unüberschaubarer Menge weltweit überdauert. Um das leider sehr wahrscheinliche Aussterben in der Natur definitiv behaupten zu können, muss allerdings noch eine längere Frist ohne Nachweise des Vorkommens verstreichen.

Haltung und Zucht in Gefangenschaft

In heutiger Zeit werden zahlreiche Axolotl in Privathand gehalten und vermehrt, was einen erheblichen Beitrag zum Überleben der Art leistet. Axolotl-Haltungen von fachkundigen Aquarianern/Terrarianern finden oft in reich bepflanzten und liebevoll eingerichteten Becken statt. Eine Zucht ist dort häufig nicht das Hauptziel und erfolgt eher zufällig. Die geringe Zahl gehaltener Molche erlaubt die intensive Pflege der Becken, und die Pfleglinge werden abwechslungsreich gefüttert. Das Wasser wird zudem ausreichend kühl gehalten und schwach gefiltert sowie regelmäßig gewechselt, die Becken sind gut abgedeckt und lassen den Tieren einen Luftraum, aus dem sie sich mit atmosphärischem Sauerstoff versorgen können. Kleinere Wunden und Infektionen werden durch den Pfleger behandelt – das ist die optimale Liebhaber-Haltung des Axolotls.

Bezogen auf die Zielsetzung dieses Artikels spielen die detaillierten und an anderer Stelle ausführlich beschriebenen praktischen Aspekte zur Haltung und Zucht der Tiere sicher eine untergeordnete Rolle (Wistuba 1996, 2008). Dennoch soll zumindest in Kürze darauf eingegangen werden, weil diese Haltungsaspekte zur Erlangung der herausragenden Bedeutung des Axolotls als Modellorganismus der Wissenschaft von grundlegender Wichtigkeit waren. Verglichen mit anderen Amphibien ist die Haltung und Gefangenschaftsvermehrung der Axolotl relativ einfach – oder besser formuliert, diese Molche zeichnen sich durch eine beeindruckende Genügsamkeit und Robustheit aus. Verfügten sie über diese nicht, wäre ihre Wissenschaftskarriere weit weniger spektakulär verlaufen oder ganz ausgeblieben! Dass der Axolotl heute *die* Bedeutung in der Forschung erlangt hat, die er hat, liegt unter anderem daran, dass er bereits seit 150 Jahren zur Beobachtung und Erforschung ausreichend und überall verfügbar ist – und diese Tatsache ist unmittelbar mit seinen geringen Ansprüchen und seiner großen Widerstandsfähigkeit verbunden. Um sich eine Vorstellung davon zu machen, muss man nur noch einmal die „Anreise" der ersten Tiere nach Europa betrachten: Wir befinden uns in der Mitte des 19. Jahrhunderts, die Molche werden durch das wissenschaftliche Personal des französischen Expeditionskorps in Mexiko gefangen (wahrscheinlich mit vergleichsweise rüder Methode), anschließend in irgendwelchen Gefäßen eine Zeitlang gehältert, bevor sie nur in feuchtes Moos (!) verpackt in Transportkisten verbracht werden. Diese Kisten werden auf Schiffe verladen, die anschließend wochenlang auf See den Weg nach Europa zurücklegen. Danach werden die Tiere über Land nach Paris gebracht (immer noch in ihren moosgepolsterten Kisten) und anschließend in Bassins gesetzt, die aus heutiger Sicht kaum für aquatische mexikanische Molche vorbereitet gewesen sein dürften. Bis hierher ist ein erheblicher Zeitraum vergangen, in dem die Tiere *weder* im Wasser waren *noch* irgendwie Futter erhalten haben. Dennoch überleben immerhin rund drei Dutzend Axolotl diese Strapazen! Wie viele darüber verstorben sind, ist leider nicht überliefert… Und nicht nur das:

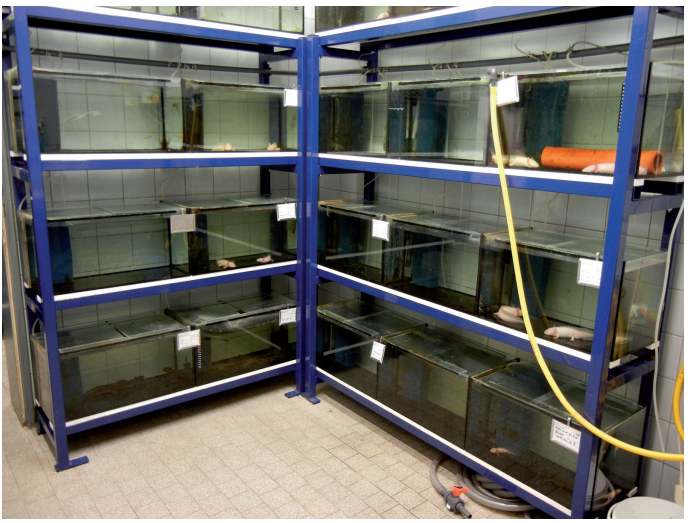

Abb. 12: Unterbringung in der Laborhaltung (Foto: Jens Ehmcke). Die Laborhaltung richtet sich an der Erfüllung der Ansprüche der Tiere bei optimierter Hygiene und tierpflegerischem Aufwand aus. Statt eines Bodengrundes wird den Tieren ein dunkel gefärbter Glasboden angeboten. Die Aquarien sind einfache Becken, die mit Glasscheiben abgedeckt werden, um den notwendigen Luftraum anzubieten und die in Regalen gestellt werden können. Filterung (Schaumstoffkissen) und Einrichtung (Tonröhren) sind bewusst sehr einfach gehalten, damit sie schnell bewegt und gereinigt werden können. Die Tiere werden in Gruppen gehalten, deren Größe durch die Beckenmaße bestimmt ist.

Bereits nach einigen Monaten beginnen sie sich unter den simplen Haltungsbedingungen sogar zu vermehren und begründen die erste Gefangenschaftspopulation – wahre „Wassermonster“… (vgl. Wistuba 2008).

Die Eigenschaften des Axolotl, die es möglich machten, all das zu überleben und sich in der neuen Umgebung zu vermehren, können aus der Betrachtung der aktuellen Empfehlungen zur Haltung und Zucht abgeleitet und verstanden werden.

Axolotl sind zeitlebens wassergebundene Molche. Ihre Haltung erfolgt damit notwendigerweise in Aquarien, Bassins oder Teichen. Aus heutiger Sicht ist von letzterem abzuraten, da nicht klar ist, ob unter geeigneten Klimabedingungen Faunenverfälschung durch Verschleppung möglich wird. Wie aber waren sie in der Lage, nur in feuchtem Moos langfristig zu überleben? Das dürfte darauf zurückzuführen sein, dass adulte Axolotl, die die Teilmetamorphose durchlaufen haben, über verschiedene Wege der Atmung verfügen und somit fehlende oder eingeschränkte Kiemenatmung außerhalb eines Gewässers zeitweilig kompensieren können, solange die Tiere nicht austrocknen. Das aber hat das feuchtigkeitshaltende Moos verhindert. Axolotl sind in der Lage, ihre Sauerstoffaufnahme 1. auch über die Mucosa des Mundbodens, 2. über die Hautoberfläche und 3. mittels der Epithelien der Luftsäcke zu bestreiten, wenn die Kiemenatmung aufgrund der Umgebungsverhältnisse nicht ausreichend sichergestellt ist! Tatsächlich sind die erwachsenen Tiere immer auf diese drei weiteren Atmungswege angewiesen, da bei ihnen die Versorgung durch die Kiemenäste allein, anders als in den frühen Larvenstadien, nicht mehr ausreicht. Das ist der Grund, weshalb bei der Haltung erwachsener Axolotl immer die Möglichkeit für die Tiere gegeben sein muss, die Wasseroberfläche erreichen und atmosphärische Luft veratmen zu können. Weil die Atemluft ebenfalls möglichst feucht sein sollte, ist es nötig, die Aquarien entsprechend abzudecken (Wistuba 1996, 2008).

Wie die meisten Amphibien können auch Axolotl längere Zeit hungern. Die Dauer der Unterversorgung während der Reise nach Europa war allerdings sicherlich eine extrem lange Hunger-Periode. Dennoch haben Tiere überlebt, sehr wahrscheinlich ohne zwischenzeitlich gefüttert zu werden. Die adäquate Fütterung von Amphibien in Gefangenschaft macht in der Regel Probleme, wie die meisten Amphibienhalter aus leidvoller Erfahrung wissen. Die überwiegende Mehrheit der Molche nimmt ohnehin nur lebendes Futter und dieses zudem noch sehr

wählerisch an. Insbesondere Stress führt häufig zur Verweigerung der Nahrungsaufnahme, und oft verhungern Tiere trotz ausreichenden Nahrungsangebotes. Wir dürfen recht sicher davon ausgehen, dass bei der Ankunft der mexikanischen Molche in Paris nicht zu viele Gedanken an eine möglichst spezifische Ernährung der Axolotl verschwendet worden sind. Hier kommt eine weitere Eigenschaft dieser Querzahnmolche ins Spiel, die sie für die Haltung in Gefangenschaft prädestiniert und mitgeholfen hat, sie zu einem wichtigen Modelltier in der Forschung zu machen: Axolotl orientieren sich beim Beutemachen *stärker* am Geruch als an der Bewegung. Zudem sind sie Lauerjäger und fassen ihre Beute durch „Saugschnappen". Das sind alles gute Voraussetzungen für die Möglichkeit, die Tiere auch mit lebloser Nahrung zu füttern. Dieser Umstand erleichtert die Eingewöhnung und die Haltung immens. Axolotl können demnach auch mit Surrogaten (Ersatzfuttermitteln) gefüttert werden, etwa mit Futterfischen, Rindfleisch oder seit einigen Jahrzehnten auch mit Trockenfutterpellets. Die geringe Nahrungsspezialisierung hat sicher zu ihrer Verbreitung in Gefangenschaft wesentlich beigetragen. Zu Zeiten des Erstimports dürfte kaum etwas über das natürliche Nahrungsspektrum bekannt gewesen sein.

Obwohl aus Mittelamerika stammend, sind Axolotl alles andere als wärmeliebend, was vor dem Hintergrund ihrer Herkunft von der mexikanischen Hochebene plausibel ist. In einer Höhe von etwa 2000 m über dem Meeresspiegel liegt die Wassertemperatur im natürlichen Habitat etwa um 18°C, was auch der Vorzugstemperatur der Tiere entspricht, wobei Schwankungen und kurzfristige Erwärmung gut toleriert werden (Wistuba 1996, 2008). Diese Temperaturpräferenz war für eine Haltung in Europa in der Mitte des 19. Jahrhunderts von großem Vorteil, in einer Zeit, in der beheizbare Aquarien noch jenseits technischer Realisierbarkeit lagen. Das mitteleuropäische Klima hingegen war für die ersten Axolotl absolut ausreichend, und so sind sie noch heute ideale „Kaltwasser-Aquarien"-Bewohner.

Axolotl haben jenseits von Balz und Paarung kein erkennbares soziales Verhalten. Sie sind auch nicht territorial. Es sollten aber Unterschlupf-Möglichkeiten angeboten werden, die sich etwa mit Wurzelholz oder Tongefäßen leicht herstellen lassen. Aufgrund dieser sozialen Toleranz (manche nennen dies auch boshaft Gleichgültigkeit) können sie auch unter beengten Verhältnissen oder hoher Besatzdichte gehalten werden. Eventuelle Verletzungen, die durch Verbiss, etwa beim ungerichteten Saugschnappen während der Fütterung oder durch falsche Handhabung insbesondere beim Transport vorkommen können, heilen aufgrund der enormen Regenerationsfähigkeit in aller Regel gut ab. Das sind weitere Voraussetzungen, die das Überleben der im 19. Jahrhundert nach Frankreich importierten ersten Wildfänge gesichert haben dürften. Der Schlüssel zur Begründung einer Gefangenschaftspopulation, die in den kommenden 150 Jahren so große wissenschaftliche Bedeutung erlangen sollte, lag jedoch in der Möglichkeit, diese Molche unter den vergleichsweise primitiven Haltungsbedingungen stark zu vermehren. Eine wichtige Voraussetzung zur Zucht ist die Unterscheidbarkeit der Geschlechter. Sie ist beim Axolotl gegeben, da sich die etwas schlankeren Männchen durch ihre deutlich erkennbaren Kloakaldrüsen, die Bestandteile der Spermatophore sezernieren, deutlich von den rundlicheren Weibchen unterscheiden (vgl. Wistuba 2008). Dieser Dimorphismus ist hilfreich, um Zuchtpaare anzusetzen. Die Balz und die Paarung verlaufen vergleichsweise unspektakulär. Ist das Weibchen entsprechend gestimmt, schwimmt es dem Männchen nach und nimmt die von ihm abgesetzte Spermatophore in seine Kloake auf. Damit werden die Eier vor der Ablage intrakorporal besamt. Normalerweise laichen Axolotl einmal im Jahr, zumeist im Frühjahr. Die strikte Saisonalität ist aber in der langen Gefangenschaftshaltung verwischt, und so kann sich die Laichperiode zum einen verschieben, zum anderen können auch zwei Laich-Perioden vorkommen, etwa im Frühjahr und im Herbst. Interessanterweise lässt sich Balzstimmung und Ablaichen häufig durch eine kurzfristige Temperaturerhöhung auslösen. Die Gelege sind für Urodelen relativ groß (bei älteren Weibchen können es etwa

100 Eier sein) und werden bevorzugt an längliche Strukturen, z.B. an Wasserpflanzenblätter angeheftet, was es dem Halter auf einfache Weise gestattet, die Eier von ihren Eltern zu trennen. Das ist ein wichtiger Punkt für die Optimierung des Zuchterfolges, denn Axolotl kennen keine Brutpflege und sehen ihre frischgeschlüpften Nachkommen nur als Abwechslung des Speiseplans an. Die Entwicklung im Ei nimmt etwa drei Wochen in Anspruch. Dieser Zeitraum kann aber abhängig von der Umgebungstemperatur leicht schwanken. Danach schlüpfen die Larven und leben in den ersten Tagen noch vom Dottervorrat. Etwa nach drei Tagen beginnen sie selbstständig zu fressen. Jetzt kann „Tümpelplankton“ gefüttert werden. In der Laborhaltung greift man jedoch für gewöhnlich auf Salinenkrebschen zurück, da deren Eier eingelagert und leicht nach Bedarf gezeitigt werden können. Zudem wird damit das Risiko einer Kontamination mit Parasiten oder Keimen minimiert. Wenn die Tiere auf etwa drei Zentimeter herangewachsen sind, kann auf handelsübliches Frostfutter oder die inzwischen verfügbaren kleinen Pellets zurückgegriffen werden – oder es kommt größeres Getier aus dem nächsten Tümpel zum Einsatz. Die bei Axolotls sehr beliebten Kaulquappen heimischer Froschlurche dürfen heute natürlich aus Artenschutzgründen nicht mehr verfüttert werden! Jetzt kann aufgetautes Frostfutter oder kleine Pellets verfüttert werden. Da die Axolotl nicht wählerisch sind, war es auch in früheren Zeiten nicht schwierig, sie mit dem gerade verfügbaren Futter erfolgreich zu züchten. Üblicherweise hat die Aufzucht von Amphibien das Problem, dass der überwiegende Teil der Nachkommen früh zugrunde geht und nur ein geringer Prozentsatz bis zur Geschlechtsreife überlebt. Auch hier ist der Axolotl eine Ausnahme. Zwar können bestimmte Erkrankungen oder Verpilzungen gelegentlich zu erheblichen Verlusten führen, doch kann in der Regel eine Überlebensrate von 50-70% der Schlüpflinge erreicht werden – eine wichtige Eigenschaft für ein Tier, das unter Laborbedingungen als Modellorganismus dienen soll! Diese wenig kapriziöse Fortpflanzung hat sicherlich dazu beigetragen, dass die Molche auch unter den Gefangenschaftsbedingungen des 19. Jahrhunderts bereits in großen Stückzahlen erfolgreich vermehrt werden konnten.

Die oben geschilderten Eigenschaften, die eine erfolgreiche „Ansiedlung“ der Axolotl in der europäischen Gefangenschaftshaltung vor etwa 150 Jahren überhaupt erst möglich gemacht haben, tragen auch heute noch zur relativ einfachen Haltung und Vermehrung unter Laborbedingungen bei, die für die wissenschaftliche Arbeit mit einem Versuchstier unerlässlich sind und anderen Kriterien gehorchen, als etwa die Haltung in einem Aquarium, das auch den ästhetischen Ansprüchen des Halters oder des Besuchers einer Schau-Anlage genügen soll. Es überrascht heutzutage nicht, dass die oben geschilderten Ansprüche von Axolotln an die Haltungsbedingungen in einer EU-Richtlinie vorliegen, die die Labortierhaltung unter tierschutzrechtlichen Aspekten regelt (EU RL KOM(2008) 543). Im Grunde werden bei der Laborhaltung jedoch dieselben Grundansprüche der Tiere bedient, nur ist der Maßstab ein anderer, und der Erhaltung hygienischer Bedingungen und der Optimierung der tierpflegerischen Arbeit fallen bestimmte Extravaganzen zum Opfer, die bei der Haltung im privaten Wohnzimmer oder Aquarienkeller nicht ins Gewicht fallen, für die tiergerechte Unterbringung allerdings keine Rolle spielen.

Statt eines Bodengrundes aus Kies oder Sand wird den Tieren unter den Laborbedingungen nur ein dunkel eingefärbter Glasboden angeboten, der die räumliche Orientierung genauso gewährleistet, dafür aber viel einfacher zu reinigen ist und zudem vermeidet, dass die Tiere kleinere Steine verschlucken. Eine bewusste Aufnahme von Steinen, etwa als Mahlsteine, wie es zum Beispiel von Vögeln bekannt ist, erscheint eher unwahrscheinlich, da sich kein Unterschied im Wohlbefinden feststellen lässt, egal, ob die Molche auf Kies oder nur auf Glas gehalten werden. Ein Axolotl, der Steine geschluckt hat, schwimmt im Übrigen deutlich schlechter und kann so beispielsweise nur recht erschwert die Wasseroberfläche erreichen, was ein absichtliches Verschlucken eher ausschließt.

Die Aquarien sind in der Regel einfache, geklebte Becken, die mit einfachen Glasscheiben abgedeckt werden, um den notwendigen feuchten Luftraum über der Oberfläche herzustellen. Sie liegen im Bereich bestimmter Standardmaße (nicht länger als breit zur Optimierung der verfügbaren Oberfläche) und können damit in Regale gestellt werden, was den Platzbedarf der gesamten Anlage senkt. Die Beckengrößen sind dabei durch die EU-Richtlinie vorgegeben. Die Filterung mit Schaumstoffkissen und die Einrichtung nur mit Tonröhren sind bewusst sehr einfach gehalten, damit sie schnell bewegt und gereinigt werden können. Man muss auch immer Becken im Leerstand vorhalten, damit kranke oder verletzte Tiere sofort in Quarantäne genommen werden können. Normalerweise werden die Tiere in Gruppen gehalten, deren Größe durch die Beckenmaße bestimmt ist. Die Temperatur ist daraufhin zu kontrollieren, dass sich das Wasser nicht zu stark erwärmt. Gefüttert wird mit handelsüblichem Futter, also Artemien, später dann Frostfutter, Rinderherz, gelegentlich Regenwürmer und Pellets. Alle Futtersorten sind damit sehr gut kontrolliert, und das Risiko einer Einschleppung von Parasiten oder Krankheitserregern wird so erheblich verringert. Insgesamt sind die Haltungsanforderungen, die für eine „Kolonie Axolotl" gewährleistet sein müssen, aufgrund der relativen Genügsamkeit dieser Molche recht einfach zu erfüllen, was ihre erstaunliche „Karriere" im Wissenschaftsbetrieb mitbegründet hat, von der nun im Folgenden berichtet werden soll.

„Evolution" eines Tiermodells

Nach dem „Zeitalter der Systematik" erfuhr das biologische Weltverständnis durch die bahnbrechenden Arbeiten von Charles Darwin (*1809-1882*) und Alfred Russel Wallace (*1823-1913*) einen dramatischen Paradigmenwechsel (Darwin & Wallace 1858, Darwin 1859). Seit Darwin und Wallace Mitte des 19. Jahrhunderts die Evolutionstheorie begründeten, hat unter den Naturwissenschaften die Biologie sicher die rasanteste Entwicklung genommen und in den letzten 150 Jahren eine unermessliche Fülle von Daten und Erkenntnissen produziert. Beginnend mit der Deutung von Merkmalen und ihrer Entwicklung wurde der Mechanismus der Vererbung entdeckt, die Organisation von Strukturen und Geweben beschrieben und letztlich die Komplexität biochemischer Vorgänge im subzellulären Bereich aufgeklärt. Nahezu zeitgleich mit dem Impuls, den die Lehre von der Veränderlichkeit der Arten durch Selektion auslöste, wurden die ersten Axolotl in Europa für wissenschaftliche Zwecke verfügbar. Wie weiter oben beschrieben, waren viele Forscher schnell von diesen Tieren, die weder Larve noch Adultus zu sein schienen, fasziniert. Im Folgenden soll die Geschichte des Axolotls in seiner Rolle als Modellorganismus für die Zoologie, Biologie und Biomedizin dargestellt werden. Die spezifischen Eigenschaften dieses neotenen Molches haben ihn als Labortier in eine derart herausragende Stellung erhoben, dass *Ambystoma mexicanum* alle Moden und Strömungen der neueren wissenschaftlichen Entwicklungen der Biologie über die letzten eineinhalb Jahrhunderte begleitet hat, immer wieder im Zentrum wegweisender neuer Experimente und Forschungsansätze gestanden hat und bis heute seine wichtige Stellung behauptet.

Wie tiefgreifend der Einfluss der Evolutionstheorie in das biologische Denken war, lässt sich daran erkennen, in welchem Umfang der Grundgedanke speziellere Felder der Biologie in ihrer Entwicklung beeinflusst hat. Als Beispiel sei hier die **Entwicklungsmechanik** genannt, unter anderem deshalb, weil der Axolotl in diesem Fachgebiet in zahlreichen Experimenten eingesetzt wurde.

Die Entwicklungsmechanik befasst sich mit dem Prinzip der funktionellen Anpassung von Organen und Bauplänen der Organismen, also letztlich mit den physischen Entsprechungen der Selektion. Aus dem „*Kampf der Organismen ums Dasein*" in der Evolutionstheorie formulierte einer der Väter der Entwicklungsmechanik, Wilhelm Roux (*1850-1924*), den „*Kampf der Teile im Organismus*" (Roux 1881). Aus der rein beschreibenden Analyse körperlicher Merkmale entstand so die Verbindung zwischen der Ausbildung von Strukturen und den Ursachen für diese Adaptationen. In diesem

Zusammenhang wurden Transplantationsexperimente zu einer bevorzugten Methodik, da sie als funktionelle, experimentelle Überprüfung von theoretisch abgeleiteten Voraussagen dienen konnten. Heute würde man von Funktionsmorphologie sprechen. Der Axolotl wurde schnell zu einem wichtigen Versuchsorganismus für derartige Studien, da er mehrere wichtige Eigenschaften auf sich vereinte, die von großem Vorteil waren. Zum einen sind die neotenen Dauerlarven entwicklungsbiologisch in einem Zwischenstadium arretiert, was Beobachtungen an larvalen und adulten Organsystemen im selben Individuum zulässt. Zum anderen zeichnen sich die Tiere durch eine enorme Regenerationsfähigkeit aus, was den Erfolg invasiver Transplantationsexperimente deutlich erhöht. Ein weiterer, zunächst banal erscheinender Vorteil war es, dass von *Ambystoma mexicanum* verschiedene Farbschläge verfügbar waren, nämlich leuzistische und wildfarbene Tiere. Damit wurde es auch möglich, das Schicksal der Transplantate leichter zu verfolgen. Typische entwicklungsmechanische Arbeiten, die an Axolotln durchgeführt wurden, beschäftigten sich z. B. mit dem Verhalten verpflanzter Extremitäten oder der Auslösung und Hemmung des Regenerationsgeschehens (Godlewski 1928, David 1932). Die hierdurch erhaltenen Ergebnisse haben große Beiträge zum Verständnis von Wachstumsprozessen, Wundheilung und Ausformung von Organen und Strukturen in Abhängigkeit zu ihrer physiologischen und morphologischen Umgebung geliefert und damit geholfen, den „*Kampf der Teile im Organismus*“ zu verfolgen und die Entwicklungsbiologie zu befördern.

Die Entwicklungsmechanik befasst sich mit dem Potential der Gewebe in einem Organismus und den Wechselwirkungen, die dabei auftreten. Damit solche Wechselwirkungen zwischen Geweben und Organen reguliert verlaufen, ist der Austausch von Signalen nötig. Die **Endokrinologie** als jener Zweig der Physiologie, der sich mit den Hormonen, den Botenstoffen im Körper befasst, gewann folgerichtig in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts zunehmend an Bedeutung. Die frühe endokrinologische Forschung in ihrer gesamten Bandbreite hier zusammenfassen zu wollen, würde den Rahmen dieses Aufsatzes bei weitem sprengen. Deswegen sei an dieser Stelle als Beispiel nur kurz das Schilddrüsenhormon *Thyroxin* erwähnt, weil es für die Metamorphose der Amphibien und eben auch für die dem Axolotl eigene Neotenie von entscheidender Bedeutung ist. Das jodenthaltende Hormon Thyroxin wurde von Edward Calvin Kendall (*1886-1972*) identifiziert und charakterisiert (Kendall 1919), der später für seine bahnbrechenden Arbeiten auf dem Gebiet der frühen Endokrinologie den Nobelpreis erhalten sollte. Die Rolle der Schilddrüse für die Regulation des Wirbeltierstoffwechsels ist immens. Eine der ersten Schlüsselfunktionen, die man ihr zuordnen konnte, war die Auslösung der Metamorphose bei Amphibien (siehe oben, Gudernatsch 1912). Was lag nun näher, als die Schilddrüsenfunktion und die Aktivität der zugehörigen Hormone in Molchen zu untersuchen, die offenbar genau das nicht konnten – eben wie beim Axolotl. So wurde *Ambystoma mexicanum* auch hier zu einem wichtigen Modellorganismus, und es gelang, dem Geheimnis der induzierbar-obligatorischen Neotenie auf die Spur zu kommen, also die fehlende bzw. stark eingeschränkte Funktion der Schilddrüse bei erhaltener Sensitivität der Zielorgane des Hormons zu erkennen. Diese Arretierung der Entwicklung des Axolotl in einem Zwischenzustand ließ zudem Spielraum für experimentelle Manipulationen. Das ist von zentraler Wichtigkeit, wenn die Mechanismen der Hormonwirkung adressiert werden sollen (z. Bsp. Uhlenhuth 1922, Allen 1938, Thiel 1939). Da ähnliche Störungen bei vielen hormonell bedingten Krankheiten vorliegen, sind die aus derartigen grundlegenden Experimenten erhaltenen Daten sehr wertvoll, weil sie die endokrinen Mechanismen aufdecken.

Nachdem das Verständnis der Organisation der Gewebe und der regulatorischen Vermittlung von Signalen im Organismus gereift war, begann die Erforschung von Wechselwirkungen auf subzellulärer Ebene, also beispielsweise zwischen den verschiedenen Zellorganellen oder dem Zytoplasma und dem Zellkern. Für die Entwicklungsbiologie war es ein zentraler

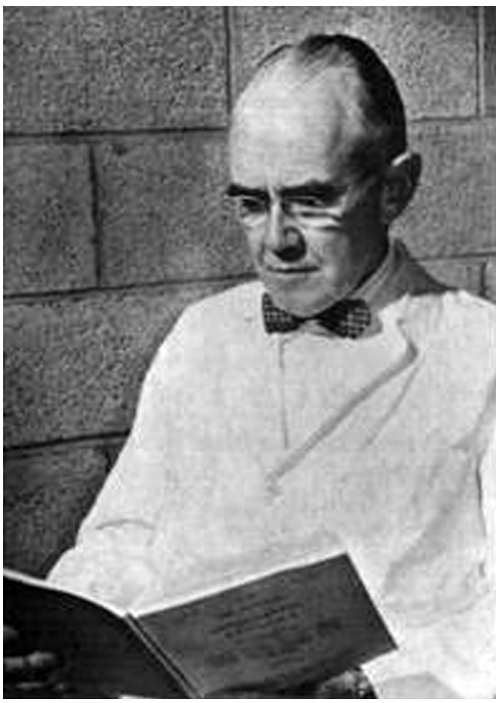

Abb. 13: Rufus R. Humphrey (*1892-1977*) (Porträt aus dem Nachruf von Malacinski 1978, mit freundlicher Genehmigung der Oxford University Press). Humphrey war einer der Pioniere des Klonens, und sein Werk lebt bis heute im Goldalbino, dem Humphrey-Axolotl fort.

Aspekt dieser neuen Richtung zu untersuchen, wie solche Wechselwirkungen ablaufen, insbesondere wie das Entwicklungspotential der Zellkerne auf die Gewebe und die Differenzierung des gesamten Organismus zurückwirkt. Bereits im Jahr 1938 hatte Hans Spemann (*1869-1941*) in einem Gedankenexperiment „*den Zellkern als den Organisator der zellulären Prozesse*" vermutet und vorgeschlagen, dass diese Annahme dadurch zu beweisen wäre, wenn es denn gelänge, Zellkerne von einer differenzierten Zelle in eine entkernte befruchtete Eizelle zu verpflanzen – also eine **Zellkern-Transplantation** durchzuführen. Dies ist ein außerordentlich elegantes Experiment, das den modernen Prozess des somatischen Klonens schon vorwegnimmt! Spemann hatte dieses „fantastische Experiment" aus von ihm bereits 1928 durchgeführten Experimenten an Salamanderembryonen abgeleitet, bei denen er einen Zellkern aus einem „Spender-Embryonen" in eine entkernte Zelle eines anderen Embryonen transferierte, die sich daraufhin in und mit diesem „Empfänger-Embryonen" entwickelte (Spemann 1938). Als konsequente Weiterentwicklung sah er die Fortführung mit differenzierten Zellkernen an, ein Ansatz, der jedoch zu seiner Zeit weit jenseits der technischen Möglichkeiten lag.

Das "fantastische Gedankenexperiment" Spemanns wurde 1952 Wirklichkeit, als es Robert Briggs (*1911-1983*) und Thomas J. King (*1921-2000*) tatsächlich gelang, Leopardfrösche (*Rana pipiens*) durch Übertragung von differenzierten Zellen in ein befruchtetes Ei zu klonen, aus dem zuvor der Zellkern entfernt worden war. Dabei führten sie weitgehend Spemanns Vorschlag experimentell durch – ohne jedoch Kenntnis davon zu haben (Briggs & King 1952). Da in dieser Zeit auch das Interesse an den biochemischen Mechanismen der Genetik stark zunahm, wurde diese Methode nach ihrer Entdeckung stark propagiert, da angenommen wurde, dass über das somatische Klonen ein Weg zu finden sei, der die Aktivierung und Regulation von Genen im Zellstoffwechsel beobachtbar und manipulierbar machen könnte. Was folgte, waren zahlreiche Experimente, die zunächst vorzugsweise in Amphibien durchgeführt wurden, und – wie könnte es anders sein – natürlich auch mit Axolotln. Auch hierfür zeichnete sich die Gruppe um Robert Briggs verantwortlich, der in den 1960er Jahren mit seinen Kollegen Transplantationen von Zellkernen verschiedener Zelltypen im Axolotl vornehmen konnte und dabei ähnliche Resultate erzielte, wie im originalen Experiment (Briggs R. et al. 1962, Signoret et al. 1967). Mitglied der Gruppe war auch Rufus R. Humphrey (*1892-1977*), der diese Experimente mit Ambystomatiden weiter verfolgte. Ein Ergebnis seiner Arbeit ist bis heute erhalten geblieben, nämlich der amelanistische Gold- oder Humphrey-Axolotl (Humphrey 1967). Humphrey benutzte hierfür ein Albino-Tigersalamander-Weibchen (*Ambystoma tigrinum*), das als Eizellspender diente und be-

Abb. 14: Humphrey-Hybride (Foto: Alice Pantone).
Ein dauerhaftes Relikt früher Klon-Experimente stellt der Goldalbino- oder Humphrey-Axolotl dar, der Gene von *Ambystoma mexicanum* und *A. tigrinum* trägt und im Labor erschaffen wurde. Diese Tiere sind echte Albinos, denen jegliches Melanin fehlt.

fruchtete diese Eier mit Spermien von Wildtyp-Axolotln. Erstaunlicherweise überlebte immerhin *ein* so erzeugtes Hybridtier, dessen Zellkerne in einem zweiten Schritt in leuzistische Axolotl-Embryonen geklont wurden. Diese entwickelten sich normal und zeigten einen neotenen, mit *Ambystoma mexicanum* vergleichbaren Phänotyp, waren aber – anders als Axolotl-Weißlinge – vollkommen amelanistisch und entwickelten aufgrund zahlreicher, gelbliches Pigment produzierender Xanthophoren die Goldalbinoform. Damit entstand erstmals ein Albino-Axolotl. Einschränkend muss hier aber erwähnt werden, dass es sich streng genommen nicht um *Ambystoma mexicanum* handelt. Da zwischen dem Zytoplasma und dem Zellkern – wenn auch in geringem Umfang – durchaus genetischer Austausch besteht, sind diese Tiere Hybride aus den Arten *A. tigrinum* und *A. mexicanum*, allerdings mit weit überwiegendem Anteil von *mexicanum*-Genen (vgl. auch Rehberg 1990).

Fast 100 Jahre nach Veröffentlichung der Evolutionstheorie konnte ein nächster entscheidender Durchbruch im Verständnis des Lebendigen erzielt werden. Mit der Entschlüsselung der DNS-Doppelhelix (Watson & Crick 1953) und des darin gespeicherten Basencodes als Träger der Erbinformation (Nirenberg & Matthaei 1961) wurde der Mechanismus aufgedeckt, mit dem die genetische Ursache für die Veränderlichkeit der Arten und der Hebel für ihre Anpassung an die wechselnden Umweltbedingungen zu verstehen sind. Im Anschluss an die grundlegenden Arbeiten der 50er Jahre des 20. Jahrhunderts begann das „**Zeitalter der Genetik**“, mit dem die Evolution im Wortsinne „begreifbar“ geworden ist.

Das Genom (das ist die Gesamtheit der genetischen Information in einem Organismus) zahlreicher Arten wurde zum Ziel der Forschung. Hier standen zunächst diejenigen Arten im Vordergrund, die wie etwa die Fruchtfliege und die Bohne schon vor Entschlüsselung der DNS im Fokus der Vererbungsforschung gestanden hatten. Bald folgten aber auch solche, die in der aktuellen Wissenschaft als Modellorganismen relevant waren. Unter diesen durfte der Axolotl selbstverständlich nicht fehlen, und so entstanden seit den 1960er Jahren - also be-

reits unmittelbar nach Etablierung der Methoden - zahlreiche Publikationen, die über genetische Untersuchungen im Axolotl berichten (z. B. Briggs & Humphrey 1962, Briggs 1972, Brun 1978, Armstrong et al. 1983, Briggs & Briggs 1984, Armstrong 1985). Das genetische Interesse am Axolotl ist bis heute hoch geblieben, *Ambystoma mexicanum* gehört auch deshalb zu den wenigen Arten mit weitestgehend vollständig aufgeklärter Gensequenz. Dabei zeigen diese Molche erneut Besonderheiten, die sie für die Genetiker, die die Evolution des Genoms beforschen, besonders interessant machen. Obwohl Axolotl über eine vergleichsweise kleine Anzahl von nur 14 Chromosomen verfügen, haben sie eines der größten bekannten Genome, was in einem ungewöhnlich hohen Gehalt sogenannter „repetetiver Sequenzen" begründet liegt. Dabei handelt es sich um eine genomische Struktur, über die noch relativ wenig bekannt ist (Smith et al. 2009). Diese Eigenschaft wird sicher dafür sorgen, dass die Erforschung der Axolotl-Gene unvermindert intensiv weitergeführt wird.

Mit der Entschlüsselung des genetischen Codes und der Aufklärung der zellulären Maschinerie, die die DNS synthetisiert, repariert und in die Proteine übersetzt, eröffneten sich nach und nach mit fortschreitender Entwicklung immer komplexerer molekularbiologischer Methoden bis dahin ungeahnte Möglichkeiten, auch in diese Prozesse experimentell einzugreifen. Motiviert von dem Wunsch, die Auswirkungen einzelner Gene im Phänotyp abzubilden und dadurch besser zu verstehen, wurde begonnen, die DNS in Organismen zu manipulieren. Zunächst erfolgte das in Bakterien- und Zellkulturen, schon bald aber mit dem Ziel, Versuchstiere genetisch zu verändern. Diese Absicht zur genetischen Veränderungen eines ganzen Tieres folgte der Erkenntnis, dass sich die komplexen Auswirkungen von Veränderungen am Erbgut nur im Gesamtorganismus voll ausprägen. Das Ziel hinter diesen Bemühungen war darauf gerichtet, in den Versuchstieren durch Einbringen („*knock in*") oder ausschalten („*knock out*") von Genen Krankheitsbilder des Menschen nachzuahmen und aus den mit solchen Tieren erhaltenen Ergebnissen neue Therapien zu entwickeln. Viele genetisch bedingte Erkrankungen wurden in der jüngeren Vergangenheit durch die Verwendung derartig genetisch veränderter Mausstämme nachgeahmt. Daraus konnten wichtige neue Erkenntnisse zu pathologisch-molekularbiologischen Prozessen gewonnen werden. Das Erzeugen gentechnisch veränderter, sogenannter „transgener Tiere" kann auch durch den Einbau artfremder Gene geschehen, zum Beispiel durch die Kopplung sogenannter „Reportergene" an bestimmte „Zielgene". Dieses gentechnische Verfahren ermöglicht es, die Aktivität der Zielgene und deren Konsequenzen zu verfolgen (z. B. Hadjantonakis et al. 1998). Weiterhin können Transplantate aus sogenannten „*ubiquitär transgenen*" Spendern (das gekoppelte Zielgen ist ein Gen, das in den Grundstoffwechsel aller Körperzellen involviert ist, weswegen jede Spenderzelle das Reportergen exprimiert) aufgrund dieser Reportereigenschaften in nicht-transgenen Empfängern auf zellulärer Ebene verfolgt werden. Ein solches Reportergen codiert beispielsweise das „*enhanced green fluorescent Protein*" (eGFP)". Natürlicherweise ist dieses Gen, das aus einer pazifischen Quallenart, *Aequorea victoria*, isoliert wurde, dafür verantwortlich, dass diese Tiere bei Anregung mit ultraviolettem Licht leuchten.

Welchen Stellenwert die Verwendung transgener Mauslinien in der Biomedizin inzwischen erreicht hat, zeigt die Vergabe des Medizin-Nobelpreises im Jahr 2007, den die Forscher Mario Capecchi und Martin Evans für ihre Arbeiten mit GFP-Mäusen erhielten (vgl. Zernicka-Goetz et al. 1997, Godwin et al. 1998). Ein Jahr bevor dieser Nobelpreis vergeben wurde, gelang es, auch GFP-Axolotl zu erzeugen (Sobkow et al. 2006) – eine Tatsache, die angesichts der Bedeutung dieses Molches in der Forschung nicht verwundern kann. Nunmehr gibt es die Möglichkeit, die regenerativen Prozesse, die den Axolotl derzeit wieder ins Zentrum des Interesses gerückt haben, auch auf zellulärer Ebene, beispielsweise in Transplantationsexperimenten, zu verfolgen. Damit hat sich, wenn auch in komplexerer Methodik, der Kreis zu den entwicklungsmecha-

nischen Experimenten der dreißiger Jahre des vergangenen Jahrhunderts geschlossen. Erste Studien mit diesen Tieren, die am *Max-Plank-Institut für Regenerative Therapien Dresden* durchgeführt wurden, haben wichtige Hinweise zum Schicksal von Blutzellen während der Regeneration von Defekten der Schwanzflosse sowie neue allgemeine Erkenntnisse zur Herkunft und Rekrutierung der regenerierenden Gewebe erbracht (Sobkow et al. 2006).

Ein relativ neues Feld der molekularbiologischen Forschung, die **Proteomik**, wurde in den letzten circa 20 Jahren erschlossen. Nachdem unter anderem durch Verwendung gentechnisch manipulierter Organismen immer tiefere spezifischere Einblicke in die genetischen Aspekte biologischer Prozesse möglich geworden waren, wurde klar, dass, wie so oft in der Biologie, die zunehmende Menge an Erkenntnissen nicht nur nicht alle offenen Fragen beantworten konnte, sondern dazu beitrug, viele weitere neue Fragen zu formulieren. Die Aufklärung der zugrunde liegenden Genetik zeigte, dass viele Prozesse, die zur Diversität der Arten beitragen, durch biochemische Wechselwirkungen auf einer anderen subzellulären Ebene stattfinden, nämlich auf der der Protein-Interaktionen. Der Erforschung dieser Beziehungen zwischen den Proteinen und der Veränderung ihrer Expressionsmuster im Zusammenhang mit verschiedenen zellbiologischen Prozessen widmet sich die Proteomik (Übersicht bei Patterson & Aebersold 2003). Es überrascht sicher nicht, dass der Axolotl aufgrund seiner besonderen entwicklungsbiologischen Charakteristik natürlich auch in diesem modernen Forschungsgebiet sofort wieder in den Fokus der Aufmerksamkeit geraten ist. Insbesondere die herausragenden Regenerationsleistungen der Molche haben das Interesse an den proteinbiochemischen Vorgängen und Mustern geweckt, genährt von der Idee, Mechanismen aufzuklären, welche helfen, die Fähigkeit der Selbstheilung zu entschlüsseln, um sie in Zukunft therapeutisch nutzbar zu machen. So haben etwa Rao und Kollegen (2009) zu diesem Zweck an Axolotln nach dem Verlust eines Beines Veränderungen im sogenannten Proteom (Gesamtheit aller in einen biologischen Prozess involvierten Proteine) in der regenerierenden Extremität untersucht. Dabei konnten sie feststellen, dass beim Axolotl mehr als 300 verschiedene Proteine in die Heilung und den Aufbau einer neuen Extremität einbezogen sind, und dass die Analyse dieser komplexen Dynamik wertvolle Hinweise zum generellen Verständnis regenerativer Vorgänge beitragen kann (Rao et al. 2009). Damit dient *Ambystoma mexicanum* hier wiederum als ein wesentlicher Modellorganismus in einem sich rasant entwickelnden Forschungsfeld.

Aus Sicht der Biomedizin gilt aktuell die **Erforschung von Stammzellen** als eines der zentralen Themen, die die Forschung im 21. Jahrhundert maßgeblich bestimmen werden. Getrieben vom alten Traum der Menschheit vom Erreichen der ewigen Jugend bei anhaltender Gesundheit, ist die Frage nach regenerativen Therapien derzeit vordergründig. Nachdem gezeigt werden konnte, dass insbesondere embryonale Stammzellen die Potenz haben, die nötig ist, um Gewebe und Organe auch im Labor nachzubilden, wurden Stammzellen zum unverzichtbaren Experimentiergut. Dennoch entsteht hier zugleich ein moralisches Dilemma, da der Einsatz von menschlichen embryonalen Stammzellen die Tötung von Embryonen erfordert. Das ist ethisch nicht vertretbar. Daher wurde in den vergangenen Jahren insbesondere die Suche nach alternativen Stammzellsystemen als mögliche Basis für das Experimentieren intensiviert. Im Körper existieren gewisse Organe, die ständig regeneriert werden. Ein typisches Beispiel dafür ist das Blut, das ständig neu gebildet wird. Ebenso werden beim Mann nach der Pubertät ständig Samenzellen neu gebildet. Auch deren Produktion wird von einem System sogenannter adulter Stammzellen angetrieben, die zum einen sich selbst erneuern, zum anderen aber Tochterzellen generieren, aus denen dann die Spermatozoen gebildet werden (Übersicht bei Ehmcke et al. 2006). Auch die Verwendung von reprogrammierten induzierten Stammzellen, wie sie in jüngerer Zeit aus Hautzellen von erwachsenen Menschen gewonnen werden konnten, könnte als eine Alternative zur Entwicklung regenerativer

Abb. 15: Der Aztekengott Xolotl (aus Codex Fejervary-Mayer). Den Azteken galt der Axolotl als Manifestation des Gottes Xolotl, der als Gestaltwandler zu einem „Wassermonster" wurde – die wörtliche Bedeutung von „Axolotl" .

Heilungsmethoden für erkrankte Organe oder Gewebe entwickelt werden (Robinton & Daley 2012).

Vor dem Hintergrund der erstaunlichen natürlichen Regenerationsfähigkeit des Axolotls ist es nicht verwunderlich, dass diese Molche für die Stammzellforschung hochrelevant sind. Sie können erhebliche Verletzungen und sogar Verluste von ganze Körperteilen wie von Kiemen, der Schwanzflosse, von Armen oder Beinen ertragen und diese sogar vollständig nachbilden, ohne das die Regenerate an Funktion einbüßen würden. Da jeglicher Regenerationsprozess die Rekrutierung und Aktivierung von Stammzellen erfordert, ist die Untersuchung von Regeneration an einem komplexen Wirbeltier natürlich ein vielversprechender Ansatz, um gegebenenfalls zu einem späteren Zeitpunkt Resultate auf den Menschen übertragen zu können. Bekannt ist, dass weniger differenzierte Entwicklungsstadien besser regenerieren als solche, deren individuelle Ausreifung bereits weiter fortgeschritten ist, d.h. ein Embryo kann noch fast alle Defekte beheben; ein Erwachsener jedoch kaum noch. Sofort wird hier klar, dass der Axolotl wiederum ein exzellentes Modell darstellt, da er in seiner neotenen Individualentwicklung quasi auf halbem Weg stehengeblieben ist (Tanaka & Reddien 2011, Voss et al. 2009). Damit verfügt er über beide untersuchenswerte Systeme: larvale (etwa die Kiemen) und metamorphosierte (etwa die Gonaden), analog zu den embryonalen oder erwachsenen Organen höher entwickelter Wirbeltiere.

Erste Studien haben bereits bemerkenswerte Ergebnisse erbracht, indem die Regeneration des nervösen Systems bei der Neubildung von Extremitäten ebenso aufgeklärt werden konnte wie die damit in Zusammenhang stehende Aktivierung bestimmter Gene (Campell et al. 2011, McHedlishvili et al. 2012). Von besonderem Interesse sind jedoch jüngste Befunde, die zeigen, dass ein Enzym aus dem Axolotl (AmbLOXE, ein Protein, das aus der Epidermis gewonnen wird), wenn es in menschliche Zellen eingeschleust wird, unter Zellkulturbedingungen Prozesse in Gang setzt, die eine Wundheilung beschleunigen würden. Hier zeichnet sich eine hoffnungsvolle Perspektive ab, die regenerativen Eigenschaften des Axolotls etwa bei der Heilung großflächiger Verletzungen zukünftig

therapeutisch nutzbar zu machen (Menger et al. 2011). Untersuchungen zu inneren Organen der Molche haben dagegen ergeben, dass etwa der Hoden nach Verletzungen nicht regeneriert, sondern es lediglich zum Wundverschluss kommt. Da die Gonaden sicher zu den am stärksten metamorphosierten Organen der Tiere gehören, ist auch das ein interessantes Resultat (Lorsy et al. 2011). Insgesamt betrachtet, scheint hier in ein und demselben Tier ein wichtiges Grundprinzip verwirklicht zu sein – je larvaler ein Organ, desto besser regeneriert es, je höher ein Organ funktionell differenziert ist, umso kleiner ist das Potential, es zu ersetzen. Vor dem Hintergrund des Zieles, regenerative Therapien zu entwickeln, sind diese Befunde ausgesprochen wertvoll. Es ist davon auszugehen, dass der Axolotl auf dem weiteren Weg der Entwicklung noch vielen relevante Ergebnisse liefern wird.

Abb. 16: Axolotl im Alltag (Foto: Joachim Wistuba). Es ist bemerkenswert, wo der offenbar mythische Axolotl im Alltag auftaucht; beispielsweise als Blickfang auf Alltagsgegenständen.

Schlussbemerkung

Seinem Namen „Axolotl“ verdankt *Ambystoma mexicanum*, der mexikanische Querzahnmolch, seiner mythischen Einordnung durch die Azteken, die in diesen Tieren eine Manifestation des Gottes Xolotl sahen. Xolotl verbarg sich, um der Opferung zu entgehen, in sich wandelnden Gestalten, um dann letztlich zu einem „Wassermonster“ zu werden. Das ist die wörtliche Übersetzung des Namens „Axolotl“ (Codex Fejervary-Mayer, *Museum of the City of Liverpool*). Aus heutiger, aufgeklärter Sicht neigen wir dazu, solche Mythen nur im animistischen Weltverständnis längst untergegangener Kulturen zu begründen. Diesen fehlte unsere rationale, moderne wissenschaftsgeprägte Erkenntnis evolutiver und physiologischer Zusammenhänge, die allerdings auch für sich genommen dem Axolotl eine Sonderstellung zukommen lassen. Dennoch ist vor diesem Hintergrund überaus bemerkenswert, wo uns der offenbar mythische Axolotl auch heute noch überall im Alltag begegnet: Sei es als tierischer Held einer Kinderbuchreihe (Kay 1993), im Titel eines Popsongs („Axolotl Eyes“ von Irmin Schmidt und Kumo, 2008, erschienen bei *Warner Music Deutschland*), auf dem Titelbild und als Namensgeber eines jüngst erschienenen Bestsellerromans (Hegemann 2010), als etwas absurdes Stofftier oder als Blickfang auf Alltagsgegenständen.

So ist *Ambystoma mexicanum*, ein ganz besonderes Ergebnis der Evolution der Amphibien, für uns moderne und zivilisierte Menschen auch jenseits seiner herausragenden Bedeutung als wissenschaftlicher Modellorganismus unserer Forschung immer noch vor allem eins – nämlich ein außerordentlich faszinierendes Tier.

Danksagung

Im Zuge der Entstehung dieses Artikels bin ich verschiedenen Personen zu Dank verpflichtet. Herrn PD Dr. Jens Ehmcke, *Zentrale Tierexperimentelle Einrichtungen (ZTE) der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität*, Münster, Frau Eva Lorsy, MSc und Frau Katrin Bellmann vom *Institut für Reproduktions- und Regenerationsbiologie (IRR), Münster*, für die Zusammenarbeit am Axolotl-Projekt, Frau Alice Pantone für die Erstellung und Herrn Dr. Oliver Damm für Hilfestellung bei der Formatierung von Fotografien, Herrn Frank Ambrock

und Frau Christina Allmeling, *Ambystoma Bioregeneration Center (AMBC), Medizinische Hochschule Hannover*, für rege Diskussionen und die Versorgung mit Informationen. Herrn Dr. Con Mallidis danke ich für Durchsicht und Korrektur der englischen Zusammenfassung. Zu guter Letzt danke ich Herrn Frank Tillack (*Zoologisches Museum* im *Museum für Naturkunde in Berlin*) für das Beschaffen einiger wichtiger Abbildungsvorlagen, die die frühe Erforschungsgeschichte des Axolotls illustrieren.

Literatur

Allen, B.M. (1938): The endocrine control of amphibian metamorphosis. Biological Reviews, Cambridge, **13**(1):1-19.

Armstrong, J.B. (1985): The axolotl mutants. Developmental Genetics, San Francisco, **6**(1): 1-25.

Armstrong, J.B., L.L. Gillespie & G. Cooper (1983): Experimental studies on a lethal gene (t) in the Mexican axolotl, Ambystoma mexicanum. Journal of Experimental Zoology, Chichester, **226**(3): 423-430.

Böhme, W. (2001): Spontane Metamorphose eines Axolotls *Ambystoma mexicanum* (SHAW 1798) (Caudata, Ambystomatidae). – Salamandra, Rheinbach, **37**(4): 261-263.

Brandon, R.A. (1989): Natural history of the axolotl and its relationship to other ambystomatid salamanders. – In: Armstrong, J.B. & G.M. Malacinski: Developmental Biology of the Axolotl, Oxford University Press, Oxford, 13-21.

Briggs, R & T.J. King (1952): Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. Proceedings of the National Academy of Science USA, Washington, **58**: 455-463.

Briggs, R., Signoret, J. & R.R. Humphrey (1964): Transplantation of nuclei of various cell types from neurulae of the Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Developmental Biology, Bethesda, **10**(2): 233-246.

Briggs, R. & F. Briggs (1984): Discovery and initial characterization of a new conditional (temperature-sensitive) maternal effect mutation in the axolotl. Differentiation, Higgannum, **26**(1-3): 176-181.

Briggs, R. & R.R. Humphrey (1962): Studies on the maternal effect of the semilethal gene, v, in the Mexican axolotl. I. Influence of temperture on the expression of the effect. II. Cytological changes in the affected embryos. Developmental Biology, Bethesda, **5**(1):127-146.

Briggs, R. (1972): Further studies on the maternal effect of the o gene in the Mexican axolotl. Journal of Experimental Zoology, Chichester, **181** (2): 271-280

Brun, R.B. (1978): Experimental analysis of the eyeless mutant in the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). American Zoologist, Oxford, **18**(2): 273-279.

Campbell, L.J., Suárez-Castillo, E.C., Ortiz-Zuazaga, H., Knapp, D., Tanaka, E.M. & C.M. Crews (2011): Gene expression profile of the regeneration epithelium during axolotl limb regeneration. Developmental Dynamics, Malden, **240**(7): 1826-1840.

Codex Fejérváry-Mayer (Museum of the City of Liverpool) (1971): Codices Selecti, XXVI. Graz, Akademische Druck- und Verlagsanstalt, 48 S.

Contreras, V., Martinez-Meyer, E., Valiente, E. & L. Zambrano (2009): Recent decline and potential distribution in the last remnant area of the microendemic Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Biological Conservation, Oxford, **142**(12): 2881-2885.

Cuvier, G. (1822): Das Thierreich eingetheilt nach dem Bau der Thiere als Grundlage ihrer Naturgeschichte und der vergleichenden Anatomie. Aus dem Franz. frey übers. u. mit vielen Zusätzen vers. von H. R. Schinz. Bd. 2: Reptilien, Fische, Weichthiere, Ringelwürmer. Cotta, Stuttgart, Tübingen, 835 S.

Darwin, C.R. & A.R. Wallace (1858): On the Tendency of Species to form Varieties; and on the Perpetuation of Varieties and Species by Natural Means of Selection. Proceedings of the Linnean Society, London, **3**: 45-62.

Darwin, C.R. (1859): On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray, London, Erste Auflage, 502 S.

David, L. (1932): Das Verhalten von Extremitätenregeneraten des weissen und pigmentierten Axolotl bei heteroplastischer, heterotoper und orthotoper Transplantation und sukzessiver Regeneration. Springer Verlag, Berlin, 55 S.

De Toledo, F.H. (1615): Quatro libros. De la naturaleza, y virtudes de las plantas, y animales que estan receuidos en el vso de medicina en la Nueua España. Mexico: Viuda de Diego Lopez Dávalos, 202 S.

Duellmann, W.E. & L. Trueb (1986): Biology of Amphibians. – McGraw-Hill Book Incorporated, New York, 670 S.

Dumeril, A.H.A. (1867): Metamorphoses des batraciens urodeles a branchies exterieures du Mexique dits axolotls, observees a la Menagerie des Reptiles du Museum d'Histoire Naturelle. Annales Des Sciences Naturelles, Paris, **7**: 229-254.

Ehmcke, J., Wistuba, J. & S. Schlatt (2006): Spermatogonia: Physiology, pathology and clinical relevance. Human Reproduction Update, Oxford, **12**(3): 275-282.

Frost, Darrel (1998-2011): Amphibian Species of the World. Copyright © 1998-2011, Darrel Frost and The American Museum of Natural History. All Rights Reserved. Send inquiries to Darrel Frost <frost at amnh org>. http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/?action=references&id=28540.

Freytag, G.E. (1970): Schwanzlurche und Blindwühlen. – In: Grizmeks Tierleben, Bd. 5 Fische 2/ Lurche. – Kindler Verlag, Zürich, S. 313–358.

Godlewski, E. jun. (1928): Untersuchungen über Auslösung und Hemmung der Regeneration beim Axolotl. Development Genes and Evolution, Berlin, **114**(1): 108-143.

Godwin, A.R., Stadler, H.S., Nakamura, K. & M.R. Capecchi (1998): Detection of targeted *GFP-Hox* gene fusions during mouse embryogenesis. Proceedings of the National Academy of Science USA, Washington, **95**(22): 13042-13047.

Gould, S.J. (1977): Ontogeny and phylogeny. – Cambridge; Harvard University Press, 482 S.

Gudernatsch, J.F. (1912): Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation: A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. – Archiv für Entwickelungsmechanik der Organismen, Berlin, **35**: 457–483.

Hadjantonakisa, A.K., Gertsensteina, M., Ikawa, A., Okabe, M. & A. Nagya (1998): Generating green fluorescent mice by germline transmission of green fluorescent ES cells. Mechanisms of Development, London, **76**(1–2): 79–90.

Hanken, J. (1989): Development and Evolution in amphibians. American Scientist, Research Triangle Park, **77**(4): 336-343.

Hegemann, H. (2010): Axolotl Road Kill. Ullstein Verlag Berlin, 208 S.

Humboldt von, A. (1806): Beobachtungen aus der Zoologie und Vergleichenden Anatomie, gesammelt auf einer Reise nach den Tropen-Ländern des neuen Kontinents, in den Jahren 1799, 1800, 1801, 1802, 1803 und 1804 von Al. von Humboldt und A. Bonpland. Bearbeitet und herausgegeben von Ersterem. Tübingen, Deutschland bey F. G. Cotta Paris, Frankreich bey Levrault, Schoell und Compagnie, 212 S.

Humphrey, R. R. (1967): Albino axolotls from an albino tiger salamander through hybridization. Journal of Heredity, Oxford, **58**(3): 95–101.

Just, J.J., Kraus-Just ,J. & D.A. Check (1981): Survey of Chordate metamorphosis. In: Gilbert, L.I. & E. Frieden: Metamorphosis. A Problem in developmental biology. – 2nd Ed., Plenum Press, New York, 265-326.

Kay, K. (1993): Der Axolotl und seine Freunde - Duell im Land der Indios. Franz Schneider Verlag, München, 124 S.

Kendall, E.C. (1919): Thyroxin isolation of the iodine compound which occurs in the thyroid. Journal of Biological Chemistry, Rockville, **39**: 125–147.

Kühn, E.R. & G.F.M. Jacobs (1989): Metamorphosis. –In: Armstrong, J.B. & G.M. Malacinski: Developmental Biology of the Axolotl. – Oxford University Press, Oxford, 187-197.

Lorsy, E., Wistuba, J., Gromoll, J., Schlatt, S. & J. Ehmcke (2011): Testicular stem cells and response to testis injury in different developmental stages of the Mexican Axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Journal für Reproduktionsmedzin und Endokrinologie, Gablitz, **8**(5): 341-342.

Malacinski, G.M. (1978) Rufus R. Humphrey (1882-1977). American Zoologist, Society for Integrative and Comparative Biology, Washington, **18**(2): 191-193.

McHedlishvili, L., Mazurov, V., Grassme, K.S., Goehler, K., Robl, B., Tazaki, A., Roensch, K., Duemmler, A. & E.M. Tanaka (2012): Reconstitution of the central and peripheral nervous system during salamander tail regeneration. Proceedings of the National Academy of Science USA, Washington, im Druck.

Mehnert, V. (1992): Mexiko. Verlag Martin Velbinger, Gräfelfing, München, 1. Aufl., 557 S.

Menger, B., Vogt, P.M., Allmeling, C., Radtke ,C., Kuhbier, J.W. & K. Reimers (2011): AmbLOXe – an epidermal lipoxygenase of the Mexican axolotl in the context of amphibian regeneration and its impact on human wound closure *in vitro*. Annals of Surgery, Philadelphia, **253**(2): 410-418.

Nirenberg, M.W. & J. H. Matthaei (1961): The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthethic polyribonucleotides. Proceedings of the National Academy of Science USA, Washington, **47**(10): 1588–1602.

Norris, D.O. (1985): Vertebrate Endocrinology. – 2nd ed., Lea and Febiger, Philadelphia, 505 S.

Patterson, S.D. & R.H. Aebersold (2003): Proteomics: the first decade and beyond. Nature Genetics , New York, **33** (Supplement): 311-323.

Rao, N., Jhamb, D., Milner, D.J., Li, B., Song, F., Wang, M., Voss, S.R., Palakal, M., King, M.W., Saranjam,i B., Nye, H.L., Cameron, J.A. & D.L. Stocum (2009): Proteomic analysis of blastema formation in regenerating axolotl limbs. BioMed Central Biology, London, **7**(83): 1-25.

Rehberg, F. (1990): Der Humphrey-Hybrid-Axolotl, ein echter Albino. Die Aquarien und Terrarien Zeitschrift, Münster, **6**(90): 343-346.

Richtlinie des Europäischen Parlamentes und des Rates zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (2008) KOM(2008) 543, Brüssel.

Robinton, D.A. & G.Q. Daley (2012): The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. Nature, Washington, **481**(7381):295-305

Roux, W. (1881): Der Kampf der Teile im Organismus. Ein Beitrag zur Vervollständigung der mechanischen Zweckmäßigkeitslehre, Leipzig, Wilhelm Engelmann, 8, VIII, 247 S.

Sanders, W.T, Parsons, J.R & R.S. Santley (1979): The basin of Mexico: Ecological processes in the evolution of a civilization. Academic Press, New York, 1. Auflage, 561 S.

Shaffer, H.B. (1984): Evolution in a paedomorphic lineage. I. An electrophoretic analysis of the mexican ambystomatid salamanders. Evolution, Chichester, **38**(6): 1194–1206.

Shaw, G. & R. P. Nodder (1798): The Naturalist's Miscellany: Or, Coloured Figures Of Natural Objects; Drawn and Described Immediately From Nature (1789–1813), Royal Society, London, **9**: Tafel 342 und 343.

Signoret, J., Briggs, R. & R.R. Humphrey (1962): Nuclear transplantation in the axolotl. Developmental Biology, Bethesda, **4**(1): 134-164.

Smith, J.J., Putta, S., Zhu, W., Pao, G.M., Verma, I.M., Hunter, T., Bryant, S.V., Gardiner, D.M., Harkins, T.T. & S.R. Voss (2009): Genic regions of a large salamander genome contain long introns and novel genes. BioMed Central Genomics, London, **10**(19): 1-11.

Sobkow, L., Epperlein, H.H., Herklotz, S., Straube, W.L. & E.M.Tanaka (2006): A germline GFP transgenic axolotl and its use to track cell fate: dual origin of the fin mesenchyme during development and the fate of blood cells during regeneration. Developmental Biology, Bethesda, **290**(2): 386-397.

Spemann, H. (1938): "Embryonic Development and Induction." Yale University Press, New Haven, 401 S.

Tanaka, E.M. & P.W. Reddien (2011): The cellular basis for animal regeneration. Developmental Cell, Cambridge, **21**(1): 172-185.

Thiel, H. (1939): Histologische Untersuchungen an Skelettmuskeln von Urodelen. Cell and Tissue Research, Berlin, **30**(1):67-77.

Uhlenhuth, E. (1922): The effect of iodine and iodothyrin on the larvae of salamanders. III. The role of the iodine in the specific action of the thyroid hormone as tested in the metamorphosis of the Axolotl larvae. Biological Bulletin, Woods Hole, **42**(3): 143-152.

Voss, S.R., Epperlein, H.H. & E.M. Tanaka (2009): *Ambystoma mexicanum*, the axolotl: a versatile amphibian model for regeneration, development, and evolution studies. Cold Spring Harbour Protocols, Cold Spring Harbour, **2009**(8):pdb.emo128.

Watson, J.D. & F.H.C. Crick (1953): Molecular structure of nucleic acids. Nature, London, **171**(4356): 737-738.

Wistuba, J. (1996): *Ambystoma mexicanum*. Über die Haltung und Zucht von Mexikanischen Axolotl. Reptilia, Münster, **1**(2): 43-46.

Wistuba J. (2008): Axolotl. Natur und Tier-Verlag, Münster, 2. Aufl. 96 S.

Wistuba, J. & G. Clemen (1998): Changes of the lingual epithelium in *Ambystoma mexicanum*. European Journal of Morphology, London, **36**(4-5): 253-265.

Wistuba, J., Opolka, A.& G. Clemen (1999): The epithelium of the tongue of Ambystoma mexicanum. Ultrastructural and histochemical aspects. – Anatomischer Anzeiger, München, **181**(6): 523–536.

Wistuba, J, Greven, H & G. Clemen (2002): Development of larval and transformed teeth in *Ambystoma mexicanum* (Urodela, Amphibia): an ultrastructural study. Tissue & Cell, Amsterdam, **34**(1):14-27.

Wistuba, J. & C. Bettin (2003): Ist Spontanmetamorphose bei *Ambystoma mexicanum* (SHAW 1798; Caudata: Ambystomatidae) möglich? Salamandra, Rheinbach, **39**(1): 61-64.

Ximenez, F. (1888): Cuatro Libros de la Naturaleza y Virtudes de las Plantas y Animales, de uso Medicinal en la Nueva España. – Oficina Tip de la Secretar'ia de Fomento, México, 342 S.

Zernicke-Goetz, M., Pines, J., McLean Hunter, S., Dixon, J.P.C., Siemering, K.R., Haselhoff, J. & M.J. Evans (1997): Following cell fate in the living mouse embryo. Development, Cambridge, **124**: 1133-1137.

Zucchi, H. & R. Gonschorek (1983): Zur Biologie insbesondere zur Verhaltensbiologie des Axolotls *Ambystoma mexicanum* (Shaw 1789) (Caudata: *Ambystomatidae*). – Salamandra, Rheinbach, **9**(3): 123–140.

Verfasser

Dr. rer. nat. Joachim Wistuba
Institut für Reproduktions- und Regenerationsbiologie (IRR)
Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie (CeRA)
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Albert-Schweitzer-Campus 1, Gebäude D11
D-48149 Münster

Email: joachim.wistuba@ukmuenster.de
Telefon: 02518352043 — Fax: 02518354800