

Über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen.

Teil I und II. Versuche an Hühner- und Froschembryonen¹⁾.

Von

K. Białaszewicz.

Aus der embryologischen Abteilung des anatomischen Instituts Krakau.

Mit 2 Figuren im Text.

Eingegangen am 30. Januar 1912.

Die bisherigen Untersuchungen über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung waren fast ausschließlich am Blute und an den Fruchtwässern der Säugetierembryonen angestellt. Sie wurden unternommen, um gewisse spezielle Fragen, sei es auf dem Gebiete des Stoffaustausches zwischen Mutter und Frucht, sei es auf demjenigen des Mechanismus der Fruchtwasserbildung, aufzuklären.

Das reichste Tatsachenmaterial ist in den Forschungen über die Physiologie des menschlichen Embryos angesammelt worden, und die Hauptfrage, um die sich eine ganze Reihe von Spezialarbeiten gruppiert hat, ist die Frage nach dem Verhältnis des osmotischen Druckes zwischen dem Blute des Embryos und demjenigen der Mutter in den letzten Monaten der Schwangerschaft und zur Zeit der Geburt. Bei diesen Untersuchungen handelte es sich um die Entscheidung der Frage, ob zwischen diesen beiden Blutarten ein osmotisches Druckgefälle existiert, auf Grund dessen die physikalische Seite der Stoffaustauschprozesse erklärt werden könnte.

Solch eine Druckdifferenz hat VEIT (1900) entdeckt, welcher auf Grund von Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung festgestellt

¹⁾ Vorgetragen in der Sitzung der Akademie der Wissenschaften in Krakau am 8. Januar 1912. Vgl. vorl. Mittel. in Bull. internat. de l'Acad. des Sc. de Cracovie. 1912.

hat, daß der osmotische Druck des Blutes des menschlichen Embryos im Augenblick der Geburt größer ist als der Druck des Mutterblutes; diese Tatsache sollten angeblich die analytisch-chemischen Untersuchungen früherer Autoren (SCHERENZISS, KRÜGER) bestätigen, welche festgestellt haben wollten, daß in den letzten Monaten der Schwangerschaft das Embryoblut reicher an anorganischen Salzen ist, als das Blut der Mutter. Jedoch stehen die Ergebnisse der späteren Forschungen über diese Frage miteinander in Widerstreit: während nämlich die einen Autoren in Übereinstimmung mit VEIT Beweise für die Hypertonie des Embryoblutes beibringen (KEIM 01, D'ERCHIA 04), sind andre, und zwar in überwiegender Mehrzahl, einer andern Ansicht, indem sie aus ihren Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung folgern, daß im Augenblick der Geburt und unmittelbar post partum das Blut der Mutter und des Embryos sich in völligem osmotischen Gleichgewicht befinden (KRÖNIG und FÜTH 01, MATHES 01, JACQUÉ 02, ZANGEMEISTER 03, FÜTH 04, GRÜNBAUM 04). Eine völlige Übereinstimmung herrscht nur bezüglich der Tatsache, daß der osmotische Druck einer schwangeren Frau bedeutend kleiner ist, als in normalem Zustande (KEIM 01, KRÖNIG und FÜTH 01, FARKAŠ und SCIPIADES 03, ZANGEMEISTER 03, FÜTH 04, GRÜNBAUM 04).

Untersuchungen über die Entwicklung der niedrigeren Säugetiere wurden von UBBELS (01), JACQUÉ (02), GRÜNBAUM (04) und POLITI (08) durchgeführt. Da diese Forscher über ein zugänglicheres Material, als es das menschliche ist, verfügten, so waren sie in der Lage, ihre Untersuchungen auch auf frühere Entwicklungsstadien auszudehnen. Auch hier handelte es sich, ebenso wie in den Arbeiten über die Entwicklung des menschlichen Embryos, um die Feststellung des osmotischen Verhältnisses zwischen Mutter und Embryo. Die erzielten Resultate sind jedoch nicht übereinstimmend: Während die Untersuchungen UBBELS' und GRÜNBAUMS beim Rind eine völlige Isotonie feststellen, beweisen die Bestimmungen, die von JACQUÉ an Schafen ausgeführt worden sind, daß das Blut der Embryonen dieser Tiere stark hypertonisch gegenüber dem Blute der Mutter ist.

Doch mehr übereinstimmende und für die uns interessierende Frage wichtigere Ergebnisse sind aus Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung des Embryoblutes und der Fruchtwässer in verschiedenen aufeinander folgenden Entwicklungsstadien erzielt worden. Die hauptsächlichsten Resultate sind die folgenden:

Vor allem stellen diese Untersuchungen fest, daß der osmotische Druck des Embryoblutes in keinem Abhängigkeitsverhältnis zur fort-

schreitenden Entwicklung steht: zwar lassen sich gewisse Unterschiede wahrnehmen, doch hängen sie nicht von dem Entwicklungsstadium ab, sondern haben vielmehr ihren Grund in der Methode der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung. Ferner ist in bezug auf das Verhältnis des Embryos zu seinen Fruchtwässern durch alle Versuche ohne Ausnahme, die an einer ganzen Reihe von Säugetieren angestellt worden sind (Mensch, Schaf, Rind, Kaninchen, Hund, Schwein, Katze), übereinstimmend erwiesen worden, daß das Embryoblut bei allen zu den Versuchen herangezogenen Tieren und in den verschiedenen Schwangerschaftsperioden im Verhältnis zur Amnion- und Allantoisflüssigkeit konstant hypertonisch ist (BOUSQUET 99, VEIT 00, KRÖNIG und FÜTH 04, UBBELS 01, JACQUÉ 02, FARKAŠ und SCIPIADES 03, GRÜNBAUM 04, D'ERCHIA 04, POLITI 08). Schließlich zeigen die Untersuchungen JACQUÉS (02) am Schaf, GRÜNBAUMS (04) am Rinde und POLITIS (08) am Kaninchen, am Hund und am Schaf, daß mit fortschreitender Entwicklung die osmotische Konzentration der Amnionflüssigkeit in entsprechendem Verhältnis abnimmt, die der Allantoisflüssigkeit dagegen zunimmt.

Aus diesem kurzen Überblick der Arbeiten über Säuger, in welchem ich nur die Hauptergebnisse angeführt habe, ersieht man, daß es sich in diesen vorwiegend in den mittleren und den Endstadien der Schwangerschaft ausgeführten Untersuchungen um die Feststellung des osmotischen Verhältnisses handelt, welches zwischen dem Blute des Embryos einerseits und dem Blute der Mutter und den Fruchtwässern andererseits besteht.

Soweit mir bekannt ist, sind in der Literatur Angaben über den osmotischen Druck in Embryonen und Fruchtwässern von Vögeln nicht vorhanden; dasselbe gilt auch von den Reptilien.

Was die niedrigeren Wirbeltiere, insbesondere die Amphibien, anbelangt, so besitzen wir hier nur die Arbeit von BACKMANN und RUNNSTRÖM (09) über die Entwicklung der Frösche. Den Ausgangspunkt für diese Untersuchungen, die für die vorliegende Arbeit von großer Wichtigkeit sind, bildeten folgende Beobachtungen: Durch Versuche über den Einfluß von Lösungen verschiedener anorganischer Salze auf die Entwicklung der Frösche haben diese Autoren festgestellt, daß diese Lösungen auf die Entwicklungsprozesse einen hemmenden Einfluß ausüben; ebensolchen Einfluß üben sogar solche Lösungen aus, welche dem Blut des erwachsenen Frosches gegenüber isotonisch sind und welche die anorganischen Bestandteile des Blutes in typischem Mengenverhältnis enthalten; den gleichen hemmenden Einfluß

übt auch destilliertes Wasser aus. Auf Grund dieser Tatsachen nahmen die genannten Forscher an, daß die Froschembryonen einen kleineren osmotischen Druck besitzen, als das Blut der erwachsenen Frösche. Die Ergebnisse der Messungen der Gefrierpunktserniedrigung, die an zu Brei zerriebenen Embryonen vorgenommen wurden, bestätigten diese Vermutung; sie zeigten überdies, daß das befruchtete, aber noch nicht gefurchte Froschei einen osmotischen Druck besitzt, der kaum den zehnten Teil des im Blut des erwachsenen Frosches vorhandenen erreicht; daß ferner der osmotische Druck mit fortschreitender Entwicklung wächst, so daß Kaulquappen nach Verlauf von 25—30 Tagen nach der Befruchtung denselben Druck aufweisen wie junge metamorphosierte Frösche, bzw. wie das Blut erwachsener Tiere.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an Hühner- und Froschembryonen ausgeführt. Die oben zitierte Arbeit von BACKMANN und RUNNSTRÖM ist erst zu meiner Kenntnis gelangt, als der den Frosch betreffende Teil vorliegender Arbeit bereits vollständig fertiggestellt war; aus diesem Grunde führe ich den diesbezüglichen Teil meiner Ergebnisse ungekürzt als von den genannten Autoren unabhängige Ergänzung ihrer Resultate an.

Bei Vornahme der gegenwärtigen Untersuchungen war ich bemüht, folgende Fragen näher zu analysieren:

Vor allem handelte es sich um die Erforschung des osmotischen Druckes der Vertreter dieser beiden Wirbeltiergruppen (Amphibien und Vögel), sowie um die Feststellung, inwiefern ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Entwicklungsstadium und dem Wert des osmotischen Druckes der inneren Flüssigkeiten des Organismus — dieses »milieu intérieur« der Embryonen — besteht.

In zweiter Linie verfolgte ich den Zweck, noch die folgende Frage zu entscheiden:

Bekanntlich haben die Untersuchungen von LOEB (91), DAVENPORT (97), SCHAPER (02) und MORGULIS (11) gezeigt, welche hervorragende Bedeutung das Wasser für das regenerative und embryonale Wachstum der Tiere besitzt: es ist nämlich durch diese Untersuchungen erwiesen worden, daß es in der Entwicklung und während der Regenerationsprozesse, ähnlich wie im Leben der Pflanzenzelle, ein Stadium gibt, in welchem das Wachstum vorwiegend auf Kosten des aus der Umgebung aufgenommenen Wassers vor sich geht, und daß dieses Wasser einen wichtigen und unumgänglich notwendigen Bestandteil des Organismus bildet, da jede künstliche Verringerung seiner Menge eine Verzögerung oder gar Hemmung der Entwicklungs-

prozesse verursacht. Obige Tatsachen haben ihre Bestätigung in meiner früheren Arbeit (08) gefunden, in welcher ich unter spezieller Berücksichtigung der Anfangsstadien der Entwicklung überdies erwiesen habe, daß in diesen ersten Entwicklungsstadien der Frösche, von der Befruchtung des Eies an bis zum Ausschlüpfen der Embryonen, das Wasser die ausschließliche Wachstumskomponente darstellt.

In dieser Arbeit habe ich neben den Bestimmungen des Wasser- und Trockensubstanzgehaltes der Embryonen auch die Resultate der Versuche über den Einfluß der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme seitens der wachsenden Embryonen und auf die Permeabilität der embryonalen Zellen für Wasser angeführt. Das Endziel, auf welches diese Versuche gerichtet waren, war die Erforschung des Mechanismus der Wasseraufnahme, dieser für die Physiologie des embryonalen Wachstums so ungemein wichtigen Erscheinung. Bei der Veröffentlichung der besagten Arbeit war ich mir völlig klar darüber, daß zur Entscheidung dieser Frage vor allem festzustellen war, ob die Ursache der Wasseraufnahme in der Differenz der osmotischen Drucke zwischen dem Embryo und seiner Umgebung liegt, wie allgemein angenommen wurde (DRIESCH 93, LOEB 91, HERBST 92, 93, DAVENPORT 97, SCHAPER 02). Die damals in der Literatur noch bestehende Lücke in unsern diesbezüglichen Kenntnissen, die eine definitive Entscheidung dieser Frage nicht zuließ, war für mich einer von den Beweggründen zur Vornahme dieser Untersuchungen, wobei ich von der Voraussetzung ausging, daß die Resultate der Bestimmung des osmotischen Druckes in den Embryonen und in ihrer unmittelbaren Umgebung die Entscheidung ermöglichen werden, inwiefern der Prozeß der Wasseraufnahme seitens der wachsenden Embryonen auf osmotischem Wege vor sich geht.

Methodik.

Vorliegende Untersuchungen wurden, wie bereits erwähnt, an Eiern und Embryonen des Huhns (*Gallus domesticus*, Rasse Wyandottes) und des Frosches (*Rana fusca*) ausgeführt. Das betreffende Material wurde mir ausschließlich von der landwirtschaftlichen Versuchsstation der Jagellonischen Universität in Mydlniki geliefert.

In der Methodik der Bestimmung des osmotischen Druckes macht sich der Mangel einer solchen Methode, mit deren Hilfe die Bestimmungen auch in sehr geringen Flüssigkeitsmengen ausgeführt werden konnten, sehr unangenehm bemerkbar. Besonders fühlbar ist dieser

Mangel bei Untersuchungen über embryonale Entwicklungsstadien der Tiere, bei denen man es oft mit Objekten von mikroskopischer Größe zu tun hat. In Ermangelung einer solchen Methode mußte ich meine Zuflucht zu einer Methode nehmen, die ohne Zweifel die genaueste ist, nämlich zu der indirekten Bestimmung des osmotischen Druckes durch Feststellung der Gefrierpunktserniedrigung (Δ) der untersuchten Flüssigkeit. Diese Methode gibt Aufschluß über die in der Volumeneinheit der Flüssigkeit enthaltene Gesamtmenge der osmotisch tätigen Moleküle; aus der Gefrierpunktserniedrigung können wir dann entweder die osmotische Gesamtkonzentration in Grammmolekülen (Molen) oder den osmotischen Druck in Atmosphären berechnen.

Zu den Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung bediente ich mich ausschließlich des BECKMANNschen Apparates, der jedoch für unsre Zwecke insofern nicht ganz geeignet ist, als die minimale Menge der zu einer Bestimmung nötigen Flüssigkeit mindestens 8 ccm beträgt. Es leuchtet ein, daß die Beschaffung so großer Flüssigkeitsmengen, besonders in den Anfangsstadien der Entwicklung, sehr große Schwierigkeiten bereitet. Aus diesem Grunde vertauschte ich das innere Gefäß des BECKMANNschen Apparates, in welchem die untersuchte Flüssigkeit zum Gefrieren gebracht wird, mit einem Gefrierrohr von bedeutend kleinerem Durchmesser, so daß 3—4 ccm Flüssigkeit zur Ausführung einer exakten Messung vollständig genügten¹⁾.

Die Methodik der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung mit dem BECKMANNschen Apparat ist allgemein bekannt, darum werde ich mich nur auf die Angabe einiger wichtigeren Einzelheiten beschränken.

Da ich oft genötigt war, auf einmal eine größere Menge von Bestimmungen in Flüssigkeiten auszuführen, die einem ganz bestimmten Entwicklungsstadium angehörten, so mußte ich bestrebt sein, die einzelnen Bestimmungen möglichst rasch auszuführen. Die Schnelligkeit der Bestimmungen hängt aber vor allem von der Temperatur der Kältemischungen ab, darum hielt ich die Temperatur derselben auf einem etwas tieferen Niveau, als es in der gewöhnlichen Praxis geschieht: sie betrug in meinen Versuchen etwa 6—7° C. Zu diesem Zweck wurde auch die Vorkühlung der untersuchten Flüssigkeit nicht im BECKMANNschen Apparat, was zu viel Zeit in Anspruch nimmt,

¹⁾ Die Modifikation der BECKMANNschen Methode, welche neuerdings von BURIAN und DRUCKER (10) publiziert wurde, war mir damals nicht bekannt.

sondern direkt auf Eis vorgenommen, wo auch die übrigen zu den Versuchen bestimmten Proben in dicht verschlossenen Glasgefäßen aufbewahrt wurden.

Nach Eintragung der untersuchten Flüssigkeit in das Gefrierrohr und abermaliger Abkühlung auf Null stellte ich das Gefrierrohr in den Apparat und tauchte die Kugel des BECKMANNschen Thermometers in die Flüssigkeit ein, wobei ich dafür Sorge trug, daß sie die Wände des Gefrierrohres nicht berühre und möglichst gleichmäßig von der Flüssigkeit umgeben sei. Bei der weiteren Abkühlung rührte ich ununterbrochen die untersuchte Flüssigkeit, indem ich bemüht war, mit dem Rührer möglichst gleichmäßige Bewegungen auszuführen. Die peinlichste Sorgfalt verwandte ich aber darauf, keine allzu starke Unterkühlung eintreten zu lassen: so betrug dieselbe in allen Versuchen nicht mehr als $0,5^{\circ}$ C. für die erste Probebestimmung, für alle folgenden schwankte sie zwischen $0,2$ — $0,3^{\circ}$ C. Um die Erstarrung der Flüssigkeit in dem gewünschten Moment der Unterkühlung herbeizuführen, warf ich im gegebenen Augenblick ein kleines Eiskriställchen in das Gefrierrohr.

In jeder Probe führte ich gewöhnlich mehrere — meistens je vier — Bestimmungen aus, wobei die erste orientierende Bestimmung als Vorversuch nicht in Rechnung gezogen wurde. Vor und nach jeder Versuchsreihe prüfte ich den Nullpunkt des Thermometers, d. h. den Gefrierpunkt destillierten Wassers, auf seine Richtigkeit.

Obleich für die Ergebnisse meiner Untersuchungen, in denen es auf den Nachweis der verhältnismäßigen Änderungen des osmotischen Druckes in aufeinander folgenden Entwicklungsstadien ankam, die Erzielung absoluter Werte an und für sich von nebensächlicher Bedeutung war, so führte ich dennoch, um meine Zahlen mit den in der Literatur vorhandenen Daten vergleichen zu können, einige Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung einer 1%igen Chlornatriumlösung aus: nach HAMBURGER (02, S. 95—96) sollte sie $-0,589^{\circ}$ betragen. Fünf Bestimmungen, die mit demselben Thermometer, dessen ich mich bei allen in der vorliegenden Arbeit angegebenen Messungen bedient habe und die parallel in den großen und kleinen Gefrierröhrchen ausgeführt wurden, ergaben den mittleren Wert $\Delta = 0,640^{\circ}$, d. h. eine bedeutend höhere Zahl, als die von HAMBURGER angegebene. Diese Ungenauigkeit in der Kalibrierung meines Thermometers wird im Verlauf der Arbeit jedesmal bei der Zusammenstellung der Ergebnisse meiner Bestimmungen mit den Resultaten der andern Autoren berücksichtigt werden.

Was das Versuchsmaterial selbst anbelangt, so lag die Hauptschwierigkeit in der Schaffung möglichst konstanter äußerer Lebensbedingungen für die Entwicklung der Embryonen; große Mühe kostete auch die Aufzucht dieser Kulturen in so großen Mengen, weil besonders für die Bestimmungen in den Anfangsstadien der Entwicklung ein sehr zahlreiches Material nötig war.

Die zum Brüten bestimmten Eier stammten von vier Hennen her. Gleich nachdem sie gelegt waren, wurden sie gewogen und das Brüten begann entweder sofort, oder, falls es darauf ankam, eine größere Anzahl von Eiern zu sammeln, so wurden sie in dichtverschlossenen gläsernen Gefäßen aufbewahrt, in denen die Luft mit Wasserdampf gesättigt war. Das Brüten geschah in einem besonderen Thermostatenzimmer des embryologischen Laboratoriums, in welchem die Temperatur konstant auf 37—38° C. gehalten wurde. Der Feuchtigkeitsgehalt der Luft schwankte in den Grenzen von 45—55 %. Vom dritten Bruttag an wurden die Eier im Laufe des Tages mehrmals umgewendet, derart, daß jedes einzelne Ei innerhalb 24 Stunden eine einmalige ganze Umdrehung erfuhr.

Zu den Bestimmungen wurden die Eier jeden zweiten Bruttag genommen. In den ersten sechs Bruttagen wurden die Bestimmungen nur im Dotter und im Eiweiß gemacht. Vom sechsten Bruttag an wurden sie auch auf die Embryonen und die Fruchtwässer ausgedehnt; das Sammeln der reinen, von allen fremden Beimengungen befreiten Fruchtwässer, das Befreien der Embryonen von den Eihäuten und die Herstellung des zu den Bestimmungen der Gefrierpunkterniedrigung nötigen Breies geschah in folgender Weise:

Die Schale wurde auf der Seite der Luftkammer geöffnet. Nach Beseitigung dieses Teiles der Schale sieht man die durchscheinende Verästelung der Blutgefäße der Allantois, welche bekanntlich in den späteren Stadien der inneren Eiweißhülle, die den Boden der Luftkammer bildet, ganz dicht anliegt. Nachdem ich dann die gefäßärmste Gegend ausgesucht hatte, schnitt ich an dieser Stelle die Allantoishaut und die Eiweißhülle durch, führte durch die Öffnung schnell eine lange, dünne Pipette in die Allantoishöhle ein und zog die dort enthaltene Flüssigkeit möglichst genau heraus. Bei gewisser Übung kann man auf diese Weise die Allantoisflüssigkeit ganz rein und klar erhalten, ohne Beimischung von Blut, welches beim Anschneiden eines größeren Blutgefäßes sehr reichlich herausfließt.

Die so erhaltene Allantoisflüssigkeit stellte ich in einem dichtverschlossenen Glasgefäß auf Eis, worauf ich die Isolierung der Am-

nionflüssigkeit vornahm. Zu diesem Behufe wurde die ganze Eissubstanz nach vollständiger Beseitigung der Schalenreste auf eine Glasplatte gelegt, die der äußeren Amnionoberfläche anhaftende Flüssigkeit zunächst mit einer Capillarpipette, dann mit Fließpapier rasch entfernt, worauf ich in der Amnionhaut eine kleine Öffnung machte und durch dieselbe gleichfalls mittels der Pipette die reine, klare Amnionflüssigkeit heraushob. In früheren Entwicklungsstadien, wo das Amnion noch sehr straff gespannt ist, verfuhr ich, um Verluste der Flüssigkeit, die aus der angeschnittenen Stelle herausspritzt, zu vermeiden, auf eine andre Weise: ich legte das Amnion auf den Rand einer Glasplatte derart, daß sein ganzer flüssiger Inhalt nach dem Durchschneiden des Amnions in ein untergestelltes Glasgefäß, das zur Aufbewahrung der Flüssigkeit auf Eis diente, herabfließen konnte.

Schließlich befreite ich die Embryonen nach Entfernung der Reste der ihrer Oberfläche anhaftenden Flüssigkeit von ihren Eihäuten und vom Dotter und bewahrte sie in dichtschließenden Gefäßen auf. Sobald die Menge der so präparierten Embryonen für eine Bestimmung ausreichte, brachte ich sie in einen kleinen Porzellanmörser, zerschnitt sie mit der Schere in ganz kleine Stückchen und zerrieb sie schnell zu einem möglichst gleichmäßigen Brei, in welchem ich dann, ebenso wie in den Fruchtwässern, die Erniedrigung des Gefrierpunktes bestimmte.

Am Froschmaterial konnten mit Rücksicht auf die Schwierigkeiten, die sich bei der Herausnahme der winzigen Embryonen aus der Dotterhaut boten, die ersten Bestimmungen erst an ausgeschlüpften Embryonen, d. h. nach Verlauf von 3—4 Entwicklungstagen bei 20—20° C. gemacht werden. Wegen der Kleinheit der Froschembryonen in den ersten Tagen nach dem Ausschlüpfen (Volumen = etwa 3,5 cmm) muß man, um die notwendige Breimenge zu erhalten, über Tausende von Embryonen verfügen, die überdies alle in möglichst ein und demselben Entwicklungsstadium stehen müssen. Zwecks Gewinnung eines so zahlreichen Materials verfuhr ich in folgender Weise: die aus 10—15 frisch getöteten Weibchen herausgenommenen Eier breitete ich in einer einzigen Schicht auf dem Boden einer großen, flachen Emailtablette aus und fügte ihnen Sperma hinzu, das ich der gleichen Anzahl Männchen entnommen hatte; nach 10 bis 20 Minuten goß ich soviel Wasser in die Tablette, daß die Eier knapp bis zur Hälfte der aufgequollenen Gallerthüllen von demselben benetzt wurden. Die Entwicklung vollzog sich in der Temperatur von 20—22° C. und schritt sehr gleichmäßig fort; nach dem Aus-

schlüpfen, welches bei dieser Temperatur am dritten oder vierten Tage nach der Befruchtung stattfindet, wurde ein Teil der Embryonen zur Herstellung von Brei herausgenommen (was in derselben Weise wie bei den Huhnembryonen geschah), während sich der Rest unter denselben Bedingungen weiter entwickelte und das Material für die späteren Bestimmungen bildete. Nachdem die Kaulquappen ihre Gallerte verzehrt hatten, wurden sie mit Froschfleisch gefüttert. Leider ist es mir nicht gelungen, diese Kulturen bis zur Metamorphose heranzuziehen, so daß ich mich für die Bestimmungen in späteren, der Metamorphose unmittelbar vorausgehenden und ihr folgenden Stadien eines Materials bedienen mußte, das auf natürlichem Wege befruchtet war und sich in einem kleinen Teich in natürlichen äußeren Verhältnissen entwickelte.

Vor jeder Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung stellte ich, sowohl bei den Fröschen wie bei den Vögeln, das Gewicht der lebenden Embryonen sowie das Gewicht ihrer Trockensubstanz fest. Da die diesbezügliche Methodik allgemein bekannt ist, erachte ich es für überflüssig, hier auf methodische Einzelheiten einzugehen.

Außer den Bestimmungen des osmotischen Druckes im Brei von Embryonen habe ich noch eine Serie von Bestimmungen in Ovarien eiern des Frosches und des Huhns ausgeführt. Überdies habe ich auch die Erniedrigung des Gefrierpunktes im Blut der erwachsenen Tiere bestimmt: das Blut erhielt ich in der Weise, daß ich nach Abtrennung des Kopfes das aus den thoracalen Gefäßen ausströmende Blut sammelte (bei Fröschen von mehreren Individuen für eine Bestimmung). Die Defibrinierung, die ich nur beim Hühnerblut vornahm, führte ich in verschlossenen, vollkommen mit Blut gefüllten Glasgefäßen aus.

Erster Teil.

Der osmotische Druck während der Entwicklung des Huhns.

Wie ich bereits in der Einleitung bemerkt habe, bestand die Aufgabe meiner Untersuchungen über die Entwicklung des Huhns in der Erforschung des Verhaltens des osmotischen Druckes in den Embryonen und in der Eruierung des Verhältnisses der osmotischen Drucke zwischen dem Embryo und seiner Umgebung. Diese Aufgabe konnte ich nur teilweise lösen, da ich bei dem Mangel einer entsprechenden Methode nicht in der Lage war, den osmotischen Druck in den Embryonen während ihrer ersten Entwicklungsstadien

zu messen. Aus dieser Entwicklungsperiode besitze ich nur die Resultate von Messungen im Dotter und im Eiweiß der Hühnererei.

Bekanntlich ist die eigentliche Eizelle der Vögel, die sog. Dotterkugel, von einer ihr dicht anhaftenden Dottermembran umgeben, die sich größtenteils bereits im Ovarium bildet; während des Wachstums und Reifens besitzt die Zelle als äußeres Milieu das Blut, welches die im Eierstock sich reichlich verzweigenden Blutgefäße durchströmt. Das ausgewachsene und reife Ei löst sich vom Eierstock los und gelangt in den Eileiter; in den oberen Teilen desselben wird es vor allem von einer Eiweißschicht umgeben (im Eiweiß selbst kann man zwei Bestandteile unterscheiden: einen mehr und einen weniger flüssigen), worauf sich in dem unteren Teil des Eileiters die Eiweißhüllen und die Eischale bilden.

Aus dieser Schilderung geht hervor, daß das äußere Milieu der Eizelle nach dem Übergang derselben in den Eileiter eine Änderung erfährt: das ursprüngliche Medium des wachsenden und reifenden Eies — das den Eierstock durchströmende Blut — wird jetzt durch Eiweiß ersetzt, in welchem auch das Ei seine ersten Entwicklungsstadien durchläuft.

Um das Verhältnis der osmotischen Drucke, welches zwischen der Dotterkugel und dem sie umgebenden Medium besteht, kennen zu lernen, habe ich eine Reihe von Messungen der Gefrierpunktserniedrigung sowohl im Dotter und im Eiweiß gelegter Eier, als auch im Dotter von Ovarialeiern sowie im Blut der Henne ausgeführt. Die Resultate der zuletzt genannten Bestimmungen waren folgende:

Henne gewöhnlicher Rasse: Gefrierpunktserniedrigung im defibrinierten Blut = $0,635^{\circ}$ (Mittelwert aus Bestimmungen in zwei Blutproben: $0,637^{\circ}$ und $0,633^{\circ}$); die Bestimmung im Brei aus kleinen, sehr jungen Eiern vom Durchmesser $\frac{3}{4}$ —1 cm ergab annähernd den gleichen Wert: $\Delta = 0,632^{\circ}$.

Henne, Rasse weiße Wyandottes: Gefrierpunktserniedrigung im defibrinierten Blut = $0,640^{\circ}$ ¹⁾ (Mittel aus zwei Bestimmungen: $0,639^{\circ}$ und $0,641^{\circ}$); die Gefrierpunktserniedrigung im Dotter des größten der Ovarialeier (Durchmesser = etwa 3 cm) betrug $0,613^{\circ}$. Bei der-

¹⁾ Die in der Literatur vorhandenen Daten über die Gefrierpunktserniedrigung im Hühnerblut sind die folgenden: GRYNs (96) gibt an: $\Delta = 0,613^{\circ}$, HAMBURGER (02): $\Delta = 0,599^{\circ}$, D'ERRICO (07): $\Delta = 0,616^{\circ}$. Die von mir erhaltenen Zahlen sind also bedeutend höher; dieser Mangel an Übereinstimmung ist, wie ich bereits in der Einleitung bemerkt habe, eine Folge der ungenauen Kalibrierung meines Thermometers.

selben Henne fand ich in der mittleren Partie ihres Eileiters ein bereits von Eiweiß und von Eiweißhüllen umgebenes Ei: die an dem Dotter dieses Eies ausgeführte Messung ergab $\Delta = 0,585^\circ$.

Aus diesen Bestimmungen geht vor allem hervor, daß die jungen, noch im Wachsen begriffenen Eier denselben Druck wie das Mutterblut zeigen; erst in den späteren Wachstumsstadien, mit fortschreitender Dotteranhäufung, läßt sich eine ganz geringe Abnahme des osmotischen Druckes wahrnehmen, so daß sich also schließlich der Dotter des ausgewachsenen Eies dem Blut gegenüber hypotonisch verhält. Diese Verringerung des Druckes tritt noch deutlicher bei denjenigen Eiern zutage, die nach der Lösung vom Eierstock in den Oviductus gelangen und hier vom Eiweiß umgeben worden sind.

Gleichzeitig mit dem Übertritt des Eies in den Eileiter machen sich zwei für seine Entwicklung sehr wichtige Momente geltend: erstens gelangt es in ein neues Medium, nämlich in das Eiweiß, und zweitens beginnt seine Entwicklung, deren Anfangsstadien im Eileiter verlaufen. Die oben angeführte Bestimmung im Dotter eines im Eileiter gefundenen Eies beweist, daß nach dem Übergang des Eies in den Eileiter eine weitere Abnahme des osmotischen Druckes im Dotter stattfindet. Welche Änderungen des osmotischen Druckes es im weiteren Verlauf seiner Entwicklung erleidet, geht aus unsern Bestimmungen an gelegten, aber nicht bebrüteten, und an bebrüteten Eiern hervor.

Die erste Reihe der Bestimmungen wurde an Eiern, gleich nachdem sie gelegt waren, ausgeführt. Die Resultate dieser Bestimmungen sind in Tabelle I angegeben, in welcher sich nur die ersten sieben Versuchsreihen auf unbebrütete Eier beziehen. Aus der Zusammenstellung der Ziffern, welche die Erniedrigung des Gefrierpunktes im Dotter bezeichnen, ersieht man, daß der Wert des osmotischen Druckes in demselben ziemlich großen Schwankungen unterworfen ist, da die größten Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung sich bis auf $0,04^\circ$ belaufen: diese Schwankungen dürften sich jedoch wohl auf individuelle Verschiedenheiten zurückführen lassen, denn bei Eiern, die von demselben Weibchen stammen (3, 4 und 5), sind sie bedeutend kleiner und bewegen sich in Grenzen, die kaum $0,01^\circ$ erreichen. Der aus diesen sieben Messungen abgeleitete Mittelwert für die Erniedrigung des Gefrierpunktes beträgt $0,564^\circ$. Wir sehen also, daß der osmotische Druck im Dotter des gelegten Eies beträchtlich kleiner ist, als der im Dotter des Ovarialeies ermittelte ($\Delta = 0,613^\circ$).

Tabelle I.

| Laufende Nummer der Eier | Bebrütungs-tag | Gefrierpunktserniedrigung im Dotter | | Gefrierpunktserniedrigung im Eiweiß | |
|--------------------------|----------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------------|------------|
| | | einzelne Bestimmungen | Mittelwert | einzelne Bestimmungen | Mittelwert |
| 1 | 0 | 0,545° | } 0,564° | 0,423° | } 0,458° |
| 2 | 0 | 0,553 | | 0,447 | |
| 3 | 0 | 0,561 | | 0,475 | |
| 4 | 0 | 0,567 | | 0,480 | |
| 5 | 0 | 0,563 | | 0,468 | |
| 6 | 0 | 0,585 | | 0,449 | |
| 7 | 0 | 0,573 | } 0,526° | 0,461 | } 0,442° |
| 8 | 2 | 0,518 | | 0,433 | |
| 9 | 2 | 0,522 | | 0,444 | |
| 10 | 2 | 0,539 | } 0,505° | 0,450 | } 0,447° |
| 11 | 4 | 0,496 | | 0,448 | |
| 12 | 4 | 0,513 | | 0,439 | |
| 13 | 4 | 0,506 | | 0,453 | |
| 14 | 6 | 0,510 | } 0,512° | 0,442 | } 0,438° |
| 15 | 6 | 0,531 | | — | |
| 16 | 6 | 0,508 | | 0,429 | |
| 17 | 6 | 0,498 | | 0,443 | |
| 18 | 8 | 0,496 | | 0,444 | |

Aus der Zusammenstellung dieser Ziffern ergibt sich also, daß in den Anfangsstadien der Entwicklung, die innerhalb des Eileiters verlaufen, eine Abnahme des osmotischen Druckes im Dotter stattfindet. Wie sich dagegen der osmotische Druck im Dotter der bebrüteten Eier verhält, geht aus den Messungen hervor, die ich an jedem zweiten Bruttage vorgenommen habe (Tab. I).

Beim Vergleich der mittleren Werte für die Erniedrigungen des Gefrierpunktes gelangen wir zu dem Ergebnis, daß sich im Verlauf der weiteren Entwicklung, welche außerhalb des Eileiters vor sich geht, der osmotische Druck auch weiterhin in demselben Sinne ändert, d. h. kontinuierlich abnimmt, wobei dieses Sinken in den ersten vier Bebrütungstagen am augenfälligsten ist (vgl. Fig. 1).

Auf Grund obiger Tatsachen können wir im allgemeinen sagen, daß von dem Augenblick an, wo die Eizelle in den Eileiter gelangt, sich in dem Dotter Prozesse abzuspielden beginnen, welche eine ständige Verringerung der Konzentration der osmotisch wirksamen Substanzen in demselben zur Folge haben.

Daß gerade dieser Übergang des Eies in das neue Milieu dasjenige Moment ist, welches diese Änderungen im osmotischen Druck auslöst, geht aus der Betrachtung des osmotischen Druckes im Eiweiß hervor. In der bereits besprochenen Tabelle I sind neben den Ergebnissen der Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung im Dotter auch die Resultate ebensolcher am Eiweiß ausgeführten Messungen zusammengestellt. An der Hand dieser Zahlen können wir uns überzeugen, daß in allen unbebrüteten Eiern das Eiweiß eine geringere Gefrierpunktserniedrigung aufweist als der Dotter: das Mittel aus sieben Bestimmungen beträgt $\Delta = 0,458^\circ$, während es für den Dotter $= 0,564^\circ$ ist. Das Eiweiß ist also dem Dotter gegenüber eine ausgesprochen hypotonische Flüssigkeit.

In Berücksichtigung dieser Tatsache können wir die Abnahme des osmotischen Druckes im Dotter sich entwickelnder Eier als eine Folge des Überganges der Dotterkugel aus dem ursprünglich fast isotonischen Milieu, wie es das die Ovarialeier ernährende Blut ist, in das Eiweiß betrachten, das doch eine Flüssigkeit von ausgesprochen geringerem osmotischem Druck darstellt. Diese Druckdifferenz hat zur Folge, daß das Eiweiß von der Dotterkugel absorbiert wird, in ihr Inneres infiltriert und auf diese Weise als hypotonische Flüssigkeit eine Verdünnung der im Dotter enthaltenen, osmotisch wirksamen Substanzen verursacht. Nach dem Übertritt des Eies in den Eileiter hält dieser Prozeß solange an, bis die osmotischen Druckdifferenzen auf denjenigen Wert gesunken sind, welchem die elastisch gespannte Dottermembran das Gleichgewicht halten kann. Ein solcher Gleichgewichtszustand ist auch für gelegte, unbebrütete Eier charakteristisch.

In den bebrüteten Eiern vollzieht sich die weitere Verdünnung des Dotters auf Kosten des Eiweißes. Es lag die Vermutung nahe, daß diese fortwährende Infiltration des Eiweißes in das Innere der Dotterkugel eine kontinuierliche Verminderung seiner Gesamtmenge im Ei zur Folge haben müßte. Und in der Tat, schon bei oberflächlicher Betrachtung konnte man feststellen, daß sich die Eiweißmenge mit fortgesetzter Brutdauer immer mehr verringerte: nach Verlauf von etwa 6—8 Tagen findet man gewöhnlich im Ei keine Spur von flüssigem Eiweiß mehr, während sich die Gesamtmasse des halbflüssigen, dichteren Eiweißes im unteren Teil des Eies, in der Gegend des vegetativen Teils der Dotterkugel, ansammelt.

Durch nähere Untersuchung dieser Tatsache wird obige Beobachtung bestätigt; die Gewichtsbestimmung der gesamten Eiweiß-

menge in einem soeben gelegten sowie in einem 6 Tage lang bebrüteten Ei lieferte folgendes Ergebnis: die durchschnittliche Eiweißmenge eines soeben gelegten Eies beträgt etwa 35 g (30—40 g)¹⁾, während nach Verlauf von 6 Bruttagen kaum 14 g gefunden wurden; mithin verringerte sich die ursprüngliche Eiweißmenge um 20 g, d. h. um mehr als die Hälfte. Man könnte meinen, dieser Verlust seitens des Eiweißes sei durch Verdampfen von Wasser verursacht, wie es auch durch die früheren Untersuchungen PREYERS (85) festgestellt worden ist; indessen ergibt sich aus meinen Wägungen der bebrüteten Eier, daß in der Entwicklung begriffene Eier innerhalb der ersten 6 Bruttage durchschnittlich (10 Bestimmungen) 2,5 g an Gewicht verlieren, d. h. eine Menge, die im Vergleich mit dem Eiweißverlust innerhalb derselben Zeit (20 g) nur unbedeutend ist. Aus diesem Grunde müssen wir annehmen, daß die Hauptmenge des Eiweißes von der Dotterkugel absorbiert wird.

Was das weitere Schicksal des von der Dotterkugel aufgenommenen Eiweißes anbetrifft, so sind sicherlich sowohl das Wasser als auch die festen Substanzen für die Entwicklung des Huhns von Bedeutung. Es ist nicht ausgeschlossen, daß in den Anfangsstadien der Entwicklung das von der Dotterkugel aufgenommene Eiweiß denselben Nährwert für den Embryo besitzt, wie in den späteren Stadien der dichtere Teil des Eiweißes, welcher mittels der sog. »Placenta« der Vögel resorbiert wird.

Was das im Eiweiß enthaltene Wasser anbelangt, so ist seine Bedeutung für die Entwicklung des Huhns sehr mannigfaltig, vor allem jedoch spielt es eine große Rolle als der hauptsächlichste Bestandteil der Fruchtwässer. Außerdem wird ein Teil desselben für das Wachstum des Embryos verwendet: diese Bedeutung des Wassers als eines wichtigen Faktors beim Wachstum der Hühner erhellt aus Tabelle II, in welcher die Resultate der Wägungen der lebenden und der getrockneten Embryonen verzeichnet sind; die Wägungen wurden vom vierten Tage an jeden zweiten Bruttag vorgenommen. Aus der Zusammenstellung der Ziffern, welche den Prozentgehalt des Wassers in den Embryonen veranschaulichen (letzte Kolumne), gelangen wir zu dem Schluß, daß der prozentuelle Wassergehalt zu Anfang (d. h. zwischen dem vierten und sechsten Bruttage) steigt, später jedoch,

¹⁾ Diese Zahl stimmt ziemlich gut mit den Bestimmungen von Eiweißgehalt in den frisch gelegten Hühnereiern (Rasse: Plymouth Rock), welche neuerdings von CURTIS (11) veröffentlicht wurden (Mittelwert aus 30 Wägungen = 35,3 g Eiweiß in einem Ei).

Tabelle II.

| Brutttag | Zahl der untersuchten Embryonen | Durchschnittl. Lebendgewicht des Embryos g | Prozentgehalt der Trockensubstanz % | Prozentgehalt des Wassers % |
|----------|---------------------------------|--|-------------------------------------|-----------------------------|
| IV. | 2 | 0,066 | 7,5 | 92,5 |
| VI. | 10 | 0,354 | 6,4 | 93,6 |
| VIII. | 17 | 1,024 | 6,5 | 93,5 |
| X. | 9 | 2,036 | 7,1 | 92,9 |
| XII. | 3 | 4,023 | 8,3 | 91,7 |
| XIV. | 4 | 7,770 | 10,6 | 89,4 |
| XVI. | 3 | 12,890 | — | — |
| XVIII. | 4 | 19,171 | 18,7 | 81,3 |

während der weiteren embryonalen Entwicklung, infolge der Zunahme der Trockensubstanz im Organismus, beständig sinkt.

Wir sehen also, daß die Wasseraufnahme tatsächlich einen sehr wichtigen Faktor des embryonalen Wachstums bildet und daß es in der Entwicklung des Huhns, ebenso wie bei den Amphibien (DAVENPORT 97, SCHAPER 02), eine Periode gibt, in welcher das Wachstum der Embryonen sich vorwiegend auf Kosten des aus der Umgebung aufgenommenen Wassers vollzieht.

Die Bedeutung, welche das Wasser für das embryonale Wachstum besitzt, läßt die Frage aufkommen, in welchem Verhältnis die osmotisch wirksamen Verbindungen zum Wasser als Lösungsmittel stehen, und inwiefern dieses Verhältnis mit fortschreitender Entwicklung eine Änderung erfährt. Diese Frage kann selbstverständlich nur durch Messungen des osmotischen Druckes in den inneren Flüssigkeiten, bzw. im Brei aus Embryonen gelöst werden.

Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß wir bei der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung im Brei aus Embryonen, in welchem die Zellenelemente zum größten Teil beschädigt und die aus allen Gegenden des Embryokörpers stammenden organischen Flüssigkeiten innig miteinander vermischt sind, eine Zahl erhalten, welche nur über die durchschnittliche Höhe des osmotischen Druckes im Embryo Aufschluß gibt. Bestimmte Unterschiede des osmotischen Druckes, wie sie wahrscheinlich zwischen den einzelnen Organen, sowie den verschiedenen, anatomisch voneinander getrennten osmotischen Systemen (Körperhöhle, Blutgefäßsystem usw.) bestehen, ist diese Methode natürlich nicht imstande festzustellen. Dagegen geben die mit Hilfe dieser Methode erhaltenen Resultate Auf-

Tabelle III.

| 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. |
|-----------------|----------|-----------------------------|--------|------------------------|--------|---------------------------|--------|
| Laufende Nummer | Brutttag | Brei aus Huhnembryonen Δ | | Amnionflüssigkeit Δ | | Allantoisflüssigkeit Δ | |
| | | einzelne Bestimmungen | Mittel | einzelne Bestimmungen | Mittel | einzelne Bestimmungen | Mittel |
| 1 | VI. | — | 0,508° | 0,582° | 0,582° | — | — |
| 2 | | 0,508° | | — | | — | |
| 3 | VIII. | 0,523 | 0,517 | — | 0,562 | 0,508° | 0,513° |
| 4 | | 0,508 | | 0,576 | | 0,538 | |
| 5 | | 0,518 | | 0,550 | | 0,534 | |
| 6 | | 0,520 | | 0,561 | | 0,473 | |
| 7 | X. | 0,525 | 0,523 | 0,528 | 0,539 | 0,491 | 0,495 |
| 8 | | 0,520 | | 0,540 | | 0,497 | |
| 9 | | 0,525 | | 0,550 | | 0,498 | |
| 10 | XII. | 0,568 | 0,557 | 0,556 | 0,559 | — | 0,515 |
| 11 | | 0,553 | | — | | 0,485 | |
| 12 | | — | | 0,567 | | — | |
| 13 | | 0,549 | | — | | 0,535 | |
| 14 | | — | | 0,553 | | — | |
| 15 | | — | | — | | 0,526 | |
| 16 | XIV. | 0,569 | 0,560 | — | 0,551 | 0,513 | 0,505 |
| 17 | | 0,562 | | — | | 0,533 | |
| 18 | | 0,550 | | — | | 0,530 | |
| 19 | | — | | 0,573 | | — | |
| 20 | | — | | 0,543 | | 0,445 | |
| 21 | | — | | 0,538 | | — | |
| 22 | XVI. | 0,563 | 0,566 | 0,547 | 0,544 | 0,396 | 0,425 |
| 23 | | 0,572 | | 0,537 | | 0,474 | |
| 24 | | 0,562 | | 0,549 | | 0,404 | |
| 25 | XVIII. | — | 0,601 | 0,564 | 0,561 | — | 0,431 |
| 26 | | — | | — | | 0,416 | |
| 27 | | — | | 0,559 | | — | |
| 28 | | — | | — | | 0,359 | |
| 29 | | 0,612 | | — | | — | |
| 30 | | 0,598 | | — | | 0,519 | |
| 31 | | 0,592 | | — | | 0,424 | |
| 32 | | — | | 0,561 | | 0,436 | |

schluß über den durchschnittlichen osmotischen Druck im Embryo und können darum mit den Ergebnissen der Messungen des osmotischen Druckes in der Amnionflüssigkeit verglichen werden.

Die Messungen der Gefrierpunktserniedrigung im Brei aus Embryonen (siehe Tab. III) wurden vom 6. bis zum 18. Bruttage jeden zweiten Tag gemacht; auf Bestimmungen in weiteren Entwicklungsstadien mußte ich verzichten infolge der Schwierigkeiten, die sich bei der Herstellung eines einheitlichen Breies aus den älteren Embryonen boten, da ihre Gewebe wegen der Verkalkung und der Zunahme des Gehaltes an festen Substanzen zum Zerreiben wenig geeignet waren.

Das früheste Stadium, in welchem die Embryonen untersucht wurden, war der sechste Tag ihrer Bebrütung. Die Bestimmung wurde im Brei, der aus zehn Embryonen bereitet war, ausgeführt; die Gefrierpunktserniedrigung betrug: $\Delta = 0,508^\circ$ (Tab. III, Kol. 3). Nach Verlauf von 6 Bruttagen hat also der osmotische Druck in den Embryonen einen verhältnismäßig sehr niedrigen Wert. Wenn wir diesen Wert mit der Gefrierpunktserniedrigung des Blutes der erwachsenen Henne vergleichen ($\Delta = 0,640^\circ$), so sehen wir, daß die durchschnittliche Höhe des osmotischen Druckes im Embryo nach 6 Bruttagen beträchtlich niedriger ist, als im Blut des erwachsenen Tieres (und zwar um $\frac{1}{4}$).

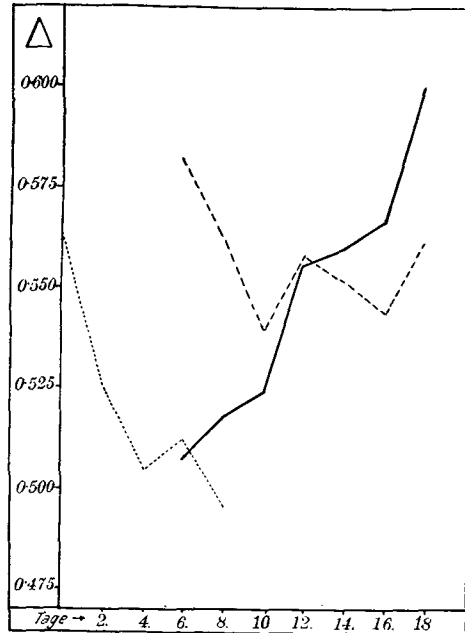
Zu demselben Schluß gelangen wir, wenn wir die Gefrierpunktserniedrigung im Embryo mit derjenigen im Dotter der unbefruchteten Eizelle, die sich noch innerhalb des Eierstockes befindet, vergleichen: wir werden alsdann feststellen können, daß während der Zeit von der Befruchtung an bis zu derjenigen Entwicklungsstufe, auf welcher sich das Ei nach 6 Bruttagen befindet, eine bedeutende Konzentrationsverringerung der osmotisch wirksamen Substanzen im Embryo stattfindet.

Es war zu erwarten, daß der osmotische Druck im Embryo nach dem bedeutenden Abfall in den Anfangsstadien seiner Entwicklung nicht unverändert auf demselben Niveau verbleiben, sondern beständig wachsen und sich mit fortschreitender Entwicklung immer mehr dem für das erwachsene Tier charakteristischen Werte nähern wird. Aus Tabelle III geht auch hervor, daß diese Änderungen sich noch während der embryonalen Entwicklung vollziehen. Wie aus den Mittelwerten für die Gefrierpunktserniedrigung im Brei zu ersehen ist (Kol. 4), entfällt der kleinste osmotische Druck auf das früheste der untersuchten Entwicklungsstadien, d. h. auf Embryonen nach dem sechsten Bruttage; die übrigen Bestimmungen, die sich auf spätere Sta-

dien beziehen, stellen sämtlich ohne Ausnahme einen höheren osmotischen Druck fest. Wenn wir die Mittelwerte für die Gefrierpunktserniedrigung, die die einzelnen Stadien betreffen, miteinander vergleichen, so ergibt sich die Tatsache, daß sie mit fortschreitender Entwicklung ganz gesetzmäßige Änderungen erfahren. Aus den in Tabelle III verzeichneten Daten ist die Kurve Fig. 1 abgeleitet, welche das Verhalten dieser Mittelwerte (die kontinuierliche Linie) mit fortschreitender Entwicklung illustriert: die Abszisse bezeichnet die Bruttage, die Ordinate die durchschnittlichen Gefrierpunktserniedrigungen im Brei aus Embryonen. Aus dem Verlauf dieser Kurve ersieht man, daß vom sechsten Bruttage an die Gefrierpunktserniedrigung, bzw. der osmotische Druck, mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen beständig wächst; besonders deutlich macht sich diese Zunahme zwischen dem 10. bis 12. und dem 16. bis 18. Bruttage bemerkbar.

Nach Verlauf von 18 Tagen besitzt die Gefrierpunktserniedrigung in den Embryonen den Wert $\Delta = 0,601^\circ$, differiert also nur unbedeutend von der Erniedrigung im Dotter der ausgewachsenen Eizelle ($\Delta = 0,613^\circ$). Wahrscheinlich nimmt der osmotische Druck im Embryo innerhalb der letzten 3 Tage vor dem Anschlüpfen noch mehr zu und erreicht einen Wert, welcher dem osmotischen Druck im Blute des erwachsenen Tieres gleichkommt¹⁾.

Fig. 1.



— Embryo,
 - - - Amnionflüssigkeit,
 Dotter.

¹⁾ Es muß an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß der osmotische Druck im Blute mit dem Druck im Brei aus einzelnen Organen oder aus dem ganzen Tierkörper nicht identifiziert werden darf, da das Blut den meisten Organen gegenüber (z. B. Muskeln) sich als eine hypotonische Flüssigkeit verhält.

Für uns ist das Gesamtergebnis der Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung in den Embryonen von besonderem Interesse, und zwar: der ausgesprochene Abfall des osmotischen Druckes während der Anfangsstadien der Entwicklung und das darauf folgende allmähliche Steigen desselben in den weiteren Stadien der embryonalen Entwicklung.

Wir gehen nunmehr zu der Besprechung der Messungsergebnisse des osmotischen Druckes in dem Außenmedium der Embryonen, d. h. in der Amnionflüssigkeit, über. Vorher aber müssen wir noch etwas bei den anatomischen Verhältnissen verweilen, die für das Verständnis der unten angeführten Resultate von Wichtigkeit sind.

Bekanntlich ist in den Eiern der Vögel der Raum zwischen der Oberfläche der Eizelle und der Dottermembran von einer Flüssigkeit ausgefüllt, in welcher Eiweißstoffe gelöst sind, die durch fixierende Flüssigkeiten gefällt werden können. Diese Flüssigkeit, deren Menge überhaupt nur sehr gering ist, sammelt sich hauptsächlich in dem oberen, animalischen Teil der Dotterkugel an.

In der Entwicklung der Vögel fällt ihr nur in den Anfangsstadien dem Embryo gegenüber die Rolle des äußeren Mediums zu; in den späteren Stadien erfüllt diese Aufgabe die Amnionflüssigkeit, deren Entstehung und Absonderung von der Umgebung gleichzeitig mit der Bildung der Embryohüllen stattfindet. Schon am Ende des zweiten Bruttages erscheinen auf der Keimscheibe der Hühner Anlagen der Amnionfalten; indem diese weiter wachsen und sich von allen Seiten über den Embryokörper erheben, nähern sie sich immer mehr und wachsen schließlich zusammen.

Bei Hühnerembryonen findet das völlige Zusammenwachsen nach Verlauf von 4—5 Bruttagen statt: von diesem Stadium an ist die Verbindung zwischen der Amnionflüssigkeit und dem ursprünglichen Medium des Embryos, d. h. der zwischen der Oberfläche der Dotterkugel und der Dottermembran befindlichen Flüssigkeit, aufgehoben.

Mit den ersten Messungen der Gefrierpunktserniedrigung in der Amnionflüssigkeit habe ich nach Verlauf von 6 Bruttagen begonnen, d. h. nach dem vollständigen Zusammenwachsen der Amnionfalten. Die Ergebnisse dieser Messungen, die ich ebenso wie diejenigen in den Embryonen jeden zweiten Tag ausgeführt habe, sind in der bereits besprochenen Tabelle III angegeben. Auf Grund der Mittelwerte, die aus den Bestimmungen für die einzelnen untersuchten Stadien ausgerechnet worden sind (Kol. 6), ist in die obenerwähnte

Fig. 1 eine zweite Kurve eingezeichnet worden, welche das Verhalten des osmotischen Druckes in der Amnionflüssigkeit veranschaulicht (unterbrochene Linie).

Aus dem Verlauf dieser Kurve schließen wir vor allem, daß die Amnionflüssigkeit in den Anfangsstadien einen etwas größeren osmotischen Druck besitzt, als in den Endstadien: diese geringe Abnahme des osmotischen Druckes entfällt auf den Zeitausschnitt zwischen dem sechsten und dem zehnten Bruttage. Vom zehnten Tage an bleibt der osmotische Druck der Amnionflüssigkeit unverändert, sofern wir von den unbedeutenden Schwankungen der Gefrierpunktserniedrigung, die sich in den Grenzen von $0,02^\circ$ bewegen, absehen wollen.

Eine für die vorliegenden Untersuchungen wichtigere Tatsache können wir feststellen, wenn wir diese Kurve mit derjenigen des osmotischen Druckes in Embryonen vergleichen, die in derselben Figur eingetragen ist. Wir sehen, daß zwischen der Kurve des osmotischen Druckes in Embryonen und derjenigen der Amnionflüssigkeit gewisse Unterschiede bestehen, die mit fortschreitender Entwicklung verschiedene Änderungen erfahren. Hinsichtlich des gegenseitigen Verhältnisses dieser beiden Kurven zueinander können wir drei Phasen feststellen.

Vom sechsten bis zum zehnten Tage verläuft die Kurve der Amnionflüssigkeit oberhalb der Kurve des osmotischen Druckes in Embryonen; daraus geht hervor, daß im Anfangsstadium der Entwicklung, in welchem der Embryo am intensivsten Wasser aus der Umgebung aufnimmt, der osmotische Druck im Embryo bedeutend geringer ist, als in seinem äußeren Milieu — der Amnionflüssigkeit. Wir stellen weiter fest, daß der osmotische Überdruck der Amnionflüssigkeit anfänglich sehr beträchtlich ist und sich erst später allmählich verringert; die Ursache dieser Erscheinung ist einerseits der bereits oben konstatierte Abfall des osmotischen Druckes in der Amnionflüssigkeit, andererseits die beständige Zunahme des osmotischen Druckes im Embryo.

Ferner konstatieren wir, daß zwischen dem 10. und dem 14. Bruttage diese beiden Kurven fast denselben Verlauf nehmen: ein Beweis dafür, daß auf dieser Entwicklungsstufe die Amnionflüssigkeit und die inneren Flüssigkeiten des Embryos fast die gleiche osmotische Konzentration besitzen, oder mit andern Worten, daß sie isotonisch sind.

Während endlich im Verlauf der weiteren Entwicklung der osmotische Druck der Amnionflüssigkeit ungefähr auf demselben Niveau

verbleibt, wächst der osmotische Druck im Embryo immer mehr, so daß die Druckdifferenz immer größer wird.

Indem wir die obigen Ergebnisse kurz zusammenfassen, können wir sagen, daß sich die Druckdifferenz zwischen dem Embryo und der Amnionflüssigkeit mit dem Fortschritt der Entwicklung beständig ändert: während zu Anfang die Amnionflüssigkeit dem Embryo gegenüber hypertonisch ist, wird sie in den Mittelstadien isotonisch und schließlich in den Endstadien der embryonalen Entwicklung hypotonisch.

Es bleibt nun noch übrig, in diesem Abschnitt die Ergebnisse der Bestimmungen des osmotischen Druckes in der Allantoisflüssigkeit zu erörtern: sie sind ebenfalls in Tabelle III angegeben. Aus den in Spalte 7 verzeichneten Ziffern ist zu ersehen, daß die Gefrierpunktserniedrigung in der Allantoisflüssigkeit in ein und demselben Entwicklungsstadium innerhalb viel weiterer Grenzen variiert, als in der Amnionflüssigkeit; die Schwankungen sind besonders auffällig in den Endstadien der embryonalen Entwicklung, wo die Unterschiede zwischen den einzelnen, in ein und demselben Stadium ausgeführten Messungen mitunter sogar $0,1^{\circ}$ überschreiten. Doch trotz so bedeutender Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungen können wir auf Grund der Mittelwerte folgende Druckänderungen feststellen.

Aus dem Vergleich dieser Mittelwerte ergibt sich vor allem, daß der osmotische Druck der Allantoisflüssigkeit in der Zeit zwischen dem 8. und dem 10. Bruttage — abgesehen von unbedeutenden Schwankungen um einen bestimmten Mittelwert herum — auf demselben Niveau verharret; am 8. Bruttage ist die Allantoisflüssigkeit fast isotonisch mit dem Dotter. Änderungen des osmotischen Druckes der Allantoisflüssigkeit treten erst nach Verlauf von 14 Bruttagen auf, und zwar erfolgt zwischen dem 14. und dem 16. Tage ein sehr starker Abfall des osmotischen Druckes, welcher während der folgenden Tage keine nennenswerteren Änderungen mehr erleidet.

Wahrscheinlich liegt die Ursache dieses Abfalls des osmotischen Druckes in der Verdünnung der Allantoisflüssigkeit durch den von den Embryonen im Endstadium ihrer Entwicklung ausgeschiedenen Harn von geringerer osmotischer Konzentration. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieser zwischen dem 14. und dem 16. Bruttage eintretende Abfall mit dem Schwinden der Urniere und dem Beginn

der secretorischen Funktion der definitiven Niere im Zusammenhang steht.

Außerdem muß noch eine Tatsache hervorgehoben werden, die sich aus dem Vergleich der Allantois- mit der Amnionflüssigkeit hinsichtlich ihres osmotischen Verhaltens ergibt: aus der Zusammenstellung der betreffenden Ziffern (Tab. III) können wir den allgemeinen Schluß ziehen, daß in allen untersuchten Stadien ohne Ausnahme die Allantoisflüssigkeit der Amnionflüssigkeit gegenüber stets hypotonisch ist. Die Bedeutung dieses Faktums erhellt aus der Berücksichtigung des anatomischen Verhältnisses, in welchem die Embryohüllen zueinander stehen.

Bekanntlich erreicht die Allantois bei Vögeln verhältnismäßig eine bedeutende Größe. Indem sie sich schon in den frühen Entwicklungsstadien immer mehr in der Exocoelom ausbreitet, kommt sie mit den übrigen Eihäuten in Berührung und wächst schließlich mit ihnen zusammen¹⁾. Bei Hühnerembryonen ist das Amnion schon nach Verlauf von 7 Bruttagen von der Allantoisblase umgeben und der dem Amnion anliegende Teil der Allantoiswand (oder das sog. »innere Blatt« der Allantois) wächst mit dem Amnion zu einer einheitlichen Haut zusammen. Diese Haut ist es eben, mit deren Hilfe die Amnionflüssigkeit von der Allantoisflüssigkeit getrennt wird.

Aus obiger Beschreibung ergibt sich, daß das Amnion mit seinem flüssigen Inhalt und dem Embryo ein völlig in sich abgeschlossenes und anatomisch von der Umgebung isoliertes System bildet, dessen Medium die hypotonische Allantoisflüssigkeit ist. In dieser Beziehung können wir das besagte System mit den Eiern der Anamnier (Fische, Amphibien) vergleichen, durch deren Dottermembran die perivitelline Flüssigkeit und der Embryo vom Wasser, in welchem die Entwicklung verläuft, getrennt wird.

Wie ich bereits in der Einleitung bemerkt habe, finden wir in der Literatur keine Angaben über das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Vögel. Aus diesem Grunde müssen wir uns auf die Zusammenstellung unsrer Ergebnisse mit dem, was wir aus den Studien über die Entwicklung der einzig erforschten Amniotengruppe, und zwar der Säuger, wissen, beschränken.

Vor allem jedoch müssen wir hervorheben, daß irgendwelche vergleichende Schlußfolgerungen aus den Ergebnissen, die das Verhal-

¹⁾ Siehe SCHAUINSLAND (06), S. 210, und BONNET (07), S. 177.

ten des osmotischen Druckes in Embryonen betreffen, unstatthaft sind, und zwar mit Rücksicht auf die abweichende Methode, deren wir uns bei unsern Untersuchungen bedient haben: während nämlich alle mir bekannten Messungen des osmotischen Druckes im Blut der Embryonen ausgeführt wurden, beziehen sich meine Messungen auf den aus den Embryonen hergestellten Brei.

Diese Untersuchungen haben im Gegensatz zu den meinigen kein Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Entwicklungsstadium und der Größe des osmotischen Druckes im Blut der Embryonen festgestellt (UBBELS 01, JACQUÉ 02, GRÜNBAUM 04, POLITI 08).

Vergleichen können wir nur die Resultate, welche die Fruchtwässer betreffen.

Was die Amnionflüssigkeit anbetrifft, so müssen wir feststellen, daß ihr osmotischer Druck sich ähnlich wie bei den Säugern verhält: die von mir festgestellte, im Laufe der Entwicklung auftretende geringe Abnahme des osmotischen Druckes in der Amnionflüssigkeit beim Huhn wurde von JACQUÉ (02), GRÜNBAUM (04) und POLITI (08) auch in der Entwicklung des Schafes, des Rindes, des Hundes und des Kaninchens beobachtet.

Dagegen konstatieren wir in dem Verhalten des Gefrierpunktes der Allantoisflüssigkeit im Vergleich mit den die Säuger betreffenden Resultaten gerade das Gegenteil: während nämlich JACQUÉ (02) und GRÜNBAUM (04) übereinstimmend feststellen, daß der osmotische Druck bei den Säugern infolge der zunehmenden Harnstoffkonzentration mit fortschreitender Entwicklung immer größer wird, bemerken wir bei den Vögeln umgekehrt in den Endstadien der embryonalen Entwicklung einen ausgesprochenen Abfall des osmotischen Druckes.

Zweiter Teil.

Der osmotische Druck während der Entwicklung des Frosches.

Bekanntlich bildet bei den Anamniern überhaupt und bei den Amphibien im besonderen das den Embryo bis zum Ausschlüpfen unmittelbar umgebende äußere Medium — die perivitelline Flüssigkeit, nach dem Ausschlüpfen dagegen — das Wasser, in welchem die weitere Entwicklung vor sich geht.

Bei der Besprechung der Resultate unsrer Bestimmungen in der Amnionflüssigkeit beim Huhn haben wir die Tatsache hervorgehoben, daß auch bei den Vögeln in den Anfangsstadien ihrer Entwicklung die Keimscheibe bzw. der Embryokörper von einer Flüssigkeit um-

geben ist, welche den Raum zwischen der Oberfläche der Eizelle und der Dottermembran ausfüllt, und welche mit Rücksicht darauf, daß sie dem Embryo gegenüber das ursprüngliche Außenmedium darstellt, der perivitellinen Flüssigkeit bei den Anamniern entspricht. Während sie aber bei den Amphibien diese Rolle für die ganze Dauer der embryonalen Entwicklung beibehält, verläuft der größere Teil der Entwicklung der Vögelembryonen in der Amnionflüssigkeit, welche — wie unsre Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung gezeigt haben — einen verhältnismäßig hohen osmotischen Druck besitzt.

Obige Analogie bezüglich des Verhältnisses des Embryos einerseits zu der Allantoisflüssigkeit bei den Vögeln, andererseits zu der perivitellinen Flüssigkeit bei den Amphibien legte den Gedanken nahe, daß letztere Flüssigkeit gleichfalls einen gewissen Wert des osmotischen Druckes aufweisen müsse. Selbstverständlich könnte diese Frage definitiv nur auf Grund von Messungen des osmotischen Druckes in der perivitellinen Flüssigkeit entschieden werden. Trotzdem ich aber mangels einer geeigneten Methode zur Ausführung exakter Messungen in so minimalen Mengen dieser Flüssigkeit derartige positive Argumente nicht beizubringen vermag, so glaube ich dennoch, daß die Zusammenstellung der unten stehenden Tatsachen einiges Licht in diese Frage bringen dürfte.

So habe ich in meinen früheren Untersuchungen über die Prozesse der Wasseraufnahme (08) auf den Mechanismus der Entstehung des Perivitellins und seine Bedeutung für die Entwicklung der Amphibienembryonen aufmerksam gemacht. Auf Grund von Messungen des Froscheivolumens, die in verschiedenen Zeitintervallen nach der Befruchtung vorgenommen wurden, habe ich festgestellt, daß im Verlauf der zweiten Stunde eine plötzliche Verringerung des Eivolumens eintritt, welche durch die Ausscheidung der perivitellinen Flüssigkeit aus dem Ei in den Raum zwischen der Oberfläche der Eizelle und der Dottermembran verursacht ist. Die Bedeutung dieser Flüssigkeit als einer solchen, welche die freie Beweglichkeit des befruchteten Eies innerhalb seiner Hüllen ermöglicht, ist allgemein bekannt (ROUX, BORN, HERTWIG u. a.), außerdem aber verrichtet sie dem in der Entwicklung begriffenen Embryo gegenüber noch eine andre Funktion.

Wie die Beobachtung lehrt, wird der Raum, welchen das Perivitellin in den ersten Stadien nach der Befruchtung einnimmt, mit fortschreitender Entwicklung immer größer, und zwar infolge fort-

während der Absorption immer neuer Wassermengen aus der Umgebung: in dem Stadium, welches der Ausschlüpfung unmittelbar vorangeht, übertrifft die Perivitellinmenge die in den ersten Stunden nach der Befruchtung beobachtete Menge desselben um ein Vielfaches. In Berücksichtigung der weiteren Tatsache, daß sich die Dottermembran während dieser ganzen Zeit in starker elastischer Spannung befindet, habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß seitens der Froschembryonen solche osmotisch wirksame Substanzen produziert und in den perivitellinen Raum ausgeschieden werden, durch deren Anhäufung die beobachtete Wasseraufnahme aus der Umgebung in den perivitellinen Raum verursacht ist. Die Ausscheidung des Perivitellins nach der Befruchtung ist also das erste Anstoßmoment für diejenigen Prozesse, welche schließlich zur Bildung eines den Embryokörper innerhalb der Dottermembran umgebenden flüssigen Mediums von erhöhtem osmotischen Druck führen.

Außer obigen Tatsachen sprechen noch verschiedene Beobachtungen und Experimente anderer Autoren dafür, daß der osmotische Druck der perivitellinen Flüssigkeit eine normale Erscheinung und ein notwendiger Faktor der Entwicklung ist. Besonders wichtig in dieser Hinsicht sind die Untersuchungen SIEDLECKIS (09) über die Entwicklung des javanischen Flugfrosches (*Polypedatus Reinwardtii*). Die abgelegten Eier dieses Frosches sind von einer gemeinsamen schaumartigen Schleimmasse umgeben, in welcher ihre ganze embryonale Entwicklung verläuft und in welcher die Embryonen noch während einiger Tage nach der Abwerfung ihrer Eihäute verbleiben. Aus den Versuchen SIEDLECKIS geht hervor, daß die aus dieser Schleimmasse zusammen mit den Hüllen herauspräparierten und in gewöhnliches Wasser gebrachten Eier sich in demselben nur eine sehr kurze Zeit weiter entwickeln können (etwa 3 Stunden). Ebenso ergeht es frisch ausgeschlüpften Larven, welche, in gewöhnliches Wasser gebracht, stark aufquellen und sehr bald zugrunde gehen; erst am zweiten Tage nach dem Ausschlüpfen sind sie imstande, im Wasser fortzuleben. Diese Versuche beweisen meiner Ansicht nach, daß die Schleimmasse eine beträchtliche Menge osmotisch aktiver Substanzen enthält, deren Gegenwart für das Leben der Embryonen unumgänglich nötig ist; die von diesem Autoren mit fortschreitender Entwicklung¹⁾ beobachtete Zunahme der Menge der perivitellinen

¹⁾ l. c. S. 731.

Flüssigkeit beweist aber überdies noch, daß diese Flüssigkeit der Schleimmasse gegenüber hypertonic ist, oder mit andern Worten, daß sie die osmotischen Substanzen in noch größerer Konzentration enthält als die letztere.

In ähnlichem Sinne muß man auch das bekannte Verhalten der Embryonen verschiedener andrer Amphibien (*Salamandra*, *Molge*) dem Wasser gegenüber verstehen, welche nach ihrer Herausnahme aus den Eihüllen sich nur in Salzlösungen von ganz bestimmter quantitativer und qualitativer Zusammensetzung (Locksche Flüssigkeit) normal entwickeln können.

Was die Entwicklung von Fischen anbetrifft, so machen es die Versuche LOEBS (94, 03, 11) an *Fundulus heteroclitus* in hohem Grade wahrscheinlich, daß auch in dieser Gruppe der Anamnier das Perivitellin eine osmotisch aktive Flüssigkeit ist. Die Tatsache, daß die embryonale Entwicklung des *Fundulus* unabhängig von dem osmotischen Druck des Mediums ist, spricht meines Erachtens dafür, daß diese Unabhängigkeit durch den osmotischen Druck der perivitellinen Flüssigkeit bedingt ist, welche den Embryokörper von der Umgebung isoliert, und auf deren Gegenwart es zurückzuführen ist, daß die Entwicklung in gleicher Weise sowohl in dem natürlichen Milieu, nämlich dem Meerwasser, wie auch im destillierten Wasser vor sich gehen kann. Genauere Messungen des osmotischen Druckes in dem Perivitellin der *Fundulus*-Eier, die ich in nächster Zeit vorzunehmen gedenke, dürften wohl imstande sein, die interessante Erscheinung der außerordentlichen Widerstandsfähigkeit der Embryonen dieses Fisches gegen Änderungen des osmotischen Druckes im Medium aufzuklären.

Um uns aber ausschließlich auf diejenigen Tatsachen zu beschränken, welche die Entwicklung der Amphibien betreffen, können wir daraus die allgemeine Schlußfolgerung ziehen, daß das unmittelbare äußere Milieu, in welchem die ganze embryonale Entwicklung verläuft, d. h. die perivitelline Flüssigkeit, kein reines Wasser ist, sondern durch die Dottermembran nicht diffundierende, gelöste osmotische Substanzen enthält, wodurch zwischen der perivitellinen Flüssigkeit und dem umgebenden Wasser ein Druckgefälle entsteht, welches in der elastisch gespannten Dottermembran zum Ausdruck kommt.

Die Bedeutung des osmotischen Druckes des Perivitellins für die Entwicklung der Embryonen werden wir Gelegenheit haben,

weiter unten ausführlicher zu besprechen. Vorläufig möchten wir nur die eine Tatsache hervorheben, daß sowohl das Perivitellin der Amphibien, als auch die Amnionflüssigkeit der Vögel für den embryonalen Organismus ein Außenmedium darstellen, dessen osmotischer Druck einen gewissen Wert besitzt.

Die Resultate meiner Untersuchungen über das Verhalten des osmotischen Druckes in Froscheiern und Kaulquappen sind, wie ich bereits in der Einleitung bemerkt habe, eine Bestätigung und zum Teil eine Ergänzung der diesbezüglichen Untersuchungen BACKMANN'S und RUNNSTRÖM'S. Die Ergänzung bilden meine vergleichenden Bestimmungen in den Ovarialeiern und dem Blut der erwachsenen Tiere, deren Besprechung wir, wie im vorigen Abschnitt, den Bestimmungsergebnissen des osmotischen Druckes im Brei aus Kaulquappen vorausgehen lassen.

Die Bestimmungen in Eiern wurden in der zweiten Hälfte des März gemacht, d. h. also zu der Zeit, welche der Paarung unmittelbar vorausgeht; zu diesen Bestimmungen nahm ich fertige Eier, kurz vor ihrer Loslösung von den Eierstöcken und dem Übergange in die Eileiter. Aus den von dem Stroma des Ovariums abpräparierten Eiern stellte ich einen Brei her, in welchem ich dann die Gefrierpunktserniedrigung mittels des BECKMANN'Schen Apparates bestimmte. Aus drei solchen Bestimmungen ($\Delta = 0,484^\circ$, $0,428^\circ$, $0,420^\circ$) ergibt sich, daß die mittlere Gefrierpunktserniedrigung in den fertigen Eiern durchschnittlich $0,444^\circ$ beträgt¹⁾.

Zur Bestimmung des Gefrierpunktes im Blute der erwachsenen Frösche wurde dasselbe durch rasche Dekapitation der Tiere erhalten; das Blut wurde in einem kleinen, mit Eis umgebenen Gefäß gesammelt; zu einer einmaligen Bestimmung war das Blut von 10 bis 20 Exemplaren nötig. Solche Messungen habe ich im ganzen fünf ausgeführt ($\Delta = 0,476$, $0,490$, $0,472$, $0,485$, $0,471^\circ$); das Mittel beträgt also $\Delta = 0,479^\circ$ ²⁾.

1) Außerdem habe ich je eine Messung in den Eiern der Repräsentanten zweier anderer Anuren ausgeführt, nämlich in den Eiern von *Rana esculenta*: $\Delta = 0,446^\circ$, und von *Bombinator igneus* (Brei aus Eiern von sieben Weibchen): $\Delta = 0,455^\circ$; wie ersichtlich, nähern sich diese Zahlen sehr den für die Gefrierpunktserniedrigung in den Eiern von *Rana fusca* erhaltenen.

2) Die Gefrierpunktserniedrigung im Blut von *Rana esculenta* beträgt nach BORTAZZI und DUCCESCHI (96) $\Delta = 0,563^\circ$; spätere Untersuchungen BORTAZZI'S (08) haben jedoch einen kleineren Wert ergeben, nämlich $\Delta = 0,435^\circ$.

Beim Vergleich dieses Mittelwertes mit der vorhin für den Brei aus Ovarialeiern erhaltenen Zahl können wir feststellen, daß der osmotische Druck in den Froscheiern etwas kleiner ist, als der Druck im Blut des erwachsenen Tieres. Dieses Resultat stimmt, wie wir sehen, damit überein, was wir bezüglich der Hühnereier festgestellt haben, da auch dort der osmotische Druck im Vergleich mit demjenigen des Blutes gleichfalls einen kleineren Wert aufwies.

Nach der Loslösung vom Eierstock gelangen bekanntlich die Froscheier in die Körperhöhle und gehen von dort erst in die Eileiter über, indem sie sich in den unteren Partien derselben ansammeln. Das in der Körperhöhle befindliche Ei ist nur von einer einzigen Haut umgeben, der sog. Dottermembran, die übrigen Eihüllen dagegen, die sog. Gallerthüllen, bilden sich erst in den oberen Teilen des Oviducts.

Es wäre von Interesse, das Verhalten des osmotischen Druckes im Ei nach der Ausbildung seiner Gallerthüllen zu erforschen, um festzustellen, ob und inwiefern etwa auch hier die an Hühnereiern beobachteten Änderungen nach der Umhüllung ihrer Dotterkugel mit einer Eiweißschicht auftreten. Leider vermochte ich diese Frage nicht zu lösen, und zwar infolge der technischen Schwierigkeiten, die sich bei der Herausschälung der Eier aus der Membran und den Dotterhüllen darboten.

Auf dieselbe Schwierigkeit stieß ich bei meinen Versuchen, Material aus den ersten Perioden der Entwicklung zu erlangen; auch hier waren die Manipulationen bei der Befreiung der Eier von der Gallerte und der Dottermembran so mühselig und die Resultate der Messungen so unsicher, daß ich gezwungen war, sie schließlich ganz aufzugeben¹⁾. Aus diesem Grunde umfassen meine Untersuchungen nur die Entwicklungsstadien, welche mit dem Ausschlüpfen beginnen und mit der Metamorphose der Kaulquappen endigen.

¹⁾ In der oben zitierten Arbeit von BACKMANN und RUNNSTRÖM (09) finden wir zwei Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung, die im Brei aus Froschembryonen vor dem Ausschlüpfen gemacht wurden: die eine bezieht sich auf befruchtete, aber noch nicht gefurchte Eier, die zweite auf noch nicht ausgeschlüpfte Embryonen (nach Verlauf von 5 Entwicklungstagen). Im ersten Falle wurden die Eier nur von der Gallerthülle befreit, und es ist nicht ausgeschlossen, daß die in der Dottermembran enthaltene perivitelline Flüssigkeit und möglicherweise auch Teile der nicht vollständig entfernten Gallerte die von den Autoren erhaltenen Resultate beeinflussen konnten.

Was die Kaulquappen in den ersten Tagen nach dem Auschlüpfen anbelangt, so kann man, trotzdem die Beschaffung von Material aus dieser Periode in genügender Menge, hauptsächlich aber die vollständige Entfernung des Wassers von der Oberfläche der Kaulquappen zu den schwierigsten und mühevollsten Aufgaben gehört, dennoch bei gewisser Übung sowohl quantitativ als auch qualitativ völlig geeignetes Material für die Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung erlangen.

Die von mir erhaltenen Resultate kann man mit Rücksicht auf das Material, dessen ich mich dabei bedient habe, in folgende drei Kategorien einteilen:

Die ersten Bestimmungen waren Probeversuche: sie wurden im Brei aus Kaulquappen ausgeführt, welche aus verschiedenen Kulturen herrührten und sich bei 20—22° C. aus künstlich befruchteten Eiern entwickelten¹⁾. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV verzeichnet: die

Tabelle IV.

| Laufende Nr. | Gewicht der Kaulquappen mg | Δ im Brei aus Kaulquappen |
|-----------------|----------------------------------|--|
| 1 | 7,6 | 0,320° |
| 2 | 15,6 | 0,359 |
| 3 | 20,8 | 0,336 |
| 4 | 24,2 | 0,337 |
| 5 | 36,1 | 0,360 |
| 6 | 94,1 | 0,359 |

Zusammenstellung der Werte für die Gefrierpunktserniedrigung gestattet die Annahme, daß zwischen dem Körpergewicht und dem osmotischen Druck in den inneren Flüssigkeiten der Kaulquappen eine Beziehung besteht; dieselbe äußert sich im allgemeinen darin, daß die jüngeren Kaulquappen einen geringeren osmotischen Druck aufweisen, welcher mit fortschreitender Entwicklung und weiterem Wachstum des Organismus zunimmt.

Obige Daten bildeten den Ausgangspunkt für eingehendere und mit größerer Exaktheit ausgeführte Untersuchungen, welche Gewißheit darüber bringen sollten, daß die festgestellten Druckdifferenzen nicht auf Zufall beruhten oder aus individuellen Eigentümlichkeiten

¹⁾ Δ des Leitungswassers, in welchem die Entwicklung stattfand, betrug 0,01—0,02°.

des angewandten Materials hervorgingen. Behufs Ausführung solcher Messungen mußte man über eine Kultur von Kaulquappen verfügen, welche sich möglichst gleichmäßig und in möglichst großer Anzahl entwickelten, um den osmotischen Druck in den Quappen derselben Kultur in verschiedenen Zeitintervallen bestimmen zu können. Über die technische Seite der Züchtung solcher Kulturen habe ich bereits im methodischen Teil berichtet, hier will ich also nur bemerken, daß sie bei einer Temperatur von etwa 20—22° C. stattfand.

Die Ergebnisse der Bestimmungen des Gefrierpunktes in den Kaulquappen, die aus zwei Kulturen (A und B) stammten, sind in Tabelle V zusammengestellt.

Tabelle V.

| 1. Laufende Nr. | 2. Datum | 3. Tag nach der Befruchtung | 4. Lebend- gewicht der Quappe mg | 5. Trocken- gewicht der Quappe mg | 6. 7. | | 8. Δ im Brei aus Quappen |
|-----------------------|-------------|--------------------------------------|--|---|----------------------|--------|---|
| | | | | | Prozentgehalt an | | |
| | | | | | Trocken- substanz | Wasser | |
| Kultur A. | | | | | | | |
| 1 | 17. IV. | 4. | 5,9 | 1,3 | 21,1 | 78,9 | 0,329° |
| 2 | 21. IV. | 8. | 21,1 | 1,5 | 6,9 | 93,1 | 0,351 |
| 3 | 26. IV. | 13. | 30,8 | 2,3 | 7,5 | 92,5 | 0,353 |
| Kultur B. | | | | | | | |
| 1 | 7. IV. | 3. | 4,3 | 1,3 | 29,6 | 70,4 | 0,294° |
| 2 | 10. IV. | 6. | 5,8 | 1,3 | 22,6 | 77,4 | 0,295 |
| 3 | 12. IV. | 8. | 15,1 | 1,2 | 8,2 | 91,8 | 0,354 |
| 4 | 16. IV. | 12. | 70,6 | 4,3 | 6,0 | 94,0 | 0,399 |
| 5 | 19. IV. | 15. | 83,3 | 4,5 | 5,3 | 94,7 | 0,382 |

Die erste Bestimmung in den Embryonen der Kultur B wurde am Tage des Ausschlüpfens (am 3. Tage der Entwicklung), in Kultur A dagegen nach Verlauf eines Tages nach dem Ausschlüpfen (am 4. Entwicklungstage) ausgeführt. Wenn wir die Resultate dieser Messungen ($\Delta = 0,294^\circ$ bzw. $0,329^\circ$) mit der durchschnittlichen, für fertige, unbefruchtete Eier gefundenen Gefrierpunktserniedrigung ($\Delta = 0,444^\circ$) vergleichen, so stellen wir fest, daß die Froschembryonen in den ersten Tagen nach dem Ausschlüpfen einen beträchtlich niedrigeren osmotischen Druck (fast um ein Drittel) besitzen, als die unbefruchteten Eier. Wir sehen also, daß hinsichtlich der Änderungen des osmotischen Druckes in

den Embryonen zwischen der Entwicklung des Frosches und derjenigen des Huhns eine strikte Analogie besteht: in beiden Fällen ist der osmotische Druck in den Anfangsstadien der Entwicklung geringer, als der Druck sowohl im Blute des erwachsenen Tieres, als auch im Ei, welches den Ausgangspunkt der Entwicklung bildet.

Das, was wir im vorigen Abschnitt bezüglich der Änderungen des osmotischen Druckes in den ersten Entwicklungsstadien des Huhns gesagt haben, gilt in gleicher Weise auch für die Entwicklung des Frosches: wegen Mangel an Bestimmungsergebnissen aus dem Stadium der Entwicklung innerhalb der Eihüllen sind wir nicht imstande, die Frage zu entscheiden, ob nicht etwa der osmotische Druck in diesen Entwicklungsstadien der Embryonen einen noch kleineren Wert besitzt als derjenige, welchen wir für die Embryonen in den ersten Tagen nach dem Ausschlüpfen gefunden haben. Für eine derartige Abnahme des osmotischen Druckes dürften allerdings die Ergebnisse der Messungen BACKMANN'S und RUNNSTRÖM'S (09) sprechen, welche für befruchtete, ungefurchte Eier einen außerordentlich geringen Wert für Δ ($= 0,045^\circ$), dagegen für Embryonen, die sich im fünften Entwicklungstage befanden und noch nicht ausgeschlüpft waren, $\Delta = 0,23^\circ$ gefunden hatten; mit Rücksicht jedoch auf die bereits oben erwähnten Schwierigkeiten bei der Herstellung eines einwandfreien Breies aus Embryonen in den Anfangsstadien der Entwicklung müssen diese Zahlen nur mit einem gewissen Vorbehalt als sicher angesehen werden, worüber sich auch die besagten Autoren selbst genaue Rechenschaft ablegen.

Über das Verhalten des osmotischen Druckes im Verlauf der weiteren Entwicklung geben die übrigen Zahlen derselben Tabelle Aufschluß. Wir ersehen daraus, daß alle folgenden, nach dem Ausschlüpfen ausgeführten Messungen Zahlen ergeben, welche mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen beständig zunehmen; eine Ausnahme hiervon bildet nur die letzte Bestimmung in Kultur B, nach 15 Entwicklungstagen ausgeführt: diese Ausnahme läßt sich auf anormale Erscheinungen zurückführen, welche zu dieser Zeit in der betreffenden Kultur auftraten und das Absterben des größten Teiles der Exemplare dieser Kultur zur Folge hatten. Aus diesem Grunde vermochten wir auch leider unsere Bestimmungen in diesen Kulturen nicht bis zum Metamorphosestadium durchzuführen, sondern mußten uns mit der Feststellung der Tatsache begnügen, daß nach der plötzlichen Abnahme des osmotischen Druckes in den Embryonen während ihrer Entwicklung innerhalb der Eihüllen im Ver-

lauf der weiteren Entwicklung eine beständige Zunahme desselben zu verzeichnen ist, so daß schon im Verlauf der ersten 10 Tage nach dem Ausschlüpfen die ursprüngliche Verminderung des osmotischen Druckes zum größten Teil wieder rekompensiert wird.

Die dritte und letzte Kategorie der Untersuchungsergebnisse betrifft die Endstadien der larvalen Entwicklung (Tab. VI). Die Messungen wurden an Kaulquappen vorgenommen, die sich in natürlichen Verhältnissen in einem kleinen Teich entwickelten. Wie anzunehmen

Tabelle VI.

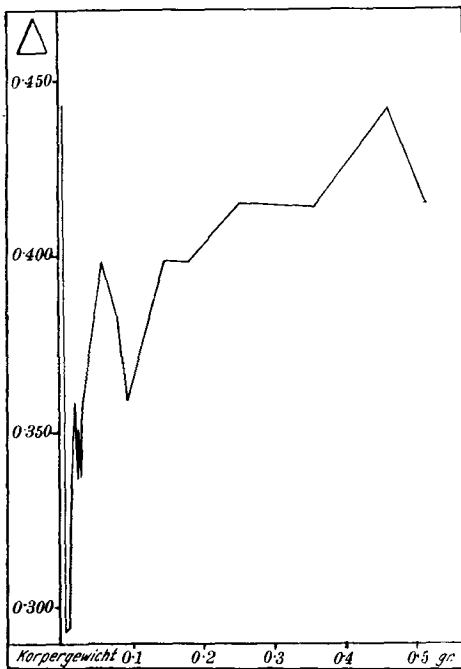
| Laufende Nr. | Lebendgewicht der Quappen mg | Δ im Brei aus Quappen |
|--------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 149 | 0,399° |
| 2 | 188 | 0,398 |
| 3 | 264 | 0,415 |
| 4 | 369 | 0,413 |
| 5 | 474 | 0,442 |
| 6 | 521 | 0,416 |
| 7 | 121 | 0,455 |
| | (nach der Metamorphose) | |

war, weisen die an diesem Material ausgeführten Messungen eine geringere Gesetzmäßigkeit in dem Verhalten des osmotischen Druckes auf: die hier auftretenden Schwankungen sind ohne Zweifel auf die von den variierenden äußeren Bedingungen abhängige Ungleichmäßigkeit in der Entwicklung zurückzuführen. Trotzdem läßt sich aber aus der Zusammenstellung der Zahlen, welche das Gewicht der Quappen ausdrücken, mit den Resultaten der Messungen der Gefrierpunktserniedrigung der Schluß ziehen, daß mit fortschreitender Entwicklung der Kaulquappen ihr innerer osmotischer Druck eine weitere Steigerung erfährt, die jedoch mit geringerer Intensität als in den Anfangsstadien vor sich geht; im Brei aus jungen Fröschen unmittelbar nach der Metamorphose besitzt die Gefrierpunktserniedrigung einen Wert ($\Delta = 0,455^\circ$), welcher von der Erniedrigung im Blut erwachsener Tiere ($0,479^\circ$) nur wenig differiert.

Zwecks Veranschaulichung der allgemeinen Resultate, welche sich aus den Messungen der Gefrierpunktserniedrigung in den Kaulquappen ergeben haben, sind dieselben ebenso wie die analogen Ergebnisse bezüglich der Hühnerembryonen in der Kurve Fig. 2 graphisch dargestellt. Da diese Bestimmungen an Embryonen ausgeführt

wurden, welche von verschiedenen Weibchen herstammten und sich in ungleichmäßigen äußeren Bedingungen entwickelten, so nahm ich bei der Konstruktion dieser Kurve als Maß der Entwicklung nicht wie bei den Vögeln die Zeit, sondern das Körpergewicht an. Infolgedessen konnte in der Zeichnung die Gefrierpunktserniedrigung in den metamorphosierten jungen Fröschen nicht mehr berücksichtigt werden, da diese bekanntlich während der Metamorphose erheblich an Gewicht verlieren (vgl. Tab. VI). Als Durchschnittsgewicht eines Eies nahm

Fig. 2.



ich 3 mg an, welches das Mittel aus zwei Wägungen von Eiern darstellt, welche in der Körperhöhle eines Weibchens während ihrer Wanderung nach den Eileitern gefunden wurden.

Die Kurve wurde auf Grund aller von mir erhaltenen und in den Tabellen IV, V und VI zusammengestellten Bestimmungsergebnissen der Gefrierpunktserniedrigung gezeichnet.

Ihr Verlauf gibt einen Begriff von der Intensität der osmotischen Druckänderungen: wie wir sehen, entfallen die hervorragendsten Änderungen auf die Anfangsstadien der Entwicklung. Zu der

Zeit, wo das Wachstum der Embryonen am langsamsten vor sich geht, d. h. während der Entwicklung innerhalb der Eihäute, erfolgt in den Embryonen eine ausgesprochene Abnahme des osmotischen Druckes: nach dem Ausschlüpfen nimmt derselbe rapid zu, indem er am schnellsten bis zu demjenigen Stadium wächst, welches einem Körpergewicht von etwa 100 mg entspricht; wie wir aber aus den Untersuchungen DAVENPORTS (97) und SCHAPERS (02) wissen, erfolgt auch in dieser Entwicklungsperiode die Wasseraufnahme seitens der Embryonen am intensivsten.

Obige Tatsachen über das Verhalten des osmotischen Druckes während der larvalen Entwicklung der Frösche stehen also, wie wir gesehen haben, in völligem Einklang mit den Hauptresultaten der Untersuchungen von BACKMANN und RUNNSTRÖM und bestätigen sie.

Wenn wir nun das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Frösche mit den Bestimmungsergebnissen in den Huhnembryonen vergleichen, so müssen wir folgendes Faktum feststellen: während die im obigen geschilderten charakteristischen Änderungen des osmotischen Druckes beim Huhn im Verlauf der embryonalen Entwicklung stattfinden, entfallen sie bei den Fröschen auf die Zeit zwischen der Befruchtung und der Metamorphose, d. h. auf die Periode sowohl der embryonalen (bis zum Ausschlüpfen), als auch der postembryonalen Entwicklung der Tiere.

Besprechung der Resultate.

Wir wollen nunmehr an dieser Stelle einige wichtigere Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, die eine gewisse Bedeutung für die Entwicklungsphysiologie haben, ausführlicher besprechen. Dieselben betreffen das Verhalten des osmotischen Druckes in den Embryonen und das Verhältnis des letzteren zu dem osmotischen Druck in dem den Embryokörper unmittelbar umgebenden Außenmedium. Die eingehende Erörterung dieser Tatsachen wird uns der Frage nach dem Mechanismus der Wasseraufnahme seitens der wachsenden Tierembryonen näherbringen.

Die erste dieser Fragen haben wir an der Hand von Untersuchungen an Embryonen der Vertreter zweier verschiedener Wirbeltiergruppen: Amphibien und Vögel, zu lösen versucht. In Übereinstimmung mit der Annahme, die wir zu Beginn unsrer Arbeit ausgesprochen haben, konnten wir feststellen, daß der osmotische Druck der inneren Flüssigkeiten mit fortschreitender Entwicklung in der Tat verschiedene Änderungen erfährt. Im Verlauf dieser Änderungen, welche sich innerhalb der Grenzen von ungefähr einem Viertel des im Blut der erwachsenen Tiere herrschenden osmotischen Druckes bewegen, haben wir eine völlige Übereinstimmung und strikte Gesetzmäßigkeit beobachtet: in den Anfangsstadien der Entwicklung tritt eine bedeutende Abnahme des osmotischen Druckes in den inneren Flüssigkeiten der Embryonen ein; im Laufe der weiteren Entwicklung nimmt aber der osmotische Druck beständig zu, bis er allmählich einen konstanten

Wert erreicht, welcher für das Blut des erwachsenen Tieres charakteristisch ist.

Diese beiden Perioden in dem Verlauf der Kurve des osmotischen Druckes wollen wir gesondert betrachten.

Aus der ersten Periode, in welcher die Embryonen etwa den vierten Teil des ursprünglich in den Eiern bestehenden osmotischen Druckes verlieren, verfügen wir nur über zwei Bestimmungsserien, von denen die erste in Ovarieneiern, die zweite dagegen in Embryonen ausgeführt wurde, die schon eine ganze Reihe morphogenetischer Prozesse durchgemacht hatten. In Ermangelung von diesbezüglichen ziffernmäßigen Daten können wir auch nicht direkt über den Verlauf dieser Änderungen in minus urteilen und sind somit nicht imstande, dasjenige Moment zu erfassen, welches für diese Änderungen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Dessenungeachtet wollen wir aber im folgenden versuchen, uns über die Ursachen klar zu werden, welche die festgestellte Druckabnahme herbeigeführt haben konnten.

Während der Dauer der anfänglichen Entwicklung finden gleichzeitig mit den Änderungen des osmotischen Druckes auch ausgesprochene Änderungen sowohl innerhalb des Eiprotoplasmas, als auch in dem Verhältnis zwischen dem Ei und seiner Umgebung statt. Als Hauptmomente derselben sind vor allem zu betrachten: das Eindringen des Spermatozoons in das Ei und die damit in Zusammenhang stehende Bildung der perivitellinen Flüssigkeit, dann aber der Übergang des Eies in ein neues Milieu mit geringem osmotischen Druck.

Als Hauptursache der Druckverminderung bei Fröschen sehen BACKMANN und RUNNSTRÖM (09) die Befruchtung an, indem sie in origineller Weise den Einfluß derselben auf das spätere Verhalten des osmotischen Druckes im Ei und in den Embryonen auslegen. Der Einfluß des Spermatozoons äußert sich nach der Ansicht dieser Autoren in der Zustandsänderung der die Eizelle bildenden Colloide und beruht auf der Adsorption der im Ei enthaltenen Kristalloide seitens derselben. Da nun aber der Prozeß der Verbindung der Colloide mit den Kristalloiden umkehrbar ist, so beruht die im weiteren Verlauf der Entwicklung beobachtete Zunahme des osmotischen Druckes in den Embryonen angeblich auf der Befreiung und Abspaltung der bei der Befruchtung adsorbierten kristalloidalen Substanzen. Andre Faktoren, wie die Änderung des Mediums und die Aufnahme von Wasser seitens der Embryonen, spielen nach BACKMANN und RUNNSTRÖM hierbei nur eine untergeordnete Rolle. Nun wollen wir allerdings nicht bestreiten, daß derartige Änderungen in dem Ver-

hältnis zwischen Colloiden und Kristalloiden bei der Befruchtung auftreten können, meinen aber, daß die Abnahme des osmotischen Druckes in den Embryonen das Resultat vieler Faktoren ist, unter denen der aktiven Ausscheidung von osmotisch wirksamen Stoffen seitens des Eies unsers Erachtens die Hauptbedeutung zukommt.

Wie aus den Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung hervorgeht, gehen die Eizellen des Frosches und des Huhns nach der Befruchtung aus ihrem ursprünglichen Medium — dem den Eierstock ernährenden Blutplasma — in ein neues Milieu von bedeutend geringerem osmotischen Druck über, und zwar beim Frosch in Wasser, beim Huhn in Eiweiß.

Infolge der Differenz der osmotischen Drucke sollte man eigentlich eine durch die Wasseraufnahme aus einem Medium von geringerem osmotischen Druck verursachte starke Quellung der Eier erwarten; es hätte deshalb eine Verdünnung der osmotischen Substanzen in einem Grade eintreten müssen, welcher einen schädigenden Einfluß auf die Lebensfunktionen der Eier bzw. der embryonalen Zellen ausgeübt hätte. Und in der Tat läßt sich dies an unbefruchteten Froscheiern feststellen, welche, wie meine früheren Untersuchungen (08) ergeben haben, in Wasser gebracht, stark aufquellen und absterben. Diese Tatsachen legen die Vermutung nahe, daß derjenige Faktor, welcher das Ei vor dem Aufquellen und der übermäßigen Wasseraufnahme bewahrt, in der als unmittelbare Folge des Eindringens des Spermatozoons stattfindenden Bildung der perivitellinen Flüssigkeit zu suchen ist.

Zum besseren Verständnis des Mechanismus des hier auftretenden Prozesses führen wir die Resultate unsrer früheren Beobachtungen und Erwägungen über die Entstehung und Bedeutung der perivitellinen Flüssigkeit bei den Fröschen an. Wir haben nämlich festgestellt (08), daß im Gegensatz zu unbefruchteten Eiern, welche, in Wasser gebracht, stark aufquellen, befruchtete Eier das Wasser weniger intensiv absorbieren. Der Grund dieses Unterschiedes ist die Bildung des Perivitellins, welches nur von befruchteten Eiern abgeschieden wird und sich zwischen der Eioberfläche und der Dottermembran ansammelt. Wie aus den Beobachtungen über das Verhalten des Perivitellins im weiteren Verlauf der embryonalen Entwicklung hervorgeht, stellt dasselbe eine Flüssigkeit dar, welche deutlich ausgeprägte osmotische Eigenschaften besitzt. Aus diesem Grunde kommt das befruchtete Ei bei seinem Übergang in Wasser nicht in direkte Berührung mit dem letzteren, sondern wird von

ihm durch eine Schicht der perivitellinen Flüssigkeit isoliert, so daß diese nunmehr die Rolle des das Ei unmittelbar umgebenden Außenmediums von größerem osmotischen Druck, als ihn das Süßwasser besitzt, vertritt.

In diesen Erscheinungen haben wir es zweifellos mit einem Regulationsprozeß zu tun, vermöge dessen das Ei auf die plötzliche Konzentrationsänderung des Mediums reagiert. Dieser Prozeß, welcher das befruchtete Ei vor dem übermäßigen Aufquellen und den daraus möglicherweise resultierenden mechanischen Beschädigungen schützt, beruht darauf, daß das Froschei vom Augenblick der Aufnahme des Spermatozoons an während der ganzen Dauer der embryonalen Entwicklung osmotisch aktive Substanzen ausscheidet, so daß infolgedessen einerseits die beobachtete Verringerung des Innendruckes, anderseits die Bildung eines Mediums von erhöhtem osmotischen Druck, d. h. eben der perivitellinen Flüssigkeit, stattfindet. Das Resultat dieser Prozesse ist die Verringerung und bis zu einem gewissen Grade die Ausgleichung der Druckdifferenz, welche zwischen dem befruchteten Ei und dem umgebenden Wasser besteht, dessen osmotischer Druck, praktisch genommen, gleich Null ist.

Daß derartige Erscheinungen von osmotischer Druckregulierung nicht vereinzelt dastehen, beweisen auch die experimentellen Untersuchungen über den Einfluß der Konzentration des Mediums auf die Pflanzenzelle. Die verschiedenen in der Literatur beschriebenen Arten der osmotischen Regulation¹⁾ führen stets zu einem Ziele, welches darin besteht, bei veränderten äußeren Lebensbedingungen eine solche innere Konzentration und eine derartige chemische Zusammensetzung der gelösten Substanzen herbeizuführen, bei denen die Funktionsfähigkeit der Zelle nicht beeinträchtigt ist; der Unterschied, welcher zwischen den verschiedenen Regulationsarten besteht, betrifft die Mittel, mit deren Hilfe dieses osmotische und chemische Gleichgewicht erreicht wird. So besitzen beispielsweise nach NATHANSON (02—03) gewisse Pflanzenzellen die Fähigkeit, die Permeabilität ihrer Plasmahüllen derart abzuändern, daß der Verlust bzw. die Aufnahme osmotischer Stoffe von außen nur innerhalb bestimmter, von der Zelle selbst regulierter Grenzen stattfinden kann. Zu den ähnlichen Regulationserscheinungen gehören auch die von RYSELBERGHE (99) angegebenen Tatsachen, welcher beobachtet hat, daß die Zellen von *Tradescantia* auf eine Verringerung des osmotischen Druckes in

1) Vgl. DRIESCH 09, Bd. I.

ihrem Medium in der Weise reagieren, daß in ihren Vacuolen Kriställchen von Calciumoxalat auftreten: sie entstehen als Resultat der Fällung von freier, im Zellsaft gelöster Oxalsäure, infolgedessen auch innerhalb der Zelle der osmotische Druck sinkt. In unserm Falle hätten wir ein Beispiel einer solchen Art von osmotischer Regulation, welche auf einer Abnahme des osmotischen Druckes in der Zelle infolge der Absonderung von osmotisch aktiven Stoffen in den perivitellinen Raum beruht.

Obige Interpretation des Mechanismus der osmotischen Druckverminderung in den Froschembryonen können wir auch auf dieselben Druckänderungen, die wir in der Entwicklung des Huhns festgestellt haben, ausdehnen. Auch hier gelangt das befruchtete Ei in ein hypotonisches Medium, nämlich in das Eiweiß, und ebenso entsteht auch hier zwischen der Oberfläche der Eizelle und der Dottermembran ein Raum, welcher mit einer dem Perivitellin analogen Flüssigkeit ausgefüllt ist. Die Unterschiede, welche hierbei im Vergleich mit den Amphibien bestehen, haben für die vorliegende Frage nur untergeordnete Bedeutung. Sie betreffen hauptsächlich die Größe des Druckgefälles zwischen der Eizelle und dem Außenmedium: dieses Gefälle ist nämlich in den Hühnereiern bedeutend kleiner, und zwar aus dem Grunde, weil das Hühnereiweiß im Vergleich mit dem Süßwasser, in welchem die Entwicklung der Froschembryonen vor sich geht, eine ziemlich hohe Konzentration besitzt. Überdies tritt in der Entwicklung der Vögel in den späteren Stadien den Embryonen gegenüber ein neues Außenmedium auf, und zwar die Amnionflüssigkeit, die jedoch anfänglich mit der »perivitellinen Flüssigkeit« noch kommuniziert und ähnlich wie bei den Amphibien ein Produkt darstellt, welches von dem Embryokörper abgeschieden wird. Trotz dieser Unterschiede sehen wir aber, daß auch hier die gleichen Änderungen des osmotischen Druckes stattfinden und können sie daher in beiden Fällen auf dieselben Ursachen zurückführen.

In dem Verlauf der Kurve des osmotischen Druckes ist natürlich ihr erster Teil, welcher die Tatsache zum Ausdruck bringt, daß der Organismus in den Anfangsstadien der Entwicklung einen geringeren osmotischen Druck besitzt, als im Zustande definitiver Ausbildung, von wesentlicher Bedeutung. Der Verlauf ihres zweiten Teils, welcher die stetige Zunahme des osmotischen Druckes während der Dauer der weiteren embryonalen Entwicklung beim Huhn und der larvalen bei Fröschen veranschaulicht, war dagegen von vornherein vorauszusehen.

Nach Feststellung dieser Tatsache erhebt sich weiter die Frage, worauf diejenigen Änderungen im embryonalen Organismus beruhen, welche das kontinuierliche Steigen des inneren osmotischen Druckes verursachen. Dieses Problem setzt sich aus zwei verschiedenen Fragen zusammen: die erste derselben ist die Frage nach dem Ursprung der osmotischen Stoffe, und es handelt sich bei ihrer Beantwortung darum, ob diese Substanzen ihre Herkunft dem Embryo selbst oder aber dem Außenmedium verdanken, aus welchem sie von den Embryonen, sei es unter der Form anorganischer Salze, die in dem umgebenden Wasser bzw. in der Amnionflüssigkeit gelöst sind, sei es in Gestalt von osmotisch inaktiven Nährstoffen, die im Organismus in osmotisch aktive Verbindungen zerfallen, aufgenommen werden; der zweite Teil des Problems bezweckt die Feststellung und Erläuterung derjenigen Prozesse, mittels welcher der osmotische Druck im Organismus reguliert und auf dem für das gegebene Entwicklungsstadium charakteristischen Niveau erhalten wird.

Wie wir bereits oben erwähnt haben, soll nach BACKMANN und RUNNSTRÖM (09) die Zunahme des osmotischen Druckes auf eine Abspaltung der an die Colloide des Bildungsmaterials gebundenen Kristalloide zurückzuführen sein und zum Teil das Resultat des Zerfalls des Dottermaterials in einfachere, osmotisch aktive Verbindungen darstellen. Gegen eine derartige Auslegung spricht vor allem die Tatsache, daß die letzten Dotterspuren bedeutend früher aufgezehrt sind, als der definitive Wert des osmotischen Druckes in den Kaulquappen erreicht ist; und dann können wir ja mit demselben Grad von Wahrscheinlichkeit die Salze des Umgebungswassers, bzw. die aufgenommene Nahrung als ausreichende Quelle der osmotisch aktiven Verbindungen betrachten.

Um einen Einblick in das Verhältnis zu gewinnen, welches ev. zwischen dem Wert des osmotischen Druckes und dem Gehalt an Trockensubstanz in dem embryonalen Organismus bestehen könnte, habe ich in den bereits besprochenen Tabellen II, III und V neben den Gefrierpunkterniedrigungen auch die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung in den Embryonen verzeichnet. Diese Bestimmungen habe ich in der Annahme ausgeführt, daß ein solches Abhängigkeitsverhältnis tatsächlich vorhanden sei, indem ich mich dabei auf die Untersuchungen von DAVENPORT (97) und SCHAPER (02) stützte, welche festgestellt haben, daß der Prozentgehalt an Trockensubstanz in den Froschembryonen nach einer beträchtlichen Verringerung während der Anfangsstadien der Entwicklung später beständig zunimmt,

um allmählich im Laufe der weiteren Entwicklung die für den erwachsenen Organismus charakteristische Norm zu erreichen. Die von mir bezüglich der Entwicklung des Huhns erhaltenen Resultate schienen diese Annahme zu bestätigen: aus dem Vergleich der Tabellen II und III geht hervor, daß gleichzeitig mit der Zunahme des osmotischen Druckes auch der Prozentgehalt an Trockensubstanz der Embryonen wächst. Zu direkt entgegengesetzter Schlußfolgerung führen jedoch die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung in den Froschembryonen (vgl. Tab. V): hier sehen wir nämlich, daß der osmotische Druck am intensivsten zu jener Zeit steigt, wo der Prozentgehalt an Trockensubstanz am deutlichsten fällt.

Die Zusammenstellung dieser Tatsachen schließt offenbar die Möglichkeit irgendeines Zusammenhanges zwischen dem osmotischen Druck in den Embryonen und ihrem Gehalt an Trockensubstanz aus. Wenn wir aber andererseits die Intensität der Wasseraufnahmeprozesse zu Beginn der embryonalen Entwicklung berücksichtigen, so erhalten wir einen Begriff davon, wie intensiv gleichzeitig die Produktion von osmotisch aktiven Substanzen in den Embryonen vor sich gehen muß, denen zufolge die osmotische Gesamtkonzentration nicht nur nicht zurückgeht, sondern im Gegenteil ohne Rücksicht auf die Aufnahme und Einverleibung immer neuer Wassermengen seitens des embryonalen Organismus sogar beständig zunimmt.

Indem wir die schwer zu entscheidende Frage nach der Herkunft der osmotischen Verbindungen, die nach Quantität und Qualität mit dem spezifischen Charakter der Stoffwechselprozesse in den verschiedenen Perioden der embryonalen Entwicklung zweifellos in innigem Zusammenhange stehen, vorläufig beiseite lassen, möchten wir unser Augenmerk auf die Regulationserscheinungen richten, welche imstande sein dürften, die Tatsache der Konzentrationszunahme der osmotischen Stoffe in den inneren Flüssigkeiten der Embryonen unserm Verständnis näherzubringen.

Das, was wir über osmotische Regulation bei den Tieren wissen, bezieht sich ausschließlich auf erwachsene, völlig ausgebildete Individuen. Diese Untersuchungen, die vorwiegend an höheren Wirbeltieren ausgeführt wurden, basieren auf der auf Grund zahlreicher Messungen der Gefrierpunktserniedrigung festgestellten Tatsache, daß der osmotische Druck im Blut von Tieren, die einer und derselben Art angehören, eine konstante Größe ist, die nur innerhalb sehr enger Grenzen variiert. Diese Schwankungen hängen von dem Quantum Wasser und osmotischer Stoffe ab, welche in Gestalt von Trank oder

Futter in den Organismus eingeführt werden (KOEPE 00 und andre). Bei niedrigeren, in Wasser lebenden Wirbeltieren können Abweichungen von dem durchschnittlichen Wert des osmotischen Druckes im Blut überdies noch unter dem Einfluß variierender Konzentration des Mediums auftreten (vgl. die von SUMNER 06 und DAKIN 08 bei Teleostiern, die in Meeren von verschiedener Salzkonzentration leben, entdeckten Unterschiede). Immerhin sind aber diese Schwankungen unter normalen Verhältnissen nur sehr unbedeutend.

Es leuchtet ein, daß diese Konstanz des osmotischen Druckes im Blut lediglich mit Hilfe spezieller Einrichtungen erreicht werden kann, deren Aufgabe darin besteht, den normalen osmotischen Druck, falls er auf irgendeine Weise verändert worden ist, rasch wieder herzustellen. Je nach der Richtung, in welcher diese Änderungen stattfinden, besteht nun die Tätigkeit der osmoregulatorischen Organe entweder in der Entfernung des überschüssigen Wassers aus dem Organismus — falls sich nämlich der osmotische Druck verringert hat —, oder in der Eliminierung des Überschusses an solchen Stoffen, welche eine Steigerung des osmotischen Druckes verursacht haben. Solch ein Regulationsmechanismus ist bei Vögeln und Säugern auf Grund von experimentellen Untersuchungen festgestellt worden, in denen die osmotische Konzentration des Blutes durch Einführung größerer Mengen hypo- und hypertotonischer Flüssigkeiten in die Blutgefäße künstlich herabgesetzt bzw. erhöht wurde; neben andern Organen, welche mehr oder minder dazu beitragen, bei verändertem osmotischen Druck den normalen Zustand wieder herzustellen, kommen hier hauptsächlich die Nieren in Betracht (HAMBURGER 02, BOTTAZZI¹) und seine Schüler u. a.]

Obige Untersuchungen über Osmoregulation wurden, wie gesagt, ausschließlich an erwachsenen Tieren angestellt, dagegen wissen wir über die Art und Weise, in welcher der embryonale Organismus auf osmotische Druckänderungen reagiert, gar nichts und sind auf diesem Gebiete lediglich auf Vermutungen angewiesen. Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß auch die Embryonen befähigt sind, eine bestimmte Druckdifferenz im Verhältnis zu ihrer Umgebung aufrecht zu erhalten, und daß sie zur Wahrung dieses Unterschiedes osmoregulatorische Vorrichtungen nötig haben.

In den ersten Entwicklungsstadien, in welchen der Embryo einen erheblichen Teil seines osmotischen Druckes verliert, haben wir diese

¹) Vgl. BOTTAZZIS Referat (07).

Erscheinung damit erklärt, daß der Organismus osmotische Stoffe in Gestalt des Perivitellins ausscheidet. Das spätere Verhalten des osmotischen Druckes deutet darauf hin, daß die Regulationsprozesse komplizierter werden; ihre Aufgabe besteht nämlich nicht mehr in der Erhaltung eines bestimmten konstanten Wertes für den osmotischen Druck im Organismus, sondern vielmehr auf dem Festhalten einer ganzen Reihe allmählich zunehmender Drucke, die für die einzelnen aufeinander folgenden Entwicklungsstadien charakteristisch sind: wir haben es hier also mit einer Erscheinung zu tun, die von dem uns aus der Physiologie bekannten Verhalten der erwachsenen Tiere abweichend ist, da bei letzteren der innere osmotische Druck eine konstante Größe ist.

Wenn wir nun annehmen, daß in den späteren Entwicklungsperioden die Rolle der hauptsächlichsten osmoregulatorischen Organe den Nieren zukommt (der Urniere bzw. definitiven Niere), so können wir weiter daraus folgern, daß diese Organe mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen konstante, in bestimmter Richtung sich bewegende funktionelle Änderungen erfahren; letztere betreffen entweder die Permeabilität der Secretionszellen für Wasser oder die Eigenschaften der elektiven Aufnahme und Ausscheidung osmotisch aktiver Substanzen. Für eine derartige Annahme sprechen auch die Untersuchungen über den osmotischen Druck des Harns von Neugeborenen und von Säugetierembryonen einschließlich des menschlichen Embryos; es ist durch dieselben erwiesen worden, daß der Harn dem Blut gegenüber sich hypotonisch verhält, während er bekanntlich bei erwachsenen Tieren eine ausgesprochene hypertotonische Flüssigkeit darstellt (JACQUÉ 02); in demselben Sinne muß auch die Tatsache aufgefaßt werden, daß der osmotische Druck in der Allantoisflüssigkeit, d. h. in dem embryonalen Harn bei Säugern (JACQUÉ 02, GRÜNBAUM 04) und beim Huhn (vgl. meine Bestimmungen Tab. III, 8), kleiner ist als in den Embryonen selbst.

Vergleichende Untersuchungen über den osmotischen Druck des Blutes von Wassertieren beweisen, daß diese Fähigkeit, den inneren Druck zu regulieren, eine Erscheinung ist, welche, phylogenetisch betrachtet, ziemlich spät auftritt. Wirbellose, in Meerwasser lebende Tiere besitzen einen osmotischen Innendruck, welcher dem Druck des Meerwassers gleich ist (BOTTAZZI 97, FRÉDÉRICQ 82, 01), während wirbellose Süßwassertiere mit wenigen Ausnahmen (wie z. B. der Krebs, vgl. FRÉDÉRICQ 01a) einen minimalen Drucküberschuß im Vergleich mit dem Außenmedium zeigen (FRÉDÉRICQ 01b). Von den

Wirbeltieren kann man nur die Selachier zu den poikilosmotischen (HÖBER 06) zählen, d. h. solchen, deren Blut sich im osmotischen Gleichgewicht mit dem äußeren Milieu, d. h. dem Meerwasser, befindet (BOTTAZZI 97, RODIER 99, FRÉDÉRICQ 01). Während aber bei den wirbellosen Seewassertieren die inneren Flüssigkeiten des Organismus eine dem Seewasser sehr ähnliche chemische Zusammensetzung besitzen (FRÉDÉRICQ 82, QUINTON 00, FRÉDÉRICQ 01), ist bei den Selachiern der Gehalt an Elektrolyten bedeutend geringer, und die Isotonie mit dem Seewasser kommt hier nur infolge der Anwesenheit von ungewöhnlich großen Mengen von Harnstoff zustande (v. SCHRÖDER 90, BAGLIONI 05).

Entschiedene Druckdifferenzen und die Emanzipation des Innendruckes von dem osmotischen Druck des Mediums (Homoiomose — HÖBER) lassen sich erst in der Gruppe der Teleostier konstatieren: während nämlich bei den im Süßwasser lebenden Vertretern dieser Gruppe der osmotische Druck höher ist als das Medium, verhält sich das Blut der diesbezüglichen Meerestiere dem Seewasser gegenüber ausgesprochen hypotonisch [BOTTAZZI 97, FRÉDÉRICQ 01, DEKHUYZEN¹⁾, HÖBER 04]; immerhin sind auch in dieser Gruppe die osmoregulatorischen Eigenschaften noch nicht so vollkommen ausgebildet, wie bei den höheren Wirbeltieren, denn der osmotische Druck des Blutes hängt bei diesen Fischen in gewissem Grade von der Konzentration des Seewassers, in welchem sie leben, ab (SUMNER 06, DAKIN 08).

Den typisch poikilosmotischen Tieren geht die Fähigkeit der Regulation des osmotischen Druckes vollständig ab: werden wirbellose Meerestiere (Echinodermen, Mollusken, Crustaceen) in verdünntes oder konzentriertes Meerwasser gebracht, so stellt sich nach einiger Zeit zwischen den inneren Flüssigkeiten und dem Außenmedium osmotisches Gleichgewicht ein, da die Membranen, welche die Körperhöhlen von der Umgebung trennen, sowohl für Wasser (QUINTON 00a, HENRI und LALOU 03), als auch für die in ihm gelösten Stoffe (QUINTON 00b, FRÉDÉRICQ 82, 01) durchlässig sind. In ähnlicher Weise verhalten sich auch die Selachier; indessen besteht hier der prinzipielle Unterschied, daß infolge der Semipermeabilität der Haut der Ausgleich der experimentellen Druckunterschiede sich nicht, wie bei den Wirbellosen, auf dem Wege der Diffusion, sondern ausschließlich durch osmotische Aufnahme und Abgabe von Wasser vollzieht (FRÉDÉRICQ 01).

¹⁾ Zitiert nach BOTTAZZI (08).

Erst bei den Teleostiern erfährt die Permeabilität der Haut solche Änderungen, daß der Organismus imstande ist, sich von der Umgebung zu isolieren und einen konstanten Wert des osmotischen Innendruckes beizubehalten. Die Unabhängigkeit und Widerstandsfähigkeit gegen Änderungen der osmotischen Konzentration des Mediums tritt besonders deutlich hervor bei denjenigen Vertretern der Teleostier (*Gasterosteus aculeatus*), welche in normalen Verhältnissen abwechselnd bald im Süßwasser, bald im Meere leben (SIEDLECKI 03). Bei den hier stattfindenden osmoregulatorischen Prozessen spielt die Hauptrolle die Hautoberfläche, welche bei den Teleostiern eine sowohl für Wasser, als auch für die gelösten Substanzen fast undurchlässige Membran darstellt (FRÉDÉRICQ 01)¹⁾.

Im Lichte dieser Untersuchungen, welche die Bedeutung der Hautoberfläche der homoiosmotischen Wassertiere für die Prozesse der osmotischen Regulation darlegen, werden auch die Resultate unsrer Untersuchungen über das Verhältnis zwischen dem osmotischen Druck des Embryos und demjenigen seines Außenmediums leichter verständlich. Die Hauptergebnisse betreffen die Entwicklung des Huhns, während die Resultate der Untersuchungen über die Entwicklung des Frosches insofern unvollständig sind, als unsre Schlußfolgerungen über die osmotischen Eigenschaften der perivitellinaren Flüssigkeit auf indirekten Beweisen basieren. Darum wollen wir uns darauf beschränken, nur die das Huhn betreffenden Tatsachen zu besprechen. Unsre Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung in der Amnionflüssigkeit und in den Embryonen haben gezeigt, daß die Amnionflüssigkeit sich dem Embryo gegenüber nur in den Endstadien der embryonalen Entwicklung hypotonisch verhält; dagegen ist dieses Verhältnis zu Beginn der Entwicklung, und zwar zwischen dem 6. und dem 14. Bruttage, gänzlich verschieden. Während dieser Zeit lassen sich folgende zwei Perioden unterscheiden: im Verlauf der ersten Periode zeigt die Amnionflüssigkeit einen beträchtlich höheren osmotischen Druck als der Embryo, der also auf diese Weise ein dem Außenmedium gegenüber hypotonisches osmotisches System darstellt; während der zweiten Periode sind die inneren Flüssigkeiten des Embryos und die Amnionflüssigkeit fast vollständig isotonisch.

Auf Grund dieser Tatsachen gelangen wir zu der Überzeugung,

¹⁾ Die Frage der Permeabilität tierischer Membranen findet man ausführlicher behandelt bei HÖBER (06, 07), BOTTAZZI (08) und CONHEIM (08).

daß schon in sehr frühen Entwicklungsstadien eine Druckdifferenz auftritt, wobei sie anfänglich einen negativen Wert besitzt, d. h. die inneren Flüssigkeiten des embryonalen Organismus weisen einen geringeren osmotischen Druck auf, als das wässerige äußere Milieu. Und trotzdem verliert der Embryo nicht nur nichts von dem Wasser, welches einen Bestandteil seines Körpers bildet, sondern im Gegenteil, die Menge desselben nimmt im Laufe des embryonalen Wachstums beständig zu.

Man könnte meinen, der Grund dieser Druckdifferenz liege darin, daß ein Teil des Konstitutionswassers der Embryonen in Gestalt von sog. »Quellungswasser« vorhanden sei; dieses ist bekanntlich an die quellenden colloidalen Substanzen so fest gebunden, daß sogar durch die Einwirkung von Salzlösungen, deren osmotischer Druck nach Hunderten von Atmosphären zählt, den Froschmuskeln nur ein ganz geringer Teil desselben entzogen werden kann (OVERTON 02). Zu solchen Erscheinungen der Wasserbindung seitens der quellenden colloidalen Stoffe zählt WO. OSTWALD (08) die Prozesse der Wasseraufnahme durch wachsende Amphibienembryonen. Indessen ist die Menge des in den tierischen Geweben als »Quellungswasser« gebundenen Wassers nach neueren Untersuchungen nur äußerst gering (JENSEN und FISCHER 10) und vollends darüber, ob und was für eine Rolle es in dem embryonalen Organismus spielt, wissen wir überhaupt nichts.

Uns erscheint eine andre Annahme viel wahrscheinlicher, zumal wenn wir die Bedeutung ins Auge fassen, welche die Körperoberfläche für die Regulation des Innendruckes bei Wassertieren besitzt. Unserer Ansicht nach ist die Unabhängigkeit des Innendruckes von den osmotischen Eigenschaften der Amnionflüssigkeit beim Huhn durch die Epithelzellen der Oberfläche bedingt, welche eine zarte dünne Membran bilden, die zwei Flüssigkeiten von verschiedener osmotischer Konzentration voneinander trennt; es ist einleuchtend, daß die Membran, welche zwei solche Flüssigkeiten isoliert und einen Ausgleich ihrer osmotischen Druckdifferenzen verhindert, nicht semipermeabel sein kann.

Diese Annahme erscheint mir um so gerechtfertigter, als uns bereits ein analoges Beispiel bekannt ist: wie wir bereits erwähnt haben, ist ein gleicher Druckunterschied bei marinen Teleostiern beobachtet worden, bei denen der osmotische Druck des Blutes bedeutend kleiner ist als derjenige des Meerwassers. Und ebenso, wie wir bei diesen Tieren die Erhaltung der Druckdifferenzen durch die

eigentümliche Permeabilität der Körperoberfläche erklären, können wir auch in unserm Falle annehmen, daß das Epithel, welches die Körperoberfläche der Huhnembryonen bedeckt, an der Erhaltung des Druckunterschiedes, welcher zwischen der Amnionflüssigkeit und dem Embryo in den Anfangsstadien der Entwicklung besteht, tätigen Anteil nimmt.

Worauf diese Tätigkeit des Epithels beruht, läßt sich vorderhand schwer entscheiden. Es sind zwei Möglichkeiten vorhanden: entweder ist es, ähnlich wie das Kiemenepithel der Teleostier, für Wasser und Salzlösungen wenig durchlässig (FRÉDÉRICQ 01), oder aber — was wahrscheinlicher ist — kommt ihm die Funktion zu, osmotisch aktive Substanzen aus dem embryonalen Organismus in die Amnionflüssigkeit auszusecheiden; im letzteren Falle würde das Epithel trotz des Druckgefälles eine Arbeit leisten, die gegen dasselbe gerichtet ist, analog dem Vorgange in dem Nierenepithel der Säuger, dessen Ausscheidungsprodukt, der Harn, bekanntlich dem Blut gegenüber eine ausgesprochen hypertonische Flüssigkeit ist.

Wie wir auch diese Erscheinungen erklären mögen, unbestritten bleibt immerhin die eine, für die Frage, welche den Ausgangspunkt unserer Untersuchungen bildete, sehr bedeutsame Tatsache, daß nämlich zu der Zeit, wo die wachsenden Embryonen am intensivsten Wasser aus der Umgebung aufnehmen, der osmotische Druck ihrer inneren Flüssigkeiten demjenigen in der Amnionflüssigkeit gleich oder sogar geringer ist als der letztere. Die Tatsache, daß im Embryo kein osmotischer Überdruck im Vergleich mit der Umgebung herrscht, steht also im Widerspruch mit der allgemein gültigen Ansicht, daß die Wasseraufnahme seitens der Embryonen sich auf osmotischem Wege vollzieht; die angeführten Tatsachen deuten vielmehr darauf hin, daß der Mechanismus der Wasseraufnahme viel komplizierter ist, als man ursprünglich angenommen hat.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Junge, im Wachstum begriffene ovariale Hühnereier verhalten sich dem Blut der Henne gegenüber isotonisch, während der Dotter der ausgewachsenen Eizelle eine etwas geringere osmotische Konzentration zeigt als das Blut.

2) Im Vergleich mit dem Eiweiß ist der Dotter des Hühnereies hypertonisch. Von dem Augenblick an, wo sich die Dotterkugel von dem Eierstock löst und sich in ihrer Wanderung durch die Eileiter

in den oberen Partien derselben mit einer Eiweißschicht umgibt, bis in die ersten Bruttage hinein nimmt der osmotische Druck im Dotter beständig ab. Im Laufe dieser Zeit läßt sich eine bedeutende Abnahme der Gesamtmenge des Eiweißes, welches von der Dotterkugel aufgenommen wird, beobachten. Infolge der Infiltration des hypotonischen Eiweißes in die Dotterkugel findet eine kontinuierliche Verringerung der osmotischen Konzentration des Dotters statt.

3) Die Gefrierpunktserniedrigung der inneren Flüssigkeiten der Embryonen ist nach Verlauf von 6 Bruttagen bedeutend geringer als in dem Dotter der Ovarieneier. Während der ersten Entwicklungsstadien nimmt der osmotische Druck fast um $\frac{1}{5}$ seines ursprünglichen Wertes ab.

4) Vom 6. Bruttage an nimmt der osmotische Druck in den Huhnembryonen mit fortschreitender Entwicklung beständig zu. Nach Verlauf von 18 Bruttagen kehrt der osmotische Druck im Brei aus Embryonen auf das für den Dotter der Ovarieneier charakteristische Niveau zurück.

5) Der osmotische Druck der Amnionflüssigkeit des Huhns erfährt während der Entwicklung nur ganz unbedeutende Änderungen, indem er gegen das Ende der Brutzeit eine geringe Abnahme aufweist.

6) Die osmotische Druckdifferenz zwischen der Amnionflüssigkeit und den inneren Flüssigkeiten der Embryonen erleidet im Laufe der Entwicklung folgende Änderungen: während in den Anfangsstadien der Entwicklung (zwischen dem 6. und dem 10. Bruttage) die Amnionflüssigkeit dem Embryo gegenüber hypertonisch ist, verhält sie sich in den Mittelstadien isotonisch, um schließlich in den Endstadien der embryonalen Entwicklung hypotonisch zu werden.

7) Die Allantoisflüssigkeit des Huhns zeigt durchweg einen geringeren osmotischen Druck als die Amnionflüssigkeit. Im Verhältnis zur letzteren und zum Embryo wird sie in der zweiten Hälfte der embryonalen Entwicklung ausgesprochen hypotonisch.

8) Der osmotische Druck in den Froscheiern vor ihrer Loslösung vom Ovarium ist, ähnlich wie beim Huhn, etwas kleiner als der Druck im Blut erwachsener Tiere.

9) Der osmotische Druck in den Froschembryonen unmittelbar nach dem Ausschlüpfen ist bedeutend geringer als in den Ovarieneiern (fast um $\frac{1}{4}$). Dieser Abfall des osmotischen Druckes ist auf die seitens der Embryonen bewirkte Abscheidung von osmotisch aktiven Stoffen in den perivitellinen Raum zurückzuführen.

10) Im Verlauf der weiteren Entwicklung nimmt der osmotische Druck in den Kaulquappen beständig zu, und zwar am schnellsten in den ersten Stadien der postembryonalen Entwicklung. Junge Frösche besitzen gleich nach der Metamorphose einen osmotischen Druck, welcher demjenigen in den Ovarieneiern gleich ist.

11) Die perivitelline Flüssigkeit der Froschembryonen, welche während der ganzen embryonalen Entwicklung für den Embryo das Außenmedium vertritt, enthält durch die Dottermembran nicht diffundierende, osmotisch aktive Stoffe. Diese Stoffe werden von den sich entwickelnden Embryonen ausgeschieden; als Anfangsmoment dieses Prozesses ist die nach dem Eindringen des Spermatozoons eintretende Kontraktion des Eies zu betrachten, welche von der Ausscheidung des Perivitellins begleitet wird. Durch die Gegenwart osmotischer Substanzen in der perivitellinen Flüssigkeit ist die osmotische Druckdifferenz bedingt, welche zwischen dem Perivitellin und dem umgebenden Wasser besteht und welche in der elastisch gespannten Dottermembran ihren Ausdruck findet.

Saratow, Zoolog. Laboratorium, am 15. Januar 1912.

Literaturverzeichnis.

Die mit * bezeichneten Abhandlungen waren mir nur im Referat zugänglich.

- BACKMANN, L., und RUNNSTRÖM, '09. Physikalisch-chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung. Der osmotische Druck bei der Entwicklung von *Rana temporaria*. Biochem. Zeitschr. Bd. 22.
- BAGLIONI, S., '05. Die Bedeutung des Harnstoffs bei den Selachiern. Centralbl. f. Physiol. Bd. 19.
- BIALASZEWICZ, K., '08. Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibienembryonen. Bull. internat. de l'Acad. des sci. Cracovie.
- '12. Untersuchungen über die osmotischen Verhältnisse bei der Entwicklung der Hühner- und Froschembryonen. Vorläufige Mitteilung. Bull. internat. de l'Acad. des sci. Cracovie.
- BONNET, R., '07. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte. Berlin.
- BOTTAZZI, FIL., '97. La pression osmotique du sang des animaux marins. Arch. ital. de Biol. T. 28.
- '07. Die Regulation des osmotischen Druckes im tierischen Organismus. Im Handbuch: v. KORÁNYI u. RICHTER, Physikalische Chemie u. Medizin. Bd. I. Leipzig.
- '08. Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen, pflanzlichen und tierischen Organismen. Ergebn. d. Physiologie. Jahrg. VII.

- BOTTAZZI, FIL., et DUCCESCHI, '96. Résistance des érythrocytes, alcalinité du plasma et pression osmotique du sang dans les différentes classes des vertébrés. Arch. ital. de Biol. T. 26.
- BOUSQUET, F., '99. Recherches cryoscopiques sur le sérum sanguin. Paris.
- BURIAN und DRUCKER, '10. Gefrierpunktmessungen an kleinen Flüssigkeitsmengen. Centralbl. f. Physiol. Bd. 23.
- CONHEIM, O., '08. Die Physiologie der Verdauung und Ernährung. Berlin-Wien.
- CURTIS, M. R., '11. An accurate method for determining the weight of the parts of the eggs of birds. Ann. Report of the Maine Agr. Exp. St. (Pap. f. Biol. Lab. No. 27).
- DAKIN, W. J., '08. The osmotic concentration of the blood of Fishes taken from sea-water of naturally varying concentration. Bio-Chemic. Journ. Vol. 3. — Referat in: Zool. Centralbl. 1909.
- DAVENPORT, C. B., '97. The role of water in growth. Proc. Boston Soc. Nat. Hist. T. 28.
- DRIESCH, H., '93. Entwicklungsmechanische Studien. VII—X. Mitteil. Zoolog. Stat. Neapel. Bd. 11.
- '09. Philosophie des Organischen. Bd. I. Leipzig.
- D'ERCHIA, F., '04. Über den Gefrierpunkt des mütterlichen und fötalen Blutes, sowie der Amnionflüssigkeit. Centralbl. f. Gynäk. Jahrg. 28.
- *D'ERRICO, G., '07. Über die physiko-chemischen Verhältnisse und die Harnsecretion bei Hühnern. HOFMEISTERS Beitr. Bd. 9.
- FARKAŠ, G., und SCIPIADES, E., '03. Über die molekularen Konzentrationsverhältnisse des Blutserums der Schwangeren, Kreißenden und Wöchnerinnen und des Fruchtwassers. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 98.
- FREDÉRICQ, L., '82. Notes de physiologie comparée. I. Influence du milieu extérieur sur la composition saline du sang chez quelques animaux aquatiques. Bull. de l'Acad. royale de Belgique. T. 4.
- '01a. Sur la perméabilité de la membrane branchiale. Ibidem 1901.
- '01b. Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques. Bull. de l'Acad. royale de Belgique. Auch: Archives de Biologie. T. 20. 1904.
- FÜTH, H., '04. Über die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes von Schwangeren, Kreißenden und Wöchnerinnen. Zeitschr. f. Geb. u. Gynäk. Bd. 51.
- GRÜNBAUM, D., '04. Vergleichende Untersuchungen über die molekulare Konzentration des mütterlichen und fötalen Blutes und des Fruchtwassers. Inaug.-Dissert. Würzburg.
- GRYNS, G., '96. Über den Einfluß gelöster Stoffe auf die roten Blutzellen, in Verbindung mit Erscheinungen der Osmose und Diffusion. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 63.
- HAMBURGER, H. J., '02—'04. Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. I—III. Wiesbaden.
- HENRI, V., et LALOU, S., '03. Régulation osmotique des liquides internes chez les Echinodermes. Compt. rend. de l'Acad. des sci. Paris. T. 137.
- HERBST, C., '92. Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Tiere. 1. Versuche an Seeigelleiern. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55.
- HÖBER, R., '04. Weitere Mitteilungen über Ionenpermeabilität bei Blutkörperchen. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 102.

- HÖBER, R., '06. *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. Leipzig.
- '07. *Die physikalische Chemie in der Physiologie der Resorption, der Lymphbildung und der Secretion*. Im Handbuch: v. KORÁNYI u. RICHTER, *Physikalische Chemie u. Medizin*. Leipzig.
- JACQUÉ, L., '02. *De la genèse des liquides amniotique et allantoïdien*. Mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'Acad. royale de Belgique. T. 63. Auch: Bull. de l'Acad. royale de Belgique. 1902.
- JENSEN, P., und FISCHER, H. W., '10. *Der Zustand des Wassers in der überlebenden und abgetöteten Muskelsubstanz*. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 11.
- KOEPPE, H., '00. *Physikalische Chemie in der Medizin*. Wien.
- KRÖNIG und FÜTH, '01. *Vergleichende Untersuchungen über den osmotischen Druck im mütterlichen und kindlichen Blute*. Monatsschr. f. Geb. u. Gynäk. Bd. 13.
- LOEB, J., '91. *Untersuchungen zur physiologischen Morphologie der Tiere*. I. Über Heteromorphose. II. Organbildung und Wachstum. Würzburg.
- '94. *Über die relative Empfindlichkeit von Fischembryonen gegen Sauerstoffmangel und Wasserentziehung*. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 55.
- '03. *Über die relative Giftigkeit von destilliertem Wasser, Zuckerlösungen und Lösungen von einzelnen Bestandteilen des Seewassers für Seetiere*. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 97.
- '11. *Können die Eier von Fundulus und die jungen Fische in destilliertem Wasser leben?* Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 31.
- MATHES, P., '01. *Die Gefrierpunktniedrigung des mütterlichen und kindlichen Blutes*. Centralbl. f. Gynäk. Jahrg. 25.
- MORGULIS, S., '11. *Contributions to the physiology of Regeneration*. IV. Regulation of the water content in Regeneration. Journ. of Exper. Zoölogy. Vol. 10.
- *NATHANSOHN, '02. *Über Regulationserscheinungen im Stoffaustausch*. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 38.
- OSTWALD, Wo., '08. *Über die zeitlichen Eigenschaften der Entwicklungsvorgänge*. Leipzig.
- OVERTON, E., '02. *Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie*. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 92.
- POLITI, G., '08. (Eine unveröffentlichte Arbeit, zitiert von FIL. BOTTAZZI '08.)
- PREYER, W., '85. *Spezielle Physiologie des Embryo*. Leipzig.
- QUINTON, R., '00a. *Communication osmotique, chez l'Invertébré marin normal, entre le milieu intérieur de l'animal et le milieu extérieur*. Compt. rend. de l'Acad. des sci. Paris. T. 131.
- '00b. *Perméabilité de la paroi extérieur de l'Invertébré marin, non seulement à l'eau, mais encore aux sels*. Ibidem.
- *VAN RYSSELBERGHE, Fr., '99. *Réaction osmotique des cellules végétales à la concentration du milieu*. Mémoires couron. et autres mémoires publ. par l'Acad. royale de Belgique. T. 58.
- SCHAPER, A., '02. *Beiträge zur Analyse des tierischen Wachstums*. Teil I: Quellen, Modus und Lokalisation des Wachstums. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 14.
- SCHAUNSLAND, H., '06. *Die Entwicklung der Eihäute der Reptilien und der Vögel*. Handb. d. vergl. u. experim. Entwicklungslehre der Wirbeltiere, herausg. v. O. HERTWIG. Bd. I. Teil 2. Jena.

540 K. Białaszewicz, Über das Verhalten des osmotischen Druckes usw. I u. II.

v. SCHROEDER, W., '90. Über die Harnstoffbildung der Haifische. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 14.

SIEDLECKI, M., '03. Sur la résistance des Epinoches aux changements de la pression osmotique du milieu ambiant. Compt. rend. de l'Acad. des sci. Paris. T. 137.

— '09. Zur Kenntnis des japanischen Flugfrosches. Biolog. Centralbl. Bd. 29.

*SUMNER, B. F., '06. Die physiologischen Einwirkungen von Konzentrations- und Salzgehaltsänderungen des Wassers auf Fische. Bull. of the Bureau of Fisheries. Vol. 25.

UBBELS, D. G., '01. Vergleichende Untersuchungen von mütterlichem Blute, fötalem Blute und Fruchtwasser. Inaug.-Dissert. Gießen (Utrecht).

VEIT, J., '00. Untersuchungen über den osmotischen Druck zwischen Mutter und Kind. Zeitschr. f. Geb. u. Gynäk. Bd. 42.

*ZANGEMEISTER, '03. Die Beschaffenheit des Blutes in der Schwangerschaft und der Geburt. Zeitschr. f. Geb. u. Gynäk. Bd. 49.
