

Beobachtung von Wachstumsvorgängen an Reihenaufnahmen lebender Hühnerembryonen nebst Bemerkungen über vitale Färbung.

Von

Ludwig Gräper.

(Aus dem Anatomischen Institut Leipzig.)

Mit 8 Figuren im Text und Tafel XVII.

Eingegangen am 7. Oktober 1911.

In seiner Arbeit: »Der Prothorax der Vögel und Säuger«¹⁾ behauptet FUNCCIUS, daß die bisherige Ansicht, das Herz entstehe aus der Vereinigung zweier getrennter Anlagen, falsch sei. Nach ihm stellt die vordere Darmpforte einen festen, unverschieblichen Punkt dar, über den der Embryo nach vorn hinauswächst. Deshalb glaubt er auch, daß getrennte Teile der Venae omphalo-mesentericae auch stets getrennt bleiben und das Herz in loco als unpaares Gebilde sich vor der vorderen Darmpforte anlegt und mit dem nach vorn wachsenden Embryo größer wird. Er nimmt somit eine enorme Wachstumstendenz des vor der vorderen Darmpforte gelegenen Teiles des Embryo an. Die abgebildeten Querschnittserien geben durchaus bekannte Bilder, die nur anders als üblich gedeutet werden und zum Beweise jener Theorie keineswegs genügen.

Von FUNCCIUS geschriebene Sätze, wie: »Ich darf schroff die Behauptung entgegenstellen, daß der Rand der vorderen Darmpforte sich ganz unwesentlich nach Form und Lage verändert« und »Den Vorschlag, die Gegend der Darmpforte, d. h. die caudale Grenze des Prothorax als relativ festen Punkt einzuschätzen, kann ich noch durch andre Gründe rechtfertigen« veranlaßten mich zur Nachprüfung.

¹⁾ Morpholog. Jahrb. Bd. XXXIX. Heft 3 u. 4.

Zunächst nahm ich an etwa 100 Keimscheiben von Möve, Huhn und Ente genaue Messungen vor und verglich die so gewonnenen Kurven (absichtlich erst nachträglich) mit den Ergebnissen FISCHELS¹⁾. Wenn auch meine Messungen denen FISCHELS ohne weiteres anzureihen waren, so waren absolut bindende Schlüsse auf Wachstumsbewegungen doch nicht daraus zu ziehen. Besonders gelang es mit dieser Methode nicht, sicher nachzuweisen, daß vor dem ersten Urwirbel keine weiteren auftreten und somit die erste Urwirbelgrenze ein fester Meßpunkt im Embryo ist. Daß die Darmpforte ein unverschieblicher Meßpunkt sei, erschien allerdings schon nach ganz oberflächlichen Vergleichen ausgeschlossen. Einen solchen Punkt zu gewinnen, erschien mir aber für die Beurteilung aller Bewegungsvorgänge unumgänglich.

Ich präparierte daher junge lebende Keimscheiben von 0—5 Urwirbeln vom Dotter ab und brachte sie in warmer RINGERSCHER Lösung auf den heizbaren Objektisch, was unschwer ohne Beschädigung gelingt. Man kann dann im durchfallenden Licht alle Einzelheiten leicht beobachten. Die weitere Messung ist aber unmöglich, da sich die Keimscheibe — ähnlich wie sie es auch bei gewissen Entwicklungsstörungen auf dem Dotter tut — zuerst in der Area opaca stark kräuselt, und diese Falten allmählich auch auf die Area pellucida und den Embryo selbst übergehen. Dann stirbt der Embryo ab, ohne daß eine Weiterentwicklung, die außerhalb der Grenzen der möglichen Selbsttäuschung liegt, stattgefunden hätte.

Daher ging ich wieder zu einer Methode über, die ich bereits 1905 geübt, die mir damals aber keine wichtigeren Resultate geliefert hatte; ich färbte die Keimscheiben mit Neutralrot. Ein kurzer Hinweis auf die Möglichkeit und relative Unschädlichkeit dieser Färbung, die ich damals zur Orientierung an jungen Keimscheiben mit Vorteil benutzte, findet sich in meiner damaligen Arbeit²⁾.

Inzwischen hat ZARETZKY³⁾ versucht, durch Injektion von Farblösungen in die Luftkammer des Hühnereies Vitalfärbungen der Embryonen zu erhalten. Vom Neutralrot injizierte er $\frac{1}{2}$ —1 cm³ einer 0,025—0,4 $\frac{0}{0}$ igen Lösung. Das Eiweiß war stets diffus hellrot, der

¹⁾ FISCHER, Über Variabilität und Wachstum des embryonalen Körpers. Morpholog. Jahrb. Bd. XXIV. 1896.

²⁾ GRÄPER, Untersuchungen über die Herzbildung der Vögel. Archiv f. Entw.-Mech. Bd. XXIV. S. 401.

³⁾ ZARETZKY, Versuche über vitale Färbung des Embryos. VIRCHOWS Archiv f. Path. Anat. 1910. Bd. 201.

Dotter stets ungefärbt. Die Area vasculosa war streifig tingiert. »Die Embryonen waren durchweg tot, oft stark verändert und maceriert«, so daß an den wenigen diffus gefärbten Embryonen eine mikroskopische Untersuchung unmöglich war. Doch scheinen die Embryonen, nach dem Entwicklungsstadium zu schließen, noch 2 bis 3 Tage nach der Injektion gelebt zu haben. Warum wurde denn die Untersuchung nicht in diesen 2 bis 3 Tagen ausgeführt? Es wäre dann manches Beachtenswerte gesehen worden! Trotzdem hat ZARETZKY, ohne exakte Unterlagen dafür zu haben, doch etwas Richtiges vermutet, wenn er schreibt: »Diese Übereinstimmung der Resultate beweist, daß die Embryonen nicht an dem Eindringen des Farbstoffes zugrunde gehen, sondern infolge von Ernährungsstörungen, die ihrerseits durch den Farbstoff bedingt werden«. Wenn er aber glaubt, daß dies durch Färbung des Eiweißes, aus dem sich der embryonale Körper aufbaue, verursacht sei, so dürfte er irren. (ZARETZKY meint das klare Eiweiß des Hühnereies!)

Eine Antwort auf die Frage, wie diese Ernährungsstörungen zustande kommen, erhält man, wenn man nach meiner Methode (siehe unten) gefärbte Keimscheiben in Pikrinsäure-Sublimat-Wasser (1:1:1) etwa 5 Minuten lang konserviert, mit gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung etwa 2 Minuten lang unter öfterem Wechseln abspült, dann direkt in konzentrierte Lösung von Pikrinsäure in 96%igen Alkohol und gleich darauf in eine solche in absoluten Alkohol einbringt, die überflüssige Lösung mit absolutem Alkohol abspült und möglichst schnell durch Xylol-Alkohol $\bar{a}\bar{a}$ in Xylol überführt, rasch in Paraffin einbettet und schneidet. Es lassen sich Serien anfertigen, wenn man die Objektträger mit einer ganz dünnen Schicht nativen Hühnereiweißes bestreicht, diese über der Flamme gerinnen läßt und die Schnitte direkt mit glattem Fließpapier auf die durch einen Hauch mit dem Munde angefeuchtete Eiweißschicht andrückt. Eine halbe Stunde im Thermostaten dicht unterhalb der Schmelztemperatur des Paraffins gehalten, kleben die Schnitte völlig fest, und man kann das Paraffin mit Xylol lösen und die Serie in Xylolbalsam einbetten. Die Lebensdauer dieser Präparate bemißt sich jedoch nur nach einigen Tagen, selbst wenn man GRÜBLERSCHEN neutralen Balsam nimmt; im Paraffin (auch geschnitten) hält sich die Färbung längere Zeit. Wasser, Glycerin, Nelkenöl, Alkohol usw. sind beim Aufkleben streng zu vermeiden. Daß diese Behandlung des Materials histologisch wenig schonend ist, darüber bin ich nicht im Zweifel, aber sie ist die einzige, die es ermöglicht, die Lokalisation der vital

gefärbten Substanz und ihre Struktur einigermaßen vollständig zu beobachten. Die bisher veröffentlichten Methoden¹⁾ mit übersättigten Molybdän-Alkohollösungen (die mühsam zu bereiten und nur wenige Tage haltbar sind) usw. geben durchweg schlechtere und unvollständigere Resultate. Dabei sehen meine Präparate nicht einmal so schlecht aus; auch die Schrumpfung ist gering.

Das Gewebe ist intensiv hellgelb gefärbt und die vital gefärbte Substanz tritt als schön dunkel braunrot gefärbte Körnchen scharf hervor. Die gefärbten Körnchen liegen stets intracellulär.

In erster Linie wird bei der Betrachtung die Aufmerksamkeit auf den Dotterwall gelenkt, denn hier sind die gefärbten Massen am größten und dichtesten gelegen. Unter einer großen Mehrheit völlig ungefärbter Dotterkugeln sind einzelne, meist an der Oberfläche des Keimwalles liegende ganz electiv und intensiv gefärbt, und zwar sind es meist nur solche, die sich bei starker Vergrößerung aus sehr feinen, dicht gedrängten Körnchen zusammengesetzt zeigen. Auch diejenigen Dottermassen, die man für zum Teil schon resorbiert halten muß, sind in dieser Weise gefärbt, und zwar zeigen jene kleinsten Körner meist eine helle Mitte und dunkelgefärbte Randmassen, so daß die Dotterkugeln bei flüchtigem Hinsehen in Form und Größe mit von Gonokokken dicht gefüllten Leucocyten vergleichbar sind. Dieselben Körnchen findet man in allen Geweben des Körpers, und zwar besonders gehäuft an allen Stellen, wo sich Falten bilden. Eine durchgehende Keimblätterspecificität findet sich nicht, wenn auch die ectodermalen Organe und ganz besonders das Centralnervensystem mit den Ganglien der Hirn- und Spinalnerven und den Sinnesorganen stark gefärbt wird. An den beiden Retinaschichten, an der Linse, an dem Medullarrohr eines reichlich dreitägigen Embryo lagen die Körnchen vorzugsweise an der freien Seite der Zellen. Das Gleiche konnte ich auch an den Urwirbelzellen eines Embryo mit zwei Urwirbeln beobachten, allerdings waren hier die Zellen der Medullarplatten an der basalen Seite stärker tingiert. Ich bin aber nicht sicher, ob hierbei die Farbe nicht durch die Alkoholbehandlung an der Oberfläche weggelöst ist. Jedenfalls kann man bei den heutigen ungenügenden Fixierungsmethoden aus der Lage der Körnchen keine sicheren Schlüsse auf die Orientierung der Zellachse ziehen.

Da nun jene Körnchen, die sich vital färben, identisch sind mit

¹⁾ GOLOVIN, Sur le fixage du Neutralrot. Zeitschr. f. Mikrosk. Techn. XIX. 1902. S. 176 ff.

den in den Zellen liegenden sogenannten Dotterkörnchen, die allgemein als die Reservestoffe der Zelle angesehen werden, da ferner die jungen Blutinsekeln und die Dotterträger, in denen der Dotter im Stadium des Resorbiertwerdens ist, die vital gefärbten Körnchen enthalten, und schließlich diejenigen Dotterkugeln, die zerfallen (emulgiert werden) und sich augenscheinlich in Resorption befinden, sich besonders intensiv färben, so ist wohl der Schluß gerechtfertigt, daß das Neutralrot und in etwas anderer Weise vielleicht auch die übrigen Vitalfarbstoffe (Fluorescein, Eosin usw., die das lebende Gewebe nur durchtränken und nichts in ihm färben, darf man nicht zu ihnen rechnen, wie es ZARETZKY tut) eine besondere Affinität zu jenem Abbauprodukt des Vitellins bzw. Assimilationsprodukt der Zelle haben, das in der Mitte zwischen totem Vitellin und lebendem Zelleiweiß steht. Die Giftwirkung des Neutralrots würde man sich dann so vorzustellen haben, daß, um im Sinne der Seitenkettentheorie EURLICHS zu reden, die haptophore Gruppe, die für gewisse Stoffe frei bleiben muß, um mit ihnen Körpereweiß zu bilden, derart mit Beschlag belegt wird, daß für jene kein Platz mehr ist, eine weitere Assimilation also ausgeschlossen ist, oder daß die feste Anlagerung des Neutralrots einen weiteren Abbau der Verbindung durch die Zellen unmöglich macht.

Das würde völlig verständlich machen, warum das Neutralrot an und für sich ungiftig ist, aber wie ZARETZKY richtig geahnt hat, ohne sich darüber völlig klar zu sein, Ernährungsstörungen bedingt, die die weitere Entwicklung des Embryo hemmen, aber nur dann, will ich gleich hinzusetzen, wenn man alle bereits gebildeten Assimilationsprodukte durch den Farbstoff für den Körper unbrauchbar macht und noch einen Überschuß von Farbe hinzufügt, der sich auch der jeweils von den Zellen neugebildeten Substanz bemächtigt. Vermeidet man dies, so kann man die Tiere bis kurz vor dem Ausschlüpfen am Leben erhalten. Das ist die Kunst der Neutralrotvitalfärbung. Das hat schon FISCHEL¹⁾ empfunden und bei seinen Vitalfärbungen an Amphibienlarven nur äußerst dünne Lösungen verwandt oder die Tiere nur kurze Zeit in einer stärkeren gelassen und dann in Wasser ohne Farbe gebracht. Für meine Auffassung von dem Charakter der sich mit Neutralrot färbenden Granula als

¹⁾ FISCHEL, Untersuchungen über vitale Färbung. Anat. Hefte. H. 52/53. 1901. (FISCHEL, Versuche mit vitaler Färbung. Archiv f. Entw.-Mech. XXII. 1906.)

Assimilationsprodukte sprechen auch die Befunde ARNOLDS¹⁾. ARNOLD betont immer wieder die große Ähnlichkeit der Bilder, die man bei Fettresorption in den Darmepithelien erhält, und der Neutralrotbilder in den Darmepithelien. Auch die Tatsache, daß man in phagocytierenden Leucocyten und in den Lymphspalten neutralrot gefärbte Granula findet, steht damit in Einklang, beteiligen sich doch die Leucocyten in hervorragender Weise an der Einschmelzung von Geweben, d. h. sie bauen die lebenden Eiweißkörper ab und assimilieren sie wahrscheinlich. Wenn sich ferner, wie angegeben wird, die Kerne der kernhaltigen roten Blutkörperchen vital mit Neutralrot färben, so bringt auch hier der Farbstoff ein Gebilde zur Darstellung, das seinen physiologischen Wert verloren hat und vielleicht überhaupt nicht mehr dem lebenden Protoplasma zuzurechnen ist.

Ich verfähre beim Färben folgendermaßen. Etwa 2 mmg Neutralrot werden in 2 cm³ destillierten Wassers unter schwacher Erwärmung gelöst und dann 0,75%ige Kochsalzlösung bis auf 20 cm³ nachgefüllt. Daß man dadurch eine geringe Hypotonie der Lösung bekommt, ist belanglos, zumal man bei der Färbung mit geringer Verdunstung rechnen muß. Mit einer Pipette nehme ich etwa $\frac{1}{4}$ cm³ Farblösung auf und bringe den an der Spitze hängenden Tropfen direkt in die Gegend der Keimscheibe, die durch Eröffnung des Eies freigelegt ist. Durch leichte kreisförmige Bewegung der Pipettenspitze dicht über dem Embryo bringe ich die Lösung an die Stellen, die ich zu färben wünsche, ohne zunächst mehr aus der Pipette fließen zu lassen. Ist der Tropfen verbraucht (die Lösung verfärbt sich bei Berührung mit dem Eiweiß gelblich), so wird ein neuer Tropfen in derselben Weise auf den Embryo gebracht. In einigen Minuten erzielt man so mit wenigen Tropfen sehr intensive Färbungen. Man verwende möglichst wenig Lösung, und auf einmal nie mehr als $\frac{1}{4}$ cm³ (worin nur 0,025 mmg Neutralrot enthalten sind), ist dann die Färbung noch ungenügend, dann bringt man das Ei verschlossen wieder in den Brutschrank, wo sich die Färbung oft in kurzer Zeit noch einstellt. Ist sie auch dann noch nicht genügend, so setzt man von neuem tropfenweis Farblösung zu. Bei sparsam und gut gefärbten Embryonen kann man sogar an den nächsten Tagen vorsichtige Nachfärbungen vornehmen. Diese gelingen, ein Beweis dafür, daß Neutralrot nicht im Überschuß war, und die Embryonalzellen aus den

¹⁾ ARNOLD, J., Über die Resorption vitaler Farbstoffe im Magen- und Darmkanal. Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss. 1911. Abh. 14. Ferner zahlreiche andre Abhandlungen ARNOLDS, die in dieser Arbeit angeführt sind.

Dotterkugeln neue Assimilationsprodukte geschaffen haben. Ich bewahre ein Hühnchen auf, das am zweiten Bebrütungstage intensiv mit Neutralrot gefärbt war und sich doch bis kurz vor dem Ausschlüpfen völlig normal weiterentwickelt hat. Es folgt also, daß ZARETZKY, der im Minimum 0,25, im Maximum 4 mmg (soweit sich aus seinen ungenauen Angaben berechnen läßt), also 10—160mal soviel injizierte als ich, Neutralrot im Überschuß verwandte, was sich auch an der Rotfärbung des Eiweißes zeigt, und dadurch die neugebildeten Assimilationsprodukte dauernd durch Färbung für den Körper unbrauchbar machte, so daß die Zellen schließlich an Erschlaffung zugrunde gingen. Übrigens wären für meine Versuche auch jene Überfärbungen brauchbar, da es mir nur auf das Studium der Verteilung der vital gefärbten Substanz und auf die Beobachtung des lebenden Embryo auf 2—3 Tage hinaus ankommt. Übrigens trägt es sehr zur Erhaltung des Embryo bei, wenn man möglichst wenig vom Keimwall selbst färbt, wo ja die ersten Assimilierungsprozesse vor sich gehen, und wo die meiste vital färbbare Substanz liegt.

FISCHEL beschreibt, daß in den Zellen der Bauchhaut sehr junger, aus dem Uterus herausgeschnittener Salamanderlarven, die zahlreich vorhandenen Dotterplättchen sich dem Neutralrot gegenüber vollkommen passiv verhalten, während doch gerade diese Zellen mit Ausnahme der von den Dotterplättchen durchsetzten Randschicht und der Kernzone ganz besonders dicht mit gefärbten Granula besetzt waren. Es spricht auch dieser Befund dafür, daß das Neutralrot weder den Dotter noch das lebende Protoplasma, sondern eine Übergangsstufe färbt, da ja gerade jene Zellen die Verarbeitung des Dotters übernehmen.

Das Trypanrot und besonders das Trypanblau werden von ZARETZKY als vitale Farbstoffe gerühmt. Er behauptet, daß beide Farbstoffe das Amnion besonders stark färben. Sollte hier vielleicht eine Verwechslung mit der Dotterhaut vorliegen, die allerdings sehr intensiv gefärbt wird? Das Amnion und den Embryo selbst fand ich in jungen Stadien stets ungefärbt mit Ausnahme von Farbniederschlägen an der Oberfläche von Spalträumen, z. B. am vorderen Neuroporus und amorphen Körnchen, die sich in der Primitivrinne und zuweilen im Innern des Hirnröhres finden und möglicherweise auf zugrunde gegangene Embryonalzellen zurückzuführen sind. Mit Trypanrot, dessen Lösungen durchsichtiger sind als die des Trypanblau, kann man wenigstens den Embryo sichtbar machen. Die rote

Lösung durchdringt nämlich die Dotterhaut sehr schnell, färbt sie dabei und verbreitet sich in der den Embryo umgebenden Flüssigkeit, so daß der Embryo ungefärbt aus rotem Grunde hervortritt. Allmählich wird dann der Embryo selbst von der Lösung durchdrungen und es treten dann seine dichteren Massen, wie Medullarrohr und Urwirbel, deutlicher hervor. Durch die Durchdringung auch dieser Gebilde wird das Bild später wieder undeutlicher. Eine eigentliche Färbung konnte nirgends beobachtet werden.

Zur Beobachtung der Wachstumsvorgänge an der Keimscheibe verschloß ich die Eier nach der Färbung des Embryo mit dem GERLACHSchen Embryoskop. Zur Betrachtung bediente ich mich eines ZEISSschen binocularen Mikroskops, in dessen eines Ocular ein Ocularmikrometer gelegt wurde. Anfangs benutzte ich durchfallendes Licht, das natürlich sehr intensiv sein muß und in leidlicher Helligkeit von der Nernstlampe des ZEISSschen Projektions-Zeichenapparats geliefert wurde. Das Bild der drei Leuchtstäbe wurde mittels Linsen und Spiegel von unten her in die Nähe der nach unten gerichteten Seite des Eies projiziert. Hierbei hoffte ich, durch die gleichzeitige stattfindende Erwärmung den Embryo zur Weiterentwicklung zu bringen, doch bemerkte ich eher Rückbildungserscheinungen, wohl weil die Messung und Regulierung der Temperatur nicht leicht exakt möglich ist. So hatten sich bei einem Embryo die Medullarfalten schon eine gewisse Strecke weit aneinander gelegt und entfernten sich nach einigen Minuten der Belichtung wieder voneinander. In den Brutraum zurückgebracht, glich sich diese Rückbildung wieder aus und es entwickelte sich ein normaler Embryo. Ich schiebe jenen Vorgang des Auseinanderweichens der Medullarfalten auf eine Überhitzung. Überhaupt macht es den Eindruck, als wenn sich unter dem Einfluß der Hyperthermie eine centrifugal wirkende Spannung in der Keimscheibe entwickelte, die alle normale Faltenbildung hemmt bzw. rückgängig macht, ja den Embryo an wenig widerstandsfähigen Stellen, z. B. am HENSENSchen Knoten, zu zerreißen vermag. Die Entstehung von Spina bifida durch Übererhitzung ist ja experimental bereits sichergestellt. Ich konnte solche Fälle wiederholt unter dem Mikroskop entstehen sehen und besitze von einigen auch photographische Reihenaufnahmen.

Die Photographie der lebenden Keimscheibe wurde nun erst möglich, als ich von dem immer rötlichen durchscheinenden Lichte zum auffallenden hellen Licht überging. Die Methode der Reihenphotographie ist natürlich der einfachen Beobachtung mit Hilfe des

Mikroskops und des Mikrometers zur Beurteilung der Wachstumsvorgänge weit überlegen. Obwohl man mit dem binocularen Mikroskop natürlich viel mehr sieht als auf der Platte, gestatten doch die Reihenaufnahmen die wiederholte Vergleichung der Bilder nicht nur in gerader, sondern auch in umgekehrter Reihe, und vor allem können zufällige Konfigurationen der vital gefärbten Substanz mit Sicherheit auf den einzelnen Aufnahmen identifiziert werden und dadurch wichtige Anhaltspunkte für Wachstumsverschiebungen geben. Zufällige Unreinigkeiten, die auf der Dotterhaut liegen oder sich sonst in der Nähe der Keimscheibe befinden und auch meist auf vielen Aufnahmen wiederkehren, lernt man bald durch Vergleichung und Messung ausschalten, denn ihre Bewegungen sind immer unregelmäßig und verlaufen meist in andern Richtungen, als die der wachsenden Massen. Bei der Technik der Aufnahme sind natürlich zahlreiche Vorsichtsmaßregeln zu beachten, damit die Aufnahme für vergleichende Messung brauchbar wird. Das Ei muß bei jeder Aufnahme geöffnet werden. Zwischen Mikroskopobjektiv und der den Embryo deckenden Eiweißschicht dürfen sich keinerlei brechende Flächen befinden, die das Bild verzeichnen, Reflexe geben können und die Helligkeit verringern. Die Vergrößerung muß stets genau dieselbe sein. Der Embryo muß stets parallel mit der Plattenebene liegen, es darf sich kein Eiweißmeniscus mit auf die Platte projizieren und vieles andre mehr. Man arbeite möglichst schnell und sauber (steril zu arbeiten ist bei Beobachtung bis zu 60 Stunden unnötig) und verzichte zugunsten der Lebensfähigkeit des Embryo auf jede Beobachtung mit Ausnahme der auf der Einstellscheibe. Es empfiehlt sich nicht, öfter als halbstündig Aufnahmen zu machen. In der Zwischenzeit gönne man dem Embryo Ruhe im Brutofen.

Wer nun oft vitale Neutralrotfärbungen am lebenden Hühnchen macht, dem muß auffallen, daß sich kaum zwei Embryonen qualitativ und quantitativ gleich färben. Von großem Einfluß ist hierbei der Zeitpunkt der Färbung. Ein eben gefärbter Embryo ist immer mehr diffus gefärbt als einer, der längere Zeit nach der Färbung bebrütet worden ist. Bei diesem ist die Färbung gewöhnlich differenter und instruktiv zum Studium. Bei noch längerer Bebrütung kann dann die Färbung wieder schwächer werden, im Gegensatz zu den Beobachtungen FISCHELS, der bis zur Metamorphose seiner Larven die Körnchen unverändert fand. Es kann dies entweder daran liegen, daß schließlich doch die Zellen jene Neutralrotverbindung zum Teil zu assimilieren oder zu zerlegen und zu entfernen

vermögen, oder daran, daß bei einer fortgesetzten Zellvermehrung dieselbe Anzahl Neutralrotkörner auf eine größere Menge von Zellen kommt.

Immer gelingt die Färbung des Centralnervensystems, des Keimwalles und der Substanzinseln der Area vasculosa und des Amnionnabels. Auch die Urwirbel lassen sich gut darstellen. Schöne klare Bilder bekommt man aber nur, wenn das Ectoderm wenig gefärbt ist. Dasselbe gilt für die Sichtbarkeit der Neuromeren des Rautenhirns und der Ganglien des Acustico-Facialis, des Glossopharyngeus und des Trigemini (nach der Häufigkeit ihrer Sichtbarkeit geordnet). Häufig sind die Placoden der Hirnnerven intensiv gefärbt, seltener die Spinalganglien, die dann die Urwirbelgrenzen verdecken oder eine Struktur der Urwirbel vortäuschen können. Das sich abhebende Schwanzende des Embryo zeigt gleichfalls starke Anhäufung von Körnchen. Die Sichtbarkeit der vorderen Darmforte schwankt und das Herz ist in jungen Stadien nur selten (Venae omphalo-mesentericae), oft erst dann zu sehen, wenn es sich auf der rechten Seite des Kopfes hervorwölbt und bereits langsam pulsiert. Die Sinnesorgane variieren ähnlich wie die Placoden der Nerven in der Färbung. Meist erscheinen die Nasen- und Linsengruben tief rot, das Gehörbläschen wird mehr durch seine verdickten Wandungen sichtbar und der Augenbecher kann die oben erwähnte Körnelung an der freien Seite der Zellen zeigen, aber auch fast völlig ungefärbt sein. Dann ist aber wenigstens die fötale Spalte des Stiels der Augenblase gefärbt. Kurz, die Bilder sind außerordentlich verschieden, und man darf daher auch nicht erwarten, alle Bewegungsvorgänge an der Aufnahmenreihe eines einzigen Embryo zu sehen.

Zur Demonstration habe ich zunächst 16 Aufnahmen aus der Serie eines Embryo (*U*) ausgewählt, bei dem man auf den Negativen wenigstens beinahe alles durch die Vitalfärbung am lebenden Embryo Darstellbare sehen kann. Leider hat sein Leben durch ein Versehen dessen, der mich auf kurze Zeit im Photographieren ablöste, ein vorzeitiges Ende gefunden, und unglücklicherweise ist gerade die letzte Aufnahme durch doppelte Exposition verdorben. Auf den Kopien und noch mehr auf den Reproduktionen gehen natürlich einzelne Feinheiten, die nur eben sichtbar sind, aber zur wissenschaftlichen Beurteilung und Messung genügend scharfe Marken geben, verloren. Man bedenke auch bei der Beurteilung dieser Bilder, daß es sich um die Sichtbarmachung bisher so gut wie unsichtbarer lebender Embryonen handelt.

Bei der Besprechung der Abbildungen werde ich mich oft auf die Abbildungen in DUVALS¹⁾ Atlas beziehen und auch möglichst die dort gegebenen Bezeichnungen benutzen. Meine Fig. 1 Taf. XVII entspricht DUVALS Fig. 68. Man sieht deutlich die vorn durch den HENSENSchen Knoten abgeschlossene Primitivrinne und den sich daran anschließenden mittellangen Kopffortsatz, an dessen Vorderende man bereits einen queren Schatten sieht, der von DUVAL an späteren Stadien mit *A* bezeichnet ist und das vordere Kopffende darstellt. Von ihm aus ziehen zwei Schatten leicht divergent nach hinten, welche die sich erhebenden Medullarfalten darstellen (von DUVAL unbezeichnet); von zwei noch weiter nach außen liegenden Schatten, die auch auf den DUVALSchen Figuren zwar gezeichnet, aber offenbar in ihrer Bedeutung als seitliche Kopffalten (DUVAL: an späteren Stadien *ex*) nicht erkannt sind, soll erst später bei Besprechung der Fig. 17 ff., wo sie besser zu sehen sind, die Rede sein. Weiter nach vorn ist die vordere Sichel (*CA*) scharf begrenzt sichtbar. In den folgenden Fig. 2 und 3 ist die Wanderung des HENSENSchen Knotens nach hinten zu erkennen, indem sich der Kopffortsatz auf Kosten des Primitivstreifens verlängert. In Fig. 3 bezeichnet auch eine medianwärts gerichtete Vorbuchtung der sich nähernden Medullarschatten die Stelle, an der sich die Medullarwülste später zuerst aneinander legen. In Fig. 3 ist auch auf dem Negativ noch kein deutlich abgegrenzter Urwirbel sichtbar, obgleich, der Fig. 70 DUVALS entsprechend, sicher bereits einer vorhanden ist. Dagegen sind die Urwirbelgrenzen auf einem zwischen Fig. 3 und 4 liegenden Negativ bereits erkennbar. Daß die Urwirbel in einem Stadium wie Fig. 4 (etwas älter als DUVALS Fig. 71) schwer sichtbar sind, liegt daran, daß die sich erhebenden Medullarfalten gerade über der Reihe der ersten Urwirbel liegen und sie dadurch undeutlich machen. Immerhin ist auf dem Negativ eine Orientierung möglich. Übrigens ist — auch an fixierten Präparaten — die erste Urwirbelgrenze anfangs schwerer zu sehen als die zweite, weil, wie Sagittalschnitte zeigen (vgl. auch DUVALS Fig. 203), die Spalten dorsoventral schräg stehen, und zwar die erste stärker als die folgenden. In Fig. 4 ist der Moment zu sehen, in dem sich die Medullarfalten aneinander legen. Durch messende Vergleichung mit den folgenden Stadien kann man leicht feststellen, daß jene Strecke, die sich zuerst zusammenlegt — es ist immer eine Strecke, kein

1) DUVAL, Atlas d'Embryologie. Paris. 1889. (Massen).

Punkt — fast genau dem späteren Mittelhirn entspricht, und daß der vordere offene, löffelförmige Teil das spätere Vorderhirn ist. Außerdem sind in Fig. 4 die seitlichen Kopffalten bereits scharf begrenzt und die vordere Darmforte erkennbar. Sehr schön ist auch die Chorda dorsalis sichtbar.

Es ist mir trotz zahlreicher Beobachtungen an lebend vom Dotter abpräparierten Keimscheiben nicht gelungen, jene von HILL¹⁾ beschriebene primäre Segmentierung der Medullarplatten nachzuweisen, die man mit der späteren Neuromerie vergleichen könnte.

Die Fig. 5 und 6 Taf. XVII zeigen einen weitergehenden Schluß der Medullarfalten und bereits eine deutliche Segmentierung in Vorderhirn und Mittelhirn, während das Hinterhirn noch größtenteils offen und noch nicht scharf vom Mittelhirn abgesetzt ist. Der Kopf ist schon weit abgehoben und die vordere Darmforte nach hinten gewandert. In Fig. 7 und 8 sieht man die seitlichen Ausstülpungen des Vorderhirns. Daß es sich tatsächlich um eine Ausstülpung und nicht um ein Wachsen in die Breite handelt, sieht man aus der Verkürzung, die das Vorderhirn gleichzeitig erleidet. Diese Verkürzung macht sich auch in den Maßen des Embryo geltend und bedingt, daß der Kopf, gemessen von der ersten Urwirbelgrenze bis zum Vorderende, ein wenig kürzer wird, eine Erscheinung, auf die wir bei Besprechung der Kurven noch zurückkommen werden. An Fig. 7 und 8 sind ferner noch die gegen früher eingetretene Verschmälerung der Area pellucida, die stark zunehmende Verschmälerung des Sinus rhomboidalis und die sichtbar werdenden Schatten der Venae omphalo-mesentericae zu beachten, Erscheinungen, die in den Fig. 9—11 immer auffallender werden. Besonders die plötzlich einsetzende und rasch verlaufende Verschmälerung des Sinus rhomboidalis beansprucht erhöhtes Interesse, denn sie hängt mit der Bildung des Canalis neurentericus aufs innigste zusammen. Wir haben schon gesehen (und es wird bei der Besprechung der Fig. 17 bis 24 nochmals die Rede davon sein), daß der Primitivstreifen dadurch in den Kopf fortsatz übergeht, daß der HENSENSCHE Knoten nach hinten rückt. Diese Bewegung ist genau der einer Welle zu vergleichen. Es rücken nämlich keine Zellen nach hinten (wie auch bei der Welle das Wasser keine horizontale, sondern nur eine vertikale Bewegung macht), sondern die den HENSENSCHEN Knoten bil-

¹⁾ HILL, CH., Developmental history of primary segments of the Vertebrate head. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. 1900.

denden Zellen sind immer andre, hinter den ersten gelegene. Diese Wellenbewegung sistiert plötzlich, und die Medullarfalten umschließen diese Stelle und erheben sich auch hinter dem Canalis neurentericus an Stelle der inzwischen verflachten Primitivfalten. Wenn nun, wie allgemein angenommen wird, die vom HENSENSchen Knoten aus cranial unter dem Ectoderm zurückbleibenden Zellen dem Entoderm-säckchen der Reptilien zu vergleichen sind, so ist der Durchbruch des Canalis neurentericus, wie er bei vielen Vögeln stattfindet, direkt mit dem Durchbruch des Entoderm-säckchens der Reptilien nach dem Dotter in Parallele zu setzen (SCHAUINSLAND), nur daß bei den Vögeln dieses Säckchen zum größten Teil solid ist und folglich der Durchbruch sich nur auf das hinterste Stück beschränkt, wo eben ein Rest der Höhlung noch sichtbar ist.

Daß der Urmundschluß bei den Vögeln von vorn nach hinten entsprechend der Wanderung des HENSENSchen Knotens geschieht, ist sicher; es fragt sich nur, ob außer jener einfachen Wellenbewegung noch ein Verschmelzen seitlicher Falten stattfindet.

Hier möchte ich eine Bemerkung einschalten. FUNCCIUS bestritt die Entstehung der vorderen Darmpforte durch Verschmelzen seitlicher Entodermfalten hauptsächlich aus dem Grunde, weil man keine Spur einer Naht erkennen könne, wie z. B. beim Medullarrohr. Dieser Grund beruht auf einem alten Irrtum und ist nicht stichhaltig, wovon man sich leicht an zwei einfachen Modellen überzeugen kann.

1) Man biege einen Glasstab wie Textfig. 1 und verschmelze die beiden längs aneinander liegenden Strecken von der Mitte aus: die Enden der Verschmelzungsstrecke werden stets eine Naht zeigen.

2) Man biege einen Glasstab wie Textfig. 2 und setze als Handhabe an der Biegungsstelle einen Glasstab an; dann lasse man die Flamme direkt in den Verschmelzungswinkel schlagen, und es wird selbst ohne Übung leicht gelingen, eine vollständige Verschmelzung, wie Textfig. 3 zeigt, ohne jede Naht zu erreichen, es rückt einfach die bogenförmige Grenze in der Richtung des Pfeiles vor, und hinter ihr bleibt eine nahtlose Verschmelzung. Die Pfeile deuten die Richtung der Verschmelzung an. Der Parallelismus des Modells Textfig. 1 zum Schluß des Medullarrohrs und der Textfig. 2 und 3 zur Verschmelzung der Schenkel der vorderen Darmpforte ist ohne weiteres klar. Daraus geht auch hervor, in welchem Sinne der von mir l. c. gebrauchte Ausdruck »Verschmelzung« zu verstehen ist. Wie sehr aber überhaupt die Beweisführung FUNCCIUS hinkt, kann man aus

folgendem ersehen. Er bezweifelt das Rückwärtsrücken der vorderen Darmpforte bei Embryonen von 2—14 Urwirbeln, also solchen des zweiten, höchstens vom Anfang des dritten Tages der Bebrütung, und als Beweis dafür bringt er Rekonstruktionen von Nabelflächenbildern von 4—6 Tage alten Taubenembryonen, wo natürlich ganz andre Verhältnisse bestehen! Aber selbst da hinkt seine Beweisführung. Daß die Längenausdehnung allein hier nicht mehr maßgebend ist, ist zwar richtig. Wenn man aber messen will, ob Randpartien eines Loches verwachsen sind, muß man eben den Rand, d. h. den Umfang, messen und nicht den Flächeninhalt. Ein Riß von $\frac{1}{2}$ m Länge in einem Tuche kann ein Loch von wenigen cm^2

Fig. 1.

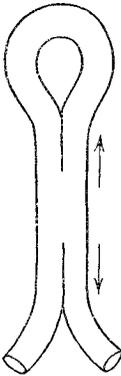


Fig. 2.

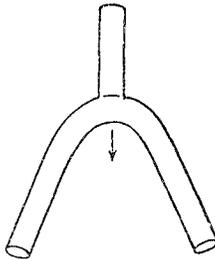
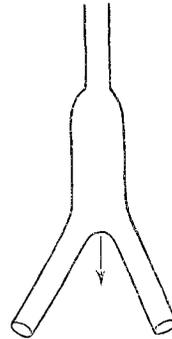


Fig. 3.



einschließen, und wenn man eine große Strecke vernäht und den übrigbleibenden Spalt breit zieht, kann man eine weit größere Lochfläche erhalten. So ist auch die Fläche der von FUNCCIUS gegebenen Nabelflächenbilder annähernd gleich, der Umfang ist aber in Fig. 57 die Hälfte von dem der Fig. 58.

In ähnlicher Weise, wie Textfig. 3, könnte man sich auch bei dem Schluß des Urmundes bzw. dem Rückwärtsrücken des HENSEN-schen Knotens eine Beteiligung seitlicher Falten denken. Ich halte dies sogar für sehr wahrscheinlich, da während dieses Vorganges sich die Area pellucida etwas verschmälert, wie man in Fig. 17 ff. Taf. XVII sich leicht überzeugen kann (nicht zu verwechseln mit der durch das Erheben der Medullarfalten hervorgerufenen Verschmälerung). Ich hoffe mit meiner Methode noch sichere Beweise dadurch zu erlangen, daß ich eventuell das Aneinanderrücken von zufällig stärker gefärbten Massen darstellen kann. Außerdem ist ja bekannt,

daß O. HERTWIG¹⁾ Reste einer Naht im HENSENSchen Knoten gesehen hat.

In Fig. 12 Taf. XVII ist die Neuromerie des Rautenhirns schon deutlicher geworden, und am ersten und dritten Neuomer sind schon zwei schwache Schatten wahrnehmbar, die Ganglien des Trigemini und Acustico-Facialis, deren Deutlichkeit an den folgenden Figuren noch zunimmt. Inzwischen hat übrigens die vordere Darmpforte die erste Urwirbelgrenze nach hinten überschritten und ist an diesem Embryo etwas undeutlich. In Fig. 13 ist die Grenze der mesodermfreien Zone und der sich nach rechts vorwölbend verwischte Schatten des pulsierenden Herzens beachtenswert. Es ist auch bemerklich, daß der Embryo sich nach links leicht konkav gekrümmt hat. Das ist an allen Embryonen zu sehen und stellt die erste Vorbereitung zur Seitenlagerung des Embryo dar. Diese wird auf den folgenden Figuren deutlicher, und damit wird auch die Scheitelkrümmung sichtbar. In Fig. 15 beachte man die Sichtbarkeit des Glossopharyngeus, der ungefähr parallel mit dem Acustico-Facialis etwas nach hinten läuft, während der Trigemini schräg nach vorn zieht.

Um die Hirnnerven besser zu zeigen, habe ich in Fig. 28 Taf. XVII eine Aufnahme aus der Serie eines beginnenden Cyclocephalen ausgewählt, die gerade wegen des aufgetriebenen Kopfes die vital gefärbten Nerven (Trigemini, Acustico-Facialis, Glossopharyngeus) besonders gut erkennen läßt. Wegen der sich so intensiv färbenden Ganglien ist übrigens die Beobachtung am vital gefärbten Objekt für das Studium dieser Gebilde am Totalpräparat der am fixierten und gefärbten Embryo überlegen, an dem die Nerven nie so gut sichtbar sind.

Beim Vergleich mit den vorhergehenden Figuren bemerkt man auch das Näherrücken einer scharfen Grenze an den Kopf: die vordere Amnionfalte. Fig. 16 — wie schon erwähnt technisch sehr fehlerhaft — ist nur gebracht, weil sie die letzte Aufnahme des Embryo ist. Sie zeigt ihn schon in halber Seitenlage.

Von den Urwirbeln war bisher wenig die Rede. Es läßt sich an der Serie der Negative dieses Embryo leicht nachweisen, daß vom Stadium von zwei Urwirbeln an bis zu den letzten Aufnahmen, wo der erste Urwirbel dicht hinter dem Gehörbläschen liegt, vor dem ersten Urwirbel sicher kein zweiter auftritt. Im Stadium von

1) O. HERTWIG, Die Lehre von den Keimblättern. Handbuch d. vergl. und experim. Entwicklungslehre. Bd. I.

1 + 1¹⁾ Urwirbeln sind die Urwirbelgrenzen schwer sichtbar, und zwar ganz charakteristischerweise die erste Urwirbelgrenze undeutlicher als die zweite. Darin mag wohl auch zum Teil die Ansicht begründet sein, daß vor dem ersten Urwirbel noch weitere auftreten. Meine Vermutung, daß jene schwerere Sichtbarkeit der ersten Urwirbelgrenze auf einer Schrägstellung der Spalte beruhe, hat sich an Schnitten bestätigt (s. DUVALS Fig. 203), wo die erste Spalte größere Neigung hat als die folgenden. Unter Berücksichtigung dieser Tatsache kann man sagen, daß vor dem ersten Urwirbel kein weiterer auftritt, daß also die erste Urwirbelspalte ein konstant bleibender Meßpunkt ist.

Ich wende mich nun zur Besprechung der Fig. 17—24 Taf. XVII. Sie entstamme meiner Serie des lange Zeit beobachteten Embryo *V*. Von der Wiedergabe der ganzen Serie muß ich leider absehen, obgleich sie viel Interessantes bieten würde. Ich gebe in den Fig. 25, 26, 27 Taf. XVII nur einzelne Aufnahmen desselben Embryo wieder, die zeigen sollen, daß er sich völlig normal entwickelte, obgleich die Medullarfalten anfangs sehr viele Querfalten hatten. Sollte HILL vielleicht derartige Falten für primäre Neuromeren gehalten haben? In Fig. 25 sind der Kopfdarm, das Herz und die Venae omphalomesentericae, in Fig. 26 außer dem Herzen die Hirnnerven und die Kopfscheide des Amnions, in Fig. 27 Linse und Hörbläschen beachtenswert. Die Urwirbel waren bei diesem Embryo nur wenig deutlich. In den Anfangsstadien ist aber vieles besonders schön zu beobachten, z. B. das Rückwärtsrücken des HENSENSchen Knotens, die Verschmälерung der Area pellucida durch das Aneinanderrücken der Primitiv- und Medullarfalten. Man sieht an mehreren Bildern, wie die Schatten, welche die sich erhebenden Medullarfalten darstellen, dicht vor dem HENSENSchen Knoten sich plötzlich um eine gewisse Strecke (= Breite der Primitivrinne) nähern als Ausdruck für den Schluß der Primitivrinne (Urmund). Besonders beachtenswert ist aber neben dem Vorrücken der vorderen Darmpforte (in Fig. 21—24) die Bildung der seitlichen Kopffalten. Man suche sie zunächst in Fig. 20 auf, wo sie das Vorderende des Kopfes parabelförmig umgeben. Je mehr man nun auf die jüngeren Stadien zurückgeht, desto weiter liegen die seitlichen Kopffalten auseinander, ja man sieht sie sogar am Primitivstreifen mit mittellangem Kopffortsatz (Fig. 17) als

¹⁾ Nach C. RABL ist das vor dem ersten proximal und distal scharf begrenzten Urwirbel liegende, nach vorn nicht abgegrenzte verdichtete Mesoderm als »+1« mitgezählt.

zwei seitlich von diesem gelegene, fast parallele Schatten. In den späteren Stadien (Fig. 21—24) sieht man die Falten sich immer mehr nähern. Damit ist wohl bewiesen, daß sich der Embryo wirklich durch seitliche Faltenbildung von der Keimscheibe abhebt, was FUNCCIUS bekämpft.

Mit diesem in der Querrichtung stattfindenden Faltungsprozeß geht allerdings ein zweiter in der Längsrichtung wirksamer Hand in Hand, ein Vorgang, der wohl nur durch Reihenphotographie nachgewiesen werden kann. Die Abbildungen Fig. 29—32 Taf. XVII entstammen der Serie eines Embryo, der bis zum Alter von 14 + 1 Urwirbeln beobachtet und dann konserviert wurde. Am linken Rande der Area pellucida sieht man ungefähr in der Höhe des vorderen Kopfendes eine sich scharf abhebende Blase — eine jener Zufälligkeiten, die für die Beurteilung der Reihenphotographie so wichtig sind.

Zieht man vom Vorderrand dieser Blase eine Horizontale (senkrecht zur Längsachse des vor dem HENSENSchen Knoten gelegenen Teiles des Embryo) und versucht von dieser Linie bis zum vordersten Rande der Area pellucida zu messen, so wird man sich sofort der Schwierigkeit einer solchen Messung bewußt; während nämlich in Fig. 29 eine scharfe vordere Grenze besteht, wird sie in den Fig. 30 und 31 unscharf, und speziell jene kleine Ausbuchtung, die den vordersten Punkt barg, wird allmählich ausgeglichen. Diese Unschärfe kommt durch eine Wulstung des vorderen Randes zustande, die im Betrage von höchstens 0,5 mm (Plattenmaß) in den vier Abbildungen gegen den Embryo hinrückt. Innerhalb des Randes ist eine zweite scharfe, ungefähr gleichlaufende Kontur sichtbar. Diese ist in ihrer Verschieblichkeit von dem Rande völlig unabhängig; man beachte nur ihren zarten, nach links zu ziehenden horizontalen Ausläufer¹⁾, der in der Abbildung 29 auf den hinteren Teil jener Blase, in Fig. 30 auf den vorderen Teil und in Fig. 31 auf ihren vorderen Rand zeigt. Die Verschiebung der Konturen kommt dadurch zustande, daß zwischen ihnen in früheren Stadien sich eine Reihe konfluierender, für den vorderen Rand der Area pellucida so charakteristischer, im Dotterentoderm liegender Blasen befand. Diese Blasen gehen oft außerordentlich rasch (vielleicht durch Platzen) zugrunde, wie auch die Blase der Fig. 31 in Fig. 32 verschwunden und nur ihr Rand als dunkler Ring noch sichtbar ist. Es darf also der Vorderrand der Keimscheibe in solchen Stadien nicht zur Messung benutzt werden,

1) Auf der Reproduktion nur sehr schwer erkennbar.

da die Veränderungen in seinem Bereiche stoßweise und unregelmäßig erfolgen oder wenigstens erfolgen können. Trotzdem ist aber die Annäherung der vorderen Kontur an eine durch zwei markante Punkte der Seitenränder gezogene Horizontale nicht allein auf das Schwinden jener Blasen zu beziehen, sondern zum Teil auch auf jene von vorn unter den Embryo eindringende Falte und auf die sich einstülpende Ectodermtasche, nur daß sich diese Bewegung weniger am vorderen Keimscheibenrand als an einzelnen, dem Embryo näherliegenden Schatten bemerkbar macht, die radiär auf die Ectodermtasche zuwandern. So ist es auch erklärlich, daß, wenn man von jener früher erwähnten Horizontale oder von der Verbindungslinie zweier markanter Punkte der Seitenränder der Area pellucida nach dem Vorderende des Embryo mißt, dieser sich gegen jene Linien in den erwähnten Stadien höchstens um 1,2 mm (an der Platte gemessen) nach vorn schiebt. Wenn aber die Darmforte ein fester Punkt wäre, über den der Embryo hinauswüchse, so müßte diese Verschiebung im Minimum 5 mm betragen (Entfernung der vorderen Darmforte vom Vorderrande in Fig. 32 5,6 mm), ganz abgesehen davon, daß dann das ganz auffällige Wachstum der Keimscheibe nach hinten unbegründet wäre. In Fig. 31 ist das Maximum der Verschiebung (1,2 mm) abgebildet. In Fig. 32 geht diese Verschiebung wieder wesentlich zurück, weil das Vorderhirn inzwischen sich verkürzt, wie wir oben bereits gesehen hatten. Nicht unerwähnt darf bleiben, daß die in den Kurven festgelegten Messungen ergeben haben, daß der Kopf des Embryo von der ersten Urwirbelspalte bis zum Vorderende während des Auftretens der ersten fünf Urwirbel noch durchschnittlich etwa 0,5 mm (Plattenmaß) nach vorn wächst (die in den obigen 1,2 mm mit eingerechnet sind). Die Vergrößerung der Aufnahmen ist etwas mehr als fünffach. Demnach würde der Kopf, und zwar nur in der ersten Zeit, um 0,1 mm aus sich selbst heraus wachsen. Das geschieht aber zu einer Zeit, wo die Anlage der vorderen Darmforte außerordentlich variiert. Bei manchen Embryonen ist sie schon eine Strecke weit vorgerückt, während sie bei den meisten noch gar nicht sichtbar ist, so daß dieses geringe Wachstum für das Vorrücken der Darmforte belanglos ist.

Es dürfte also mit diesen Beobachtungen erwiesen sein, daß die vordere Darmforte kein fester Punkt ist, sondern von vorn nach hinten rückt.

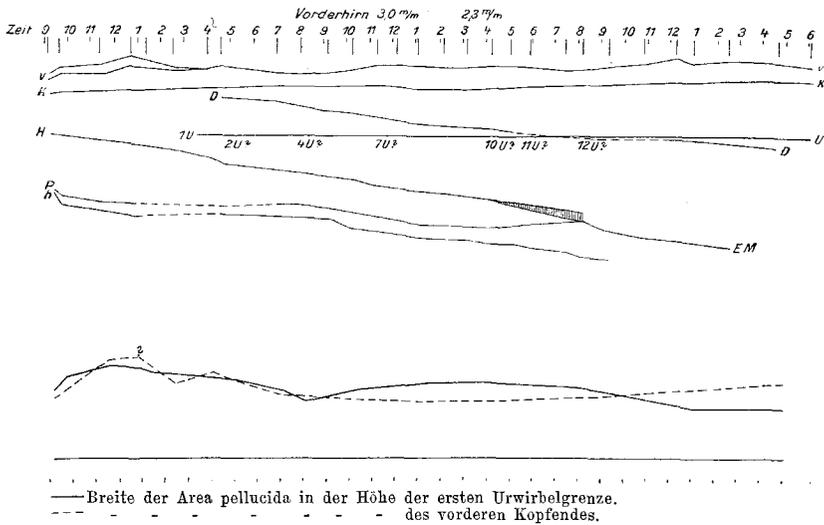
Nach dem bisher Gesagten kann ich mich bei der Besprechung der Kurven kurz fassen. Als Grundlinie wurde die erste Urwirbel-

grenze gewählt; auf ihr wurden genau in den Längen der Photographien aufgetragen¹⁾: der vordere und hintere Rand der Area pellucida (v und h), das vordere Kopfbende (K), der HENSENSCHE Knoten (H), das Hinterende der Primitivrinne (P), die vordere Darmforte (D). Mit EM ist das Hinterende der Medullarfalten bezeichnet. An Punkte, die nicht ganz scharf bestimmt werden konnten, wurde ein Fragezeichen gesetzt und die Verbindungslinie solcher Punkte gestrichelt. Die Kurven wurden nur bis zu dem Stadium geführt, in dem der Embryo beginnt, seine völlig gestreckte Lage zu verlieren. Für die späteren Stadien, die uns bei den hier verhandelten Fragen weniger interessieren, müßte man die Kurven in ganz anderer Weise anlegen. Für die jüngsten Stadien, an denen die erste Urwirbelspalte noch nicht sichtbar ist, ist die Beziehung auf jene Grundlinie unsicher. Die Eintragung der im übrigen natürlich richtigen Längen in die Kurve geschah nach dem harmonischen Weiterverlauf der Kurven, besonders der des vorderen Kopfbendes, und dürfte der Wirklichkeit entsprechen. Die Grundlinie ist dementsprechend erst von der Stelle an ausgezogen, wo die erste Urwirbelgrenze sichtbar war. Textfig. 4 stellt die Wachstumskurve des Embryo U dar, der in den Fig. 1—16 Taf. XVII abgebildet ist. Die Linie, die den Vorderrand der Area pellucida bezeichnet (v), ist anfangs doppelt und unregelmäßig schwankend, eine Tatsache, die mit der oben erwähnten Blasenbildung und ihrem Zerfall im Dotterentoderm zusammenhängt. Dann steigt die Linie unter beständigen Schwankungen langsam an, um schließlich in die Kontur der vorderen Amnionfalte überzugehen und mit ihr sich dem Embryo wieder zu nähern. Bei der hinteren Grenze der Area pellucida (h) sehen wir im Primitivstreifenstadium ein rasches Vorrücken, dem Längenwachstum entsprechend, dann um die Zeit der ersten Urwirbelbildung ein geringes Zurückgehen — wohl infolge der sich mächtig entwickelnden Blutinseln — und dann wieder vom Stadium von etwa drei Urwirbeln an ein stetiges Vorrücken, bis sie schließlich außerhalb des Bereichs der Platte fällt. Am interessantesten ist die Linie des vorderen Kopfbendes (K), insbesondere im Vergleich mit FISCHELS Fig. 9 (Tabelle b) S. 395, in der er eine Kurve aus den Mittelwerten seiner Messungen zusammengestellt hat. Die Linie

¹⁾ Leider ist bei der Reproduktion durch verschiedenartige Verkleinerung der Kurven ihr Vergleichswert herabgemindert worden. Das Größenverhältnis ist bei jeder Kurve angegeben. Alle im Text aufgeführten relativen Zahlen beziehen sich auf die fünffach vergrößerten Originalaufnahmen.

steigt an, bis sie ein Maximum auf der Strecke zwischen vier und sieben Urwirbeln erhält. Nunmehr senkt sie sich ein wenig, hat ihren tiefsten Punkt etwa bei neun Urwirbeln und erreicht die frühere Höhe wieder etwa bei elf Urwirbeln. Nunmehr steigt die Linie in einzelnen Fällen weiter ganz allmählich, meist aber bleibt sie erst längere Zeit auf gleicher Höhe, um erst dann wieder zu steigen. Bei Embryo *U* (Textfig. 4) beträgt jene Einsenkung der Linie von sieben nach neun Urwirbeln 0,7 mm auf der Platte, am lebenden Embryo also 0,14 mm. Diese Einsenkung der Linie *K*, d. h. das

Fig. 4 und 4 a.



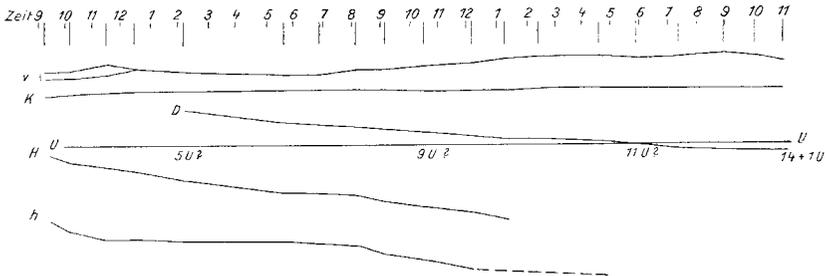
Embryo *U*, 33 Stunden beobachtet. Etwa 3,4/1 der natürlichen Maße.
Die in der Kurve eingetragenen Längen des Vorderhirns beziehen sich auf eine fünffache Vergrößerung. Die absoluten Längen betragen also 0,6 bzw. 0,46 mm.

Kürzerwerden des Kopfes während der Verbreiterung des Vorderhirns (Vorbereitung zur Ausstülpung der primären Augenblasen) ist zwar gering, aber äußerst konstant und fehlte in keinem meiner Fälle (vgl. die Textfig. 4–8). Es ist der Ausdruck dafür, daß das Längenwachstum des Kopfes während dieser Zeit des Breiterwerdens völlig sistiert, denn die Länge des Kopfes hat genau um ebensoviel abgenommen (0,7 mm = 0,14 mm reale Länge) als die Länge des Vorderhirns, dessen Längen in der Kurve an den betreffenden Stellen eingetragen sind.

FISCHEL hat nun in seiner Wachstumskurve aus Mittelwerten bei neun Urwirbeln auch eine, wenn auch etwas tiefe Einsenkung be-

kommen. Der Zufall wollte es, daß er von Embryonen dieses Stadiums nur drei zur Verfügung hatte. Deshalb hält er diese Einsenkung der Kurve für zufällig. Es ist ja richtig, daß auch die übrigen Durchschnittszahlen, die eigentlich nicht kleiner hätten sein sollen, niedriger sind als die des vorhergehenden Stadiums, und dies berechnete gewiß dazu, diese Embryonen auszuschalten. Der Umstand aber, daß auch für das Stadium zehn Urwirbel die Zahl der Linie *b* (bei im übrigen größeren Zahlen) kleiner war als die entsprechende des Stadiums acht Urwirbel, hätte vielleicht doch schon aus diesem statistischen Material den Schluß auf einen wirklich bestehenden Längenverlust erlaubt. (Gewagt wird ein solcher Schluß bei Stadium 13—14 Urwirbeln für die Strecke *c*, eine Strecke, die ich nicht gut messen kann, weil sich die jüngsten Urwirbel nur undeutlich abheben.)

Fig. 5.

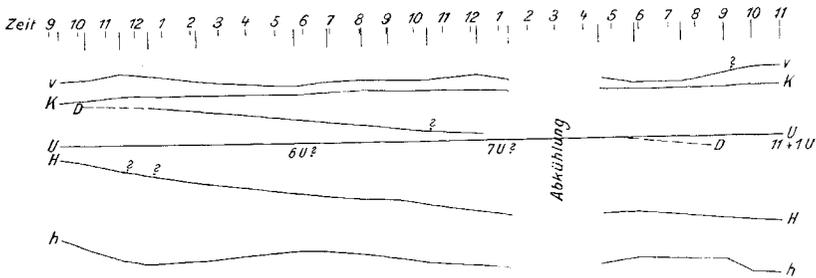


Embryo *P*, 26 Stunden beobachtet. Etwa 3,8/1 der natürlichen Längenmaße.

Ich kann bei Besprechung der Kopflänge (FISCHEL, Strecke *b*) nicht unerwähnt lassen, daß ich die Angriffe FISCHELS gegen HIS (S. 395) für etwas zu scharf halte, und glaube, daß die Differenzen in der Messung FISCHELS und HIS' nur auf verschiedenen Meßmethoden beruhen. Gewiß ist es nicht zu billigen, wenn HIS aus acht konservierten Embryonen (acht lebend beobachtete wären genügend) Schlüsse auf Wachstumsvorgängen macht. Andererseits aber muß ich bei großer Bewunderung der FISCHELSchen Arbeit über Variabilität und Wachstum der wahrscheinlich von HIS angewandten Meßmethode den Vorzug geben. Um ein Beispiel zu geben: An der DUVALSchen Fig. 107 (27 Urwirbel) mißt FISCHEL die Länge *b* 1,70 mm, d. h. bei 20facher Vergrößerung der Abbildung 34 mm. Daraus geht hervor, daß er einfach die gerade Linie von der ersten Urwirbelgrenze bis zum Vorderende des Embryo gemessen hat. HIS gibt nun für 28 Urwirbel 2,85 mm an, ein Maß, das man nach der

FISCHELSCHEN Methode selbst bei den größten Embryonen dieses Stadiums nie finden wird. Daraus geht hervor, daß HIS die Hirn-achse, die sich ja hier schon stark gekrümmt hat, gemessen hat. Wenn ich diese Linie bei der DUVALSchen Fig. 170 nach Gutdünken (Normen dafür gibt es ja nicht) einzeichne, so messe ich ihre Länge $48 \text{ mm} = 2,4 \text{ mm}$ wirkliche Länge, was der HISSCHEN Zahl sehr gut entsprechen würde. Aber gerade jener Umstand der Hirnkrümmung und die Schwierigkeiten der sich dadurch ergebenden Messung haben mich bewogen, meine Kurven nicht weiter zu führen als bis zum Stadium von etwa 14 Urwirbeln. Nun wird auch verständlich sein, warum ich oben sagte, daß solche Kurven in späteren Stadien ganz anders angelegt werden müßten.

Fig. 6.



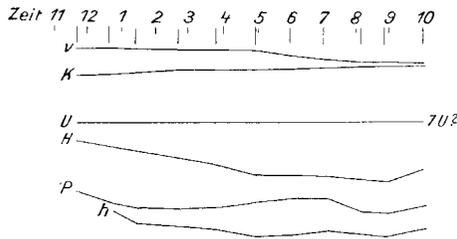
Embryo Q, 26 Stunden beobachtet. Etwa $4,1/1$ der natürlichen Längenmaße.
Die Urwirbelzahl ist im Vergleich mit der übrigen Entwicklung zurückgeblieben.

Linie H stellt in Textfig. 4 die Lage des HENSENSCHEN Knotens dar. Sie ist eine fast völlig gerade Linie, d. h. der HENSENSCHE Knoten rückt mit immer gleichbleibender Geschwindigkeit nach hinten. Wo die Linie sich verbreitert, war der Punkt, der schraffierten Stelle entsprechend, nicht genau bestimmbar. An dieser Stelle tritt auch die Linie P, die das hintere Ende der Primitivrinne bezeichnet, an die Linie H heran, d. h. die Primitivrinne verflacht sich von hinten nach vorn, und an ihrer Stelle rücken die Medullarwülste nach hinten (EM). Die Linie P ist nicht leicht festzulegen, und besonders an den punktierten Stellen war ich mir nicht ganz klar über das hintere Ende der Primitivrinne, besonders, da ja bei allen Aufnahmen auf die Urwirbelregion scharf eingestellt war, weil es mir anfangs hauptsächlich auf die Lösung der Frage nach der Lage der ersten Urwirbelspalte ankam. Trotz jener Unschärfe des Primitivrinnenendes glaube ich doch eine zeitweise Verkürzung der Primitiv-

rinne annehmen zu müssen. Wie sie zustande kommt, darauf muß ich die Antwort schuldig bleiben, wenn nicht ebenso, wie bei der gleichlaufenden Kurve des Hinterrandes der Area pellucida, die Blutinselwucherung dafür verantwortlich zu machen ist.

Was nun schließlich die Linie *D* (vordere Darmpforte) anlangt, so geht sie auf allen Kurven der Linie *H* fast genau parallel. Nur von der Stelle ab, wo die Linie *H* in die Linie *EM* übergeht, pflegen beide, *D* und *EM*, zu divergieren, und zwar aus zwei Gründen. Erstens ist die nach hinten fortschreitende Bildung der Medullarwülste (*EM*) ein von dem Schluß des Urmundes (*H*) gänzlich verschiedener Vorgang, und zweitens pflegt, während die vordere Darmpforte die erste Urwirbelgrenze überschreitet, eine bedeutende Verlangsamung in ihrer Bewegung einzutreten.

Fig. 7.



Embryo *M*, 23 Stunden beobachtet. Etwa 5/1 der natürlichen Längenmaße.
Anfangs normale Entwicklung, dann langsames Absterben.

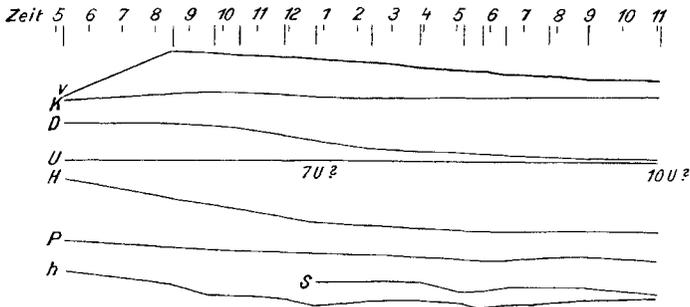
Beim Embryo *U* habe ich auch Kurven über die Veränderungen der Breite der Area pellucida aufgenommen und unter der erstbesprochenen Kurve auf einer Nulllinie aufgetragen (Textfig. 4a). Es sind absichtlich nur die Breiten in der Höhe der ersten Urwirbelgrenze und des vorderen Kopfendes eingetragen, weil hier die Verschiebungen in der Längsrichtung vom Seitenrand des hellen Hofes gegen den Embryo verhältnismäßig klein sind, während sie weiter hinten sehr groß werden. Diese longitudinalen Verschiebungen sind äußerst kompliziert und schwer zu beobachten. Ich hoffe aber im nächsten Jahre bei größerem Material hierüber Genaueres berichten zu können. Jetzt will ich nur mitteilen, daß die Einschnürung der schuhsohlenförmigen (man darf wohl das Wort auch hierauf anwenden) Area pellucida von vorn nach hinten wandert, und zwar wellenförmig, indem sie immer von andern Zellkomplexen gebildet wird. Ich bin geneigt, diesen Vorgang mit dem medianwärts gerichteten Vorschieben der Gefäße in Zusammenhang zu bringen.

Die übrigen Kurven sprechen für sich selbst. Ich brauche bei ihnen nur auf einige Besonderheiten hinzuweisen.

Die Kurven *P* und *Q* (Textfig. 5 und 6) gleichen sich in ihren Anfangsteilen völlig. Zu beachten ist das Zurückgehen des hellen Hofes nach anfänglich fortschreitendem Wachstum, das bei beiden auffälliger ist als an den Kurven über *U* und *M*. Nach einer gewissen Zeit der Bebrütung ließ ich *Q* eine Stunde lang abkühlen. Das Wachstum sistierte völlig, und nach dem Weiterbebrüten gingen die Maße sogar zurück, bis plötzlich wieder ein lebhaftes Wachstum begann.

Meist sind solche Rückgänge in den Maßen ein Anzeichen des Absterbens, wie es z. B. die Kurve *M* (Textfig. 7) zeigt, die im An-

Fig. 8.



Embryo *K*, 27 Stunden beobachtet. Etwa 5/1 der natürlichen Längenmaße.
In späteren, auf den Kurven nicht dargestellten Stadien langsame Entwicklung.
S Ende eines die Primitivrinne nach hinten verlängern den Streifens.

fang völlig normal, plötzlich ein starkes Zurückgehen aller Linien des hinteren Körperendes zeigt. Der Moment des Todes ist in einer solchen abfallenden Kurve (die weiter fortgeschrittenen Schrumpfungen wurden in die Kurve nicht mehr eingetragen) nicht festzustellen.

Während der sorgfältigen Durcharbeitung der Reihenaufnahmen konnte ich als sicher feststellen, daß mindestens vom Stadium von zwei Urwirbeln ab vor dem ersten kein weiterer Urwirbel auftritt. Höchst wahrscheinlich tritt überhaupt vor dem zuerst gebildeten Urwirbel kein weiterer auf. Doch ist dafür ein sicherer Beweis bei der anfänglich schlechteren Sichtbarkeit der schiefgestellten ersten Urwirbelspalte zunächst noch nicht zu erbringen.

Die auf den Kurven angegebenen Urwirbelzahlen können keinen Anspruch auf absolute Richtigkeit machen, weil die hinteren Urwirbel für eine sichere Zählung zu undeutlich sind.

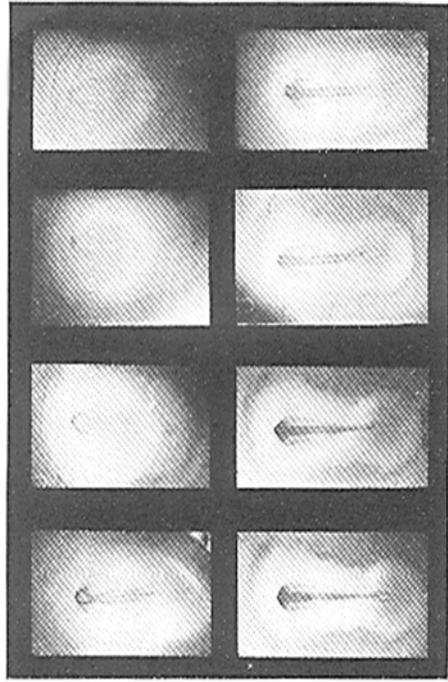


Fig. 1 8



Fig. 17-24

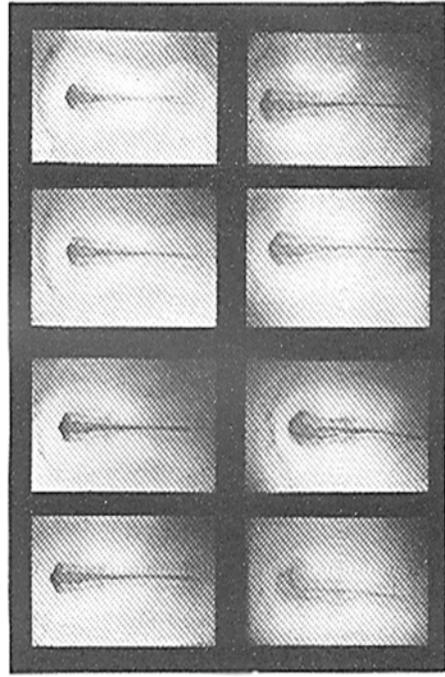


Fig. 9-16

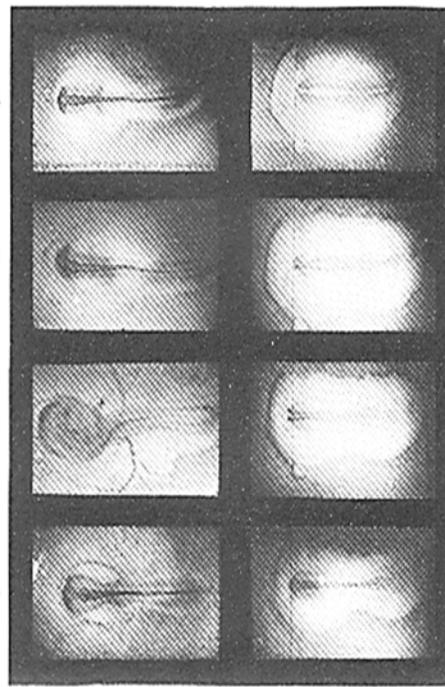


Fig. 25-32

Diese Methode der photographischen Reihenaufnahmen der Embryonen mit Hilfe von Vitalfärbung ist, soweit ich orientiert bin, mindestens für auf dem Lande lebende Wirbeltiere gänzlich neu. Selbst FISCHEL hat die Möglichkeit der messenden Beobachtung des sich entwickelnden Embryo bezweifelt, schreibt er doch selbst in bezug hierauf: »— wenn dies möglich wäre —« (S. 393). Brauchbar dürfte die Methode sein zum Studium der Entstehung von Mißbildungen in jungen Stadien, und zwar sowohl von zufällig entstehenden, wie von experimentell erzeugten. Abgesehen von einer gewiß möglichen Vervollkommnung, wird sie sich vielleicht auch auf andre Embryonen, z. B. junge Haifischembryonen, anwenden lassen.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel XVII.

Fig. 1—16. Embryo *U*, auf den sich auch die Kurven der Textfig. 4 und 4a beziehen.

Alter: Fig. 1 25 Std., Fig. 5 34½ Std., Fig. 9 42½ Std., Fig. 13 52½ Std.,
 Fig. 2 27 Std., Fig. 6 35½ Std., Fig. 10 43½ Std., Fig. 14 54 Std.,
 Fig. 3 29 Std., Fig. 7 38½ Std., Fig. 11 46½ Std., Fig. 15 56 Std.,
 Fig. 4 32 Std., Fig. 8 40½ Std., Fig. 12 48½ Std., Fig. 16 57½ Std.

Fig. 17—27. Embryo *V*.

Alter: Fig. 17 25 Std., Fig. 20 30 Std., Fig. 23 34½ Std., Fig. 26 57½ Std.,
 Fig. 18 27 Std., Fig. 21 31½ Std., Fig. 24 35½ Std., Fig. 27 77 Std.
 Fig. 19 29 Std., Fig. 22 33 Std., Fig. 25 48½ Std.,

V wurde noch etwa 20 Stunden weiter beobachtet.

Fig. 28. Embryo *R*. 51½ Std. Kopf pathologisch verbreitert, daher die Hirnnerven besser sichtbar. Acustico-Facialis und Glossopharyngeus fallen mit der vorderen bzw. hinteren Kontur des Gehörbläschens zusammen.

Fig. 29—32. Embryo *P*, vgl. Textfig. 5. Die horizontalen Linien sind durch den vorderen Rand einer Dotterentodermblase gezogen. In Fig. 32 ist diese Blase zugrunde gegangen, aber noch deutlich ein dunkler Ring sichtbar. Man beachte die Stellung des vorderen Kopfes zu der horizontalen Linie.

Alter: Fig. 29 25 Std., Fig. 30 28½ Std., Fig. 31 30½ Std., Fig. 32 33½ Std.