Über Wachstumsstörungen bei Amphibienlarven.

Von

Hermann Eidmann.

(Aus dem zoologischen Institut der Universität München.)

Mit 6 Tabellen und 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Mai 1921.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
1. Einleitung	510
2. Material und Methoden	511
3. Der Zwergwuchs	514
a) Äußere Körperform und Wachstum	514
b) Entwicklung der inneren Organe	518
4. Die innersekretorischen Drüsen	521
a) Hypophyse	522
b) Thyreoidea	524
c) Thymus	528
d) Epiphyse und Keimdrüsen	529
5. Die Kümmerer aus anderen Kulturen	530
6. Versuch einer kausalen Verknüpfung	532
7. Zusammenfassung	535
8. Literaturverzeichnis	536

1. Einleitung.

Die große Bedeutung der Drüsen mit innerer Sekretion für das Wachstum und die Metamorphose der Amphibien wurde von Gudernatsch (1912) entdeckt. Es gelang ihm, durch Verfütterung endocriner Drüsen-substanz von Säugetieren an Kaulquappen von *Rana temporaria* und *esculenta*, deren Entwicklung in weitgehendstem Maße zu beeinflussen. Besonders auffallend war die Wirkung der Schilddrüsen-nahrung. Sie verursachte eine rapide Körperdifferenzierung, die zu einer vorzeitigen Metamorphose führte, wobei aber jedes Weiterwachstum unterdrückt wurde.

Diese Entdeckung gab den Anstoß zu einer Reihe von weiteren, exakten Untersuchungen in dieser Richtung, die sich auch auf die anderen innersekretorischen Organe erstreckten. Fütterungsversuche wurden von Abderhalden und Romeis an Froschlarven vorgenommen. Sie bestätigten die Beobachtungen von Gudernatsch. Adler suchte durch Exstirpation von Hypophysis, Thymus und Epiphysis den Einfluß dieser Organe auf die Entwicklung von Kaulquappen zu ergründen. Allen konnte bei Kaulquappen von *Rana pipiens* durch Exstirpation der Schilddrüse die Metamorphose verhindern und dadurch Kaulquappen von hohem Alter erzeugen. Fütterte er dann solche gealterte Kaulquappen mit Schilddrüsen-substanz, so trat unverzüglich die Meta-

morphose ein. Babak war es gelungen, durch geringe Quantitäten frischer Schilddrüse *Siredon pisciformis* in ein *Amblystoma* zu verwandeln. Diese Feststellungen Babaks wurden durch Hart bestätigt, der innerhalb einer Woche Axolotl jeden Alters in Landtiere verwandeln konnte.

Während alle diese Untersuchungen den Einfluß der endokrinen Drüsen auf Wachstum und Entwicklung der Amphibien manifestierten, war es umgekehrt naheliegend, die Ursachen natürlich entstandener Hemmungen der Metamorphose und Änderungen im Wachstum in einer Hypo- bzw. Hyperfunktion eines oder mehrerer innersekretorischer Organe zu suchen. So gelang es Hahn (1912), das Riesenwachstum von vier *Rana esculenta*-Larven auf eine Hyperplasie der Hypophyse zurückzuführen.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Hemmung des Wachstums und der Entwicklung, die in einer Kultur von *Rana esculenta* auftrat, und es war sehr naheliegend, auch hier die Ursachen der anormalen Entwicklung mit der Ausbildung der endokrinen Drüsen in Beziehung zu bringen.

2. Material und Methoden.

Unter den vielen Kulturen von *Rana esculenta*, die Herr Geh-Rat v. Hertwig im Jahre 1919 für seine Versuche über Geschlechtsbestimmung anlegte, befand sich eine, die ein völlig anormales Verhalten zeigte. Obwohl die Kaulquappen dieser Kultur mit ganz besonderer Sorgfalt gepflegt wurden, nahmen sie keine Nahrung auf und zeigten nur ein äußerst geringes Wachstum, während alle anderen Kulturen sich unter den gleichen Bedingungen völlig normal entwickelten.

Die Kultur verdankte ihren Ursprung einem Pärchen von *Rana esculenta* aus der Gegend von Irschenhausen. Das Weibchen hatte eine Länge (von der Schnauzenspitze bis zur Spitze des os coccygis gemessen) von 62 mm, das Männchen maß 65 mm. Die Eier wurden am 13. Juni vormittags $\frac{1}{2}$ 11 Uhr abgelaicht. Ihre Größe schwankte zwischen 1,25 und 1,35 mm und betrug im Durchschnitt 1,3 mm. Die Eier waren also sehr klein, da ja die normale Eigröße von *Rana esculenta* 1,6 bis 1,7 mm ist. Die Entwicklung war gleich von vornherein etwas verlangsamt, wie sich aus einem Vergleich mit einem anderen Gelege ergibt, das durch einen glücklichen Zufall an demselben Tag abgelegt wurde und sich normal entwickelte. Eine Gegenüberstellung der Aufzeichnungen über die beiden Kulturen zeigt am besten den Grad der verlangsamten Entwicklung (Tabelle I).

Obwohl die Eier des normalen Geleges etwa 4 Stunden später befruchtet waren, und sich unter den gleichen äußeren Bedingungen (Temperaturverhältnisse usw.) entwickelten, hatten sie doch das Gastrulastadium früher erreicht, und die Larven schlüpften eher aus, als bei der anderen

Tabelle I.

Datum	verlangsamte Entwicklung	normale Entwicklung
13. VI.	Eiablage $\frac{1}{2}$ 11 Uhr Beginn der Furchung 12 Uhr	Eiablage $\frac{1}{2}$ 2—3 Uhr
14. VI.	Gastrulasichel	schöne Gastrula
15. VI.	meist sehr kleiner Blastoporus	Blastoporus geschlossen, beginnende Gehirnanlage
18. VI.	dreiteilige Larven	Larven beginnen auszuschlüpfen

Kultur. Diese blieb, nachdem die Kaulquappen ausgeschlüpft waren, noch mehr hinter der normalen zurück. Die Tiere waren klein, sehr schwer reizbar und träge im Schwimmen. Sie nahmen anfangs überhaupt keine Nahrung auf, was man daran sah, daß keine Fäkalien auftraten, und wurden nicht größer. Erst vom 6. Juli ab zeigten sich einige wenige Fäkalien in der Kultur, ein Zeichen, daß nun eine geringe Nahrungsaufnahme einsetzte. Da sich ihr Zustand auch jetzt noch nicht änderte, brachte man einen Teil von ihnen, um ihnen ganz besonders günstige Existenzbedingungen zu bieten, in die für Kaulquappen sonst sehr günstige Temperatur von 23—25° C. Hier trat jedoch das Gegenteil des erwarteten Erfolgs ein. Die Tiere verfielen in eine Art Wärmestarre, und viele gingen zugrunde. Bei normaler Temperatur (19° C) verschwand diese Starre wieder. Die Sterblichkeit unter den Larven hielt jedoch an und nahm zu, je älter die Kultur wurde. Am 15. August wurden die letzten Überlebenden der Kultur, die ich in Zukunft als die zurückgebliebene (Z-Kultur) bezeichnen werde, fixiert. Sie standen noch auf einem sehr frühen Larvenstadium, während die normal entwickelten, gleich alten Tiere, bereits die Metamorphose begannen. Während ihrer gesamten Lebensdauer hatten sie so gut wie keine Nahrung aufgenommen und waren nur sehr wenig herangewachsen.

Es sollte nun versucht werden, festzustellen, welches die Ursachen des anormalen Verhaltens der Kultur waren; ob sich Veränderungen der Organe, besonders der Drüsen mit innerer Sekretion nachweisen ließen, die mit der Wachstums- und Entwicklungshemmung in Beziehung gebracht werden könnten.

Zu diesem Zwecke mußte ich mir zunächst normales Vergleichsmaterial beschaffen. Ein glücklicher Zufall wollte es, daß mir am 26. Mai 1920 ein Froschpärchen aus der Gegend von Icking (Größe: Männchen 76 mm, Weibchen 53 mm) ein Gelege lieferte, dessen Eier genau die gleiche geringe Größe hatten, wie die, aus denen die zurückgebliebene Kultur vom Vorjahre entstanden war. Die Eigröße schwankte zwischen 1,19 und 1,66 mm und betrug durchschnittlich 1,33 mm. Der Gedanke lag nun nahe, den Zwergwuchs mit der ge-

ringen Eigröße in Beziehung zu bringen, und ich hoffte, aus diesen kleinen Eiern eine ähnliche Zwergkultur, wie die vorjährige, zu erzielen. Dies gelang jedoch nicht. Die Kaulquappen entwickelten sich vielmehr vollkommen normal und lieferten mir ein geeignetes Vergleichsmaterial. Dieses war insofern noch besonders günstig, als ich ja alle Bedingungen, also auch die Eigröße, mit denen der vorjährigen, zurückgebliebenen Kultur möglichst in Einklang bringen wollte.

Die Kultur, die ich in Zukunft die Normalkultur (N-Kultur) nennen werde, wurde bei Zimmertemperatur aufgezogen. Diese betrug durchschnittlich 19°C , wie es im Vorjahre ebenfalls gewesen war. Das Kulturwasser wurde täglich erneuert, wobei man besonders darauf achtete, es nur durch abgestandenes Wasser, das bereits Zimmertemperatur angenommen hatte, zu ersetzen. Auf diese Weise sollten plötzliche Temperaturschwankungen vermieden werden. Die Fäkalien und Verunreinigungen wurden täglich mit einem Heber aus dem Zuchtgefäß entfernt. Gefüttert wurde mit abgekochten Spinatblättern und später, als die Larven etwa 20 mm groß geworden waren, außerdem noch mit gekochtem, fein gehacktem Muschelfleisch, um ihnen so gleichzeitig vegetabile und animalische Kost zu bieten. Bei dieser Behandlung gedieh die Kultur ausgezeichnet, keine einzige Kaulquappe ging zugrunde.

Fixiert wurde anfangs in Zwischenräumen von zwei Tagen, später in größeren Zeitabständen. Als Fixiermittel dienten Bouins Gemisch, Pikrinessigsäure und das Sublimatgemisch nach Gilson-Petrunkewitsch. Es zeigte sich jedoch im Laufe der Untersuchung, daß die Pikrinsäuregemische bedeutend bessere Resultate lieferten, als die Sublimatgemische. Ich benutzte daher späterhin fast ausschließlich Bouins Gemisch und Pikrinessigsäure.

Das Material der zurückgebliebenen Kultur, das mir zur Untersuchung vorlag, war am 8. und 31. Juli und am 9., 13. und 15. August fixiert worden. Die jüngsten Larven, die mir zur Verfügung standen, waren also bereits 25 Tage alt, so daß ich frühere Entwicklungsstadien leider nicht untersuchen konnte. Als Fixierungsflüssigkeiten waren verwandt worden Pikrinessigsäure, Bouin, Carnoy, Gilson-Petrunkewitsch und Schaudinns Flüssigkeit.

Zur histologischen Untersuchung wurden Schnittserien durch die einzelnen Larven angefertigt. Die Dicke der Schnitte betrug fast ausschließlich $10\ \mu$, doch wurden zum genauen Studium des Baues einzelner Organe auch solche von $5\ \mu$ Dicke angefertigt. Bei Serien durch große Normallarven, wo es lediglich darauf ankam, vergleichende Maße von einzelnen Organen zu erhalten, genügte schon eine Schnittdicke von $15-20\ \mu$.

Zur Färbung benutzte ich Hämatoxylin und zwar sowohl Heiden-

hainsches Eisenhämatoxylin, als auch Delafields Hämatoxylin. Als Plasmafarbstoff diente in beiden Fällen Eosin. Zu Übersichtsbildern genügte vielfach Boraxkarmin, das sich durch seine einfache Verwendbarkeit auszeichnete. Die Larven wurden in toto etwa 8 bis 12 Stunden in dem Farbstoff gelassen. Es mußte dann aber 2 bis 3 Tage mit salzsaurem Alkohol ausgezogen werden, wenn man diffuse Färbungen vermeiden wollte. Sehr schöne Bilder ergab auch die Färbung nach van Gieson. Es erwies sich jedoch als vorteilhaft, die Schnitte nach Überfärbung in Delafields Hämatoxylin nur $\frac{1}{2}$ bis 1 Minute in van Giesons Lösung zu lassen und nicht 3—5 Minuten, wie es in den meisten Anweisungen angegeben ist. Sonst verschwindet die Kernfärbung fast vollständig. Die besten Resultate erzielte ich, wenn ich den Fortschritt der Färbung bei schwacher Vergrößerung verfolgte und rechtzeitig unterbrach.

Die Maße der einzelnen Organe wurden mit dem Okularmikrometer gewonnen. Wo es sich um Längenmaße handelt, wurden meistens auf Querschnittserien die Schnitte ausgezählt. Die Zahl der Schnitte, auf denen das betreffende Organ vorhanden war, multipliziert mit der Schnittdicke, ergab die Länge in μ . Dieses Verfahren ist natürlich nur dann anwendbar, wenn die Schnittrichtung senkrecht zur Längsachse des Organs verläuft, wie es ja meistens der Fall ist. Die Zeichnungen wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat (Zeiß) angefertigt. Die Zeichenebene befand sich in der Höhe des Objektisches, die Tubuslänge betrug 148 mm. Wo dies nicht zutrifft, ist ein besonderer Maßstab mit angegeben.

3. Der Zwergwuchs.

a) Äußere Körperform und Wachstum.

Die jüngsten Larven, die mir zur Untersuchung vorlagen, waren 25 Tage alt. Sie hatten eine durchschnittliche Gesamtlänge von 8 mm. Normale Larven haben in diesem Alter schon eine Größe von 14 mm. Die Kaulquappen der Z-Kultur waren also bereits im Wachstum erheblich zurückgeblieben. In den 5 Wochen, die die Kultur noch lebte, wurden sie nur noch um wenige Millimeter größer, wie Messungen an dem fixierten Material ergaben. Bei normalen Tieren findet aber gerade in dieser Zeit das größte Längenwachstum statt. Die Z-Larven waren alle sehr wasserhaltig, und hatten dadurch ein aufgeblähtes, gedunsenes Aussehen. Sie waren schwach pigmentiert und glashell, fast durchsichtig, besonders an den Rändern. Wahrscheinlich ist dies eine Folge der geringen Nahrungsaufnahme. Die äußeren Kiemen waren stets geschwunden. Extremitäten oder deren Anlagen waren äußerlich, selbst bei den ältesten Tieren, noch nirgends zu sehen.

Das Zurückbleiben im Wachstum muß schon sehr frühzeitig eingesetzt haben, darauf weist die verlangsamte Entwicklung der Eier hin. Ob bereits beim Ausschlüpfen ein Größenunterschied vorhanden war, läßt sich nicht mehr sagen, da ja die jüngsten Entwicklungsstadien nicht konserviert waren.

Abb. 1.

Da die Z-Larven nicht fraßen, blieben sie in der Körpergröße immer mehr hinter den Normaltieren zurück. Wie die Größendifferenz zwischen den beiden Kulturen von Tag zu Tag anwuchs, läßt sich auf einer graphischen Darstellung am besten verfolgen. Abb. 1 zeigt die Wachstumskurven für die normale und die zurückgebliebene Kultur. Die erstere ist durch eine ausgezogene, die letztere durch eine punktierte Linie dargestellt. Beide Kurven haben den gleichen Ausgangspunkt, da die Eigröße bei beiden Kulturen die gleiche war. Die

Kurve der N-Kultur konnte nun auf Grund fortlaufender Messungen konstruiert werden. Bei der Z-Kultur war dies anfangs nicht möglich, da ja bis zum 25. Tag kein Material vorhanden war. Der Anfangsteil der Kurve wurde unter der Voraussetzung konstruiert, daß die Eier in den ersten drei Tagen der Embryonalentwicklung keine Größenänderung erleiden. Möglich wäre es allerdings, daß in dieser Zeit, durch Wasseraufnahme oder Abgabe vielleicht, doch eine solche stattgefunden hat. Die Wachstumskurve der zurückgebliebenen Kultur kann daher erst vom 25. Tage ab Anspruch auf Genauigkeit machen. Von diesem Zeitpunkt ab verläuft sie fast wagerecht, ein Wachstum hat nur noch in ganz geringem Maße stattgefunden. Nur in den letzten vier Tagen steigt die Kurve noch etwas steiler an. Dies läßt sich so erklären, daß in dieser Zeit nur noch die lebenskräftigsten Individuen übrig waren, die naturgemäß auch am stärksten entwickelt waren.

Die folgende Tabelle gibt die Maße der zurückgebliebenen Kultur, auf Grund deren die Kurve gezeichnet wurde.

Tabelle II.

Alter	Gesamtlänge
0 Tage	1,3 mm (Eigröße, von der Befruchtung an gerechnet)
25 »	8 »
48 »	9 »
57 »	10 »
61 »	12 »

Die Maße der Normalkultur wurden zum größten Teil an dem lebenden Material gewonnen. Zu diesem Zweck wurde eine Anzahl Larven mittlerer Größe aus der Kultur herausgefangen und in eine flache Glasschale mit wenig Wasser gesetzt. Hier verhielten sie sich meist so ruhig, daß man die Maße mit einem Zirkel abgreifen konnte. Es ergaben sich hierbei folgende Durchschnittswerte:

Tabelle III.

Alter	Gesamtlänge
0 Tage	1,3 mm
25 »	14 »
30 »	17,5 »
37 »	27 »
42 »	37,5 »
48 »	46 »
61 »	64 »

Noch augenfälliger als auf der Kurve zeigt sich die Größendifferenz der beiden Kulturen auf den Abb. 2, 3 und 4. Hier ist jedesmal eine Larve der zurückgebliebenen Kultur (a) und eine Larve der Normalkultur (b) in gleichem Alter (25, 48 und 61 Tage) und bei gleicher Vergrößerung dargestellt. Der Unterschied in der Größe, der ganzen Körpergestalt und der Entwicklung der Extremitäten kommt hier deutlich zum Ausdruck. Die 25 Tage alte Normallarve hat bereits ganz kleine, mit bloßem Auge kaum sichtbare, knospenartige Extremitätenanlagen. Bei der 48 Tage alten Larve sehen wir deutliche, stummelförmige

Abb. 2. 25 Tage.

Abb. 3. 48 Tage.

Abb. 4. 61 Tage.

Beine, die allerdings noch unbeweglich sind. Die 61 Tage alte, normale Kaulquappe besitzt mächtig entwickelte Hinterextremitäten, die schon bei der Lokomotion eine Rolle spielen. Die Vorderbeine sind auch schon entwickelt, allerdings noch in der Kiemenhöhle verborgen. Die zurückgebliebenen Tiere zeigen nichts von alledem. Selbst bei den ältesten Individuen läßt sich äußerlich auch nicht die Spur einer Extremitätenanlage wahrnehmen.

b) Entwicklung der inneren Organe.

Bei dem Vergleich zurückgebliebener Larven mit normalen Kaulquappen ergab sich zunächst die Schwierigkeit, unter welchen Gesichtspunkten man die normalen Vergleichslarven auswählen sollte. Man konnte ja daran denken, die Körpergröße maßgebend sein zu lassen. Dies erwies sich jedoch nicht als zweckmäßig, denn die Differenzierung der inneren Organe war bei den Z-Larven viel weiter fortgeschritten, als man ihrer geringen Größe nach annehmen sollte. Ein Vergleich von zwei gleichgroßen Larven aus der zurückgebliebenen und der Normalkultur mag dies erläutern.

Beide Tiere waren 8 mm groß. Die Z-Larve war 25 Tage alt, die Normallarve erst 10. Es war naheliegend, daß der große Altersunterschied auch einen Unterschied in der Entwicklung bedinge. Schon ein Vergleich der äußeren Körpergestalt bestätigte dies. Bei der Z-Larve sind die äußeren Kiemen und die Haftpapillen bereits geschwunden, während bei der Normallarve diese beiden Organe gut ausgebildet sind. Ebenso tiefgehende Unterschiede ergab die Untersuchung der inneren Organe auf Querschnittserien. Die Z-Larve hatte schon gutentwickelte innere Kiemen. Der Knorpel ist scharf begrenzt und hat deutlich differenzierte Elemente. Der Dotter ist vollständig aufgebraucht, bis auf die Reste in den Keimdrüsen, die sich ja noch sehr lange erhalten. Die Hinterextremitäten sind äußerlich noch nicht sichtbar. Im histologischen Bild jedoch ist ihre Anlage als Anhäufung embryonaler Zellen zu beiden Seiten des Rektum in der Schwanzwurzelgegend kenntlich.

Bei der Normallarve stehen die inneren Kiemen auf der Anfangsstufe ihrer Entwicklung. Die Knorpelanlage ist erst als eine Verdichtung der Zellen im embryonalen Gallertgewebe zu erkennen, die noch nicht scharf begrenzt ist. Extremitätenanlage ist noch keine vorhanden. Das Dottermaterial ist noch in dicken Massen in der Wandung des sich bildenden Darmes angehäuft. Auf Querschnitten durch die Darmregion übertreffen diese Dottermassen bei weitem das übrige Körpergewebe. Alle diese Unterschiede zeigen, daß es nicht richtig wäre, gleich große Tiere zu vergleichen.

In einigen Fällen war es angebracht, gleich alte Larven zu vergleichen, wie es im vorigen Abschnitt über die äußere Körpergestalt geschehen ist. Bei der Untersuchung der inneren Organe ist jedoch auch hier Vorsicht geboten. Die Ausbildung der inneren Organisation hat mit dem Alter nicht gleichen Schritt gehalten, sondern auch hierin ist ein Stillstand eingetreten, so daß mit zunehmendem Alter die Differenz in der Gesamtentwicklung der beiden Kulturen immer größer wird.

Schon die jüngsten, 25 Tage alten Z-Larven, sind nicht so weit entwickelt, wie gleich alte normale Tiere. Ein Vergleich mag dies erläutern. Dieselbe Z-Larve, wie sie oben geschildert wurde, soll einer 25 Tage alten, 14 mm langen Normallarve gegenübergestellt werden. Schon äußerlich sind bei der letzteren die Hinterextremitäten als kleine, knospenartige Stummel erkennbar, während bei der Z-Larve, wie schon oben erwähnt, nichts zu sehen ist. Das Wachstum der Extremitäten hat bereits zu einer starken Hervorwölbung der Körperwand geführt. Dieselbe Ausbildung zeigen auch die Vorderextremitäten, die in der Kiemenhöhle anfangen, sich zu entwickeln. Bei der zurückgebliebenen Kaulquappe ist hiervon noch nichts zu finden.

Die Lunge hat sich bei der Normallarve schon in Gestalt von zwei weiten, dünnwandigen Säcken entwickelt. Bei der Z-Larve sind es erst zwei dickwandige, enge Röhren, die auf beiden Seiten des Ösophagus liegen. Auch das Primordialekranium ist weiter ausgebildet.

Aus den beiden Vergleichen ergibt sich, daß im Alter von 25 Tagen die zurückgebliebenen Tiere in der Entwicklung weiter fortgeschritten waren, als gleich große, aber noch weiter zurück waren, als gleich alte, normale Larven. Zwischen beiden muß sich also ein Stadium finden lassen, welches der Z-Larve in der Ausbildung der inneren Organisation entspricht. Ich fand, daß dies für 13 bis 14 Tage alte Normallarven der Fall ist. Diese haben eine durchschnittliche Größe von 11 mm, sind also 3 mm größer als die Z-Larven, stehen aber in der Differenzierung der inneren Organe auf gleicher Entwicklungsstufe.

Die Extremitätenanlage bietet dasselbe histologische Bild, Kiemen und Knorpel zeigen gleiche Ausbildung. Der Dotter ist bis auf geringe Reste geschwunden. Auch die Entwicklung der Genitalleiste ist dieselbe. Abb. 5 stellt einen Querschnitt durch die Genitalregion der Z-Larve dar. Wir sehen das Stadium der indifferenten Keimdrüse vor der Bildung der primären Genitalhöhle. Die Keimzellen sind noch stark mit Dotter beladen. Genau den gleichen Entwicklungsgrad weisen die Gonaden einer 14 Tage alten, 11,3 mm großen, normalen Kaulquappe auf. Nur sind die absoluten Maße hier, entsprechend der beträchtlicheren Körpergröße etwas größer als bei der Z-Larve.

Bei der Untersuchung der inneren Organe wird es also angebracht sein, das Vergleichsmaterial unter diesem letzten Gesichtspunkt auszuwählen. Maßgebend ist vor allem die Ausbildung der Extremitäten, die ja bei Kaulquappen im allgemeinen ein sehr guter Gradmesser für die Gesamtentwicklung ist. Sollten innere Organe von gleich alten Tieren verglichen werden, so konnten hierbei die abso-

luten Maße wegen der Größendifferenz natürlich nicht verwandt werden. Es mußte vielmehr eine Verhältniszahl geschaffen werden, indem die Maße des betreffenden Organs mit der Körpergröße oder einem anderen, normal entwickelten Organ in Beziehung gebracht wurden. Das letztere wurde z. B. für die Hypophysis und Thymus durchgeführt.

Der Entwicklungsgrad, wie er für die 25 Tage alte, zurückgebliebene Larve beschrieben wurde, ist nun mit zunehmendem Alter im großen und ganzen der gleiche geblieben. Ein geringer Fortschritt in der Entwicklung ist zwar noch zu verzeichnen, doch ist dieser so unbedeutend, daß man ruhig sagen kann, daß auch in der Gesamtent-

Abb. 5.

wicklung ein Stillstand eingetreten ist. Besonders deutlich zeigt sich das in der Ausbildung der Extremitäten. Bei der 61 Tage alten Z-Larve sind die Anlagen der Hinterbeine ebensowenig äußerlich sichtbar, wie bei der 25 Tage alten. Das histologische Bild ist bei beiden dasselbe. Vielleicht könnte man sagen, daß die Anlage der Hinterextremitäten etwas kompakter geworden ist. Auch die Gonaden stehen noch auf dem Stadium der indifferenten Keimdrüse, wie es auf Abb. 5 dargestellt ist. Die Dotterblättchen in den Keimzellen sind noch vorhanden, und die primäre Genitalhöhle hat sich noch nicht gebildet.

In welchem Alter dieser Zustand erreicht wird, läßt sich auch hier wieder, aus Mangel an Material, nicht sagen. Es ist jedoch anzunehmen, daß die Entwicklung solange weiterging, als noch Dottermaterial vorhanden war. Da nun keine, oder doch nur eine sehr geringe Nahrungsaufnahme stattgefunden hat, trat ein Stillstand ein. Der Unter-

schied in der Entwicklung, gegenüber Normallarven, vergrößerte sich also von diesem Augenblick an mit zunehmendem Alter immer mehr. Die zurückgebliebenen Larven stellen also wahrscheinlich eine Entwicklungsstufe dar, wie sie lediglich auf Kosten der im Ei aufgespeicherten Reservestoffe, ohne Nahrungsaufnahme erreicht werden kann. Ob die Gallertmasse der Eier von den Larven nach dem Auschlüpfen noch aufgenommen wurde, und dann erst die weitere Nahrungsaufnahme verweigert wurde, oder ob diese bereits verschmäht worden war, darüber liegen keine Angaben vor.

Zusammenfassend läßt sich also hinsichtlich der Entwicklung sagen, daß die Ausbildung der inneren Organisation der zurückgebliebenen Kaulquappen zwar weiter fortgeschritten ist, als man der geringen Körpergröße nach annehmen sollte, daß sie aber frühzeitig auf einer Stufe stehen geblieben ist, wie sie normalen, 14 Tage alten Tieren entspricht, und sich mit zunehmendem Alter kaum mehr vervollkommen hat.

4. Die innersekretorischen Drüsen.

Fragt man sich nach den Ursachen der Entwicklungshemmung, so war es zunächst sehr naheliegend, dieselben mit der Verweigerung der Nahrung in Beziehung zu bringen. Vielleicht waren die Kaulquappen überhaupt nicht imstande, sich zu ernähren. Vielleicht wurden sie durch irgendeine Mißbildung der Freßwerkzeuge oder des Darmtrakts an der Nahrungsaufnahme behindert. Die Durchsicht der Schnittserien ergab jedoch bei allen Larven eine völlig normale Ausbildung der larvalen Freßwerkzeuge, Hornschnabel und Hornzähne. Auch der Ösophagus und Darm waren normal entwickelt und zeigten überall ein deutliches Lumen. Eine geringe Nahrungsaufnahme muß sogar schon frühzeitig stattgefunden haben, denn der Darm selbst der jüngsten Larven ist stets mit Inhalt erfüllt, in dem man pflanzliche Überreste, Spiralgefäße usw. deutlich unterscheiden kann. Daß die Larven später gefressen haben, beweist außerdem noch die Angabe, daß im Alter von etwa 3 Wochen eine geringe Defäkation einsetzte. Sonst wäre ja auch die verhältnismäßig große Lebensdauer und die, wenn auch geringe, Größenzunahme der Kaulquappen nicht zu erklären. Das anormale Verhalten muß also in inneren Ursachen begründet sein.

Da kamen nun zunächst die Drüsen mit innerer Sekretion in Betracht.

Die Erfahrungen aus der menschlichen Pathologie, zu denen noch zahlreiche Tierversuche kamen, haben die Bedeutung erwiesen, die den innersekretorischen Drüsen, die man früher für rudimentäre Organe hielt, in dem Organismus der Wirbeltiere zukommt. Es stellte sich

dabei heraus, daß sich der Einfluß derselben vielfach am deutlichsten während der Entwicklung und des Wachstums des Individuums nachweisen ließ. Man suchte daher mit möglichst frühen Entwicklungsstadien zu experimentieren. Ein solches Stadium, wie es bei Säugtieren wegen der intrauterinen Entwicklung noch längst nicht operabel ist, stellen aber die Amphibienlarven dar. So kam es zu den Versuchen von Gudernatsch und anderen, über deren Ergebnisse ich bereits in der Einleitung einen kurzen Überblick gegeben habe.

a) Die Hypophyse.

Zunächst untersuchte ich die Hypophysis der zurückgebliebenen Kaulquappen. Histologisch konnte ich keine Unterschiede gegenüber der Norm feststellen. Die Gestalt des Hirnanhangs, sowie seine Lage am Grunde des Infundibulums waren normal. Die geringe Größe des Organs fiel mir jedoch bald auf, und ich machte daher eine Reihe von vergleichenden Messungen an der Hypophyse von zurückgebliebenen und normalen Kaulquappen. Die absoluten Maße konnten jedoch keine Verwendung finden, da sie, entsprechend der geringeren Körpergröße der Z-Larven, kleiner sein mußten, als bei normalen Kaulquappen. Ich benutzte daher eine Methode, wie sie schon Hahn bei der Untersuchung der Hypophyse seiner Riesenlarven in Anwendung gebracht hatte. Der Hirnanhang wurde auf Querschnitten immer durch dieselbe Hirnregion untersucht. Mit dem Okularmikrometer wurde dann der größte Querdurchschnitt der Hypophyse, sowie der des darüberliegenden Gehirnabschnittes gemessen. Der Quotient

$$v = \frac{\text{größter Durchmesser der Hypophyse}}{\text{größter Durchmesser des darüber liegenden Gehirnabschnitts}}$$

ergibt dann eine Zahl für die relative Größe des Hirnanhangs, die zum Vergleich geeignet ist.

Die auf diese Weise gewonnenen Zahlen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt; es sind die Mittelwerte aus verschiedenen Messungen.

Tabelle IV.

Alter	v für Z-Larven	v für N-Larven
10 Tage	—	0,36
12 »	—	0,32
14 »	—	0,28
18 »	—	0,26
25 »	0,20	0,25
48 »	0,20	0,22
61 »	0,20	0,21

Es geht daraus hervor, daß die Hypophysis der Z-Larven kleiner ist als die der normalen Larven. Berücksichtigt man nun, daß der Entwicklungsgrad der zurückgebliebenen Kaulquappen dem normaler Larven von 14 Tagen entspricht, so ergeben sich aus der Tabelle für v folgende Werte

v der Z-Larve = 0,20

v der 14 Tage alten N-Larve = 0,28

Wir haben also eine bedeutende Hypotrophie der Hypophyse der Z-Larven, durch die auf eine eingeschränkte Funktion geschlossen werden darf.

Graphisch dargestellt ergeben uns obige Werte zwei Kurven für das Wachstum der Hypophyse. Die Kurve der Z-Kultur ist punk-

Abb. 6.

tiert. Sie bildet entsprechend dem Stillstand in der Entwicklung eine wagerechte gerade Linie, d. h. mit anderen Worten, die relative Größe der Hypophyse ist bei den Z-Larven die gleiche geblieben. Das Verhältnis v ist stets 0,20. Hierin können wir einen weiteren Beweis dafür erblicken, daß die Entwicklung der zurückgebliebenen Kaulquappen stillgestanden ist.

Einen sehr eigentümlichen Verlauf nimmt die ausgezogene Linie der Normalkultur. Sie beginnt bei ganz jungen Larven sehr hoch, fällt dann steil ab bis zum Alter von etwa 25 Tagen und verläuft von da ab fast wagerecht. Die Hypophyse junger Larven ist also verhältnismäßig viel größer als bei alten. Mit zunehmendem Alter wird sie bedeutend kleiner und zwar ist dieses Zurückbleiben im Anfang stärker als gegen Ende der larvalen Entwicklung. Um eine Rückbildung handelt es sich hierbei jedoch nicht, denn die absoluten Maße der Hypophyse werden nicht geringer. Offenbar hat die auf fallende Größe des Hirnanhangs bei ganz jungen Larven ihren Grund

darin, daß dieses Organ in der frühesten Entwicklung von besonderer Bedeutung ist, während es bei weiter entwickelten Tieren nicht in dem gleichen Maße von Wichtigkeit ist. Hierfür spricht auch die Beobachtung von Adler, der bei 22—23 mm langen Larven von *Rana temporaria* die Hypophyse exstirpierte. Drei Larven überlebten den Eingriff noch um mehr als 6 Monate.

Leider fehlte es an Material, um junge Stadien der Z-Kultur zu untersuchen. Es wäre sehr interessant gewesen, ob auch hier die Hypophyse anfangs größer, oder ob sie schon bei ganz jungen Larven rudimentär war.

Abb. 7 und 8 sind Querschnitte durch Gehirn und Hypophyse je einer zurückgebliebenen und normalen, 25-Tage alten, Kaulquappe bei gleicher Vergrößerung. Für diese ist $v = 0,25$, für jene $v = 0,20$.

Abb. 7.

Abb. 8.

b) Die Thyreoidea.

Bedeutende Unterschiede, nicht nur in der Größe, sondern auch ganz besonders in morphologischer Hinsicht ergaben sich bei der Thyreoidea der zurückgebliebenen Larven im Vergleich zu der, normaler Kaulquappen.

Die Schilddrüse ist ontogenetisch eines der ältesten Organe. Sie entwickelt sich bei allen Wirbeltieren gleichartig. Ihr Mutterboden ist die ventrale Wandung des Kopfdarms in seinem vordersten Abschnitt. Hier entsteht sie als eine unpaare, mediane Ausstülpung des Epithels. Bei den Amphibien liegt diese Anlage in der Teilungsgabel des Truncus arteriosus direkt vor dem Herzen. Sie schnürt sich bald vollständig vom Kopfdarm ab und teilt sich in zwei Lappen, so daß sie als paarige Drüse unmittelbar ventral unter dem Zungenbein liegt. Dieser Zustand wird schon sehr frühzeitig erreicht. Bei 12 Tage alten Kaulquappen fand ich bereits die beiden getrennten Lappen der Thyreoidea zu beiden Seiten der Copula des Zungenbeins liegen.

Diese für die Amphibien charakteristische Teilung der Thyreoidea ist bei den zurückgebliebenen Larven ausgeblieben. Bei allen Z-Kaulquappen, die ich untersuchte, fand ich eine unpaare Schilddrüse. Diese

Abb. 9.

ist fast stets asymmetrisch ausgebildet. Entweder liegt sie ganz auf der einen Seite der Copula (Abb. 9) oder es ist doch der größte Teil nach einer Seite verschoben (Abb. 10). Dieser letzte Fall war weit aus am häufigsten. Besonders bei alten Larven fand ich ihn sehr

Abb. 10.

oft. Die Schilddrüse sieht dann aus wie zusammengepreßt und dicht an die Copula gedrückt. Die Follikel liegen fast alle in einer Reihe. Manchmal hat man den Eindruck, als habe die Schilddrüse den Versuch gemacht, sich zu teilen, aber die Teilung nicht beendet, wie es

Abb. 11.

Abb. 11 von einer 61 Tage alten Z-Larve zeigt. Dieser Fall kam von allen, die ich beobachtet habe, der Norm am nächsten. Er stammt auch von einer verhältnismäßig kräftigen und großen Z-Larve. Sonst war bei allen die Teilung der Thyreoidea in zwei Hälften nicht einmal angedeutet.

Die Schilddrüse der Z-Larven ist stets breiter als lang. Sie hat die Gestalt eines unregelmäßigen, dorsoventral abgeplatteten Körpers. Einige Maße von Schilddrüsen zurückgebliebener Larven mögen das Verhältnis von Länge und Breite, das nicht immer das gleiche ist, erläutern. Unter Länge ist dabei die größte Ausdehnung parallel zur Körperachse verstanden, unter Breite der größte, darauf senkrecht stehende Durchmesser des Organs.

Tabelle V.

Alter	Länge	Breite
61 Tage	80 μ	180 μ
61 »	80 μ	100 μ
61 »	110 μ	181 μ
48 »	80 μ	150 μ

Abb. 12.

Die Thyreoidea einer 25 Tage alten, normalen Larve zeigt Abb. 12. Es sind zwei, nahezu halbkugelige Teile, die in beträchtlichem Abstand der Ventralseite des Zungenbeins mit der abgeplatteten Seite dicht anliegen. Diese Ausbildung bleibt im Verlauf der weiteren Entwicklung die gleiche, das Organ nimmt lediglich an Größe zu, und die Zahl der Follikel, die an und für sich nicht größer werden, vermehrt sich infolgedessen stark. Die Abbildung ist bei der gleichen Vergrößerung gezeichnet wie Abb. 9—11.

Ein Vergleich der Abbildungen zeigt, daß neben den bisher geschilderten morphologischen Unterschieden noch eine bedeutende Größendifferenz einhergeht. Die Schilddrüse der Z-Larven ist stark atrophisch. Besonders auffallend ist dies bei jungen, 25 Tage alten Larven. Hier war die Thyreoidea meist so klein, daß es schwer fiel, sie überhaupt aufzufinden. Sie enthielt nicht mehr als 3—4 Follikel und hatte eine ganz unregelmäßige Gestalt (Abb. 9). Vergleichen wir sie mit der Schilddrüse einer normalen Kaulquappe von 14 Tagen, so kommen wir zu folgenden Maßen:

Die Thyreoidea der Z-Larve hat eine Länge von $82\ \mu$ und eine Breite von $64\ \mu$. Die Zahl der Follikel betrug auf dem größten Querschnitt zwei. Die Schilddrüse der Normallarve war bereits in zwei Lappen geteilt, von denen jeder $90\ \mu$ lang und $87\ \mu$ breit war. Jeder Lappen war also eine Halbkugel von etwa $90\ \mu$ Durchmesser und hatte drei Follikel auf dem größten Querschnitt. Bei gleichalten Tieren ändert sich das Verhältnis noch mehr zuungunsten der zurückgebliebenen Larven.

Über die Lage der Schilddrüse im Körper ist zu sagen, daß sie bei zurückgebliebenen Kaulquappen weiter vorne lag, als bei normalen. Ein Querschnitt durch die Mitte der Thyreoidea einer 61 Tage alten Z-Larve trifft das Gehirn an der Austrittsstelle des Nervus opticus und geht durch die Mitte der Augen. Bei einer normalen Larve von 14 Tagen verläuft ein solcher Schnitt tangential an dem hinteren Augenpol und trifft den Infundibularteil des Gehirns, liegt also etwa einen halben Augendurchmesser weiter kaudalwärts. Auch bei älteren, 25 Tage alten Normallarven, hatte die Thyreoidea diese Lage. Normalerweise folgt die Schilddrüse, deren erste Anlage, wie schon oben erwähnt, in der Teilungsgabel des Truncus arteriosus liegt, dem Herzen, das von seinem Entstehungsorte aus kaudalwärts rückt. Dies scheint bei den Z-Larven unterblieben zu sein.

Wir hätten also bei der Thyreoidea eine besonders intensive und frühzeitige Entwicklungshemmung. Zwei Tatsachen weisen darauf hin:

1. Die unpaare Anlage der Thyreoidea hat sich nicht geteilt.
2. Die Thyreoidea ist dem Herzen bei seinem Kaudalwärtsrücken nicht gefolgt.

Die histologischen Unterschiede sind nicht so einschneidend wie die morphologischen. Die Thyreoidea der Z-Kaulquappen hat normale Follikel, die stets mit Sekret erfüllt sind. Auch die Größe der einzelnen Follikel entspricht der Norm, wenn auch ihre Zahl beträchtlich vermindert ist. Das Sekret gleicht in seinem färberischen Verhalten vollkommen dem, normaler Kaulquappen. Es färbt sich mit Plasmafarbstoffen bei beiden gleich gut, mit Eosin intensiv rot, mit Pikrinsäure (van Gieson) gelb. Das Schilddrüsenkolloid füllt im Präparat die Follikel meist nicht ganz aus. Dies ist jedoch eine Folge der Fixierung, durch die das Kolloid fast stets schrumpft und sich dadurch von der Follikelwand zurückzieht. Diese Erscheinung läßt sich leider bei keiner Fixiermethode ganz vermeiden.

Entsprechend der geringeren Größe und Follikelzahl der Thyreoidea der zurückgebliebenen Kaulquappen gegenüber normalen muß auch die Masse des ausgeschiedenen Sekrets geringer sein. Die secernierende Tätigkeit dieses Organs war also nicht normal, sondern stark vermindert.

c) Die Thymus.

Im Gegensatz zur Thyreoidea entsteht die Thymus aus einer paarigen Anlage. Bei den Anuren geht sie aus dem dorsalen Epithel der zweiten Schlundspalte auf jeder Seite hervor. Sie ist nahezu kugelförmig und liegt bei Kaulquappen seitlich, direkt ventral vom Gehörbläschen. Dorsal von ihr liegt der Stamm der Vena iugularis, ventral die Vene des ersten Kiemenbogens.

Da hier, aus denselben Gründen wie bei der Hypophysis, die absoluten Maße zum Vergleich unbrauchbar waren, mußte ich auch hier eine Verhältniszahl bilden. Ich suchte zu diesem Zwecke auf einer Querschnittserie den größten Durchmesser der Thymus heraus, der mit dem Okularmikrometer gemessen wurde. Die erhaltene Zahl wurde dividiert durch die Entfernung des Mittelpunktes der Chorda vom äußersten, lateralen Rand der Gehörkapsel, auf dem gleichen Schnitt gemessen. Der Quotient f bildete dann eine zum Vergleich brauchbare Größe. Er betrug bei 25 Tage alten Z-Larven 0,16 und bei 14 Tage alten normalen Kaulquappen durchschnittlich ebensoviel. Auch histologisch zeigte die Thymusdrüse der zurückgebliebenen Tiere nichts Auffälliges. Sie war also normal entwickelt. Ihre relative Größe schwankte übrigens bei älteren Z-Larven beträchtlich, und zwar richtete sie sich nach der Körpergröße der Kaulquappen. Tabelle VI gibt die Größe von f für eine Reihe von Z-Larven, die der Körpergröße nach geordnet sind.

Tabelle VI.

Körpergröße	Alter	f
9 mm	61 Tage	0,16
10 »	48 »	0,18
11 »	48 »	0,22
11,5 »	51 »	0,21
12 »	61 »	0,29

Es ist geradezu auffallend, wie gesetzmäßig die relative Größe der Thymus, entsprechend der Körpergröße zunimmt. Nur die vierte Zahl fällt um ein Geringes aus der Reihe, doch scheint es sich hier um einen individuellen Unterschied zu handeln.

Unter den fixierten, 61 Tage alten Z-Larven befand sich eine von auffallend geringer Größe. Sie war nur 9 mm lang, während die anderen Tiere eine durchschnittliche Größe von 12 mm hatten. Die Untersuchung ergab eine auffallend kleine Thymus. f war 0,16, während diese Zahl bei einem gleich alten, 12 mm langen Tiere 0,29 betrug. Zweifellos besteht hier ein Zusammenhang zwischen der Körpergröße und der Entwicklung der Thymus.

Gudernatsch konnte diesen Zusammenhang experimentell nachweisen. Durch Thymusfütterung gelang es ihm, das Wachstum von Froschlarven stark zu beschleunigen. Wird also hier durch vermehrte Zufuhr von Thymussubstanz ein verstärktes Wachstum des Organismus erzielt, so ist zu erwarten, daß eine Verminderung der Thymusfunktion, wie sie in einem abnorm kleinen Organ zum Ausdruck kommt, hemmend auf das Wachstum einwirkt. Diese Beobachtung stimmt also mit den Z-Larven gut überein. Im Widerspruch dazu steht allerdings eine Untersuchung von Adler. Dieser exstirpierte 22 bis 23 mm langen Kaulquappen von *Rana temporaria* die Thymus. Es trat jedoch keine Wachstums hemmung ein, sondern die Tiere entwickelten sich, abgesehen von einer kleinen, vorübergehenden Störung, ebenso gut, wie die Kontrollarven, obwohl hier die Thymus, wie die nachträgliche Untersuchung ergab, völlig beseitigt war. Dies läßt sich vielleicht so erklären, daß die Thymus nur in den jüngsten Stadien von entscheidendem Einfluß auf das Wachstum ist. Adler operierte aber mit verhältnismäßig weit entwickelten Kaulquappen, bei denen wahrscheinlich die Thymusdrüse nicht mehr die Rolle spielte, wie bei ganz jungen Tieren. Bei den kleinen Z-Larven war aber die Thymus scheinbar schon von vornherein rudimentär.

Daß die Thymus speziell für den jungen, unentwickelten Organismus von Bedeutung ist, ist eine bekannte Tatsache. Bei Säugetieren und beim Menschen degeneriert sie ja mit zunehmendem Alter.

d) Epiphyse und Keimdrüsen.

Über diese beiden Organe ist nicht viel zu sagen. Sie sind beide, entsprechend der Gesamtentwicklung ausgebildet und weisen keine Besonderheiten auf.

Die proximale verdickte Partie des Pinealorgans, die eigentliche Epiphyse, sowie die Endblase sind gut entwickelt. Dieselbe Ausbildung fand ich bei normalen Vergleichstieren. Auch in der Größe und Ausdehnung konnte ich keine Unterschiede feststellen.

Bei den Gonaden wäre noch eher eine Veränderung zu erwarten gewesen, da sie ja mit den übrigen endokrinen Organen in engster Korrelation stehen. Aber auch hier konnte ich keinen Unterschied nachweisen. Die Gonaden der Z-Larven wiesen bei allen untersuchten Tieren die Ausbildung auf, wie sie auf Abb. 5 dargestellt ist. Sie stehen auf dem Stadium der indifferenten Keimdrüse noch vor Bildung der primären Genitalhöhle. Die Keimzellen sind stark mit Dotterblättchen beladen. Ich fand die gleiche Ausbildung bei 11 mm großen, normalen Larven, wie ich sie zum Vergleich benutzte. Witschi bildet ein gleiches Stadium in seiner Studie über die Entwicklung der Keimdrüsen für eine 12 mm lange Larve von *Rana temporaria* ab.

5. Die Kümmerer aus anderen Kulturen.

Neben meiner Untersuchung an dem fixierten Material der zurückgebliebenen Kultur war ich stets bemüht, experimentell ähnliche Kümmerer zu züchten, um dadurch Aufschluß über die Ursachen der Entwicklungshemmung zu erhalten. Ich hatte zunächst an die geringe Eigröße des Geleges gedacht, aus dem die Z-Kultur hervorgegangen war. Als ich daher in den Besitz eines Laiches mit ebenso kleinen Eiern kam, hoffte ich, daraus eine Zwergkultur züchten zu können. Daß mir das nicht gelang, erwähnte ich bereits früher. Da nun keine Angaben über abgeänderte äußere Bedingungen vorlagen, die mir Angriffspunkte für Experimente hätten geben können, mußte ich mich darauf beschränken, zu beobachten, ob in anderen Kulturen Kümmerer aufträten. Dabei schien mir nicht allein die geringe Größe, sondern vor allem die Verweigerung der Nahrung das Bemerkenswerte zu sein.

Es war jedoch nicht leicht, derartige Kaulquappen zu finden. In meinen Kulturen fanden sich keine, und nur der Güte von Herrn Geh. Rat v. Hertwig habe ich es zu verdanken, daß ich überhaupt in den Besitz derartiger anormaler Larven gelangte. Unter seinen zahlreichen Kulturen fanden sich einige Kaulquappen, die nicht fraßen und klein blieben, also dieselben Eigenschaften hatten, wie die Larven der Z-Kultur.

Drei Kümmerer entstammten einer Kultur, die aus einer normalen Befruchtung vom 26. Mai 1920 hervorgegangen war. Am 15. Juni wurden drei Tiere herausgefangen, die auffallend klein waren. Sie wurden in einem kleinen Zuchtgefäß isoliert und reichlich gefüttert, um zu sehen, ob sie Nahrung aufnahmen. Zwei Larven starben bald, eine jedoch blieb am Leben und fraß nicht. In dem Glasgefäß, das sehr rein gehalten wurde, waren nie Fäkalien aufgetreten. Sie starb in der Nacht vom 28. auf 29. Juni und wurde am folgenden Tage fixiert. Das Tier hatte eine Größe von 8 mm erreicht bei einem Alter von 33 Tagen, entsprach also der Größe einer gleichalten Z-Larve (siehe Wachstumskurve). Leider war die Mazeration schon soweit fortgeschritten, daß eine histologische Untersuchung nicht mehr möglich war.

Drei andere Kümmerer entstammten einer Kultur, die ihren Ursprung aus einer künstlichen Befruchtung vom 28. Mai 1920 genommen hatte. Am 23. Juni wurden drei auffallend kleine Kaulquappen herausgefangen und isoliert. Eine starb bald, die beiden anderen nahmen keine Nahrung auf und blieben klein. Sie wurden beide am 28. Juni in Bouins Flüssigkeit fixiert, hatten also ein Alter von 31 Tagen erreicht. Die eine Larve hatte eine Gesamt-

länge von 10 mm bei einer Körpergröße (Schnauzenspitze bis After) von 3,5 mm. Sie war sehr schwer reizbar, aber nicht so durchsichtig wie die andere. Schon äußerlich zeigte sich eine starke, linksseitige Einbiegung und Verkrümmung des ganzen Körpers.

Die histologische Untersuchung ergab eine Degeneration der ganzen linken Hälfte des Zentralnervensystems, die sich durch den ganzen Körper verfolgen ließ. Dadurch war eine schwere Wachstumshemmung auf dieser Seite eingetreten. So war z. B. das linke Auge nur etwa halb so groß wie das rechte. Die einseitige Wachstumshemmung hatte dann die starke Einkrümmung nach der linken Seite bewirkt, wodurch das verkrüppelte Aussehen des Tieres zustande kam. Die Hypophyse war normal entwickelt.

So interessant diese Erscheinung an und für sich auch ist, hat sie doch mit unseren Z-Larven nichts zu tun und kann nicht in Parallele zu ihnen gestellt werden. Eine eingehende Beschreibung gehört also nicht hierher.

Anders verhielt es sich mit dem anderen Kümmerer. Er hatte eine Größe von 8,5 mm bei einer Körperlänge von 3 mm erreicht, entsprach also sehr genau der Größe einer 31 Tage alten Z-Larve (siehe Wachstumskurve). Er hatte von der stets reichlich vorhandenen Nahrung nie gefressen und war glashell, fast durchsichtig, schwer reizbar und träge. All diese Eigenschaften waren ja auch bei den Kaulquappen der Z-Kultur aufgetreten.

Abb. 13.

Die histologische Untersuchung ergab genau die gleichen pathologischen Veränderungen der innersekretorischen Organe, wie bei den zurückgebliebenen Larven.

Von dem Kümmerer wurde eine Querschnittserie hergestellt. Die Schnittdicke betrug 10μ , gefärbt wurde mit Eisenhämatoxylin und Eosin.

Die Hypophyse war fast ganz atrophisch und kaum als Verdickung des Grundes des Infundibulums wahrnehmbar. Es war mir infolgedessen auch nicht möglich, die Zahl v festzustellen.

Besonders auffallend war die Übereinstimmung in der Ausbildung der Thyreoidea mit der, zurückgebliebenen Larven. Abb. 13 zeigt einen Querschnitt durch die Schilddrüse des Kümmerers. Die Ähnlichkeit mit Abb. 9 ist unverkennbar. Die Thyreoidea ist auch hier ein unpaares, unregelmäßiges Gebilde, das asymmetrisch auf der einen Seite

der Copula des Zungenbeins liegt. Ich konnte nur zwei Follikel zählen, in denen ganz undeutlich etwas Sekret zu erkennen war. Die Lage im Körper war jedoch ziemlich normal. Der Schnitt durch die Schilddrüse trifft das Gehirn in der Infundibularregion, wie bei normalen Larven.

Die Thymus war normal entwickelt, $f = 0,15$, ebenso Epyphyse und Gonaden.

Alles in allem zeigt also dieser Kümmerer dieselben äußeren und inneren pathologischen Verhältnisse, wie die Larven der zurückgebliebenen Kultur. Damit ist sehr wahrscheinlich gemacht, daß der anormale Zustand, wie er in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurde, keine vereinzelt auftretende Anomalie gewesen ist. Vielmehr handelt es sich wahrscheinlich um eine häufiger auftretende Erscheinung, die wohl in den meisten Fällen unbeachtet bleibt, da die Kümmerer ja nicht sehr lebenskräftig sind und meistens bald eingehen.

In der Natur wird man den Kümmerern noch seltener begegnen, da sie durch ihre Trägheit und schwere Reizbarkeit wohl stets schnell der Selektion zum Opfer fallen. Sie werden zuerst die Beute ihrer zahlreichen Feinde werden. Im Laboratorium, wo die Selektion so gut wie ausgeschaltet ist, werden sie wohl noch eher in Kulturen anzutreffen sein. Daß sie auch hier sehr selten auftreten, beweist die Tatsache, daß ich unter mehreren tausend Froschlarven nur eine einzige fand, die sich einwandfrei als Kümmerer im obigen Sinne erwies. Daß eine ganze Kultur unter den beschriebenen Erscheinungen verkümmert, scheint ein ganz vereinzelt dastehender Fall zu sein.

6. Versuch einer kausalen Verknüpfung.

Überblicken wir zum Schluß die Ergebnisse der Untersuchung, so müssen wir uns fragen, ob es nicht möglich ist, aus den beobachteten pathologischen Verhältnissen eine befriedigende Erklärung für die Entwicklungshemmung der Z-Kultur aufzustellen. Wir haben bereits festgestellt, daß die Ursachen für das Zurückbleiben der Z-Larven nicht in äußeren Einflüssen gegeben sein können. Andere Kulturen haben sich ja unter den gleichen Bedingungen normal entwickelt, und Zwerglarven sind in normalen Kulturen aufgetreten. Unwegsamkeit des Darmes oder Mißbildungen der Freßwerkzeuge konnten ebenfalls nicht festgestellt und für das anormale Verhalten, besonders die Verweigerung von Nahrung, verantwortlich gemacht werden. Auch die Annahme, den Grund der Entwicklungshemmung in der geringen Eiggröße zu suchen, die zunächst etwas Bestechendes an sich hatte, erwies sich als unhaltbar. Entwickelte sich doch eine Kultur, die aus ebenso kleinen Eiern hervorgegangen war, unter den gleichen äußeren Bedingungen völlig normal.

Die Ursachen müssen also im Organismus der Tiere liegen, und wir müssen uns daher fragen, welcher Art dieselben sein können. Am nächsten würde es dabei sein, an die Wirkung der innersekretorischen Drüsen zu denken. Vielleicht erlaubt uns unsere Kenntnis von der Funktion der endokrinen Organe, einen Zusammenhang zwischen den Hemmungserscheinungen und den pathologischen Veränderungen, die bei einzelnen Drüsen mit innerer Sekretion festgestellt wurden, zu finden.

Zunächst die Wachstumshemmung, der Zwergwuchs. Es ist eine in der menschlichen Pathologie häufig gemachte Erfahrung, daß Zwergwuchs in Verbindung mit Hypophysenerkrankungen vorkommt. Biedl sagt sogar direkt: »Künftighin müßte in allen Fällen von Zwergwuchs dem Verhalten der Hypophyse Beachtung geschenkt werden. Es ist zu erwarten, daß die verminderte Vorderlappentätigkeit der Hypophyse beim Menschen durch eine Wachstumshemmung als Zwergwuchs in Erscheinung treten würde.«

Benda beschrieb bei einem 38jährigen Zwerg ein Teratom der Hypophysengegend, welches den Hirnanhang stark komprimierte und erwähnt einen Fall von Hutchinson, in dem bei einem Zwerg die Hypophyse durch ein Fibrom komprimiert und atrophisch war. Hüter fand bei einer 42 Jahre alten, 106 cm großen Zwergin $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ der Hypophyse durch einen tuberkulösen Prozeß zerstört. Burnier beschreibt einen 26jährigen Mann von 125 cm Körpergröße und 32½ kg Körpergewicht mit allen klinischen Zeichen eines Hypophysentumors. Sprinzels demonstrierte am 7. Juni 1912 in der Gesellschaft der Ärzte in Wien einen weiteren Fall von Zwergwuchs, bei dem eine Funktionseinschränkung der Hypophyse vorlag. Anatomisch nachgewiesene Hypophysentumoren, die gleichzeitig mit mehr oder minder ausgesprochener Wachstumshemmung verknüpft waren, werden beschrieben von Bartels, Nazari, Zöllner, Mixter und Quacquerboß, Uhthoff, Hewlett. All diese Fälle, zu denen ich noch viele hinzufügen könnte, beweisen, daß Zwergwuchs die Folge einer Einschränkung der Hypophysentätigkeit sein kann.

Bei unseren Z-Larven liegt nun infolge der Hypotrophie des Hirnanhangs auch eine Einschränkung seiner Funktion vor. Wenn man also eine Parallele zu den bei Menschen untersuchten Fällen von Zwergwuchs ziehen darf, so ist man leicht geneigt, in der Hypotrophie der Hypophyse der zurückgebliebenen Kaulquappen die Ursache ihres verminderten Wachstums zu sehen. Für diese Annahme würde auch die Untersuchung von Hahn eine Parallele bilden. Er fand bei Riesenzwergwuchs von *Rana esculenta*-Larven eine Hypertrophie der Hypophyse. Es fehlt allerdings die experimentelle Bestätigung. Dagegen spricht eine Beobachtung von Adler. Dieser exstirpierte 22 mm langen

Temporaria-Larven die Hypophyse. Die Folge war wider alles Erwarten ein enormes Körperwachstum. Er schreibt jedoch selbst hierüber: »Dies war keineswegs nach den vorliegenden Kenntnissen über die Physiologie und die Pathologie der Hypophyse zu erwarten. Unser Material ist zu klein, als daß es zu diesbezüglichen Theorien ausreichen würde. So wollen wir denn von allen Hypothesen absehen und einfach die Tatsache verzeichnen.«

Man könnte nun auch der Ansicht sein, daß die rudimentäre Beschaffenheit von Hypophyse und Thyreoidea Folgeerscheinungen einer allgemeinen Störung sind, deren Ursachen wir nicht kennen. Dann müßten aber beide Organe in normalem Verhältnis zur Körpergröße stehen, während sie doch tatsächlich unverhältnismäßig viel kleiner sind. Viel wahrscheinlicher scheint es zu sein, daß primär ein Organ verkümmert ist und sekundär die Veränderungen der anderen nach sich gezogen hat. Nehmen wir an, die Schilddrüse sei dieses Organ, so haben wir allerdings eine Erklärung für den Zwergwuchs, denn Athyreosis ist beim Menschen von ausgesprochenem Zwergwuchs gefolgt. Dagegen müßte sich die Hypophyse in umgekehrtem Sinne verändert haben. Es ist festgestellt, daß operative Entfernung der Thyreoidea eine Hypertrophie der Hypophyse zur Folge hat (Schönmann, Schilder).

Viel eher entspricht unseren seitherigen Erfahrungen, daß die Hypophyse primär verkümmert ist. Dann haben wir nicht nur eine Erklärung für den Zwergwuchs, sondern auch für die Atrophie der Schilddrüse.

Biedl bemerkt schon, daß funktionelle und anatomische Alterationen der Hypophyse mit Veränderungen in der Schilddrüse verbunden sind. Livon und Peyron fanden beim Hunde nach Hypophysektomie eine hochgradig atrophische, stark sklerosierte Schilddrüse. Ganz besonders scheint aber der Befund Adlers für diese Theorie zu sprechen. Die Kaulquappen, denen er die Hypophyse entfernt hatte, zeigten alle eine hochgradige Atrophie der Schilddrüse. Die Zahl der Drüsenfollikel war auf drei oder vier, im Höchsthalle fünf reduziert. Aber auch diese wenigen waren nicht normal. Sie waren sehr eng und zeigten nirgends auch nur eine Andeutung des normalen Kolloidgehalts.

So einleuchtend diese Annahme auch ist, alle Erscheinungen erklärt sie doch nicht in zufriedenstellender Weise. So ist meines Wissens nicht festgestellt, daß die Ausbildung der innersekretorischen Drüsen, speziell der Hypophyse, einen Einfluß auf die Nahrungsaufnahme hätte. Außerdem stehen die Keimdrüsen in innigster Wechselbeziehung zum Hirnanhang. Sie müßten bei Annahme einer primären Hypoplasie der Hypophyse ebenfalls hypotrophisch sein. Adler stellte

bei seinen Kaulquappen fest, daß nach der Exstirpation der Hypophyse nicht nur die Weiterentwicklung der Gonaden aufgehört, sondern daß sogar noch eine leichte Atrophie eingesetzt hatte. Eine indirekte Parallele hierzu bilden Hahns Beobachtungen an Riesenkaulquappen mit hypertrophischer Hypophyse. Die Riesentiere besaßen Gonaden, »wie sie sonst nur bei einem fertig entwickelten, geschlechtsreifen Frosch vorkommen«.

Bei den Z-Larven ließ sich aber eine Veränderung der Geschlechtsdrüsen weder in positivem noch negativem Sinne feststellen. Dadurch gewinnt die andere Ansicht mehr an Wahrscheinlichkeit, wonach die Hypophyse sekundär durch eine unbekannte, in der Keimesanlage liegende Ursache zurückgeblieben ist, der auch die anderen Organe unterworfen waren. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, daß noch nachträglich eine Beeinflussung der Thyreoidea stattgefunden hat. Die verlangsamte Entwicklung der Eier weist auch darauf hin, daß der Anstoß zur Entwicklungshemmung bereits im frühesten Embryonalstadium vor der Differenzierung der Organe, wahrscheinlich bereits im Ei gegeben war.

Ehe es uns nicht gelingt, experimentell Zwerglarven zu erzeugen, werden wir wohl kaum Aufschluß über die Art der Ursachen erhalten, die zur Entwicklungshemmung geführt haben.

7. Zusammenfassung.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung lassen sich unter folgende Punkte zusammenfassen:

1. Es kann aus inneren Ursachen heraus, unabhängig von äußeren Einflüssen, bei *Rana esculenta*-Larven eine Wachstums- und Entwicklungshemmung vom frühesten Entwicklungsstadium ab einsetzen.

2. Die Hemmungserscheinungen sind charakterisiert durch ein Zurückbleiben in der Körpergröße und der Ausbildung der inneren Organisation; physiologisch sind sie gekennzeichnet durch Verweigerung der Nahrung, schwere Reizbarkeit und Trägheit der Tiere.

3. Diese Erscheinungen können sowohl das ganze Gelege eines Pärchens befallen, als auch bei einzelnen Kaulquappen einer Kultur, die sich sonst normal entwickelt, auftreten.

4. Es fand sich bei allen Tieren eine Hypotrophie der Hypophyse und der Thyreoidea.

5. Es ist vorläufig noch nicht zu entscheiden, ob die rudimentäre Beschaffenheit der Hypophyse das Primäre war und die Hypotrophie der Schilddrüse wie die Hemmung des Körperwachstums sekundär herbeigeführt hat, oder ob alle Erscheinungen die Folge einer allgemeinen Störung aus unbekannten inneren, in der Keimesanlage gegebenen Ursachen sind. Das Letztere ist das Wahrscheinlichere.

6. Die zurückgebliebene Kultur war aus sehr kleinen Eiern (1,3 mm) hervorgegangen. Die geringe Eigröße kann jedoch nicht der alleinige Grund der Verkümmierung gewesen sein, da sich eine andere Kultur aus ebenso kleinen Eiern unter den gleichen äußeren Bedingungen normal entwickelte.

Zum Schluß möchte ich meinem hochverehrten Lehrer Herrn Geheimrat Richard von Hertwig meinen tiefgefühltesten Dank aussprechen. Ihm verdanke ich die Anregung und das Material zu der vorliegenden Untersuchung. Durch Überlassen von eigenen Kulturen und sein stetes Interesse an meiner Arbeit hat er mich in weitgehendstem Maße unterstützt. Ebenso bin ich den Herrn Professoren Buchner und v. Frisch für Literaturangaben und manchen wertvollen Fingerzeig zu Dank verpflichtet.

8. Literaturverzeichnis.

- Abderhalden, E., Studien über die von einzelnen Organen hervorbrachten Substanzen mit spezifischer Wirkung. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 162. 1915. — Adler, L., Metamorphosestudien an Batrachierlarven. I. Exstirpation endokriner Drüsen. A. Exstirpation der Hypophyse. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 39. 1914. B. Exstirpation der Thymus. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 40. 1914. C. Exstirpation der Epiphyse. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 40. 1914. — Allen, B. M., The results of thyroid removal in the larvae of *Rana pipiens*. Journ. of Exp. Zool. Vol. 24. p. 499. 1918. — Babak, E., Einige Gedanken über die Beziehung der Metamorphose bei den Amphibien zur inneren Sekretion. Zentralbl. f. Physiol. Bd. 10. 1913. — Bartels, M., Über Plattengeschwülste der Hypophysengegend. Zeitschr. f. Augenk. Bd. 16. 1906. — Benda, Über den normalen Bau und einige pathologische Veränderungen der menschlichen Hypophysis cerebri. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1900. — Biedl, A., Innere Sekretion. II. Aufl. Wien 1913. — Braem, F., Epiphyse und Hypophysis von *Rana*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63. 1898. — Burnier, R., Tumeur de l'hypophyse avec arrêt du développement du squelette. Presse médicale. No. 94. 1911. — Chambers, R., Einfluß der Eigröße und der Temperatur auf das Wachstum und die Größe des Frosches und dessen Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 72. 1908. — Doms, H., Über den Einfluß der Temperatur auf Wachstum und Differenzierung der Organe während der Entwicklung von *Rana esculenta*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 87. 1915. — Gaupp, E., Anatomie des Frosches. Braunschweig 1914. — Goette, A., Die Entwicklungsgeschichte der Unke. Leipzig 1875. — Gudernatsch, J. F., Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs, given as food on growth and differentiation. A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 35. 1912. — Hahn, A., Einige Beobachtungen an Riesenlarven von *Rana esculenta*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 80. 1912. — Hammar, J. A., Ist die Thymusdrüse beim Frosch ein lebenswichtiges Organ? Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 110. S. 337. 1905. — Hertwig, O., Handbuch der Entwicklungslehre der Wirbeltiere. Jena 1906. — Ders., Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Wirbeltiere. II. Aufl. Jena 1915. — Kuschakewitsch, S., Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana esculenta*. Festschr. f. R. Hertwig. Bd. II. Jena 1910. —

Livon, Ch., et Peyron, Lésions du système endocrine, consécutives à une hypophysectomie subtotale, ayant entraîné la mort au bout de huit mois. Compt. rend. de la société de biologie. 71. 1911. — Morgan, T. H., Die Entwicklung des Froscheies. Leipzig 1904. — Oppel, A., Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. Jena 1905. — Romeis, Benno, Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe. II. Der Einfluß von Thyreoidea- und Thymusfütterung auf das Wachstum, die Entwicklung und die Regeneration von Anurenlarven. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 50 u. 51. 1914/15. III. Biologische Versuche über die Wirksamkeit verschiedener Thyreoideapräparate. Zeitschr. f. d. ges. exp. Medizin. Bd. 4. 1916. IV. Kurze Mitteilung über: a) Die Beeinflussung sehr früher Entwicklungsstadien von *Rana temporaria* durch Schilddrüsensubstanz. b) Die Beeinflussung von Implantaten durch Schilddrüsensubstanz. c) Die experimentelle Prüfung der Wirksamkeit einiger Antithyreoidinpräparate usw. Zeitschr. f. d. ges. exp. Medizin. Bd. 5. 1916. V. Die Beeinflussung von Wachstum und Entwicklung durch Fett-, Lipoid- und Eiweißstoffe, sowie eiweißfreie Extrakte der Schilddrüse und der Thymus. Zeitschr. f. d. ges. exp. Medizin. Bd. 6. 1918. VI. Weitere Versuche über den Einfluß von Fett- und Lipoidsubstanzen, sowie enteweißten Extrakten der Schilddrüse auf Entwicklung und Wachstum. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 173. 1919. — Schaper, A., Experimentelle Studien an Amphibienlarven. Erste Mitteilung: Haben künstlich angelegte Defekte des Zentralnervensystems oder die vollständige Elimination desselben einen nachweisbaren Einfluß auf die Entwicklung des Gesamtorganismus junger Froschlarven? Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 6. 1898. — Sprinzels, Demonstration eines Falles von Hypophysentumor mit Zwergwuchs. Wiener klin. Wochenschr. 937. 1912. — Witschi, E., Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana temporaria*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 85. 1914.