Studien über den Einfluss des Dotters auf die Gastrulation und die Bildung der primären Keimblätter der Wirbelthiere.

IV. Amphioxus.

Von

Prof. P. Samassa.

Mit Tafel I—III und 8 Figuren im Text.

Eingegangen am 23. Februar 1898.

Schon bei Beginn dieser Studien galt es mir als selbstverständlich, dass ich mir durch Untersuchung der Amphioxus-Entwicklung ein selbständiges Urtheil über die Keimblätterbildung dieser Form bilden müsste, die ja für alle Vergleichen mit den übrigen Chordaten als Ausgangspunkt dienen muss. Ob ich aber über diese Untersuchung etwas veröffentliche, war natürlich davon abhängig, wie weit ich neue Thatfachen beizubringen oder Kontroversen zu entscheiden in der Lage sein würde. In einiger Beziehung scheint mir dies im nachstehend Mitgetheilten gelungen zu sein; in anderen Punkten dürfte die neuerliche Bestätigung bereits festgestellter Thatfachen nicht ganz ohne Werth sein. Nachdem durch die grundlegenden Untersuchungen KOWALEWSKY's¹⁾ und HATSCHEK's²⁾ das Interesse an der Amphioxus-Entwicklung für einen längeren Zeitraum befriedigt schien, ist dieselbe in den letzten Jahren von Neuem Gegenstand wiederholter Untersuchungen geworden. WILSON³⁾ hat die Furchung neuerlich untersucht und ist hierbei zu Resultaten gekommen, die von denen HATSCHEK's sehr beträchtlich abweichen. LWOFF⁴⁾ hat in Bezug auf die Keimblätterbildung eine Auffassung vertreten, die im Gegensatz zu der HATSCHEK's steht. SOBOTTA⁵⁾

hat sich hauptsächlich mit der Kritik dieser Auffassung beschäftigt, während KLAATSCH⁶⁾ die von HATSCHKE vorausgesetzte Art des Urmundverschlusses kritisirte. Außerdem kamen die vier letztgenannten Forscher übereinstimmend zu dem Resultat, dass die von HATSCHKE beschriebenen Mesodermopolzellen nicht existiren.

Ich erlangte das Material zu meiner Untersuchung im vergangenen Jahre Ende Mai und in der ersten Hälfte des Juni in Neapel auf die seit einigen Jahren dort geübte und bereits mehrfach beschriebene Art. Im Verlaufe von nicht ganz 3 Wochen habe ich viermal in Intervallen von 4—5 Tagen befruchtete Eier erhalten und daher eine völlig ausreichende Menge von Material konserviren können⁷⁾. Die Beobachtung am Lebenden kam dabei freilich etwas zu kurz, doch habe ich gerade in einigen wichtigen Stadien auch am Lebenden beobachten und zeichnen können. Konservirt habe ich mit Sublimat mit 5% Eisessigzusatz, sehr schwacher FLEMMING'scher, HERMANN'scher Flüssigkeit und mit BOVERI's Pikrinessigsäure; außerdem mit Alkohol-Glycerin-Eisessig⁸⁾, das für die Beobachtung in toto ganz vorzügliche Dienste leistet. Ich habe auch Objekte, die sich in diesem Gemisch befinden, nachträglich noch z. B. mit Pikrinessigsäure behandelt, gefärbt und geschnitten, und die histologische Erhaltung ganz tadellos gefunden.

Besondere Sorgfalt habe ich auf eine genaue Orientirung der Embryonen verwendet⁹⁾. Die Einbettung erfolgte stets nach der FIELD-MARTIN'schen¹⁰⁾ Methode der gleichzeitigen Durchtränkung mit Paraffin und Celloidin, die ich jedoch in zwei Punkten, von denen der eine nicht ganz unwesentlich sein dürfte, modificirt habe. Die Objekte kamen, nachdem sie mit Boraxkarmin gefärbt waren¹¹⁾, aus absolutem Alkohol in ein Gemisch von 2 Theilen Toluol, 1 Theil absol. Alkohol und 1 Theil Schwefeläther, und von da in das gleiche Gemisch, das aber mit Paraffin und Celloidin gesättigt ist¹²⁾. Hierin bleiben die Objekte einen Tag und werden dann mit der Flüssigkeit auf eine Glasplatte gebracht, die etwa eine halbe Stunde an der Luft stehen bleibt, wobei sich auf der Flüssigkeit eine Celloidinhaut bildet. Dann wird die Platte in Petroleumäther¹³⁾ gebracht, wo die Einbettungsmasse nach kurzer Zeit erstarrt und ein weißlich-bläuliches Aussehen bekommt. Man kann nun die Einbettungsmasse, die eine zusammenhängende Platte bildet, vom Glas ablösen, lässt sie einen Tag in Petroleumäther und verbringt sie sodann in Paraffinöl, wo sie sich vollkommen aufhellt. Die Objekte sehen genau so aus, wie wenn sie direkt in Paraffinöl lägen und man kann sie,

sofern dies die Dicke der Celloidinplatte nicht hindert, mit den stärksten Vergrößerungen betrachten. Orientirt man dann das Objekt auf einem Objektträger, auf dem man gerade Striche eingeritzt hat, so kann man das Objekt in bestimmter Form aus der Platte heraus-schneiden und dadurch eine Achse kenntlich machen. Es gelingt auf diese Art ganz leicht, selbst Furchungsstadien gut orientirt zu schneiden. Die Objekte kommen aus dem Paraffinöl direkt in Paraffin. Die Celloidinplatten mit den Objekten können übrigens beliebig lange in Paraffinöl aufbewahrt werden, was ein großer Vorzug dieser Methode ist.

Die Furchung.

HATSCHEK war der Erste, der der Furchung des Amphioxus eine eingehende Beschreibung gewidmet hat; nach ihm wurde dieselbe nur von WILSON untersucht. Da nun letzterer Autor zu ganz anderen Resultaten kam als HATSCHEK, so dürfte eine genaue, neuerliche Darstellung der Furchung nicht überflüssig sein¹⁴⁾. Nach HATSCHEK ist die Furchung ungemein regelmäßig und die Zellen haben eine genaue kranzförmige Anordnung, der Keim ist somit streng radiär gebaut; nachdem die synchronen Theilungen für alle Zellen desselben bereits aufgehört haben, treten noch während mehrerer Theilungen die Zellen eines Zellkranzes immer gleichzeitig in die Theilung ein. Dem gegenüber betont WILSON, dass die Furchung sehr großen Variationen unterliegt und in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle vom 16zelligen Stadium an nicht nach dem radiären, sondern nach dem bilateralen Typus verläuft. Meine eigenen Beobachtungen haben zu einer vollkommenen Bestätigung der Angaben WILSON's geführt.

Bezüglich des 4zelligen Stadiums herrscht zwischen HATSCHEK und WILSON keine Differenz. Bezüglich des 8zelligen Stadiums behauptet WILSON, dass mindestens in $\frac{3}{4}$ der Fälle die von HATSCHEK beschriebene streng radiale Form vorkommt, außerdem aber auch der spirale und bilaterale Typus. Ich kann diese Angaben bestätigen, nur finde ich die beiden letztgenannten Typen noch seltener als WILSON.

Im 16zelligen Stadium soll nach HATSCHEK der Keim aus zwei genau über einander liegenden Zellkränzen von animalen und vegetativen Zellen bestehen. WILSON bemerkt, dass dies nur für einen äußerst geringen Procentsatz zutrifft. In der genau radiären Form, wie HATSCHEK sie abbildet, habe ich dieses Stadium überhaupt nie

gesehen und auch das Ei der Fig. 20 und 21 WILSON's, von dem er sagt, dass es der radiären Form am nächsten komme, ist es in so fern nicht, als nicht alle Zellen des animalen Kranzes an das Lumen desselben stoßen, sondern nur sieben, während eine Zelle weiter nach außen liegt. Ein diesem Ei WILSON's entsprechendes bilde ich in Fig. 1 ab. Fig. 2 zeigt ein streng bilaterales, das einen Übergang des ersten bilateralen Typus WILSON's zum zweiten vorstellt. Auch KOWALEWSKY bildet ein 16zelliges Stadium ab, das deutlich bilaterale Symmetrie aufweist. Die vegetativen Zellen zeigen häufiger als die animalen eine bilaterale oder radiäre Anordnung, die der animalen Zellen ist jedoch vorwiegend unregelmäßig. Fig. 3 und 4 geben einige Beispiele. Dass die vegetativen Zellen dem einen, die animalen dem anderen Typus folgen, ist nichts Ungewöhnliches; so kommt z. B. in Fig. 5 die Anordnung der animalen Zellen dem spiralen Typus am nächsten, während die vegetativen streng bilateral sind. Die rein spirale Form in beiden Zellarten ist, wie dies ja auch WILSON angiebt, jedenfalls sehr selten; mir ist wenigstens ein Ei wie in WILSON's Fig. 31 nicht untergekommen. Was die Größe der Zellen betrifft, so geht aus der Beschreibung HATSCHEK's, wenn er auch nicht ausdrücklich darauf eingeht, doch hervor, dass die acht vegetativen Zellen von gleicher Größe sein sollen. Nach WILSON sind vier der neugebildeten Zellen kleiner als ihre Schwesterzellen und dies trifft für die Mehrzahl der Fälle zu. Oft aber sind auch mehr als vier Zellen von ganz gleicher Größe, alle acht jedoch kaum jemals.

Die fünfte Theilung soll nach den Angaben HATSCHEK's bei allen Zellen durch latitudinale¹⁵⁾ Furchen erfolgen; dies trifft jedoch generell meist nur für die vegetativen Zellen zu, von den animalen theilt sich häufig nur ein kleinerer Theil, niemals alle durch latitudinale Furchen; die häufigste Form ist die in Fig. 6 in Ansicht vom animalen Pol und in Fig. 7 in Seitenansicht wiedergegebene; die Bilder stimmen fast genau mit Fig. 36 und 35 der WILSON'schen Arbeit. Es geht aus ihnen hervor, dass fünf animale Zellen durch Ebenen getheilt werden, die meridionalen ziemlich nahe kommen, und nur drei durch latitudinale. Nach vollzogener Theilung soll nach HATSCHEK der Keim aus vier Kränzen von je acht Zellen bestehen, die vom vegetativen zum animalen Pol allmählich an Größe abnehmen. In der Form, wie HATSCHEK dies abbildet, habe ich es ebenso wenig wie WILSON jemals beobachten können. Die am vegetativen Pol gelegenen acht Zellen trifft man hier und da in

kranzförmiger Anordnung, wie dies Fig. 8 wiedergibt. Doch ist dies die Ausnahme; in der Regel bilden die vier größten vegetativen Zellen am vegetativen Pol eine Rosette; der bilaterale Typus ist oft sehr ausgesprochen, z. B. in Fig. 9. Die Seitenansicht Fig. 10 zeigt, dass zwar einzelne Säulen von vier über einander liegenden Zellen vorkommen können, niemals aber alle Zellen derartig angeordnet sind, wie z. B. HATSCHKE abbildet. Es ist dies schon deshalb unmöglich, weil die Furchungshöhle in diesem Stadium am animalen Pol immer, am vegetativen sehr häufig gegen die Umgebung abgeschlossen ist. Auch HATSCHKE macht diese Angabe, doch fällt es schwer, sich eine Vorstellung zu machen, wie nach seiner Meinung dieser Abschluss erfolgt; man erfährt nichts Genaueres über die eigenthümlichen Brücken, welche in dem optischen Durchschnitt Fig. 11 die an den Polen gelegenen Zellen verbinden, eine Ansicht von einem der Pole wird nicht gegeben.

Nach HATSCHKE bleiben jetzt zunächst die acht am vegetativen Pol gelegenen Zellen in der Theilung zurück, dann schnüren sie acht kleinere Zellen ab, die sich bald darauf theilen. Es würde demnach auf das 32zellige Stadium ein 56-, 64- und 72zelliges folgen. Dem gegenüber kann ich nur die Angabe WILSON's bestätigen, dass die Theilung nach dem 32zelligen Stadium synchron ist und zum 64zelligen führt. Die am Äquator gelegenen Zellen theilen sich meist durch meridionale Furchen, die an den Polen gelegenen in den verschiedensten Richtungen, wie dies die Seitenansicht Fig. 11 zeigt. Ich habe schon beim 16zelligen Stadium bemerkt, dass die Zahl der großen vegetativen Zellen von gleichem Durchmesser nicht konstant ist; dasselbe gilt sowohl für das 32- wie 64zellige Stadium. WILSON giebt an, dass sich nach dem 32zelligen Stadium eine oder mehrere der primären Makromeren äqual theilen können; es kann dies aber wie gesagt auch schon früher geschehen sein. Ich hebe das hervor, weil meines Erachtens die Größe der vegetativen Zellen nur die eine Gesetzmäßigkeit aufweist, dass sie gegen den animalen Pol zu abnimmt. Ich betone dies besonders deshalb, weil WILSON vom 16zelligen Stadium an immer von der Bildung von Mikromerengruppen durch die Makromeren spricht und dies die falsche Vorstellung erweckt, als ob diese Vorgänge eine Ähnlichkeit mit der so überaus gesetzmäßigen Mikromerenbildung z. B. bei Anneliden hätte. Es handelt sich jedoch in beiden Fällen um durchaus verschiedene Furchungstypen, die durch ihre Unregelmäßigkeit einerseits, ihre Regelmäßigkeit andererseits charakterisirt sind und ein Vergleich,

wie ihn WILSON zwischen denselben versucht, erscheint mir von vorn herein undurchführbar.

Nach dem 72zelligen Stadium HATSCHKE's, das jedoch, wie ich bereits bemerkt habe, nicht existiert, sollen sich nach diesem Autor nur mehr einzelne Zellkränze, diese aber immer gleichzeitig theilen. WILSON giebt an, dass alle Zellen des 64zelligen Stadiums sich gleichzeitig theilen. Diese Angaben kann ich, wie aus Fig. 12 hervorgeht, bestätigen und möchte bloß die eine Einschränkung machen, dass sich bei dieser Theilung bereits einige Abweichungen von der Synchronie beobachten lassen, wie auch Fig. 12 beweist, wo zwar die überwiegende Mehrzahl der Zellen sich in Theilung befinden, bei einigen dieselbe jedoch bereits vollendet ist. Die Theilung vollzieht sich, wie auch WILSON bemerkt, in den verschiedensten Ebenen.

Nach dem 128zelligen Stadium finden synchrone Theilungen nicht mehr statt; wenn daher WILSON von einem 256- und 512-zelligen Stadium spricht, so kann es sich nur um approximative Schätzungen handeln, was WILSON für das letztere Stadium auch ausdrücklich bemerkt.

Wie WILSON angiebt, zeigen sich im Stadium von ca. 500 Zellen die ersten Andeutungen einer Abflachung am vegetativen Pol, welche die Gastrulation einleitet; doch giebt es auch hier viel individuelle Variation, indem die Einstülpung bald früher, bald später eintritt. WILSON hat auch darauf aufmerksam gemacht, dass man mitunter noch in diesem Stadium die bilaterale Anordnung der Zellen am vegetativen Pol sehr ausgesprochen findet. Ich bilde in Fig. 13 einen Fall ab, in dem dies noch viel klarer ist, als in WILSON's Fig. 48; es ist übrigens nicht der einzige mit so deutlicher bilateraler Symmetrie, den ich getroffen. Derartige Blastulae lassen nun ein eigenenthümliches Verhalten erkennen, indem die größten vegetativen Zellen nicht genau central am vegetativen Pol liegen, sondern etwas nach einer Seite verschoben sind, wie dies Fig. 13 auch erkennen lässt; nach der anderen Richtung hin nimmt die Größe der Zellen allmählich ab. Rollt man nun den Embryo senkrecht auf die Richtung der Symmetrieebene um 90° und betrachtet man den optischen Schnitt in der Symmetrieebene (Fig. 14), so tritt dies noch deutlicher hervor; außerdem kann man nun aber auch sehen, dass die epithelialen Zellen, die an die kleineren runden Zellen anstoßen, niedriger sind als die Nachbarn der größeren Zellen; durch dieses Verhalten wird die bilaterale Symmetrie noch deutlicher markiert. Man trifft

es übrigens auch an Embryonen, an denen man äußerlich keine Symmetrie erkennen kann; auch der optische Durchschnitt, den WILSON in seiner Fig. 49 giebt, zeigt es sehr deutlich. Auf die besondere Bedeutung dieser Thatsache werde ich im nächsten Abschnitt noch eingehen.

Die Einstülpung.

Beim Einstülpungsprocess habe ich mein Hauptaugenmerk auf die Frage gerichtet, ob die Einstülpung radiär oder bilateral symmetrisch vor sich geht. KOWALEWSKY giebt an, dass die bilaterale Symmetrie erst kenntlich ist, wenn der Urmund bereits dem Verschlusse nahe ist; nach HATSCHEK ist das bereits viel früher der Fall, aber doch erst nachdem die Furchungshöhle ganz verdrängt ist. Hingegen behauptet LWOFF, dass außer den größeren »Entodermzellen« auch kleinere »Ektodermzellen« auf der künftigen Dorsalseite eingestülpt würden; er fährt fort: »Es wollte mir dabei scheinen, als ob eine gewisse radiale Asymmetrie, welche schon in diesem Stadium die dorsale Seite der Gastrula erkennen ließ, nur durch diese Ungleichmäßigkeit der Einstülpung bedingt wurde.« LWOFF bildet jedoch nur späte Stadien ab, in denen der Urmund bereits sehr verengt ist und nach meinen Beobachtungen eine Einstülpung überhaupt nicht mehr stattfindet; da er außerdem wiederholt HATSCHEK die Meinung zuschreibt, dass die Einstülpung bereits bilateral symmetrisch vor sich gehe, was aber HATSCHEK faktisch nie behauptet hat, so ist es schwer, sich ein Urtheil darüber zu bilden, wie weit die etwas reservirt vorgebrachte Ansicht LWOFF's auf beobachteten Thatsachen beruht. WILSON hat diese Behauptung LWOFF's bestritten, und findet den Keim während der Einstülpung vollkommen radiär symmetrisch; auf das Argument, das er hierfür anführt, komme ich noch zurück. Neuerdings hat auch SOBOTTA gegen LWOFF die von HATSCHEK behauptete radiäre Symmetrie der Einstülpungsstadien vertreten.

Meine Untersuchungen haben die Angaben LWOFF's in so fern bestätigt, als in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle der Keim während der Einstülpung bereits eine bilaterale Symmetrie erkennen lässt; zu dieser Überzeugung bin ich hauptsächlich durch die Betrachtung von Embryonen, die in Glycerin-Alkohol-Essigsäure konservirt waren, gekommen. Derartig konservirte Embryonen sind durchsichtig wie lebende, und lassen sich in allen Richtungen ausgezeichnet rollen, so dass man optische Durchschnitte in den ver-

schiedensten Richtungen abzeichnen kann. Meine Skizzen, die ich nach dem lebenden Objekt gemacht hatte, sowie gut orientirte Schnitte bestätigten sodann meine Resultate vollkommen.

Zum Ausgangspunkt meiner Darstellung muss ich die in Fig. 13 und 14 abgebildete Blastula nehmen. Ich habe bereits erwähnt, dass die größeren Zellen am vegetativen Pol häufig eine deutlich bilaterale Anordnung erkennen lassen und dass die größten derselben nicht in der Mitte, sondern seitlich liegen, so dass die Größe der kugelförmigen Zellen längs der Symmetrieebene allmählich abnimmt; ferner geht aus dem optischen Sagittalschnitt (Fig. 14) hervor, dass die an die kleineren, kugeligen stoßenden epithelialen Zellen niedriger, die Nachbarn der größeren höher sind. Ich nehme nun voraus, dass die Achse, welche während der Furchungsstadien den animalen Pol mit dem vegetativen verbindet, genau der künftigen Längsachse, die Seite mit den größeren und höheren Zellen der ventralen, die mit den kleineren der dorsalen entspricht. Dieses eigenthümliche Verhältnis, dass die Zellen auf der ventralen Seite höher und größer sind als auf der dorsalen, lässt sich während des ganzen Einstülpungsvorganges verfolgen; am deutlichsten ist es immer in der Symmetrieebene zu erkennen, seitlich ist es sehr verwischt. Fig. 15 bis 19 giebt genau median geführte Sagittalschnitte durch auf einander folgende Einstülpungsstadien wieder, die insbesondere an den Umschlagsrändern das geschilderte Verhalten sehr deutlich erkennen lassen. Die Kuppe der eingestülpten Zellen liegt fast immer etwas excentrisch (im Sagittalschnitt daher asymmetrisch) und meist der dorsalen Seite genähert (Fig. 18), entsprechend ihrer Lage nach

Fig. I.

a optischer Sagittalschnitt, *b* optischer Querschnitt durch ein Einstülpungsstadium.
Glycerin-Alkohol-Essigsäure. Vergr. 1/248.

Verdrängung der Furchungshöhle (vgl. Fig. 20 und 21). Die Größe dieser Verlagerung ist sehr verschieden; während sie z. B. in Fig. 17 nur geringfügig in ventraler Richtung vorhanden ist, finden wir sie

in Fig. I a, die einen optischen Sagittalschnitt durch ein etwas jüngeres Stadium wiedergibt, in gleicher Richtung viel stärker. Um zu zeigen, dass es sich in Fig. I a nicht etwa um eine zufällige Deformation handelt, gebe ich in Fig. I b einen optischen Frontalschnitt aus einer genau senkrechten Ebene auf die der Fig. I a wieder, der sich als durchaus symmetrisch erweist. Sehr konstant habe ich die Tatsache gefunden, dass der letzte Rest der Furchungshöhle sich immer am dorsalen Umschlagsrand in der in Fig. 19 wiedergegebenen Form findet; ich habe diesen häufig fast genau dreieckigen Raum sehr oft am lebenden Objekt beobachtet und nach demselben gezeichnet. Ist die Furchungshöhle völlig verdrängt, so bietet ein medianer Sagittalschnitt das Bild der Fig. 20; dass in diesem Stadium die bilaterale Symmetrie vollkommen kenntlich ist, wird allseitig zugegeben.

Ich bemerke noch, dass bereits KOWALEWSKY in seiner Fig. 12 einen medianen Sagittalschnitt abbildet, der auf der linken (ventralen) Seite hohe, auf der rechten (dorsalen) niedere Zellen zeigt, ganz genau so wie ich dies eben geschildert habe. Die Fig. 21—23 HATSCHKE's, die derselbe als Beweis für die radiäre Symmetrie der Einstülpungsstadien beibringt, sind natürlich ganz korrekt, aber sie stellen optische Frontal- und nicht Sagittalschnitte vor und können daher nichts beweisen. WILSON giebt als Argument für den radiär symmetrischen Charakter der Einstülpung an, dass er den »cleavage pore«, d. h. eine Spalte zwischen den großen vegetativen Zellen bis in späte Stadien (HATSCHKE's Fig. 26, 27) genau im Centrum der Entodermzellen gefunden habe. Ich habe es versäumt, am lebenden Objekt auf diese Spalte zu achten, am konservierten habe ich sie bereits im Blastulastadium nicht mehr gefunden. Ich möchte aus diesem Grunde auf dieses Argument hier nicht näher eingehen, sondern nur darauf hinweisen, dass seine Angaben mit seiner Fig. 49 nicht im Einklang stehen, da hier der »cleavage pore« entschieden excentrisch und zwar genau so liegt, wie er in meiner Fig. 13 liegen würde, wenn er da vorhanden wäre. Was schließlich die Angaben SOBOTTA's anbelangt, der gleichfalls für eine radiär symmetrische Einstülpung eintritt, so kommen dieselben nicht in Betracht, da sie sich nur auf unorientierte Schnitte stützen; immerhin lassen sich an mehreren seiner Figuren Asymmetrien erkennen, die das von mir geschilderte Verhalten andeuten und annehmen lassen, dass die betreffenden Schnitte zufällig annähernd sagittal geführt wurden.

Nun noch Einiges über die Mechanik des Einstülpungsprocesses. Nach HATSCHKE soll nach dem Blastulastadium ein Stillstand in der

Vermehrung der Zellen eintreten und die Einstülpung dadurch erfolgen, dass die Entodermzellen die Blastocöhlflüssigkeit resorbieren und sich dabei vergrößern. Dass die Entodermzellen die Blastocöhlflüssigkeit, welche nach dem mit Hämatoxylin färbbaren Gerinnsel, das man im Blastocöl der Blastula findet, zu schließen, jedenfalls eiweißhaltig ist, resorbieren, scheint mir durchaus plausibel; in wie weit diese Resorption die Einstülpung der Entodermzellen bewirkt, bleibt wohl bei unserer mangelhaften Kenntnis der Wirkung derartiger Vorgänge eine offene Frage. Sicher unrichtig ist die Angabe, dass ein Stillstand in der Vermehrung der Zellen eintritt. Wenn LWOFF findet, dass sich während der Einstülpung die Ektodermzellen sehr rege, die Entodermzellen fast gar nicht theilen, während nach SOBOTTA nach dem Blastulastadium ein Stillstand in der Vermehrung der Zellen stattfindet, während später die Mitosen im Entoderm häufiger sein sollen als im Ektoderm, so erklären sich diese Widersprüche hauptsächlich daraus, dass auch im Blastula- und Gastrulastadium sich meist eine größere Zahl von Zellen synchron theilt. Ist eine derartige Theilung eben vorüber, so ist es dann ganz leicht möglich, dass man z. B. im Blastulastadium »so gut wie keine« Mitosen findet; wenn aber SOBOTTA daraus folgert, dass, wie es HATSCHKE angiebt, ein Stillstand in der Vermehrung der Zellen eingetreten ist, so könnte er nach der gleichen Methode nach jeder Theilung während der Furchung davon sprechen. Um durch diesen Umstand nicht getäuscht zu werden, muss man entweder in sehr kurzen Intervallen konservieren, oder das Material aus verschiedenen Entwicklungsserien vergleichend zum Studium verwenden. Ich habe den letzteren Weg eingeschlagen und bin zu dem Resultat gekommen, dass gerade während der ersten Einstülpungsstadien die Zellen der äußeren Zelllage (Ektoderm nach LWOFF und SOBOTTA) sich sehr stark vermehren, während die eingestülpten Zellen verhältnismäßig wenig Mitosen zeigen. Nach erfolgter Einstülpung ist genau das Umgekehrte der Fall, wie ich noch zeigen werde. Ich habe Präparate aus den ersten Stadien der Invagination, wo beiläufig die Hälfte der Zellen der äußeren Zelllage sich in Theilung befindet.

Nunmehr will ich auf das Verhältnis der Furchung zur Keimblätterbildung etwas näher eingehen, und zwar insbesondere auf die Frage, wann die primären Keimblätter sich abgrenzen und zweitens, in welchem Verhältnis sie zu den animalen und vegetativen Zellen des achtzelligen Stadiums stehen. Nach HATSCHKE wird die Blastula, die vor der Einstülpung steht, in ihrem unteren Drittel aus größeren,

dunkleren Zellen, die das Entoderm repräsentiren, gebildet, während der Rest aus den kleineren Ektodermzellen besteht. Somit wäre im Blastulastadium die Scheidung schon vollzogen; nur die im Blastulastadium bereits kenntlichen Entodermzellen stülpen sich ein. Nach SOBOTTA theilen sich die an die Entodermzellen stoßenden Ektodermzellen am Einstülpungsrand; dadurch soll dann eine scharfe Grenze zwischen den größeren Entoderm- und den kleineren Ektodermzellen entstehen. LWOFF sieht mit HATSCHKE die Keimblätter in der Blastula als bereits geschieden an; und da nun nach seinen Beobachtungen nicht nur die großen, sondern auch kleinere Zellen, speciell am dorsalen Umschlagsrand eingestülpt werden, so kommt er zu dem Resultat, dass die dorsale Urdarmwand aus Ektoderm besteht. Nun lässt sich an der Blastula eine scharfe Grenze zwischen den großen und kleinen Zellen absolut nicht ziehen, wie dies auch SOBOTTA angiebt; die Zellen nehmen an Größe bis gegen den Äquator hin ganz allmählich ab. Ebenso wenig aber findet in den allerersten Phasen der Einstülpung eine Abgrenzung statt; die scharfe Grenze, die SOBOTTA findet, trifft man nur an Frontalschnitten; Sagittalschnitte (Fig. 16—19) zeigen, so lange noch ein Rest einer Furchungshöhle vorhanden ist, einen ganz allmählichen Übergang. Wenn man schließlich etwa im Hinblick auf seine prospektive Bedeutung das untere Drittel der Blastula als Entoderm bezeichnen wollte, würde auch das nicht stimmen. Denn nehmen wir selbst an, dass es sich ausmachen ließe, dass genau ein Drittel eingestülpt wird, so ist dieses Drittel mit Rücksicht auf den bilateral symmetrischen Charakter der Einstülpung doch nicht durch einen Parallelkreis abgegrenzt. Denn obwohl die größten vegetativen Zellen der Blastula bereits etwas excentrisch liegen, so liegt ihnen der ventrale Umschlagsrand um so viel näher als der dorsale, dass man wohl annehmen muss, dass das Einstülpungsfeld durch einen Kreis begrenzt wird, der auf der dorsalen Seite etwa bis zum Äquator reicht, auf der ventralen in der Mitte zwischen vegetativen Pol und Äquator hindurchgeht. Aber abgesehen von der Werthlosigkeit derartiger Projektionen auf frühere Stadien in Fällen, wo es sich nicht um scharf abgegrenzte Zellengruppen handelt, würde sich dieselbe auch in unserem Falle wegen der individuellen Variation gar nicht durchführen lassen. Da demnach bis in die letzten Stadien der Einstülpung (Fig. 19) eine scharfe Grenze zwischen Ektoderm und Entoderm nicht existirt, vielmehr anzunehmen ist, dass fortwährend Zellen der äußeren Schicht am dorsalen Umschlagsrand eingestülpt werden,

so ist nach meiner Ansicht die Scheidung der Keimblätter erst mit dem Augenblick vollzogen, wo die Einstülpung vollendet und das Blastocöl verdrängt ist (Fig. 20). Dass nach diesem Stadium bestimmt keine Zellen der äußeren Schicht zu der eingestülpten hinzukommen, werde ich noch nachweisen. Die Methode LWOFF's habe ich bereits in der Einleitung zu diesen Studien¹⁶⁾ genügend gekennzeichnet; er greift ein paar Zellen des Blastulastadiums, die in keiner Weise gegen ihre Umgebung abgegrenzt sind, heraus und bezeichnet dieselben als Entoderm; alles Andere ergibt sich dann von selbst. Auf diese Art lässt sich natürlich Alles beweisen.

Nun möchte ich noch das Verhältnis der Keimblätter zu den vegetativen und animalen Zellen des achtzelligen Stadiums besprechen, da mir dies im Hinblick auf die Verhältnisse der Ascidien einer-, der höheren Wirbelthiere andererseits von Interesse scheint. HATSCHEK hat sich darüber nirgends ausgesprochen; wenn man aber seine Angaben über das erhebliche Zurückbleiben der Theilungen am vegetativen Pol bereits vom 64zelligen Stadium an in Betracht zieht, so kann man wohl zu der Annahme kommen, dass die vegetativen Zellen das Entoderm, die animalen das Ektoderm liefern. Dieses Zurückbleiben findet jedoch, wie WILSON gezeigt hat, in dem Maße, wie HATSCHEK es angiebt, nicht statt und es lässt sich höchstens für spätere Stadien ein Zurückbleiben der größten Zellen am Pol annehmen, deren Zahl aber nicht groß ist. Nimmt man noch dazu, dass die vegetativen Zellen des achtzelligen Stadiums größer sind als die animalen, so scheint die Annahme durchaus plausibel, dass beiläufig die ganze untere Hälfte der Blastula aus vegetativen Zellen besteht. Von derartigen Erwägungen ausgehend ist vermuthlich WILSON zu dem Schlusse gekommen, dass die vier kleinen vegetativen Zellen des 16zelligen Stadiums sowohl Ektoderm als auch Entoderm den Ursprung geben, eine Annahme, die mir zwar auch überaus wahrscheinlich erscheint, sich aber nicht genau beweisen lässt. WILSON ist hierbei von der Annahme einer radiär symmetrischen Einstülpung ausgegangen; wenn man nun in der von mir oben dargelegten Weise annimmt, dass das Einstülpungsfeld auf der dorsalen Seite bis in die Gegend des Äquators reicht, so wäre immerhin nicht ausgeschlossen, dass auch einige animale Zellen am dorsalen Umschlagsrande eingestülpt und zu Entoderm werden. Dies würde nur neuerdings beweisen, dass keinerlei für alle Wirbelthiere gültigen Beziehungen zwischen Furchung und Keimblätterbildung bestehen.

Die Thatsache, dass auch die Einstülpungsstadien die bilaterale

Symmetrie erkennen lassen, scheint mir ihr weitaus größtes Interesse unter folgendem Gesichtspunkte zu haben. Man kann unmöglich annehmen, dass das frühe Auftreten der bilateralen Symmetrie palingenetisch sei; man käme sonst zu der sonderbaren Konsequenz, dass *Clavelina* von einem bilateral symmetrischen vierzelligen Organismus abstammt. Vielmehr liegt die Sache offenbar so, dass die Ausbildung der bilateralen Symmetrie cänogenetisch in immer frühere Stadien zurückverlegt wurde. Wenn nun die Darstellung WILSON's richtig wäre, wonach in der Furchung die bilaterale Symmetrie auftritt, während der Einstülpung aber verschwindet und der radiären Platz macht, so würde diese Erklärung nicht möglich sein, es sei denn, dass man die Annahme macht, es sei auch während der Einstülpung eine latente bilaterale Symmetrie vorhanden; da aber die Symmetrie gerade eine Eigenschaft der Form ist, ist es schwer, sich eine Symmetrie zu denken, die in der Form nicht zum Ausdruck kommt. Diese Schwierigkeit ist aber eben durch den Nachweis, dass die bilaterale Symmetrie von dem Zeitpunkt an, wo sie zuerst auftritt, eine ununterbrochene ist, behoben. Jedenfalls ist aber die bilaterale Symmetrie während der Furchung nicht entfernt so befestigt, wie bei den Ascidien. WILSON meint, dass eine Untersuchung der Furchung von *Clavelina* mit Rücksicht auf Abweichungen vom bilateralen Typus von Interesse wäre und glaubt, es wäre a priori wahrscheinlich, dass auch dort solche vorkommen. Zwar erhält sich z. B. bei *Ciona* die bilaterale Furchung der Zellen viel länger als bei *Clavelina*¹⁷⁾, in beiden Fällen handelt es sich aber um spätere Stadien, wo die Symmetrie in der Form bereits deutlich zum Ausdruck gekommen ist. Sie kommen daher für den Vergleich mit *Amphioxus* nicht in Betracht. In den Furchungsstadien aber findet man immer genau denselben gesetzmäßigen Verlauf und ohne gerade speciell darauf untersucht zu haben glaube ich doch behaupten zu können, dass z. B. bei *Clavelina* oder *Ciona* Abweichungen vom bilateralen Typus in den ersten Furchungsstadien nicht vorkommen. Ich stimme CASTLE¹⁸⁾ vollständig bei, dass die Furchung der Ascidien mit Rücksicht auf die absolute Gesetzmäßigkeit ihres Verlaufs viel mehr an die der Anneliden oder Mollusken erinnert, als an die der Wirbelthiere mit ihrer großen Variationsbreite.

Dies vorausgeschickt kann ich jetzt einen Ausdruck rechtfertigen, den ich oben gebraucht habe und der vielleicht befremdet haben mag, dass nämlich die Einstülpungsstadien »in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle« bilaterale Symmetrie zeigen. Berücksichtigt

man nämlich die von WILSON entdeckte und von mir bestätigte Thatsache, dass ein geringer Theil der frühen Furchungsstadien dem radiären oder spiralen Typus folgt, so müsste man es wohl für möglich halten, dass sich in einem solchen Falle die radiäre Symmetrie auch während der Einstülpung erhält. Ein absolut beweisender Fall hierfür ist mir nicht zu Gesicht gekommen; der Grad, in dem die bilaterale Symmetrie zum Ausdruck kommt, variirt erheblich und in manchen Fällen mag er wohl an der Grenze stehen, wo man kaum mehr mit Sicherheit sagen kann, ob es sich um den Ausdruck des symmetrischen Baues oder um eine zufällige kleine Abweichung handelt. Sollte also gelegentlich ein Embryo im Einstülpungsstadium gefunden werden, der absolut radiäre Symmetrie aufweist, so würde dies in keiner Weise gegen die von mir vorgebrachten Thatsachen sprechen.

Verschluss des Urmundes.

Nachdem die Einstülpung vollzogen ist, interessirt vor Allem Zweierlei: erstens die Lage des Urmundes zu den Körperachsen und zweitens die Art des Urmundverschlusses. Nachdem KOWALEWSKY angenommen hatte, dass die Furchungsachse der Längsachse des Körpers entspreche und der Urmund sich unter allseitiger Verengerung der Urmundränder schließe, hatte HATSCHKE behauptet, dass sie einen Winkel zu derselben bilde, der Urmund dorsal liege und sich von vorn nach hinten unter Aneinanderlegung der seitlichen Urmundränder schließe. LWOFF stellte sich in beiden Punkten auf den Standpunkt von KOWALEWSKY, ebenso KLAATSCH; SOBOTTA stimmt bezüglich des Urmundverschlusses den genannten Autoren bei, die Lage des Urmundes will er nicht mit Sicherheit entscheiden, doch scheint es ihm gleichfalls wahrscheinlich, dass derselbe wenigstens nicht rein dorsal liegt.

HATSCHKE hat für seine Annahme einer dorsalen Lage des Urmundes keinerlei Beweise beigebracht und seine Meinung ja auch nur als Hypothese mit aller nöthigen Reserve vorgebracht; es ist nicht seine Schuld, wenn seine Meinung dann von anderen Forschern als feststehende Thatsache behandelt und zu weitgehenden Schlüssen verwerthet wurde. Andererseits ist doch für die KOWALEWSKY'sche Ansicht bis jetzt noch kein absolut bindender Beweis beigebracht worden und die Reserve, die SOBOTTA sich in der Beurtheilung dieser Frage auferlegt, ist gewiss ganz berechtigt. Ich habe nun eine Beobachtung gemacht, die, wie ich glaube, die Frage mit Sicherheit

entscheidet. Das letzte Stadium, an dem HATSCHEK noch den Richtungskörper abbildet, ist sein 88zelliges (Fig. 13), im Text bemerkt er hierzu: »An diesem Stadium konnte ich meist noch am animalen Pole den Richtungskörper vorfinden.« Nach meinen Beobachtungen am lebenden Objekt ist derselbe bis zum Stadium der Fig. 22 (ca. 12^h nach der Befruchtung) in einem stets abnehmenden Procentsatz der Fälle zu sehen, so dass man z. B. in dem letztgenannten Stadium unter hundert untersuchten Gastrulae kaum ein- oder zweimal den Richtungskörper noch findet. Wenn er vorhanden ist, so ist er so deutlich zu sehen, dass er unbedingt mit nichts Anderem verwechselt werden kann. Im Blastulastadium, wo man ihn in der Mehrzahl der Fälle noch vorfindet, kann man feststellen, dass derselbe genau am animalen Pole liegt oder nur ganz wenig davon abweicht. In den Stadien der fortschreitenden Verengerung des Urmundes liegt er nun immer genau dem Urmund gegenüber am cephalen Pol (Fig. II), während er nach der Annahme HATSCHEK's an der vorderen Hälfte der Ventralseite haften müsste. Am konservierten Objekt habe ich den Richtungskörper nie beobachten können, weder in toto noch auf Schnitten. Das liegt wohl daran, dass er im Leben durch allmähliche Quellung zu Grunde geht und bei Einwirkung von Reagentien sofort platzt. Die Lage des Richtungskörpers scheint mir mit Evidenz zu beweisen, dass der Urmund caudal liegt und die Furchungsachse die Längsachse des Körpers ist.

Dass die Verengerung des Urmundes durch allseitiges Vorrücken der Ränder erfolgt, wie KOWALEWSKY annahm, kann ich gleichfalls bestätigen. Abbildungen hierüber werden von KLAATSCH und SOBOTTA gegeben. Nun ist aber gerade die Urmundform, die KLAATSCH abbildet, nicht die typische und für die Art des Urmundverschlusses charakteristische; andererseits verlieren die zahlreichen Abbildungen, die SOBOTTA giebt, dadurch erheblich an Werth, dass sie nicht auf die Achsen der Gastrula orientirt sind. Die Orientirung bietet jedoch keinerlei Schwierigkeiten; in den früheren Stadien dreht man den Embryo zuerst so lange um die Längsachse, bis man den optischen Sagittalschnitt erhält (Fig. VII b) und sodann um eine dorsoventrale Achse um 90°, so dass man den Urmund vom caudalen Pol aus überblickt (Fig. VII b). In den späteren Stadien ist die erstere Procedur überflüssig; wenn man den Urmund in der Ansicht vom caudalen Pol aus

Fig. II.

Nach dem Leben.
Vergr. 1/124.
R = Richtungskörper.

gezeichnet hat, senkt man den Tubus und zeichnet einen optischen Querschnitt ein, an dem in Folge der in diesen Stadien schon sehr

Fig. III.

Stark verkleinerter Urmund vom caudalen Pol und optischer Querschnitt. Glycerin-Alkohol-Essigsäure. Vergr. 1/248. *U* = Urmund. *En* = Entoderm. *Ec* = Ektoderm.

Fig. IV.

Wie Fig. III.

Fig. V.

Wie Fig. III.

deutlichen Abplattung der dorsalen Seite die Achsenorientirung ohne Weiteres möglich ist; auf diese Art sind die Fig. III—V und VI_a angefertigt. In den früheren Stadien trifft man gelegentlich Embryonen, die in dorsoventraler Richtung abgeplattet sind und einen ovalen Urmund haben (Fig. VII); die Längsachse des Urmundes liegt in diesen Fällen immer in der Frontalebene, während sie der Konkrescenztheorie zufolge in der Sagittalebene liegen sollte. In den späteren Stadien ähnelt der Urmund in der Regel dem optischen Querschnitt (Fig. III, IV), d. h. der dorsale Rand ist gerade, der ventrale bogenförmig; die Ränder verlaufen annähernd parallel mit dem optischen Querschnitt des Urdarmlumens und wie bei diesem liegt die längere Achse in der Frontalebene; das beweist mit voller Deutlichkeit, dass in diesen Fällen die Verengung des Urmundes durch das gleichmäßige Verwachsen des ganzen Urmundrandes stattgefunden hat. In einer Minderzahl von Fällen hat der Urmund runde Form und nur in einem Falle (Fig. V) fand ich im Gegensatz zu der oben festgestellten Regel die Längsachse des Urmundes nicht in

frontaler, sondern in sagittaler Ebene liegend. Von Interesse ist auch der in Fig. VI abgebildete Fall; es handelt sich hier um einen abnorm frühen Verschluss des Urmundes, wie man schon aus dem

optischen Sagittalschnitt (Fig. VI *b*) erkennen konnte; die Betrachtung vom caudalen Pol (Fig. VI *a*) zeigt mit großer Deutlichkeit eine Linie, die die Verschlussstelle des Urmundes vorstellt; hier wäre also eine wirkliche Urmundnaht oder Gastrularaphe vorhanden, nur liegt die-

Fig. VI.

Urmund in Rapheform geschlossen. *a* Ansicht vom caudalen Pol und optischer Querschnitt. *b* optischer Sagittalschnitt. Glycerin-Alkohol-Essigsäure. Vergr. 1/248. *R* = Raphe, *En* = Entoderm, *Ec* = Ektoderm, *d* = dorsal, *v* = ventral.

selbe nicht in sagittaler Ebene, wie die Concrescenztheorie fordert, sondern in frontaler.

Ich komme nun auf das Verhalten der beiden Keimblätter in der Periode der Verkleinerung des Urmundes. Nachdem die Einstülpung

Fig. VII.

a Ansicht vom caudalen Pol. *b* optischer Sagittalschnitt (in der Richtung des Pfeils in *a*). Glycerin-Alkohol-Essigsäure. Vergr. 1/248. *U* = Urmund, *d* = dorsal, *v* = ventral.

vollendet und das Blastocoel verdrängt ist, tritt eine Periode sehr reger Theilung der Entodermzellen auf. Ich habe in fünf Serien durch Gastrulae im Stadium der Fig. 20 die Mitosen gezählt, hierbei im Entoderm 16, 20, 22, 25, in einem Falle sogar 50 Mitosen angetroffen, im Ektoderm keine einzige. Das Resultat dieser lebhaften

Theilung ist die Egalisirung der Entodermzellen, die gleich nach der Einstülpung in der Größe sehr ungleich sind. Nach dieser Theilung sind bloß die Zellen der dorsalen Urdarmwand etwas niedriger als die der ventralen, während sich späterhin (Fig. 22) die niedrigsten Zellen an der Stelle finden, wo die dorsale Urdarmwand in die ventrale umbiegt, wo also im Laufe der weiteren Entwicklung die Grenze der Chorda gegen den Darm liegt. Nach der erwähnten intensiven Theilung der Entodermzellen finden sich Mitosen ganz gleichmäßig im Entoderm wie im Ektoderm. Aus den Vermehrungsverhältnissen der Zellen ergibt sich also nicht der geringste Anhaltspunkt für die LWOFF'sche Annahme, dass in diesen Stadien Ektoderm nach innen einwachse. Ebenso muss ich der Angabe LWOFF's entgegen treten, dass Einstülpung und Verkleinerung des Urmundes gleichzeitig verlaufende Processe seien; zwischen den beiden Keimblättern tritt vom Stadium der Fig. 20 an, wo der Urmund am weitesten offen ist, eine Spalte nur an Stellen auf, wo sich in Mitose befindliche Zellen abrunden, wie dies Fig. 20 zeigt. Wo sich also später noch eine Spalte zwischen den Keimblättern findet, muss man immer Verdacht auf ein Artefakt haben, was für mehrere Bilder sowohl von LWOFF als auch von KLAATSCH gilt. Außerdem ist der Gegensatz der niedrigen Ektodermzellen gegen die hohen Entodermzellen so groß, dass es doch sehr schwerwiegender Beweise bedürfte, um die Umwandlung der ersteren in letztere plausibel zu machen. Jedenfalls ist dies LWOFF mit seinen schlecht orientirten Schnitten nicht gelungen. KLAATSCH ist geneigt, LWOFF wenigstens theilweise beizustimmen; er hat nämlich beobachtet, dass man in den Stadien der Urmundverengerung am ventralen Urmundrand abgerundete Zellen findet, die seiner Meinung nach in den Urdarm einwandern. Er vermuthet auf Grund ähnlicher Befunde bei den Ascidien, dass sie die Muskulatur liefern. Die thatsächliche Beobachtung, dass derartige sphärische, sich verwölbende Zellen am Urmundrand vorhanden sind, ist richtig; sie sind auch auf Schnitten zu sehen. Sie finden sich aber ebenso am dorsalen Urmundrand wie am ventralen. Ihre Form kann von einer Vorbereitung zur Theilung herrühren. Viel wahrscheinlicher ist mir aber, dass die Zellen sich gerade am Rande wegen des mangelnden Seitendruckes abrunden. Für eine Einwanderung dieser Zellen spricht gar nichts, man müsste sie dann doch auch ein Stück weit ins Innere in dieser abgerundeten Form verfolgen können. Dass bei Beobachtung am Lebenden in diesem Falle Irrthümer sehr leicht möglich sind, liegt gleichfalls auf der Hand.

Aus den Verhältnissen bei den Ascidien hat CASTLE¹⁵⁾ schon vor KLAATSCH ganz ähnliche Schlüsse gezogen; doch scheint KLAATSCH dessen Arbeit nicht gekannt zu haben. Nach den Untersuchungen von CASTLE entsteht bei *Ciona* ein Theil des Mesenchyms und die Schwanzmuskulatur aus den animalen Zellen. CASTLE nimmt eine Einstülpung in zwei Phasen an; nur die erste Phase dieser Einstülpung soll das Entoderm liefern, bei der zweiten aber sollen die ektodermalen Schwanzmyoblasten eingestülpt werden, so dass zwar die von den animalen Zellen stammenden Mesenchymzellen entodermal sind, die Myoblasten aber ektodermal. Nun findet aber bei *Ciona* eine eigentliche Einstülpung in dem Sinne wie bei *Amphioxus* gar nicht statt, da eine Furchungshöhle so gut wie nicht vorhanden ist; es handelt sich vielmehr einerseits um eine Einkrümmung der ganzen zweischichtigen Zellplatte, welche der Keim bis etwa zum 112zelligen Stadium vorstellt, andererseits um ein Einwachsen der animalen Zellen auf die dorsale, vegetative Seite, was mit der stärkeren Vermehrung der animalen Zellen zusammenhängt. Diese beiden Processe greifen so in einander, dass es kaum möglich ist, sie zu trennen und jedenfalls kommen die animalen Mesenchymzellen durch genau denselben Process in den Urdarm wie die animalen Myoblasten. Man bedenke außerdem zu welchen Konsequenzen es führen müsste, wenn man als Entoderm nur das ansehen wollte, was eingestülpt wird und zwar in einer bestimmten ersten Phase, wo doch in so vielen Fällen (auch bei Wirbelthieren) eine Einstülpung überhaupt fehlt. Die Unterscheidung der primären Keimblätter gestaltet sich aber auch bei *Ciona* ganz einfach, wenn man nach erfolgter Einstülpung den ganzen Urdarm als Entoderm bezeichnet. Da sowohl die animalen Mesenchymzellen wie auch die Myoblasten¹⁶⁾, wie aus den Untersuchungen von CASTLE hervorgeht, vorübergehend in den Verband des Urdarmepithels eintreten, so ergibt sich ihre entodermale Natur ohne Weiteres. Es würde demnach aus den Untersuchungen CASTLE's nur hervorgehen, dass entgegen meiner seiner Zeit¹⁷⁾ geäußerten Vermuthung die animalen und vegetativen Zellen nicht dem Ektoderm und Entoderm entsprechen, sondern dass animale Zellen auch am Aufbau des Entoderms theilhaftig sind, was bei den wechselnden Beziehungen der animalen und vegetativen Zellen zu den Keimblättern bei Wirbelthieren durchaus nichts Auffälliges hatte.

Nun möchte ich aber noch untersuchen, wie weit es denn überhaupt thunlich ist, aus der Ontogenie der Ascidien Schlüsse auf die des *Amphioxus* zu ziehen. In der Ontogenie der Ascidien findet eine

sehr frühzeitige Sonderung der prospektiven Tendenzen der Zellen statt, die überall als eine cänogenetische Erscheinung aufgefasst werden muss. Nimmt man hinzu, welche kolossalen Veränderungen der Organismus der Ascidien im Vergleich zu seinem mutmaßlichen Chordaten-Vorfahren erlitten hat, so ist es mehr als wahrscheinlich, dass dieselben auch auf die früheren Stadien ihren cänogenetisch verändernden Einfluss ausgeübt haben und insbesondere eine möglichste Abkürzung und Zusammendrängung der Entwicklung bedingen; dass hierbei bloß die Entstehung einiger Organe unterdrückt wurde, die übrigbleibenden sich aber mehr palingenetisch entwickeln als selbst bei *Amphioxus*, ist doch mehr als unwahrscheinlich. In Vergleich zu den Ascidien sind die Anpassungscharaktere beim *Amphioxus* minimal und treten wie z. B. das Vorwachsen der Chorda am cephalen Ende, die Asymmetrie etc. in der Ontogenie verhältnismäßig spät auf. Darum kann darüber kaum ein Zweifel bestehen, dass die Ontogenie des *Amphioxus* mehr palingenetisch ist als die der Ascidien und dass die erstere viel eher zur Erklärung des letzteren dienen kann als umgekehrt. Nun ähnelt aber die Ascidienentwicklung der des *Amphioxus* nur in dem einen Stadium, wenn der Urmund geschlossen ist, die Chorda nach hinten auswächst und die Organe der Larve die für Wirbelthiere charakteristische gegenseitige Lagerung zeigen. Dieses Stadium entspricht, wie ich in Übereinstimmung mit WILLEY²⁰⁾ annehme, einem Stadium des *Amphioxus* in dem bereits mehrere Ursegmente vorhanden sind. Bis zu diesem Stadium ist aber die Entwicklung des *Amphioxus* und der Ascidien so verschieden wie möglich; wenn KLAATSCH behauptet, der Urmundverschluss geschähe bei Ascidien ebenso wie bei *Amphioxus*, so kann ich dem gar nicht beipflichten; die negative Übereinstimmung, dass in beiden Fällen der Urmund nicht durch Concrescenz geschlossen wird, bedingt noch keine Ähnlichkeit. Um die Unterschiede möglichst deutlich zu machen, will ich im Nachfolgenden die Hauptpunkte neben einander stellen:

Amphioxus:	Ciona:
animalen	vegetativen
Richtungskörper tritt am	
Pol aus.	
Blastula und Furchungshöhle	
vorhanden	fehlen.
Furchungsachse entspricht	
der Längsachse der Larve	einer dorsoventralen Achse der Larve.

Amphioxus:	Ciona:
caudal	dorsal.
Urmund liegt	
Urmund schließt sich	
durch Vorwachsen des ganzen Urmundrandes	durch Vorwachsen bloß des cephalen Urmundrandes.

Trotz aller dieser Differenzpunkte glaubt doch KLAATSCH den Nervenmuskelring der Ascidien lediglich wegen der angeblichen Übereinstimmung zwischen der Ascidien- und Amphioxusentwicklung in die Ontogenie des Amphioxus hineinkonstruieren zu müssen. Wie nämlich aus der Arbeit von CASTLE hervorgeht, wird der Urmund von Ciona von einem Ring von Zellen umgeben, die theils das Nervensystem, theils die Schwanzmuskulatur liefern; KLAATSCH glaubt diesen Ring bei Amphioxus einerseits durch die sich vorwölbenden Zellen der ventralen Urmundlippe, die er für Myoblasten hält, andererseits durch die Anlage des Nervensystems auf der dorsalen Seite repräsentirt. Dass die ersterwähnten Zellen mit der Entstehung der Muskulatur nichts zu thun haben, habe ich bereits erwähnt, was aber das Nervensystem anlangt, so hat es doch keinen Sinn eine bestimmte Gegend des Embryos so zu benennen, so lange nicht die Zellen des Nervensystems als solche histologisch charakterisirt sind oder eine bestimmte Zellengruppe sich bezeichnen lässt, die ausschließlich dasselbe bildet, sonst könnte man ja jedes Organ auf die Blastula und noch weiter zurückprojiciren. Beim Amphioxus fangen aber erst in dem Stadium wo der Urmund schon sehr verengt ist und sich auf die dorsale Seite zu verschieben beginnt (Fig. 22) die Ektodermzellen an höher zu werden und sich als Nervenzellen zu charakterisiren, mitunter ist dies erst auf einem noch späteren Stadium der Fall. KLAATSCH bezeichnet jedoch schon an einer Gastrula, die eben erst eingestülpt ist, die an einem Rand des Urmundes gelegene Ektodermpartie als Nervensystem; da er aber den optischen Schnitt, den er abbildet, für einen frontalen hält, während derselbe in Wirklichkeit, wie aus der Form derselben ohne Weiteres zu sehen, ein Sagittalschnitt ist, so verlegt er das Nervensystem auf die linke Seite des Urmundes, also in eine Gegend, wo es gewiss niemals hinkommt. Dasselbe widerfährt ihm in Fig. 7 und 8, wo er optische Frontalschnitte für Sagittalschnitte hält. Daher kommt es denn auch, dass er die Abflachung der Dorsalseite nicht so stark finden kann, wie dies HATSCHKE abbildet, während meine Fig. 22, die ich übrigens durch optische Sagittalschnitte am lebenden und am

konservierten Objekt bestätigen konnte, beweist, dass HATSCHKE vollkommen im Recht ist.

KLAATSCH meint, dass sich hieraus für die einheitliche Auffassung des Mesoderms neue Schwierigkeiten ergeben. Ich bin der Letzte, der für eine einheitliche Auffassung des Mesoderms eintreten möchte; aber aus der Ontogenie des Amphioxus erwachsen ihr gewiss keine Schwierigkeiten.

Die Bildung des Nervensystems, des Mesoderms und des neurenterischen Kanals.

Ich habe nicht die Absicht, die weitere Entwicklung des Amphioxus ausführlich zu schildern; ich will nur auf einige Punkte eingehen, die für die Keimblätterlehre von Bedeutung sind und in denen ich zu Anschauungen gekommen bin, die von denen meiner Vorgänger abweichen. Zunächst etwas über das Schicksal des Urmundes, das mit der Bildung des Nervensystems im engsten Zusammenhang steht.

KOWALEWSKY hatte angegeben, dass die auf der dorsalen Seite des Embryos befindliche Anlage des Nervensystems, sowohl von beiden Seiten als auch von hinten her überwachsen wird; das Letztere in der Weise, dass sich das Ektoderm der ventralen Blastoporuslippe vorschiebt, zunächst den Blastoporus überdacht und sodann unter Beihilfe der seitlich vorwachsenden Ränder die Medullarrinne schließt. HATSCHKE hat sich dieser Anschauung angeschlossen. Während nun das Überwachsen des Nervensystems von der Seite ein typischer Vorgang ist, der sich, wenn auch verschiedentlich modifiziert, bei allen Wirbelthieren vorfindet, wäre das Weiterwachsen des ventralen Entoderms über den Urmund weg etwas dem Amphioxus Eigentümliches, das denn auch zu einer Hypothese Anlass gegeben hat, auf die ich noch zu sprechen komme. Darum schien mir dieser Punkt von einiger Wichtigkeit.

Nach meinen Beobachtungen findet jedoch der Vorgang der Überwachsung des Nervensystems nicht in der Weise statt, wie KOWALEWSKY und HATSCHKE geschildert haben. Embryonen im Alter von 12 und 13 Stunden, bei denen die Bildung der Ursegmente beginnt, zeigen häufig das Nervensystem bereits so überwachsen, wie dies Fig. VIII *a* zeigt; man sieht hier den bereits weit vorgerückten V-förmigen Rand der überwachsenden Ektodermsschicht; die Ansicht vom caudalen Pol zeigt aber (Fig. VIII *b*), dass der

Urmund zwar sehr verkleinert ist, aber vollkommen offen und von keinem Häutchen bedeckt. Ein medianer Sagittalschnitt (Fig. 23) bestätigt diesen Befund vollkommen; wir sehen auf den hohen Zellen der Medullarplatte eine Schicht platter Ektodermzellen, die etwas über dem dorsalen Urmundrand aufhören. Dass ein etwa vorhandenes Häutchen über dem Urmund gerissen wäre, ist schon desshalb ganz ausgeschlossen, weil das Ektoderm am ventralen Rand ganz ebenso wie in früheren Stadien ins Entoderm übergeht, während eine Kontinuitätstrennung hier doch sehr deutlich sichtbar sein müsste. Fig. 24 zeigt nun, wie der Verschluss des Urmundes zu Stande kommt; die Schicht platter Ektodermzellen, die das Nervensystem überwächst, reicht nicht so weit nach vorn, wie in Fig. 23, dasselbe gilt von den hohen Zellen der Medullarplatte; nach hinten zu aber hängt die Ektodermschicht frei über den dorsalen Rand vor, ohne jedoch den ventralen zu erreichen. Unbeschadet dessen, dass also das Nervensystem noch nicht so entwickelt und dessen Überwachsung noch nicht so weit vorgeschritten ist, ist der Urmund schon theilweise bedeckt. Diese Verschiedenheit im Entwicklungsgrad der einzelnen Organe ist in diesem Stadium sehr häufig; bald ist das Nervensystem, bald die Chorda, bald das Mesoderm viel weiter entwickelt, ohne dass man desshalb den geringsten Grund hat, ein solches Exemplar für pathologisch zu halten. Die vollendete Überwachsung zeigt endlich Fig. 25, wo sich aber die Stelle, wo das dorsale Ektodermhäutchen mit dem Ektoderm der ventralen Urmundlippe verschmolzen ist, doch noch deutlich markirt. Demnach stellt sich nach meinen Beobachtungen der Process der Überwachsung der Medullarplatte so dar, dass zuerst das seitliche Ektodermepithel von hinten nach vorn fortschreitend sich über der Medullarplatte vereinigt und dann nach hinten wachsend den Urmund überbrückt und mit dem Ektoderm der ventralen Urmundlippe verschmilzt.

Fig. VIII.

Embryo von 12h 45'. *a* dorsale Ansicht.
b Ansicht vom caudalen Pol. Glycerin-
 Alkohol-Essigsäure. Vergr. 1/248.

* Rand der das Nervensystem bedeckenden Ektodermsschicht. U = Urmund.

EISMOND²¹⁾ hat auf die Darstellung KOWALEWSKY's die Hypothese aufgebaut, dass die Überwachsung des Nervensystems bei *Amphioxus* der epibolischen Umwachsung des Entoderms durch das Ektoderm bei Wirbelthiereiern mit größerer Dottermenge homolog sei, dass also der über die Medullarplatte vorrückende Rand des Ektodermepithels etwa dem Umwachsungsrand der animalen Zellen am Froschei entspreche. Daraus wird dann weiter geschlossen, dass die Vorfahren des *Amphioxus* dotterreichere Eier gehabt hätten. Nun möchte ich keineswegs zugeben, dass die Darstellung von KOWALEWSKY und HATSCHKE zu dieser Hypothese berechtigen; hätte EISMOND die Darstellung HATSCHKE's genauer beachtet, so hätte er sehen können, dass nach dessen Meinung das Vorwachsen des Ektoderms der ventralen Urmundlippe kaum so viel wie den doppelten Durchmesser des Urmundes beträgt, während alles Übrige der Verwachsung der seitlichen Ränder zugeschrieben wird; es ist jedoch immerhin gut, dass die von mir festgestellten Thatsachen der Hypothese EISMOND's jeden Boden entziehen. Die Überwachsung der Medullarplatte bei *Amphioxus* ist principiell derselbe Vorgang wie bei anderen Wirbelthieren; er findet nur auffallend früh statt. Dass Überwachsung bei den höheren Wirbelthieren in der Gegend des Mittelhirns beginnt, beim *Amphioxus* am hinteren Ende, ist jedenfalls ein ganz nebensächlicher Punkt, um so mehr als sich ja ein genauer topographischer Vergleich gar nicht durchführen lässt.

Damit, dass das Ektoderm den Urmund überwächst, ist jedoch der neurenterische Kanal noch nicht gebildet; KOWALEWSKY und HATSCHKE geben übereinstimmend an, dass während der Überwachsung der Medullarplatte durch das Ektoderm dieselbe sich leicht einbiegt, ohne sich jedoch zum Rohr zusammenzukrümmen. Durch diese Einbiegung entsteht aber doch ein Spalt, der in Verbindung mit dem Darmrohr steht, so dass also vom ersten Beginn der Überwachsung an ein neurenterischer Kanal vorhanden wäre. Damit stimmen meine Beobachtungen nicht überein; die Betrachtung des lebenden Objektes sowie optische Schnitte überhaupt sind wenig geeignet, über die Existenz so enger Kanäle, wie sie hier in Betracht kämen, mit Sicherheit zu entscheiden; Sagittal- (Fig. 23—25) und Querschnitte zeigen aber mit aller Sicherheit, dass nach der Überwachsung zuerst überhaupt nicht der geringste Spalt zwischen Ektoderm und Medullarplatte vorhanden ist, vielmehr ersteres letzterer dicht aufliegt. Wenn etwa zwei Ursegmente gebildet sind, so entsteht zuerst in der Mitte in Folge einer leichten Einkrümmung der

Medullarplatte dieser Spalt; es kann dabei vorkommen, dass der vordere Theil der Medullarplatte zur selben Zeit noch nicht ganz überwachsen ist. Indem dann die Einkrümmung der Medullarplatte nach hinten fortschreitet kommt es zur Ausbildung des neurenterischen Kanals, der bei Embryonen von drei Ursegmenten in der Regel vorhanden ist (Fig. 26). Einige Präparate scheinen mir dafür zu sprechen, dass die Bildung des neurenterischen Kanals gelegentlich ganz unterbleibt, wobei es sich offenbar um einen abnorm frühzeitigen Urmundschluss handelt, wie er in Fig. VI abgebildet ist; man hat ja auch gar keinen Grund anzunehmen, dass der betreffende Embryo einer Weiterentwicklung nicht fähig gewesen wäre.

Ebenso wie bezüglich des ersten Auftretens des neurenterischen Kanals bin ich auch bezüglich seines Verschlusses zu anderen Resultaten gekommen als KOWALEWSKY und HATSCHKE, welche die Angabe machen, dass derselbe sich erst zu der Zeit des Durchbruches des Afters schließt. Nach meinen Beobachtungen ist jedoch bereits in einem Stadium von etwa acht Ursegmenten die Verbindung des Darmrohres mit dem Spaltraum zwischen Medullarplatte und Ektoderm unterbrochen (Fig. 28); wie aus der Abbildung hervorgeht, ist zu dieser Zeit die Zusammenkrümmung der Medullarplatte zum Rohr noch nicht vollzogen. Wenn dieselbe dann stattgefunden hat, so würde unter allen Umständen die Existenz eines neurenterischen Kanals auf ein Hindernis stoßen: wie nämlich ein Sagittalschnitt durch einen Embryo mit 11 Ursegmenten (Fig. 29) zeigt, hat nach erfolgter Zusammenkrümmung der caudale Theil des Rückenmarks überhaupt kein Lumen. Dass das Bild nicht etwa so zu erklären ist, als ob der Schnitt im hinteren Theil nicht genau median wäre, geht sowohl aus den übrigen Schnitten der Serie, als auch aus Querschnitten (Fig. 30) hervor, wo sich absolut kein Centralkanal im Nervenstrang entdecken lässt; die Zellen haben aber eine radiale Anordnung um den Mittelpunkt, woraus sich eine große Ähnlichkeit mit dem Bau des Nervenstranges im Schwanz der Ascidienlarve ergibt. In späteren Stadien rückt dann der Centralkanal weiter gegen das caudale Ende vor, bleibt jedoch hier außerordentlich eng und erreicht das Ende des Neuralstranges nicht. Wenn dann im Laufe des dritten Entwicklungstages die Schwanzflosse entsteht, so kann die Betrachtung des Objectes in toto leicht zu der Täuschung führen, dass hier ein — sogar ziemlich breiter — neurenterischer Kanal vorhanden sei und diese Bilder haben KOWALEWSKY und HATSCHKE wohl vor Allem zu ihrer Auffassung geführt; in diesem Stadium

sind Chorda und Mesoderm aus dem Darm bereits ausgeschaltet, die Chorda ist an ihrem caudalen Ende scharf abgegrenzt und durch einen beträchtlichen Zwischenraum von der Schwanzflosse geschieden, der bei Betrachtung in toto und insbesondere am lebenden Objekt sehr wohl den Eindruck eines Kanals machen kann. Schnitte ergeben aber, dass auch dieser Zwischenraum von Zellen erfüllt ist, die jedoch weder mit dem Nervenstrang noch mit dem Darm in Verbindung stehen; sie scheinen mir Beziehung zur Bildung der Schwanzflosse zu haben; ihre Herkunft und ihr Schicksal habe ich nicht weiter untersucht.

Die Bildung des Mesoderms wurde von KOWALEWSKY und HATSCHKE übereinstimmend so geschildert, dass dasselbe aus dorsalen Falten des Urdarmes entstehe, die sich absehnüren und zu den Ursegmenten werden; LWOFF sucht nun diese Darstellung in dem Sinne zu modificiren, dass diese Faltenbildung kein aktiver Process sei, sondern nur durch die Einsenkung der Medullarrinne rein passiv zu Stande komme. LWOFF geht zwar sehr scharf mit dem Versuche HATSCHKE's ins Gericht, die Mesodermfaltenbildung aus mechanischen Gründen aus dem Wachsthum des Darmes zu erklären und meint, derartige Erwägungen seien nicht ernst zu nehmen; dabei scheint LWOFF gar nicht zu bemerken, dass es doch Erwägungen genau derselben Art sind, wenn er selbst die Bildung der Mesodermfalten auf aktive Veränderungen der Medullarplatte zurückführt, nur mit dem Unterschiede, dass er von den beiden möglichen Erklärungsarten die unwahrscheinlichere, HATSCHKE die wahrscheinlichere gewählt hat. Es steht wohl außer Zweifel, dass zwischen der Bildung des Mesoderm und der Einkrümmung der Medullarplatte ein Zusammenhang besteht; zur Lösung der Frage, was dabei das Primäre, was das Sekundäre sei, glaube ich einige entscheidende Beiträge liefern zu können.

Zunächst muss ich bemerken, dass die Darstellung, die LWOFF von der Einkrümmung der Medullarplatte giebt, durchaus nicht den Thatsachen entspricht. LWOFF lässt gleichzeitig mit der Überwachsung der Medullarplatte deren Einkrümmung stattfinden; ich habe bereits gezeigt, dass das Ektoderm, nachdem es die Medullarplatte überwachsen hat, derselben zunächst immer noch dicht aufliegt; frei vorwachsende Ränder des Ektoderms, wie sie LWOFF in seiner Fig. 7—8 abbildet, habe ich nie beobachten können. Da nun, wie ich gezeigt habe, die Einkrümmung überhaupt erst in einem Stadium mit zwei Ursegmenten beginnt, so ist schon klar, dass die Bildung

der beiden ersten Ursegmente nicht durch die Einkrümmung der Medullarplatte bedingt sein kann. Besonders lehrreich für diese Frage sind insbesondere die bereits erwähnten Fälle, wo sich die Überwachsung der Medullarplatte etwas verzögert. So zeigt z. B. Fig. 31 die Medullarplatte noch frei und in der Mitte über die Ränder des sie überwachsenden Ektoderms vorstehend, also gerade im entgegengesetzten Sinne gewölbt als es bei der späteren Einkrümmung der Fall ist; dieser Effekt ist zweifellos durch das Entoderm bewirkt, das durch die Chordarinne nach außen gedrängt wird. In Fig. 32 sehen wir einen Querschnitt durch einen Embryo mit drei Ursegmenten, bei dem in der Gegend des zweiten Ursegments die Überwachsung noch nicht erfolgt ist; rechts ist die Verbindung der Darmhöhle mit der des Ursegments getroffen, links das Septum; der Chordakanal ist tief und scharf ausgeprägt; es bedarf nur eines Blicks auf die flach darüber liegende Medullarplatte, um zu der Überzeugung zu gelangen, dass dieselbe an diesen Faltenbildungen vollkommen unschuldig ist. LWOFF hat seine Ansichten lediglich auf die Bilder gegründet, die Querschnitte durch die caudalen Theile von Embryonen mit 4—5 Ursegmenten ergeben; aber man hat gar keinen Grund anzunehmen, dass die in dieser späteren Epoche neuentstandenen Ursegmente auf andere Art entstehen sollten, wie die früheren, um so mehr als auch hier immer die Chordarinne ganz deutlich ausgeprägt ist, die auf gar keine Weise auf die Einsenkung der Medullarplatte zurückgeführt werden könnte. Ich stimme daher HATSCHEK vollkommen zu, wenn er die Einkrümmungen der Medullarplatte auf das Einsinken des Chordaentoderms und auf die laterale Kompression des Embryos zurückführt. Die Faltungsprocesse im Entoderm sind aktiv und primär.

LWOFF hat die Darstellung HATSCHEK's noch in einem anderen Punkte bekämpft: während nach HATSCHEK die Urdarmhöhle der Mesodermdivertikel persistirt und zur Leibeshöhle wird, verschwindet sie nach LWOFF und die Leibeshöhle bildet sich später durch Auseinanderweichen der Zellen. LWOFF hat in so fern Recht, als in der That die Urdarmhöhle nach Abschnürung der Somiten völlig verschwindet, wobei nur das erste und mitunter das zweite Ursegment eine Ausnahme machen. Den Konsequenzen, die LWOFF daraus zieht, kann ich mich jedoch durchaus nicht anschließen; denn die Divertikelhöhle ist in den Somiten virtuell stets vorhanden als Grenze der splanchnischen und der somatischen Wand der Somiten und dadurch, dass die Epithelien an dieser Stelle aus einander weichen, entsteht

die Leibeshöhle. LWOFF stellt den Vorgang so dar als ob die Zellen der Somiten sich vermehren, um schließlich zu einem unregelmäßigen Zellhaufen zu werden, in dem die Zellen keinerlei epitheliale Anordnung haben; in diesem soll dann die Leibeshöhle als Spalte an einer Stelle auftreten, die in gar keiner Beziehung zu der früher vorhandenen Divertikelhöhle steht. LWOFF stellt dabei immer die Bilder, welche Durchschnitte durch die Septen der Somiten geben, als für den ganzen Somiten gültig hin; Durchschnitte durch die Mitte der Somiten zeigen aber immer die erhaltene epitheliale Anordnung der Zellen. Auch konnte ich an solchen Schnitten nie abgespaltene Zellen beobachten; die Mitosen lagen immer in der Richtung des Epithels oder wichen nur wenig davon ab, wie Fig. 27 zeigt. Aber selbst direkt senkrecht auf die Oberfläche des Epithels stehende Theilungsfiguren würden noch nicht beweisen, dass die aus dieser Theilung hervorgehenden Zellen sich nicht doch dem Epithel einfügen; ich verweise z. B. auf Fig. 18, wo sich eine auf die Oberfläche senkrechte Spindel findet, darüber aber kein Zweifel herrschen kann, dass es hier zu keiner Zellabsplattung kommt. Auch bei der Weiterentwicklung der Somite, wenn die Myoblasten des splanchnischen Blattes ihre langgestreckte Form erhalten (Fig. 33), bleibt der Charakter des Epithels vollkommen erhalten, so dass zu dem Zeitpunkte, wo die beiden Epithellagen aus einander weichen und die Leibeshöhle entsteht, die Auskleidung derselben genau dem Epithel der Urdarmdivertikel entspricht, eine Thatsache, der gegenüber der Umstand, dass die Höhle der Divertikel vorübergehend verschwindet und bloß virtuell wird, von ganz sekundärer Bedeutung ist; dieser Meinung wollte wohl auch HATSCHKE²²⁾ in der kurzen Bemerkung, mit der er diesen Gegenstand in seinem Vortrage streift, Ausdruck geben.

Bezüglich der Nichtexistenz der Polzellen des Mesoderms stimme ich mit allen Forschern, die seit HATSCHKE danach gesucht haben, überein. LWOFF hat bereits darauf hingewiesen, dass demnach dem Amphioxus das »peristomale« Mesoderm im Sinne der RABL'schen Mesodermtheorie²³⁾ fehlt. SOBORTA meint freilich, dass dies für die RABL'sche Theorie weiter nicht von Bedeutung sei, weil eben bei Amphioxus in Folge seiner geringen Dottermenge die Bildung des »peristomalen« Mesoderms »unterdrückt« sei; wenn der Ausdruck »unterdrückt« andeuten soll, dass bei den Vorfahren des Amphioxus ein solches vorhanden war und gleichzeitig mit einer Abnahme des Dotters verschwunden ist, die Dotterarmuth beim Amphioxus demnach eine sekundäre ist, so müsste ich dem sehr energisch wider-

sprechen; es wäre dies eine ebenso unbegründete wie überflüssige Hypothese. Stehen die Dinge aber so, dass die Mesodermentwicklung beim *Amphioxus* als ein ursprünglicher und palingenetischer Vorgang aufgefasst werden muss, dann kann ich nicht finden, dass die Existenz oder Nichtexistenz der Polzellen für die RABL'sche Mesodermtheorie so gleichgültig ist. Denn es stellt sich dann heraus, dass gerade bei *Amphioxus* die Entstehung des Mesoderms gar keine Beziehung zum Urmund hat; die Eigenschaft, dass es am caudalen Ende, also in der Nähe des zum neurenterischen Kanal gewordenen Urmundes, seine Wachstumszone hat, theilt es mit allen andern Organen des Embryos. Demnach hat *Amphioxus* nur »gastrales« Mesoderm, und das »peristomale« Mesoderm der Wirbelthiere mit dotterreicheren Eiern ist eine cänogenetische Erwerbung, die mit der Entstehung des Umwachsungsrandes der animalen Zellen zusammenhängt, der verschiedentlich — aber wie ich in der ersten Studie gezeigt habe, fälschlich — als Urmund aufgefasst wird. Gerade dieses »peristomale« cänogenetische Mesoderm wird von RABL als palingenetisch angesehen und soll in seiner Theorie die Brücke zu jenen wirbellosen Thieren schlagen, bei denen das Mesoderm aus Urmesodermzellen entsteht. In Wirklichkeit liegen die Dinge aber so, dass es zwischen der Bildung des Mesoderms durch Urdarmdivertikel und der durch Urmesodermzellen gar keine Übergänge giebt. Damit will ich durchaus nicht der Meinung Ausdruck geben, dass eine Homologie des auf diese zwei verschiedenen Arten entstandenen Mesoderms ausgeschlossen wäre, denn wir wissen zur Genüge, dass homologe Organe auf sehr verschiedene Arten entstehen können.

München, den 1. Februar 1898.

Anmerkungen.

¹⁾ KOWALEWSKY, A., Entwicklungsgeschichte des *Amphioxus lanceolatus*. Mém. Acad. Impér. de St. Pétersbourg. (7) T. 11. 1867. Ders., Weitere Studien über die Entwicklungsgeschichte des *Amphioxus lanceolatus*. Archiv f. mikr. Anatomie. 13. Bd. 1877.

²⁾ HATSCHKE, B., Studien über Entwicklung des *Amphioxus*. Arb. zool. Inst. Wien. 4. Bd. 1881.

³⁾ WILSON, E. B., *Amphioxus* and the Mosaic Theory of Development. Journ. of Morphol. Vol. 8. 1893.

⁴⁾ LWOFF, B., Die Bildung der primären Keimblätter und die Entstehung

der Chorda und des Mesoderms bei den Wirbelthieren. Bulletin de la Soc. Imp. d. Nat. d. Moscou. 1894. No. 2.

5) SOBOTTA, J., Beobachtungen über den Gastrulationsvorgang beim Amphioxus. Verhandl. d. phys.-med. Gesellschaft Würzburg. N. F. 31. Bd. 1897.

6) KLAATSCH, H., Bemerkungen zur Gastrula des Amphioxus. Morphol. Jahrbuch. Bd. 25. 1897.

7) Neapel ist nunmehr zweifellos viel günstiger zur Beschaffung von Entwicklungsmaterial des Amphioxus, sofern es sich bloß um die Stadien handelt, die man in Gläsern aufziehen kann, also etwa bis zum Auftreten der dritten Kiemenspalte; im Pantano scheint die Ablage der Eier nicht so häufig und nicht in so regelmäßigen Intervallen zu erfolgen wie in Neapel. Dazu kommen noch die elenden Unterkunftsverhältnisse in Faro.

8) In Folge eines Gedächtnisfehlers habe ich statt der von E. B. WILSON benutzten Mischung von Wasser-Glycerin-Essigsäure Alkohol-Glycerin-Essigsäure verwendet, habe aber keinen Unterschied in der Wirkung gefunden.

9) SOBOTTA hat immer eine größere Zahl von Embryonen unorientirt geschnitten, da er den Versuch zu orientiren für aussichtslos hielt.

10) FIELD, H. H., und MARTIN, J., Contributions à la technique microscopique. Bull. Soc. Zool. France. T. 19. 1894, auch Zeitschr. f. wiss. Mikroskop. Bd. 11. 1894.

11) Objekte, die mit einem Osmiumgemisch konservirt waren, habe ich vorher nicht gefärbt.

12) Ohne diese Modifikation erzielt man schlechte Resultate; FIELD und MARTIN nehmen eine Mischung von Toluol und absolutem Alkohol; Celloidin quillt aber in absolutem Alkohol, ohne sich darin zu lösen.

13) Ich verwende Petroleumäther statt Chloroform, weil es das Celloidin nicht so stark härtet und auch billiger ist.

14) Es erscheint um so nothwendiger, nochmals genau auf die Furchung einzugehen, als die Darstellung WILSON's in der Litteratur nicht genügende Beachtung gefunden hat; so legt z. B. SOBOTTA in seinem Referat über die Furchung des Wirbelthiereies (Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. für 1896) die HATSCHKE'schen Angaben seiner Darstellung zu Grunde und erwähnt WILSON nur beiläufig, als hätte er dieselben nur in nebensächlichen Dingen modificirt; ein eingehenderes Studium der WILSON'schen Arbeit hätte SOBOTTA doch belehren müssen, dass die Resultate WILSON's mit denen HATSCHKE's nicht vereinbar sind und dass gerade WILSON die Beziehungen der Amphioxus-Furchung zu der höherer Wirbelthiere aufgedeckt hat, die in einem derartigen Referat doch mindestens Erwähnung hätten finden müssen; zudem hat WILSON ein viel größeres Material von Abbildungen für die Amphioxus-Furchung beigebracht als HATSCHKE. Denselben Vorwurf muss ich zum Theil auch WILLEY (Amphioxus and the ancestry of the Vertebrates. Columbia Univ. Biolog. Ser. 1894) machen.

15) Ich gebrauche die von GRÖNROOS (Zur Entwicklungsgeschichte des Erdsalamanders. Anat. Hefte. Bd. 6. 1896) vorgeschlagene Nomenklatur.

16) Dieses Archiv. Bd. 2. 1895.

17) Vgl. hierüber: SAMASSA, P., Zur Kenntnis der Furchung bei den Ascidien. Archiv f. mikr. Anat. Bd. 44. 1894.

18) CASTLE, W. E., The early Embryology of Ciona intestinalis. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology. Harvard College. Vol. 27. 1896.

¹⁹⁾ In der zellgenealogischen Tabelle, die CASTLE seiner Arbeit beifügt, sind diese Myoblasten als neuromuskuläre Zellen bezeichnet; im Text sucht man hierfür vergeblich nach einer Begründung.

²⁰⁾ WILLEY, A., The later larval development of Amphioxus. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 32. 1891.

²¹⁾ EISMOND, J., Zur Ontogenie des Amphioxus lanceolatus. Biol. Centralblatt. Bd. 14. 1894.

²²⁾ HATSCHKE, B., Über den gegenwärtigen Stand der Keimblättertheorie. Verhändl. d. Deutsch. Zool. Ges. 1894.

²³⁾ RABL, C., Theorie des Mesoderms. Morph. Jahrb. Bd. 15. 1889. In dem im Jahre 1896 erschienenen »Vorwort« zum ersten Bande der Theorie des Mesoderms findet sonderbarer Weise die von WILSON und LWOFF zu dieser Zeit bereits festgestellte Thatsache der Nichtexistenz der Polzellen keine Erwähnung, obwohl doch sonst Alles, was auch nur in entfernter Beziehung zur Mesodermfrage bei Wirbelthieren steht, besprochen und kritisirt wird. Diesem Schicksale sind auch meine »Studien über den Einfluss des Dotters etc.« verfallen und ich muss daher mit ein paar Worten auf diese Kritik eingehen. Zunächst erhebt RABL gegen v. DAVIDOFF, SEMON und mich, die wir die RABL'sche Annahme, dass die Amphibieneier sekundär holoblastisch seien, abgelehnt hatten, den Vorwurf, wir hätten zu beweisen unterlassen, dass die Amphibieneier primär holoblastisch seien; RABL scheint aber zu übersehen, dass wir nur die allgemein geltende Auffassung gegenüber der complicirten Hypothese, die RABL neu aufgestellt hat, vertheidigt haben und wir daher den Beweis für diese neue Hypothese RABL zuschieben müssen. Da sich jedoch in diesen Dingen überhaupt keine strikten Beweise führen lassen, so genügt es wohl, dass wir gezeigt haben, dass die RABL'sche Hypothese überflüssig ist und eine überflüssige Hypothese ist eo ipso schlecht. Ferner kritisirt RABL, dass ich aus den Erfolgen experimenteller Eingriffe bei Amphibieneiern auf die normale Entwicklung Schlüsse gezogen habe; die Frage, in wie weit die Resultate künstlicher Eingriffe Schlussfolgerungen auf die normale Entwicklung gestatten, ist von ROUX u. A. schon so erschöpfend diskutirt worden, dass ich nur Bekanntes wiederholen müsste, wollte ich hier wieder darauf eingehen. Wenn RABL diese Methode, unsere Erkenntnis der Entwicklung zu erweitern, verwirft, so ist das seine Sache; ein klein wenig Konsequenz dabei kann man aber doch wohl verlangen; RABL übt eine recht scharfe Selbstkritik, wenn er, wenige Seiten, nachdem er meine Methode in der erwähnten Weise kritisirt hat, findet, »dass es schon eines gewissen Starrsinns bedarf«, wenn man sich den Schlüssen, die sich u. A. aus den Beobachtungen von KOPSCH ergeben, verschließt. Gemeint sind die schönen Experimente desselben, die er gegen die Konkreszenztheorie ins Feld führt und bei denen KOPSCH natürlich genau so, wie ich bei meiner Frage, von dem Verhalten nach experimentellen Eingriffen auf die normale Entwicklung schließt. — Schließlich muss ich noch zu einem Punkt eine Bemerkung machen: RABL polemisirt gegen meine Auffassung der Keimblattbildung der Selachier und führt dabei eine Figur seiner Arbeit und eine von ZIEGLER an, wodurch wohl der Anschein erweckt werden soll, als ob diese Figuren gegen meine Auffassung sprächen; ich habe jedoch die Richtigkeit dieser Bilder, die ein spätes Stadium der Keimblattbildung wiedergeben, niemals bezweifelt, auch selbst einen entsprechenden Schnitt in meiner Arbeit abgebildet; während aber RABL und ZIEGLER einfach annehmen, dass diese Form durch Einstülpung entsteht, habe ich durch eine Reihe von

Abbildungen früherer Stadien, die man allerdings bei RABL und ZIEGLER vermisst, gezeigt, dass die untere Schicht auf ganz andere Art entsteht, als die genannten Autoren meinen. — Ein weiteres Eingehen auf die RABL'sche Kritik verbietet sich durch die aphoristische Form derselben; dass diese Censuren-ertheilung en gros, wie sie RABL in dieser Schrift beliebt hat, zur Aufklärung kontroverser Fragen viel beitragen könnte, scheint mir recht zweifelhaft.

Erklärung der Abbildungen.

Sämmtliche Abbildungen sind mit ABBE'schem Zeichenapparat und SEIBERT, Apochromat Syst. 4, Oc. 6 (Vergr. 372), in der Höhe des Objekttisches gezeichnet; Fig. 1—14 nach Glycerin-Alkohol-Essigsäure-Präparaten.

Zeichenerklärung.

In den Fig. 1—7 bedeuten die kleinen Buchstaben die animalen, die großen Buchstaben die vegetativen Zellen.

<i>Ch</i> Chorda.	<i>N</i> Nervensystem.
<i>d</i> dorsal.	<i>nC</i> neurenterischer Kanal.
<i>D</i> Darm.	<i>U</i> Urmund.
<i>Ec</i> Ektoderm.	<i>US</i> Ursegment.
<i>En</i> Entoderm.	<i>v</i> ventral.

Tafel I.

- Fig. 1. 16zelliges Stadium vom animalen Pol, radiärer Typus.
 Fig. 2. 16zelliges Stadium vom animalen Pol, streng bilateraler Typus.
 Fig. 3. 16zelliges Stadium vom animalen Pol, vegetative Zellen bilateral, animale unregelmäßig angeordnet.
 Fig. 4 wie Fig. 3.
 Fig. 5. 16zelliges Stadium vom animalen Pol, vegetative Zellen bilateral, animale spiral angeordnet.
 Fig. 6 und 7. 16zelliges Stadium in Theilung. Fig. 6 vom animalen Pol, Fig. 7 Seitenansicht.
 Fig. 8. 32zelliges Stadium vom vegetativen Pol, radiärer Typus.
 Fig. 9. 32zelliges Stadium vom animalen Pol, bilateraler Typus.
 Fig. 10. 32zelliges Stadium, Seitenansicht.

Tafel II.

- Fig. 11. 32zelliges Stadium, Seitenansicht.
 Fig. 12. 64zelliges Stadium in Theilung, Seitenansicht.
 Fig. 13 und 14. Blastula vor der Gastrulation. Fig. 13 vom vegetativen Pol, die mit gleichen Buchstaben bezeichneten Zellen liegen symmetrisch zur Medianebene. Fig. 14 optischer medianer Sagittalschnitt.
 Fig. 15. Blastula vor der Einstülpung, medianer Sagittalschnitt.
 Fig. 16. Etwas älteres Stadium, Beginn der Einstülpung, medianer Sagittalschnitt.

- Fig. 17—19. Mediane Sagittalschnitte durch auf einander folgende Einstülpungsstadien.
Fig. 20—22. Mediane Sagittalschnitte durch auf einander folgende Stadien des Urmundverschlusses.
Fig. 23. Medianer Sagittalschnitt durch ein Stadium mit noch offenem Urmund, jedoch bereits überwachsender Medullarplatte.

Tafel III.

- Fig. 24. Medianer Sagittalschnitt, Urmund theilweise überwachsen.
Fig. 25. Medianer Sagittalschnitt, Urmund bereits geschlossen.
Fig. 26 und 27. Querschnitte durch einen Embryo mit drei Ursegmenten.
Fig. 28. Medianer Sagittalschnitt durch einen Embryo mit acht Ursegmenten.
Fig. 29. Medianer Sagittalschnitt durch einen Embryo mit elf Ursegmenten.
Fig. 30. Querschnitt durch einen Embryo mit elf Ursegmenten.
Fig. 31. Querschnitt durch einen Embryo, bei dem die beiden ersten Ursegmente in Bildung begriffen sind.
Fig. 32. Querschnitt durch einen Embryo mit vier Ursegmenten.
Fig. 33. Querschnitt durch einen Embryo mit acht Ursegmenten.
-