

## DIE METHYLENBLAUFÄRBUNG BEI DEM LEBENDEN AMPHIOXUS.

In dem II. Bande dieses Werkes (Biolog. Untersuchungen, N. F. II, 1891) veröffentlichte ich eine Abhandlung »Zur Kenntniss des centralen Nervensystems von *Amphioxus lanceolatus*», welche auf Untersuchungen gestützt war, die ich in Faro bei Messina mit der Ehrlichschen Methylenblaufärbung bei frisch gefangenen Thieren gemacht hatte. Die Färbung wurde zwar bei lebenden Thieren ausgeführt, doch starben dieselben noch innerhalb der Zeit (3—4 Stunden), welche die beste Reaction hinsichtlich des centralen Nervensystems erforderte.

In Folge dessen hat man gegen einen Theil meiner Befunde hervorgehoben, dass in meinen Präparaten postmortale Veränderungen eingetreten seien, wodurch wahrscheinlich ein körniger Zerfall der Elemente entstanden ist; diese Anmerkung betrifft v. A. die von mir beschriebenen *motorischen* Nervenfasern. Ich hatte mich aber davon überzeugt, dass dies nicht der Fall war; bei ganz frischen, noch Reflexbewegungen zeigenden Thieren erhielt ich vollständig dieselben Befunde. Eine hinreichende Widerlegung der erwähnten Anmerkung war jedoch in dieser Weise kaum zu erreichen.

Da wir aber nunmehr in unserem eigenen Lande, und zwar in der Nähe der zoologischen Station (Kristineberg) auf der Westküste Schwedens, einen neuen, leicht zugänglichen Fundort für *Amphioxus* erhalten haben, wo man das Thier in ziemlich reichlicher Menge bekommen kann, nahm ich mir im vorigen Sommer (1897) vor, die Frage in einer anderen Weise zu prüfen. *Ich suchte die Thiere in völlig lebendem Zustande zu färben.* Ich färbte das Seewasser in den Schalen, in welchen die *Amphioxus* aufbewahrt wurden, in bekannter Weise mit Methylenblau in verschiedener Stärke.

Es zeigte sich dabei:

1. Dass der *Amphioxus* das also gefärbte Wasser ausserordentlich gut verträgt und sich wochenlang — ich hielt die Thiere zwei Wochen darin, ohne bei ihnen eine Verminderung der Lebendigkeit und Frische wahrzunehmen — darin aufhalten kann. Die Thiere zeigten ganz dieselben Eigenschaften wie in ungefärbtem Seewasser, schwammen mit derselben Schnelligkeit, suchten dem Lichte zu entfliehen und flohen oft bei der leisesten Berührung, auch nur der Schale. Ich fing in der Regel nur mit schwacher Färbung des Wassers an und steigerte dieselbe immer mehr, oft bis zum Dunkelblauen. In dieser Weise vertrugen die Thiere offenbar am besten eine stärkere Färbung des Wassers. Ferner liess ich die Schalen an einem kühlen Ort, im Eisschrank, stehen, da dann der *Amphioxus*, wahrscheinlich wegen der besseren Erhaltung des Wassers, sich besonders gut in der Gefangenschaft erhält.

2. Dass der lebende *Amphioxus* aus dem in dieser Weise gefärbten Seewasser das Methylenblau sehr schnell aufnimmt. Ich habe viele Exemplare in dieser Weise zu färben versucht. Der *Amphioxus* gehört zu den Thieren, welche die Farbe am ehesten und reichlichsten in lebendem Zustande aufnehmen. Auch in ganz schwach gefärbtem Wasser nimmt das Thier allmählig eine dunkle blaue Farbe an. Es ist in der That ganz eigenthümlich, die stark blau gefärbten *Amphioxus* munter und »blitzschnell« herumschwimmen zu sehen und sie in solcher Weise wochenlang studiren zu können.



Die Thiere lassen sich auch ohne besondere Schwierigkeit in lebendem Zustande unter dem Mikroskope, v. A. bei schwächerer Vergrößerung, in toto untersuchen. Man muss aber immer gewärtig sein, dass sie wie mit einem Schlage aus dem Gesichtsfelde verschwinden; sie scheuen bekanntlich das Licht und lieben deshalb die von dem Reflexionsspiegel kommenden Strahlen nicht. Wenn man aber Geduld hat, kann man indessen hin und wieder gute Ansichten der Thiere im Mikroskope bekommen und für die Körperenden und die Flossenpartien sogar stärkere Vergrößerungen anwenden. Vor Allem suche man aber die kleinsten Individuen aus und lege ein ganz dünnes Deckglas über sie. In dieser Weise gelang es mir oft, schöne Ansichten des Baues der gefärbten Thiere zu erhalten.

Es zeigte sich sogleich, dass v. A. die Nerven gefärbt waren. Ich bekam prachtvolle Uebersichten des ganzen peripherischen Nervensystems in allen Partien des Körpers bis an das Rückenmark und das Gehirn hinan. Sowohl die sensiblen, als die motorischen Wurzeln und ihre Verästelungen bis in die Haut und die Muskeln hinaus waren in schöner blauer Färbung zu verfolgen.

Es zeigte sich nun hierbei überall, dass die *Nervenfasern im lebenden Thier nicht wie continuirliche blaue Stränge* aussahen, sondern *immer gekörnt* waren. Jede Faser bestand aus einem ungefärbten feinen Strang, in welchem blaue Körnchen von etwas verschiedener Grösse und Gestalt ziemlich dicht eingestreut lagen. Dies war nicht nur in den sensiblen Fasern der Fall, sondern auch in den motorischen, welche sich gerade so zeigten, wie ich sie früher beschrieben hatte, indem die Körnchen hier recht gross waren und sich in etwas grösseren Abständen von einander befanden; feinere seitliche Verästelungen dieser Fasern suchte ich auch beim lebenden Thier, v. A. in den Seitenmuskeln vergebens.

Die sensiblen Fasern liessen sich bis in die Haut und in die Tentakel hinaus verfolgen. Bei stärkerer Vergrößerung suchte ich nun diese Fasern bis in ihre letzten Endigungen hinein zu studiren. Hier stiess indessen die Untersuchung auf unerwartete Schwierigkeiten. Es zeigte sich, dass gerade an den letzten Verästelungen der Hautnerven die Färbung ausserordentlich schwach und undeutlich war; die blauen Körner hörten auf, und fast nur die hellen, ungefärbten, feinen Stränge setzten sich bis zum Ende fort. Ich studirte diese Endigungen, v. A. an der Rückenflosse, welche dünn genug ist, um auch stärkere Vergrößerungen zu erlauben. Nur hier und da konnte ich die feinsten Hautfasern verfolgen, und dabei kam ich, wie früher, zu der Ueberzeugung, dass sie frei verästelt an der Basis der Epidermiszellen endigen.

Bekanntlich haben seit längerer Zeit mehrere hervorragende Forscher in dem Epithel (der Epidermis) der Haut von Amphioxus Zellen beschrieben, welche mit den sensiblen Nerven direct zusammenhängen. So beschrieb z. B. KOWALEVSKY bei jungen Larven eine Endigung der Nerven in allen Epithelzellen. OWSJANNIKOW sah »Cylinderzellen mit ihrem unteren zugespitzten Ende in eine Faser, die alle Charaktere einer Nervenfasers an sich trug, übergehen«. LANGERHANS (1873) widmete dieser Frage eine eingehende Untersuchung. »Der epitheliale Theil der Haut«, sagt er, »besteht aus einer einfachen Lage von Cylinderepithelien, die oben von einer dicken, porentragenden Cuticula bedeckt sind«. »Ihr Kern ist klein und liegt in dem der Lederhaut zugekehrten Theil der Zelle«. »Zwischen den Cylinderepithelien der Haut finden sich nun kleinere Zellen in unregelmässiger Vertheilung, besonders zahlreich am Kopf. . . . Diese Zellen besitzen einen nur schmalen Leib; ihr Kern ist oblong und grösser als bei den anderen Epithelzellen. Es fehlt ihnen die Cuticula: an der unteren Seite besitzen sie oft einen kleinen fadenförmigen Fortsatz; an ihrem oberen Ende aber ein langes starres Haar, das entweder einem zarten Saume aufsitzt oder an seiner Basis eine starke oblonge Anschwellung besitzt. Man kann an allen Theilen der Haut beim lebenden Thiere mit starker Vergrößerung diese starren Haare beobachten«. LANGERHANS sah nun einen directen Zusammenhang dieser haartragenden Zellen und der Nervenfasern der Haut. Er fügt sogar hinzu: »die Endigung der Hautnerven beim Amphioxus gehört wirklich zu den Objecten, die relativ leicht festzustellen sind«. Die haartragenden Zellen stellen also nach ihm die Endigung der Hautnerven dar; sie sind wahre »Sinneszellen«.

Schon bei meinen ersten Untersuchungen des Nervensystems des Amphioxus im Jahre 1891 mittelst der vitalen Methylenblaufärbung widmete ich dieser Frage recht viel Aufmerksamkeit. Nie konnte ich aber die von LANGERHANS beschriebenen »haartragenden Sinneszellen« in Verbindung mit den Hautnervenenden finden. Da aber seine positiven Angaben so schroff gegen meine negativen Befunde standen, schob ich die Besprechung der Frage bis auf Weiteres auf. Wiederholte Untersuchungen führten mich indessen immer zu denselben negativen Ergebnissen. Ich sah zwar in dem einschichtigen Hautepithel (Epidermis) zwei Arten von Zellen, mehr oder weniger kurze Cylinderzellen und zwischen ihnen hier und da eingestreute, einzelne, stärker lichtbrechende, schmale, eingekniffene



Zellen mit schmalerem Kern; keine von diesen Zellen trug jedoch, weder am unteren, noch am oberen Ende, faden- und borstenförmige Fortsätze. Ein directer Zusammenhang mit Nervenfasern war nie zu sehen. Die Nervenästchen endigten vielmehr frei und verästelt zwischen den unteren Enden der Zellen.

In meiner Abhandlung »Ueber die sensiblen Nervenendigungen in den Epithelien bei den Wirbelthieren« (Biolog. Unters., N. F., Bd IV, 1892) äusserte ich hierüber u. A. (S. 39): »Wie ich eben angeführt habe, sah ich in der Haut des *Amphioxus*, nach der Behandlung mit Methylenblaulösung, nur frei endigende Nervenfaserverästelungen. Da aber von LANGERHANS und anderen Forschern das Vorhandensein besonderer Sinneszellen im Hautepithel behauptet worden ist, sah ich meine negativen Befunde nicht als vollständig beweisend an, sondern hoffte, mittelst der Chromsilbermethode besser zum Ziel zu gelangen. Leider mislangen aber meine in diesem Sommer wiederholten Versuche in dieser Richtung, und ich muss also diesmal von einer Besprechung dieser interessanten Frage abstehen. Ich kann jedoch nicht umhin, meine Zweifel an dem Vorhandensein derartiger Sinnesnervenzellen im Hautepithel des *Amphioxus*, wie sie von v. LENHOSSÉK und mir bei den Lumbricinen beschrieben wurden, hervorzuheben«.

Zu ganz denselben Resultaten führten mich nun auch die im Sommer 1897 in der obigen Weise ausgeführten Untersuchungen bei *Amphioxus*, wobei das Thier in lebendem Zustande mit Methylenblau gefärbt und studirt wurde. Dieselben Ergebnisse erhielt ich auch nach Fixirung der Gewebe nach BETHE und bei der Untersuchung der mikrotomirten Schnitte. In dem einschichtigen Hautepithel sind zwar, wie LANGERHANS angegeben hat, zwei Arten von Zellen zu sehen, nämlich die mehr oder weniger kurz cylindrischen Zellen und, zwischen ihnen eingestreut, einzelne mehr glänzende, schmale Zellen mit schmalem Kern; diese letzteren Zellen zeigen sich hier und da durch das Methylenblau gefärbt; ein Zusammenhang derselben mit Nervenfasern war aber nie zu entdecken; ebenso konnte ich an ihnen nie »borstenähnliche« peripherische Fortsätze sehen.

Wie ich oben schon erwähnt habe, färben sich in den Nervenfasern des lebenden *Amphioxus* perlenschnurartig an einander gereihte Körnchen, aber nicht, oder nur ganz schwach, das sie verbindende faserige Element. In Folge dessen ist gerade die letzte Verfolgung der feinsten Aeste sehr schwer; die Körnchen werden dabei zuletzt spärlich. Aus Allem, was ich hier gesehen habe, kann ich aber keine anderen Schlüsse ziehen, als dass in dem Hautepithel nur frei endende Verästelungen vorhanden sind; directe Verbindungen der Fasern mit etwaigen »Sinneszellen« habe in ihm nie nachweisen können.

Während ich mit dem Niederschreiben dieses Aufsatzes beschäftigt war (im Juli dieses Jahres), erhielt ich, durch die gütige Zusendung der Herren Verfasser, ein neues Werk über den *Amphioxus*, »Sur le système nerveux de l'*Amphioxus* et en particulier sur la constitution et la genèse des racines sensibles par MM. J. F. HEYMANS et O. VAN DER STRICHT (Extrait du tome LVI des Mémoires couronnés et Mémoires des savants étrangers, publ. par l'Académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique, 1898. Mémoire cour. 15 déc. 1896).

In Betreff der sensiblen Nervenendigungen in der Haut sind die Verf. dieses Werkes zu ähnlichen Resultaten gelangt, wie ich. »Ni dans nos préparations au Golgi, ni dans celles à l'Ehrlich (celles-ci étant examinées à frais ou après fixation), nous n'avons pu nous convaincre de l'existence de cellules epitheliales spéciales se trouvant particulièrement en continuité avec les fibres nerveuses terminales... Si l'on étudie à ce point de vue l'épiderme, on constate deux espèces de cellules. Les unes sont cylindriques, les autres aplaties et très étroites.« HEYMANS und VAN DER STRICHT geben sodann eine ausführliche Beschreibung dieser Zellenarten und betonen, dass die zweite Art, welche LANGERHANS als Repräsentanten der sensiblen Zellen betrachtete, nur abgeplattete und modificirte Epithelzellen sind.

Nun kann ich aber hinzufügen, dass nach meinen Untersuchungen auch die in den von LANGERHANS eingehender beschriebenen Epithelknospen der Mundtentakeln als bipolare, mit Nervenfasern zusammenhängende, borstentragende sensorische Zellen dargestellten Elemente nicht direct mit den Nerven verbunden sind. Diese Zellen färben sich durch Methylenblau intensiv; ihr unteres Ende schliesst aber, gerade wie in den End- und Geschmacksknospen anderer Wirbelthiere, mit einem kleinen Fusse ab und die Nerven streifen sie nur.

Bisjetzt habe ich in der That mit den neuen Färbungsmethoden bei *Amphioxus* keine wahren peripherischen Sinnesnervenzellen, d. h. Zellen entdecken können, von denen Nervenfasern entspringen.

Was im Uebrigen die Untersuchungen von HEYMANS und VAN DER STRICHT betrifft, so freue ich mich, dass diese Forscher meine Anschauung von dem Ursprung der sensiblen peripherischen Nervenfasern aus Zellen, die im Rückenmark selbst belegen sind, bestätigen konnten. Aus ihrer Darstellung geht indessen hervor, dass sie mit der Färbung der Elemente des Centralnervensystems mittelst Methylenblau wenig Glück gehabt haben. Aus den



Abbildungen und der übrigen Darstellung geht auch hervor, dass sie die Golgimethode bei Amphioxus kaum zu weiteren Resultaten als die Forscher, führte, welche vor ihnen mit ihr arbeiteten. Es liefert nämlich, wovon ich mich selbst vielfach überzeugt habe, diese Methode gerade hier nur Bruchstücke einer Färbung, welche weit hinter den mit der Ehrlichschen Methode zu erhaltenden Befunden zurückstehen. Die in der Arbeit von HEYMANS und VAN DER STRICHT veröffentlichten photographischen Wiedergaben von solchen Präparaten bestätigen dieses vollauf; aus solchen Präparaten würde ich wenigstens sehr wenige positive Schlüsse ziehen. Die Golgischen Präparate müssen, um aus ihnen sichere Conclusionen ziehen zu können, im Allgemeinen ganz anders aussehen<sup>1)</sup>.

Dagegen haben die geehrten Verfasser mit der Methylenblaufärbung des peripherischen Nervensystems mehr Glück gehabt. Und dies ist, da sich dieses System bei Amphioxus mit grosser Vorliebe färbt, leicht zu verstehen. Ich habe auch von meinen in der oben beschriebenen Weise in völlig lebendem Zustande gefärbten Amphioxus eine Reihe ausserordentlich schöner Färbungen dieses Systems in fixirtem Zustande aufbewahrt. Da dieselben aber kaum etwas über schon Bekanntes hinaus darbieten, werde ich hier keine Abbildungen von ihnen mittheilen.

Leider gelang die Färbung des Centralnervensystems beim lebenden Thiere nicht so gut. Ich zerschnitt zwar mehrere Exemplare in verschiedener Weise und liess sie in dem blau gefärbten Wasser liegen. Sie lebten noch lange und liessen sich in solcher Weise auch hinsichtlich des Centralnervensystems färben; ich erhielt aber dabei keine weiteren Resultate, als die, welche ich schon früher beschrieben habe. Jedenfalls dürften diese Experimente fortzusetzen sein, denn der Amphioxus besitzt eine erstaunenswerthe Lebenskraft und erträgt lange Zeit selbst die gewaltigsten Eingriffe.

Die obige kurze Besprechung hatte eigentlich von Anfang an den Zweck, mitzutheilen, dass bei dem Amphioxus in vollständig lebendem Zustand die Nervenfasern sich mit Methylenblau *gekörnt* oder *varikös* färben, dass also die Körnelung bei diesem Thiere *nicht postmortal* eintritt, was prinzipiell wichtig ist. Dies gilt aber nicht nur von den peripherischen Nervenfasern, sondern auch von den Fasern des Rückenmarks. Ich betone diese Thatsache um so viel mehr, als HEYMANS und VAN DER STRICHT der entgegengesetzten Ansicht zu huldigen scheinen. »Les fibres de ces trois systèmes», sagen sie betreffs der longitudinalen Faserstränge des Rückenmarks, »comme du reste toutes les autres fibres centrales, sont habituellement granulees et variqueuses, dans les préparations au Golgi comme dans celles au bleu de Methylène (Retzius); dans quelques préparations, et ce sont peut-être les plus véridiques, les fibres nerveuses sont presque absolument régulières et de diamètre uniforme, de sorte que nous sommes encore une fois tentées d'attribuer ces varicosités à l'action du réactif.»

Hinsichtlich der Varicosität der *motorischen* Fasern sagen die Verf.: »Nous considérons ces renflements irréguliers comme artificiels et résultant d'un déplacement de la substance nerveuse sémi-liquide se ramassant de distance en distance en des masses informes plus ou moins volumineuses; les renflements réguliers, par contre, correspondent peut-être aux noyaux des fibres nerveuses». Aber auch an den motorischen Fasern habe ich in dem lebenden Amphioxus die Varicositäten gerade so gefunden, wie ich sie früher (1892) beschrieben und abgebildet habe.

Eigenthümlicher Weise färben sich die Nervenfasern der Ascidien in ganz derselben Weise. Ich habe mich vielfach mit der Methylenblaufärbung des Nervensystems von Cione beschäftigt, wobei ich die Thiere einige Tage oder länger in blau gefärbtem Meerwasser leben liess. Es färbten sich dabei die Nervenfasern, sowohl im grossen Ganglion, als in den aus ihm heraustretenden Nervenzweigen perlenschnurartig, wie beim Amphioxus. Es ist dies hinsichtlich der angenommenen und neulich besonders von MINOR hervorgehobenen sehr nahen Verwandtschaft des Amphioxus und der Tunicaten nicht ohne Interesse.

Bevor ich diese kurze Besprechung abschliesse, werde ich aber noch eine Beobachtung mittheilen, welche ich im vorigen Jahre bei Amphioxus machte.

Bei der *Versilberung* der Körperhaut in der Absicht, die Anordnung der Epidermismosaik zu studiren und zu erfahren, ob die eingestreuten schmalen Zellen in etwaiger Regelmässigkeit distribuir sind, erhielt ich auch

<sup>1)</sup> Dies gilt auch, und zwar in demselben Masse, von den von HEYMANS und DEMOOR früher veröffentlichten Photographien von Präparaten über die Herznerven (Arch. de Biologie, T. 13, 1895). Solche Präparate wirken eher abschreckend und geben den Gegnern der Golgischen Methode mit Recht Waffen in die Hände, um diese in so vieler Hinsicht vortreffliche Methode angreifen und verwerfen zu können.

unter der eigentlichen Epidermismosaik noch eine schöne *Endothelzeichnung* von langen Maschen mit welligen und zackigen Rändern. Nachdem ich das Epithel (die Epidermis) vorsichtig abgepinselt hatte, trat diese Endothelzeichnung sehr scharf hervor, und ich überzeugte mich, dass sie sich eben unter dem Epithel, also an der Oberfläche der Cutis, findet.

Da ich in der Litteratur keine Angaben hierüber gefunden habe, theile ich auf der Taf. XXXI einige Abbildungen dieser Endothelzeichnung mit (Fig 5—8). Die Fig. 5 und 7 geben zwei Partien der Endothelzeichnung ungefähr aus der Mitte der lateralen Körperfläche, die Fig. 6 aus der Schwanzgegend, die Fig. 8 aus der Kopfgegend wieder. Zugleich sind einige kleine Partien des Epidermisepithels abgebildet, um die relative Grösse der Zellen zu zeigen. In Fig. 9 und 10 sind ebenfalls zwei Partien des äusseren Körperepithels, die eine der Kopf-, die andere der Körperseite entnommen, dargestellt.

Ich glaubte, diese Thatsachen hier mittheilen zu müssen, da es von Interesse sein kann, zu wissen, dass beim Amphioxus unter der Epidermis eine solche Endothelzeichnung dargelegt werden kann. Es gelang mir aber nicht, in den Feldern Kerne nachzuweisen.

Die alte Versilberungsmethode, welche früher so vielfach benutzt worden ist, dürfte in der Histologie vielleicht noch hier und da Aufschlüsse geben können und deshalb mehr in Anwendung gezogen werden, als in neuerer Zeit geschieht.





## Tafel XXX.

### Peripherische Nervenendigungen in der Kopfhaut und der Schlundhöhle des Petromyzon.

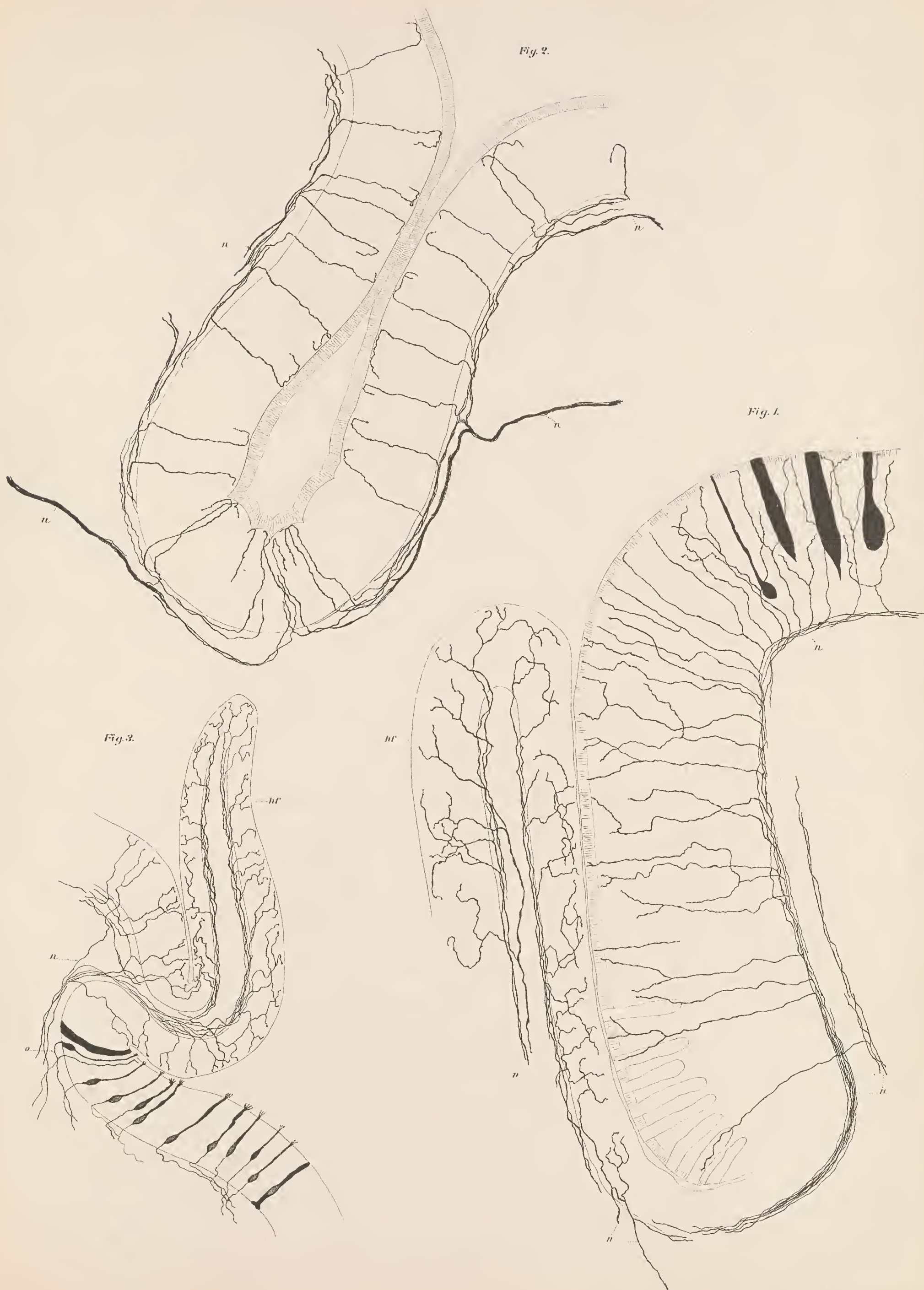
(Ammocœtes.)

**Fig. 1.** Sagittaler Schnitt durch die Kopfhaut eines 8 Cm. langen Ammocœtes. Links sieht man die Hautvalvel (*hf*) an der Mündung des Nasenganges gestreift. — *n* Nervenfasern, welche durch die Epidermis nach der Oberfläche hin emporsteigen. Chromosmiumsilber-Färbung. Gez. bei Vér. Obj. 6 und Ocul. 3 (ausgezog. Tubus).

**Fig. 2.** Frontal gelegter Schnitt durch die Schleimhaut der Schlundhöhle, mit flimmerndem Epithel, dessen einzelne Zellen nicht gezeichnet sind. — *n* Nervenfasern, welche, nachdem sie einen subepithelialen Plexus gebildet haben, durch das Epithel an die Oberfläche emporsteigen. Chromosmiumsilber-Färbung. Gez. bei Vér. Obj. 6 und Ocul. 3 (ausgezog. Tubus).

**Fig. 3.** Sagittaler Schnitt durch die Kopfhaut eines 5 Cm. langen Ammocœtes. — *hf* die Hautvalvel der Mündung des Nasenganges mit Nervenfasern (*n*) in der Epidermis. Unten geht die Haut direct in die Riechschleimhaut über, in welcher mehrere Riechzellen (*o*) und zwei Stützzellen gefärbt sind. Chromosmiumsilber-Färbung. Gez. bei Vér. Obj. 6 und Ocul. 3 (eingeschob. Tubus).





# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologische Untersuchungen](#)

Jahr/Year: 1898

Band/Volume: [NF\\_8](#)

Autor(en)/Author(s): Retzius Gustaf Magnus

Artikel/Article: [Die Methylenblaufärbung bei dem lebenden Amphioxus 118-122](#)