N^o 49. **F. Müller** und **P. Sprumont**. — Entwicklung des Aditus laryngis bei *Rana ridibunda*. Licht- und elektronenoptische Befunde ¹. (Mit 4 Abbildungen)

Institut für Anatomie und spezielle Embryologie, Fribourg.

Die Morphogenese des Aditus laryngis stellt bei *Rana ridibunda* wie bei andern Amphibien einen Teilprozess der Lungen- und Kehlkopfentwicklung dar. In diesem Zusammenhang haben wir die vorliegenden Fakten festgestellt.

MATERIAL UND METHODEN

Wir wählten als Untersuchungsobjekt *Rana ridibunda*, weil die Adultsituation der Lunge dieses Frosches bereits durch eine elektronenoptische Studie bekannt ist (SPRUMONT, i. DRUCK). Die Wahl zeigt auch in anderer Hinsicht Vorteile, indem die Ontogenese dieser Art nach Erreichen eines Stadiums mit nur mikroskopisch sichtbaren Gliedmassenknospen (Stadium 27) retardiert ist. Die Kaulquappen unserer Zucht (in Leitungswasser von 20/21° mit *Elodea densa* gehalten und während des Sommers mit Algen aus der Sarine zusätzlich gefüttert) veränderten sich nach rascher während 15 Tagen durchlaufener Anfangsentwicklung nur noch hinsichtlich der Grösse: unsere ältesten Larven von 270 Tagen unterscheiden sich von den Kaulquappen des jüngsten Stadiums 27 und 15 Tagen mit 33 mm gegenüber nur 10/11 mm Totallänge. Bei der in den Vergleich mit *Rana ridibunda* einbezogenen *Bufo calamita* handelt es sich um eine Kaulquappe mit eben durchbrechenden Vorderextremitäten und einem Alter von etwa 20 Tagen.

In der Stadienbezeichnung folgen wir bis Stadium 25 SHUMWAY (1940). Die verschiedenen Altersstufen des auf gleichbleibendem Entwicklungsstatus beharrenden Stadiums 27 sind mit einem Index bezeichnet, der das Gesamalter des Tieres angibt.

Die Larven wurden nach Anaesthesie in MS 222 Sandoz (1:1500) während 3 Stunden in Glutaraldehyd fixiert (1,5% mit 0,05 M Phosphat gepuffert, pH 7,2). MS 222 wirkt relaxierend auf die Skelettmuskulatur heterothermer Wasser-Vertebraten; gemäss Angaben von GOVERN et al. (zit. n. BOVÉ 1967) wird bei *Rana pipiens* der Musculus ciliaris vom MS 222 nicht beeinflusst. Nach unsern

¹ Unterstützt durch Nationalfonds — Kredit Nr. 3.141.69.

Beobachtungen werden ausserdem die beiden larvalen Larynxmuskeln von *Rana ridibunda* von der relaxierenden Wirkung des MS 222 nicht betroffen.

Die Stadien 20—23 enthalten noch grosse Mengen von Dotterplättchen. Um lesbarere mikroskopische Bilder zu erhalten, entzogen wir n. BAKER zit. i. LILSON (1960) die Dottersubstanz mit reinem Pyridin (bei 60° während 24 Stunden). Die der lichtmikroskopischen Untersuchung dienenden Schnittserien mit einer Schnittdicke von 4 μ wurden in der üblichen Weise hergestellt. Zur Färbung verwendeten wir vor allem das Gemisch n. LADEWIG.

Um den räumlich sehr begrenzten Aditus laryngis elektronenoptisch zu untersuchen, haben wir uns zu folgender vorläufiger Präparationsweise entschlossen. Wir schnitten die in Paraffin eingebettete und lediglich mit Glutaraldehyd fixierte Kaulquappe in Querschnitten bis unmittelbar vor die Kehlkopfregion, lösten das Paraffin aus dem ungeschnittenen Anteil und betteten ihn hierauf in Araldit ACM Ciba um. Die mit Glasmesser auf dem Ultramikrotom Porter-Blum MT-2 ausgeführten Schnitte wurden kontrastiert mit einer Mischung von Kaliumpermanganat und Uranilazetat.

BEOBACHTUNGEN UND ERGEBNISSE

Die früheste Anlage des Aditus laryngis ist bei Stadium 21 gleichzeitig mit den Ereignissen festzustellen, welche zur Bildung der Lungenanlagen führen. Das einen Tag nach Schlüpfen fixierte Tier zeigt am Oesophagus von kaudal nach rostral (in Abb. 1 von unten nach oben) folgende Veränderungen. Unmittelbar rostral des Pronephros bilden sich durch seitliche Auswölbung des Darmepithels die Lungenbuchten, im proximalsten Oesophagusgebiet haben sich die ventrolateralen Wandregionen des in Stadium 20 bereits etwas von seitlich zusammengedrückten Darmrohrs genähert und scheinen verwachsen zu sein. Schon einen Tag später erfolgen Gestaltwandlungen, die in Abbildung 1 für Stadium 23 festgehalten sind. Wegen der Ähnlichkeit der Larven 22 und 23 haben wir nur das eine der beiden Stadien gezeichnet. Es haben sich die ausgebuchteten Oesophagusbezirke des Stadiums 21 unmittelbar vor dem 1. Nephrostom jederseits zum Lungensäckchen abgeschnürt. Rostral dieser Lungensack-Zone stossen wir auf Oesophagus mit ventrolateral ausgebuchtetem Wandbereich, noch weiter proximal treffen wir auf die schon in Stadium 20 realisierte Situation mit den vertikal gestellten und wahrscheinlich verwachsenen Wandabschnitten: auf die Begrenzung des künftigen Aditus laryngis. Der Oesophagus hat sich unmittelbar bei Beginn dieser ersten Entwicklungsphase, an deren Anfang ausserdem die Öffnung des Mundes steht, geschlossen. Im Stadium 24, 4 Tage nach Schlüpfen, wird das Oesophaguslumen wieder sichtbar. Von kaudal nach rostral sind noch immer die für Stadium 23 beschriebenen Zonen zu beobachten: 1. in der Region

des Pronephros das Gebiet der vom Darm abgeschnürten Lungensäckchen, die sich inzwischen nach distal verlängert haben, 2. rostral anschliessend Oesophagusregion mit einer unpaaren ventralen Ausstülpung (Laryngotracheal-Grube) und

ABB. 1.

Entstehung der ersten Lungenanlagen und des Aditus laryngis von *Rana ridibunda* Stadium 21 mit einem Alter von 7 Tagen und eben entstehender Lungenbucht (Lb) ventrolateral am Oesophagus (Oe), Stadium 23 mit abgeschnürten Lungensäckchen (Ls) und der Pars laryngotrachealis (LTr).
pAl praesumptives Epithel des Aditus laryngis, pLe praesumptives Lungenepithel, Le Lungenepithel, Lm Lungenmesenchym.

3. nahe dem Kiemendarm die uns besonders interessierende Zone mit den verwachsenen und senkrecht gestellten ventralen Wandbezirken des Oesophagus, die den Aditus laryngis darstellen. Neu ist gegenüber Stadium 23 vor allem, dass sich zwischen Oesophagus und Lungen sowie die Laryngo-tracheal-Grube Mesenchym eingeschoben hat, sodass nun der Zusammenhang zwischen Verdauungs- und Respirationstrakt nicht mehr ohne weiteres auffällt. Der sagittale

Medianerschnitt durch Stadium 24 in Abbildung 2 enthält die im Adultleben der Stimmerzeugung dienende Pars laryngotrachealis. Sie ist gegen den Kiemendarm durch die verwachsenen Wandbezirke des Aditus laryngis abgeschlossen. Wir

ABB. 2.

Medianer Sagittalschnitt durch Stadium 24, *Rana ridibunda* 4 Tage nach Schlüpfen
Ch Chorda dorsalis, Kd Kiemendarm, Pl Plica praelaryngea, Oe Oesophagus,
vA verwachsener Aditus laryngis.

beachten, dass das Kiemendarmepithel den Verwachungsbezirk als einheitliche Schicht überzieht. Das gleiche Bild vermittelt ein Querschnitt durch Stadium 25 (Abb. 3): die hier allerdings nicht mehr vollständig verwachsenen Wände des Aditus laryngis sind noch von einer Schicht ausgedünnter Kiemendarm-Zellen überzogen.

Im Alter von 15 Tagen (immer noch Stadien ohne äusserlich sichtbare Gliedmassenanlagen) tritt bei den Larven eine auffällige Verhaltensänderung auf. Sie steigen immer wieder an die Wasseroberfläche und scheinen Luft aufzunehmen. Tatsächlich erscheinen beim Eröffnen der Tiere jetzt die Lungen prall mit Luft gefüllt, während sie vorher als gelbliche kleine Säckchen in der dorsalen Bauchhöhle kaum aufgefallen sind. Luftaufnahme setzt eine Verbindung des Kiemendarms und der Aussenwelt mit der Lunge voraus. Der in Stadium 24 und 25 noch geschlossene Aditus laryngis muss sich mittlerweile geöffnet haben. Ein

Querschnitt durch Stadium 27/15 (Abb. 3) zeigt uns diese Situation. Die zur Öffnung erforderlichen Larynxmuskeln sind ab Stadium 24 vorhanden, es fehlt aber das Knorpelskelett für ihre Insertion.

Schnitte durch ältere Individuen des Stadiums 27 (20/80 Tage) ergeben immer wieder Bilder, bei denen lichtmikroskopisch der Aditus laryngis geschlossen erscheint.

DISKUSSION

Es erhebt sich die Frage, wie dieser nach der Luftfüllung der Lungen auftretende Zustand der im Wasser lebenden Kaulquappen zu deuten sei. Handelt es sich um einen die künftige Larvenperiode hindurch realisierten transitorischen Verschluss durch Verwachsung oder Verklebung oder haben wir es mit einem statistisch häufiger als eine Öffnung realisierten und infolge der Fixation der Tiere erfassten Funktionszustand zu tun? In Richtung der zweiten Möglichkeit sprechen mehrere Fakten: 1. Während der Periode nach der Luftfüllung der Lunge beim eben besprochenen *Rana*-Stadium von 15 Tagen Alter beobachten wir, wie die Tiere nach lange dauernden Zwischenphasen an die Wasseroberfläche steigen und dort eine Gasblase ausstossen. Handelt es sich dabei um Luft aus der Lunge, so setzt der Vorgang eine vorübergehende Öffnung der Glottis voraus. 2. Bei *Bufo calamita* entwickelt sich die Lunge erst gegen Ende der Metamorphose. Die erste Luftfüllung erfolgt nach eigener Beobachtung nach Durchbruch der Vorderextremitäten und stattgefundener Resorption des Schwanzes etwa auf Rumpflänge. Der Aditus laryngis hat hier lange geschlossen zu bleiben. Betrachten wir ihn vor der Luftaufnahme im Querschnitt (Stadium mit eben durchbrechenden Vorderextremitäten), so begegnet uns eine Verwachsung (Abb. 3): die beiden Epithellamellen sind mittels eines Füllgewebes verbunden. Ein derartiger morphologischer Verschluss als Verwachsung findet sich bei *Rana ridibunda* nach Luftaufnahme nicht. 3. Auch der Vergleich mit der Adultsituation legt die Deutung des geschlossenen Aditus laryngis bei den *Rana ridibunda*-Larven als funktionellen Verschluss nahe. Die Frösche atmen bekanntlich auf zwei verschiedene Weisen. Während der Perioden der Mundatmung bleibt n. GAUPP (1904) die Kehlritze geschlossen und lediglich während der kurzen Momente der Abgabe von Luft durch die Lunge zur Mundhöhle sowie des Einpressens von Luft aus dieser zur Lunge liegt ein offener Aditus vor. Die Situation einer geschlossenen Kehlritze ist also während längerer Dauer realisiert und deshalb häufiger anzutreffen als jene mit offenem Aditus laryngis. 4. Die elektronenmikroskopischen Bilder erst zeigen deutlich, dass es sich bei unsern *Rana*-Stadien von mehr als 15 Tagen beim geschlossenen Aditus laryngis um einen funktionellen Verschluss handelt. Die beiden Epithellamellen sind bei der vorliegenden Präparation durch eine Spalte von $0,1\text{--}0,6\ \mu$ (von der Grundfläche der Villositäten aus

ABB. 3.

licht- und elektronenoptische Bilder von Querschnitten des Aditus laryngis von *Rana ridibunda* der Stadien 25, 27/15, 27/28, 27/69 im Vergleich mit immersionsmikroskopischer Aufnahme des Aditus laryngis von *Bufo calamita*

ABB. 4.

Bild des Aritus laryngis im Elektronenmikroskop von *Rana ridibunda* 27/69 (Material nur in Glutaraldehyd fixiert, Schnitte kontrastiert in einer Mischung von Kaliumpermanganat und Uranilazetat. Weitere und vorläufige Präparationsweise s. S. 1115). Die Pfeile im Inset verweisen auf Zilien, die Sterne auf die Sekretkrypten. Länge der Mikrovilli, auf Serienschritten und in einem mittleren Bereich des Aritus laryngis gemessen 0,16—0,19 μ .

Müller, F and Sprumont, P. 1972. "Entwicklung des Aditus laryngis bei Rana ridibunda. Licht- und elektronenoptische Befunde." *Revue suisse de zoologie* 79, 1114–1120. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.97159>.

View This Item Online: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/138635>

DOI: <https://doi.org/10.5962/bhl.part.97159>

Permalink: <https://www.biodiversitylibrary.org/partpdf/97159>

Holding Institution

American Museum of Natural History Library

Sponsored by

BHL-SIL-FEDLINK

Copyright & Reuse

Copyright Status: Public domain. The BHL considers that this work is no longer under copyright protection.

Rights Holder: Muséum d'histoire naturelle - Ville de Genève

This document was created from content at the **Biodiversity Heritage Library**, the world's largest open access digital library for biodiversity literature and archives. Visit BHL at <https://www.biodiversitylibrary.org>.