ZEITSCHRIFT

FÜR

WISSENSCHAFTLICHE

MIKROSKOPIE

UND FÜR

MIKROSKOPISCHE TECHNIK

BEGRÜNDET VON W. J. BEHRENS

Unter besonderer Mitwirkung

von

Prof. Dr. P. Schiefferdecker und **Dr. V. Dürrfeld**
in Bonn in Brake i. O.

herausgegeben

von

Prof. Dr. ERNST KÜSTER
in Bonn

Band 31

(Jahrgang 1914)

Mit 75 Textabbildungen und 14 Tafeln

LEIPZIG
Verlag von S. Hirzel
1914

Alle Rechte vorbehalten.

7388

Inhaltsverzeichnis.

I. Abhandlungen.

Seite

Ask, Fr., Eine kleine Bemerkung zur Schnittserienmethode von Suzuki 367
Becher, S., Über neue Mikrotomkonstruktionen 103
Blunck, G., Ein neues Färbeverfahren für Kartoffelstärke 476
Breuning, Fr., Eine einfache Wässerungsvorrichtung 227
Brnijning, F. F., Eine einfache Mikroskopierbeleuchtung, welche nicht inkommodiert 362
Drasch, O., Über die Herstellung von Delaminationspräparaten von Hühnerkeimscheiben 193
Golodetz, L., Die Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte der Gewebe 300
Grengg, R., Über die bei petrographischen Untersuchungen erforderliche Größe der Dünnschliffe 70
Honigmann, H., Ein Hilfsapparat für die Herstellung lückenloser Schnittserien, speziell für Rekonstruktionen 229
Ijinsky, M. v., Zur histologischen Färbung 224
Lebedkin, S., Zur Technik der plastischen Rekonstruktion 114
Levy, F., Über neue Mikroskopierbeleuchtungen 99
Liesegang, R. Ed., Exogene Fällungen bei der histologischen Färbung 466
Naumann, E., Über die Mikrophotographie auf Gaslichtpapiere in negativen Bildern 472
—. —, Über das Mikrophotographieren mit Gaslichtpapieren in direkt positivem Bild 474
Oelze, F. W., Die Histologie der Oxydations- und Reduktionsorte . 43
—. —, Die Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte der Gewebe 307
Prowazek, S. v., Zur Kenntnis der Giemsa-Färbung vom Standpunkt der Zytologie 1
Romeis, B., Ein Wässerungsapparat 236
Rupp, C., Anwendung der Gelatine zum Konservieren und Befestigen mikroskopischer Gehirnschnitte auf Kartonpappe 35

Seite

Scheffer, W., Über eine Spiegelreflexkamera für Mikrophotographie und einen Mikroskopiertisch für subjektive Beobachtung und Photographie 84
—, —, Über streuende Scheiben in der Mikrobeleuchtung 368
—, —. Bemerkungen zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte mit auffallendem Licht für die Mikrophotographie mit kurzbrennweitigen photographischen Objektiven 373
Schneider, H., Über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktionsorten und ihre Anwendung auf pflanzliche Objekte. — Benzidin als Reagens auf Verholzung 51
—, —. Neue Studien zur Darstellung der Reduktions- und Sauerstofforte der Pflanzenzellen 478
Szent-Györgyi, A., Die histologische Darstellung des Glaskörpers . 23
Szüts, A. v., Eine neue Hämatoxylinlösung 17
Unna, P. G., Eine gute Doppelfärbung für gewöhnliche und saure Kerne 289
—, —, Brief an den Herausgeber 296
Voß, G., Eine neue Mikroskopierlampe 464
Walsem, G. C. van, Über eine einfachste Methode zur Aufhebung von Zentrifugaten 40
—, —, Beiträge zur klinisch-morphologischen Hämatotechnik . . . 310
Wilschke, A., Über die Fluoreszenz der Chlorophyllkomponenten . 338
Wolff, M., Über eine neue Wasserstrahlluftpumpe und das Fixieren und Einbetten mikroskopischer Objekte im Vakuum 19
—, —, Klapp-Reflex-Kameras mit doppeltem Bodenauszug als Universalinstrumente für wissenschaftliche Makro- und Mikro-Photographie 202
—, —, Ein Objekthalter für Zeißsche anastigmatische Doppellupen . 380
—, —. Über die Verwendung des Zeichenprismas für Mikroprojektion auf horizontale und vertikale Flächen 384
—, —, Das Geigersche Universal-Tisch-Stativ für Mikroprojektion, Mikro- und Makro-Photographie, sowie über einen neuen Präpariertisch 448
Wychgram, E., Über neue Prinzipien der Mikroprojektion 218
—, —, Aus optischen und mechanischen Werkstätten VII 441
Zoth, O., Notiz, betreffend die Verwendung der „direkten Kühler" für Projektion 97

II. Referate.

Seite

Achúcarro, N., Ganglioneurom des Zentralnervensystems. Histologische Beschreibung eines Falles mit besonderer Berücksichtigung der Veränderungen der Ganglienzellenkerne 166

Achúcarro, N., y **Calandre, L.**, El método del tanino y la amoniacal plata aplicado al estudio del tejido muscular cardíaco del hombre y del carnero 152

Ahrens, H., Die Entwicklung der menschlichen Zähne 153

Åkerman, Å., Über die Konservierung plasmolysierter Protoplasten 515

Alexeieff, A., Recherches sur les sarcosporidies. I. Etude morphologique 138

Anitschkow, N., Über experimentell erzeugte Ablagerungen von anisotropen Lipoidsubstanzen in der Milz und im Knochenmark . 414

Armbruster, L., Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden [Osmia cornuta LATR.]. Beiträge zur Geschlechtsbestimmungsfrage und zum Reduktionsproblem . . 253

Arndt, W., Über das Vorkommen von Fett bei Actinien 139

Arnold, J., Über Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung 394

—, —, Bemerkungen über intravitale, supravitale und postvitale Granulafärbung 194

—, —, Über die Granula der eosinophilen Zellen und der Mastzellen 500

Asai, T., Untersuchungen über die Struktur der Riechorgane bei Mustelus laevis [Glatter Hai, Selachier] 422

Aunap, E., Über die Chondriosomen der Gonocyten bei Knochenfischen 156

Bindewald, C. A. E., Das Vorderhirn von Amblystoma mexicanum . 167

Biondi, G., La degenerazione WALLERIANA dei nervi periferici, particolarmente studiata dal lato istochimico ed il valore degli attuali metodi d'indagine per la dimostrazione istochimica di sostanze grasse e lipoidi 263

Björkenheim, E. A., GOLGIS apparato reticolare interno in den Plazentarepithelien 155

Boresch, K., Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei Funaria 177

Boring, A. M., a. **Pearl, R.**, The odd chromosome in the spermatogenesis of the domestic chicken 510

Brammertz, W., Morphologie des Glykogens während Eibildung und Embryonalentwicklung von Wirbellosen 246

Braue, A., Die Pollensammelapparate der beisammelnden Bienen . 404

Burlend, T. H., The pronephros of Chrysemys marginata 421

Busacca, A., L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte . 266

Caesar, J., Die Stirnaugen der Ameisen 496

Cajal, S. Ramón y, Un nuevo proceder para la impregnación de la neuroglia 124

Carpano, M., Sull' invoglio capsulare di alcuni batteri 172

Seite

Casper, A., Die Körperdecke und die Drüsen von Dytiscus marginalis L. 252

Champy, Ch., Granules et substances réduisant l'iodure d'osmium . 135

, —, Recherches sur la spermatogénèse des Batraciens et les éléments accessoires du testicule 415

Cramer, W., Feiss, H. O., a. **Bullock, W. E.**, The significance of the Marchi reaction in nerve degeneration, and its application as a specific stain for unsaturated ordinary fats [Preliminary communication] 166

Deineka, D., Beobachtungen über die Entwicklung des Knochengewebes mittels der Versilberungsmethode. I. Die Entwicklung der Knochenzellen in perichondralen Prozessen 502

Doinikow, B., Histologische und histopathologische Untersuchungen am peripheren Nervensystem mittels vitaler Färbung. . . . 423

Donau, J., Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie unter besonderer Berücksichtigung der quantitativen Gewichtsanalyse 242

Dunzelt, H., Die Differentialauszählung der weißen Blutkörperchen in der Zählkammer 261

Duparc, L., u. **Monnier, A.**, Traité de technique minéralogique et pétrographique: Deuxième partie. Tome 1: Les méthodes chimiques qualitatives 276

Edinger, L., Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Apparaten 134 400

Elfving, T., Untersuchungen über Flechtengonidien 177

Esmarch, F., Untersuchungen über die Verbreitung der Cyanophyceen auf und in verschiedenen Böden 435

Fülleborn, F., Zur Technik der Mikrofilarienfärbung 144

Gelei, J., Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum 249

Gerwerzhagen, A., Beiträge zur Kenntnis der Bryozoen. 1. Das Nervensystem von Cristatella mucedo Cuv. 247

Givler, J. P., A safety razor modified for cutting handsections . . 246

Göthlin, G. F., Die doppelbrechenden Eigenschaften des Nervengewebes, ihre Ursachen und ihre biologischen Konsequenzen . 162

Gottlieb, B., Die vitale Färbung der kalkhaltigen Gewebe 502

Greschik, E., Histologische Untersuchungen der Unterkieferdrüse [Glandula mandibularis] der Vögel. Ein Beitrag zur Kenntnis der Mucinbildung 409

—, . Mikroskopische Anatomie des Enddarmes der Vögel 412

Guitel, F., Recherches sur l'anatomie des reins du Cottus gobio . . 508

Gvenes, E., u. **Sternberg, F.**, Über eine neue und schnelle Methode zum Nachweise der Spirochaete pallida in den Geweben . . 511

Hartridge, H., A method of investigating diatom-structure 129

Hayaski, A., Über das Verhalten der Gitterfasern in der Rachitismilz 160

Hegewald, C., Vergleichende histologische Untersuchungen über den äußeren Gehörgang der Haussäugetiere 421

Heldt, Th. J., Möllgaard's Reticulum 266

Henningfeld, Fr., Über die Isolierung einzelner Trypanosomen . . 170

Seite

Herbers, K., Entwicklungsgeschichte von Anodonta cellensis SCHRÖT. 141
Herxheimer, G., Technik der pathologisch-histologischen Untersuchung 391
Heydenreich, L. v., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten 130
Hilton, W. A., The central nervous system of Tunica nigra . . . 140
Höber, R., Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe . . . 493
Höber, R., u. **Nast, O.**, Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung 131
Isabolinsky, M., u. **Smoljan, L.**, Über die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstoffestigkeit der Bakterien 172
Jordan, K. H. Ch., Zur Morphologie und Biologie der myrmecophilen Gattungen Lomechusa und Atemeles und einiger verwandter Formen 252
Jurjewa, E., Die Nervenendigungen im Zahnfleisch des Menschen und der Säugetiere 423
Kauffmann, H., Über den Entwicklungsgang von Cylindrocystis . . 272
Kemnitz, G. A., Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae 112
Kerschner, Th., Die Entwicklungsgeschichte des männlichen Kopulationsapparates von Tenebrio molitor L. 105
Killian, K., Über die Entwicklung einiger Florideen 176
Kindler, Th., Gametophyt und Fruchtansatz bei Ficaria ranunculoides 272
Kleczkowski, T., Untersuchung über die Entwicklung des Sehnerven 269
Klein, St., Eine einfache Methode der panoptischen Blut- und Gewebsfärbung mit „Polychrom“ 245
Klinken, J., Über das gleitende Wachstum der Initialen im Kambium der Koniferen und den Markstrahlenverlauf in ihrer sekundären Rinde 175
Klopstock-Kowarsky, Praktikum der klinischen chemisch-mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden . . . 393
Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen und Enzymen 271
Koch, K., Histologisch-Technisches zur Markscheiden- und Lipoidfärbung 507
Kozewalow, S., Zur Technik der Färbung der NEGRIschen Körperchen 271
Krotkow, S. F., Zur Methodik der Blutkörperchenzählung 257
Krüger, P., Ein neues Verfahren zur elektiven Färbung der Bindesubstanzen 137
Kühn, A., Die Sonderung der Keimesbezirke in der Entwicklung der Sommereier von Polyphemus pediculus DE GEER 497
Kühnle, K. F., Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn, die Kopfnerven und die Kopfdrüsen des gemeinen Ohrwurms [Forficula auricularia L.] mit Bemerkungen über die Gehirne und Kopfdrüsen eines Springschwanzes [Tomocerus flavescens TULLB.], einer Termitenarbeiterin [Eutermes peruanus f. aequatorianus HOLMGR.] und der indischen Stabheuschrecke [Dixippus morosus] 405

Seite

Kühtz, K., Über die Spermio- und Oogenese der Sclerostomum-Arten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Heterochromosomenforschung 143

Kull, H., Eine Modifikation der ALTMANNschen Methode zum Färben der Chondriosomen 243

Kuntz, A., On the innervation of the digestive tube 161

Kuschakewitsch, S., Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchiern 1 140

Lang, P., Experimentelle und histologische Studien an Turbellarien 2. 250

Lapinsky, M., Zur Innervation der Hirngefäße 504

Lecha-Marzo, A., El ácido fosfo-molíbdico reactivo del esperma . . 417

Legendre, R., Simple tour de main pour obtenir une chambre microscopique 493

Leiß, C. u. **Schneiderhöhn, H.**, Apparate und Arbeitsmethoden zur mikroskopischen Untersuchung kristallisierter Körper . . . 516

Levi, G., Note citologiche sulle cellule somatiche dell'ovario dei mammiferi 158

Levy, O., Elementares Praktikum der Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere mit Einführung in die Entwicklungsmechanik . . 121

Linck, G., Grundriß der Kristallographie für Studierende und zum Selbstunterricht 276

Liperovsky, L., Über das elastische Gewebe der menschlichen Milchdrüse 509

Loele, K., Beiträge zur Kenntnis der Histologie und Funktion des Hymenopterendarms 496

Luna, E., Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi 159

Maneval, W. E., The development of Magnolia and Liriodendron, including a discussion of the primitiveness of the Magnoliaceae 174

Marmier, L., Modification d'un régulateur de chauffage électrique . 131

Massont, P., Imprégnation argentique du pigment 135

Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 6. Über Blutmastzellen 154

Mayer, L., Die intrazellulären Fibrillen in den Epithelzellen von Oligochäten und Polychäten und das Skelett der Muskelzellen . . 251

Mayer, P., Einführung in die Mikroskopie 241

Maziarski, St., Sur la persistance des résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogénèse de Vespa vulgaris L. 254

McKibben, P. S., The eye-muscle nerves in Necturus 159

Meßner, E., Weitere Mitteilungen über die Färbung der NISSLschen Schollen mit Pikrokarmin. 408

Meves, F., Über das Verhalten des plastomatischen Bestandteiles des Spermiums bei der Befruchtung des Eies von Phallusia mamillata. 248

Meyer, A., Erstes mikroskopisches Praktikum. Eine Einführung in den Gebrauch des Mikroskops und in die Anatomie der höheren Pflanzen 492

Seite

Mironesco, Th., Préparations permanentes d'amyloïde par la méthode de Hottinger et Renaut 501
Möllendorf, v., Über Vitalfärbung der Granula in den Schleimzellen des Säugerdarmes 413
Mühlmann, M., Beiträge zur Frage nach der Ursache des Todes. . 505
Müller-Calé, K., Zur Entwicklungsgeschichte einiger Thecaphoren 140
—, —, Über die Entwicklung von Cypris incongruens 406
Nachtsheim, H., Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene [Apis mellifera L.] 253
O'Donoghue, Ch. H., Über die Corpora lutea bei einigen Beuteltieren 157
Oehler, R., Über die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzellenübertragung 170
Oppel, A., Leitfaden für das embryologische Praktikum und Grundriß der Entwicklungslehre des Menschen und der Wirbeltiere . . 121
Oppermann, K., Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden 158
Ortner-Schönbach, P., Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden 251
Pascher, A., Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz 128
Péterfi, T., Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen 256
—, —, Beiträge zur Histologie des Amnions und zur Entstehung der fibrillären Strukturen 420
Péterfi, T., u. **Engel, A.**, Das Muskelgewebe der Milz des Menschen 409
Petrow, K., Messungen geringer Dispersionen der optischen Symmetrieachsen in monoklinen Kristallen 277
Plenk, H., Die Entwicklung von Cistella (Argiope) neapolitana. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Brachiopoden . . . 404
Poyarkoff, E., Solutions sucrées comme milieux physiologiques [observations sur les spermatozoïdes des mammifères] 509
Prell, H., Das Chitinskelett von Eosentomon, ein Beitrag zur Morphologie des Insektenkörpers 146
Quack, M., Über den feineren Bau der Mitteldarmzellen einiger Nematoden 251
Rachmanow, A., Beiträge zur vitalen Färbung des Zentralnervensystemes [Nebst einigen Bemerkungen über den feineren Bau der Pia] 423
Rados, A., Die Ausscheidung von intravenös injiziertem Karmin und Trypanblau im Auge 269
Ramme, W., Die Bedeutung des Proventriculus bei Coleopteren und Orthopteren 495
Ranke, O., Neue Kenntnisse und Anschauungen von dem mesenchymalen Syncytium und seinen Differenzierungsprodukten unter normalen und pathologischen Bedingungen, gewonnen mittels der Tanninsilbermethode von N. Achúcarro 402

Seite

Reinhard, L., Zum Bau der Spermien und zur Spermatogenese von Potamobius leptodactylus [Astacus leptodactylus] 150

Reis, V., u. Reis, K., Der Apparat von Golgi-Kopsch und die intrazellulären Einschlußkörper. — Ein Beitrag zur Histologie der Bindehautepithelien und des trachomatösen Follikels . . 255

Reitz, A., Apparate und Arbeitsmethoden der Bakteriologie. Bd. I: Allgemeine Vorschriften, Einrichtung der Arbeitsräume, Kulturverfahren, Färbeverfahren, Bestimmungstabellen 171

Rio Hortega, P. del, Investigations sur le tissu musculaire lisse . . 499

Rösch, P., Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der Strepsipteren 404

Röthig, P., Über eine Nachfärbung bei Weigert-Pal-Präparaten . 506

Rohr, N. v., Richtlinien in der Entwicklung, Erkenntnis und Wertung optischer Instrumente 129

Rosen, K. v., Studien am Sehorgan der Termiten nebst Beiträgen zur Kenntnis des Gehirns derselben 495

Sugiuchi, S., Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Ebertnsche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anuren nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze 151

Salomon, H., Über das Vorkommen und die Aufnahme einiger wichtiger Nährsalze bei den Flechten 433

Sánchez y Sánchez, D., Sobra la estructura íntima de la fibra muscular en los invertebrados. Nota preliminar 145

, , Sobre las terminaciones motrices en los insectos 146

Schaefer, R., Die Entwicklung der Geschlechtsausführwege bei einigen Cestoden mit besonderer Berücksichtigung der Epithelverhältnisse 497

Schalk, A., Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von Petromyzon fluviatilis 255

Schaxel, J., Versuch einer cytologischen Analysis der Entwicklungsvorgänge. 1. Die Geschlechtszellenbildung und die normale Entwicklung von Aricia foetida Chap. 2. Die abnorme Furchung von Aricia foetida Chap 498

Schellenberg, A., Das akzessorische Chromosom in den Samenzellen der Locustide Diestrammena marmorata de Haan 149

Scheurig, L., Die Augen der Arachnoideen 150

Schiassi, B., Nouvelles solutions physiologiques 400

Schilling, V., Technik des Blutausstriches und eine neue Differential-Zähltafel für Leukozyten 258

Schmid, B., Handbuch der naturgeschichtlichen Technik für Lehrer und Studierende der Naturwissenschaften 120

, , Biologisches Praktikum für höhere Schulen 493

Schmandigel, O., Die vitale Färbung mit Trypanblau am Auge . . 270

Schneider, A. u. W., Praktikum der mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere und Grundzüge der mikroskopischen Technik . . 393

Seite

Schneider, O., Zur Kenntnis der Chordascheiden insbesondere der sogenannten Elastica interna bei Cyclostomen und Fischen . 427
Schröder, R., Über die zeitlichen Beziehungen der Ovulation und Menstruation [Zugleich ein Beitrag zur Corpus luteum-Genese] . 419
Schuch, K., Beiträge zur Kenntnis der Schalendrüse und der Geschlechtsorgane der Cumaceen 406
Sheldon, R. E., Paraffine-Weigert methods for the staining of nervous tissue, with some new modifications 127
Siedentopf, Hilfsobjektiv für Voruntersuchungen zum Kardioid-Ultramikroskop 129
Simarro y Villaverde, Método de coloración histológica por el negro de anilina producido en el tejido. – Comunicación previa . 400
Spalteholz, W., Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Nebst Anhang: Über Knochenfärbung 398
Stendell, W., Zur vergleichenden Anatomie und Histologie der Hypophysis cerebri 266
Svedelius, N., Über Sporen an Geschlechtspflanzen von Nitophyllum punctatum; ein Beitrag zur Frage des Generationswechsels bei Florideen 175
—, —, Über die Tetradenteilung in den vielkernigen Tetrasporangienanlagen bei Nitophyllum punctatum 175
Szécsi, St., Lucidol, ein neues Fixiermittel 131
—, —, Eine neue Methode zur Untersuchung des Liquor cerebrospinalis 505
Thurn, O., Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter, ungefärbter und gefärbter Bakterien 173
Torraca, L., Alcune osservazioni sui condriosomi delle cellule cartilaginee nella coda dei tritone rigenerante 501
Tschassownikow, S., Über Becher- und Flimmerepithelzellen und ihre Beziehungen zueinander. Zur Morphologie und Physiologie der Zentralkörperchen 151
Tswett, M., Zur Kenntnis des „vegetabilischen Chamäleons" . . . 171
Unna, P. G., Biochemie der Haut 122
—, —, Die Herkunft der Plasmazellen 407
Vance, B. M., A new staining method for bile canaliculae 161
Wand, A., Beiträge zur Kenntnis des Scheitelwachstums und die Verzweigung bei Selaginella 173
Wassermann, F., Die Oogenese des Zoogonus mirus Lss. 145
Weill, P., Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus 162
Weinschenk, E., Grundzüge der Gesteinskunde. Erster Teil: Allgemeine Gesteinskunde als Grundlage der Geologie 178
Weißenberg, G., Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien Glugea anomala Moniez und Hertwigi Weissenberg 247
Wilke, G., Chromatinreifung und Mitochondrienkörper in der Spermatogenese von Hydrometra paludum Fabr. 149

Seite

Wisselingh, C. van. Über die Nachweisung und das Vorkommen von Karotinoiden in der Pflanze 512

— — . On intravital precipitates 513

Wülfing, E. A., Fortschritte auf dem Gebiete der Instrumentenkunde [Fortschritte d. Mineralogie, Kristallographie und Petrographie] 273

— —, Über die Lichtbrechung des Kanadabalsams 278

— —, Über Projektion mikroskopischer Objekte insbesondere im polarisierten Licht 279

Young, R. T., The histogenesis of the reproductive organs of Taenia pisiformis 499

Zimmermann, K., Über die Fazettenaugen der Libelluliden, Phasmiden und Mantiden 148

Verzeichnis der Mitarbeiter
an Band 31.

Dr. Fritz Ask in Lund.
Prof. Dr. S. Becher in Rostock.
G. Blunck in Mirow.
Dr. Fr. Breuning in München.
F. F. Bruijning in Wageningen (Holland).
Prof. Dr. O. Cohnheim in Hamburg.
Prof. Dr. O. Drasch † in Graz.
Dr. V. Dürrfeld in Brake i. O.
Dr. G. F. Göthlin in Upsala.
L. Golodetz in Hamburg.
Dr. R. Grengg in Wien.
H. Honigmann in Breslau.
M. v. Iljinsky in Urdingen.
Prof. Dr. E. Küster in Bonn.
S. Lebedkin in Moskau.
Fritz Levy in Berlin.
Raph. Ed. Liesegang in Frankfurt a. M.
Prof. Dr. P. Mayer in Jena.
Dr. Einar Naumann in Lund.
Dr. F. W. Oelze (z. Z. im Felde).
Prof. Dr. S. v. Prowazek † in Hamburg.
Prof. Dr. H. Rabl in Graz.
Dr. B. Romeis in München.
Carl Rupp in Leipzig.
Prof. Dr. W. Scheffer in Wilmersdorf-Berlin.
Prof. Dr. P. Schiefferdecker in Bonn.

Dr. H. Schneider in Bonn.
Dr. E. Schoebel in Neapel.
A. Szent-Györgyi in Budapest.
Dr. A. v. Szüts in Budapest.
Prof. Dr. P. G. Unna in Hamburg.
G. Voss in Bonn.
Dr. G. C. van Walsem in Meerenberg (Holland).
Dr. A. Wilschke in Graz.
Prof. Dr. M. Wolff in Eberswalde.
Dr. E. Wychgram in Kiel.
Prof. Dr. O. Zoth in Graz.

Band 31. Heft 1.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter: Obermedizinalrat Prof. Nocht.]

Zur Kenntnis der Giemsafärbung vom Standpunkt der Zytologie.

Von

S. v. Prowazek.

Hierzu eine Tafel (Tab. I).

Bei der Untersuchung alter Ausstrichpräparate vom menschlichen Konjunktivaepithel, die zum Teil zum zweiten Male mit Giemsas Eosinazur gefärbt worden sind, fiel es auf, daß die Kernoberfläche Sprünge aufwies, wobei nur die oberflächliche Kugelschale in dem angeblich roten Chromatinton gefärbt war, während durch die Spalten hindurch das Kerninnere in einem rein blauen Farbenton durchschimmerte. Diese reine blaue Färbung sprach auch für die Annahme, daß nicht die gesamte Kernoberfläche die rote Tinktion angenommen hatte, da sonst die entblößten inneren Kernpartien infolge der Rotfärbung der Gegenseite einen zum mindesten violetten Schimmer hätten besitzen müssen. Die blaue Färbung deutete daraufhin, daß die dem Objektträger anklebende Gegenseite des Kernes sich nicht rotgefärbt hat, vielmehr daß die Rotfärbung nur in Form eines Niederschlages den peripheren Kernpartien in der Art einer Halbkugelschale anhaftete. Dabei möge es zunächst unentschieden bleiben, ob dieser Niederschlag im Kerninneren, in der Kernmembran oder im perinuclearen Membranraum, der beispielsweise

in dem mit Vaccine geimpften Korneaepithel deutlich sichtbar wird und den S. Averinzew[1] (1906) bei *Arcella vulgaris* im Schnitt darstellen konnte, zustande kommt. Das letztere scheint wahrscheinlicher zu sein. — Ähnliche Beobachtungen konnten bei Ausstrichpräparaten aus dem Blute Scharlachkranker an den polynukleären Leukozyten angestellt werden. Die rote Färbung fiel bei einer Alkoholdifferenzierung besonders an den beim Ausstreichen artifiziell etwas geschädigten Stellen wie Mörtel von der Kernoberfläche ab und ließ das lichtblau gefärbte Kerninnere frei. —

Diese gelegentlichen Beobachtungen waren zunächst überraschend und lehrten, daß die bekannte Rotfärbung wahrscheinlich keine eigentliche Kernfärbung allein ist, daß sich das Rot des Giemsa-Farbstoffes in Trockenausstrichen in Form einer Kugelschale außen an der freien, dem Objektträger abgekehrten Oberfläche des Kernes niederschlägt und daß das Kerninnere in vielen Fällen einen blauen Plasmaton annimmt. —

Um in der Bewertung der Färbungsresultate mit dem Giemsa-Farbstoff weiter zu kommen, war eine Analyse verschiedener Zellorganoide und Zellstrukturen hinsichtlich ihrer Rot- oder Blaufärbung notwendig. Sie mögen hier in Kürze mitgeteilt werden, zum Teil handelt es sich um für jeden Mikroskopiker bekannte Tatsachen.

Rot färben sich mit Giemsas Eosinazur:

1. Die „Oberflächen" der trocken ausgestrichenen Metazoenkerne (Spermatogonien, Epithelzellen, Muskelzellen), sowie die Kerne der Flagellaten, die oft wegen ihres roten Übergusses größer erscheinen, als dies bei Hämatoxylinfärbungen der Fall ist. Demgegenüber nehmen die Makronuclei der Infusorien einen mehr violetten Farbenton an, während sich die sogen. Chromidien der Amöben bläulich färben. Auf das eigentümliche Verhalten der Makronuclei der Infusorien und der Chromidien der *Entamoeba buccalis* bei der Giemsa-Färbung hat zuerst Löwenthal (Arch. f. Protistenkde. Bd. **13**, 1908) die Aufmerksamkeit gelenkt und unterschied auf Grund der Färbungsdifferenzen das Erythrochromatin der Geschlechtskerne von dem Cyanochromatin der Somakerne. Nicht alle Kerne der Metazoen färben sich aber rot; es gibt Zwischenstadien in der Spermatogenese der Ratte und der Maus, auf denen sich die Spermatozoenköpfe selbst bei lang andauernder und wiederholter Färbung nicht färben, trotzdem sie

[1] Averinzew, S., Beiträge zur Kenntnis der Süßwasserrhizopoden (Arch. f. Protistenkde. Bd. 8, 1906).

zweifelsohne Chromatin in irgendeiner Modifikation besitzen müssen. Erst im Laufe ihrer Ausbildung tritt die Färbung vom zentrosomalen Ende an der konvexen Seite des Spermatozoenkopfes beginnend auf.

II. Rot färbt sich im Trockenausstrich die Oberfläche der unebenen Chromosomen der Spermatogonien der Ratte, Maus und des *Makakus cynomolgus*, wobei sich zwischen ihnen noch rötliche Fädchen ausspannen. In mit Holzgeist fixierten Spermatogonien von Rock-Wallaby (*Petrogale penicillata* syn. *Macropus penicillatus*) (Felsenkänguruh) kam bei starker Differenzierung in den dann rosa gefärbten Chromosomen der oft doppelte Achsenfaden in einem violetten Farbenton zum Vorschein. Diese vermutlich flach spiralige, einseitig gelagerte, teilweise Stützstruktur des Chromosoms ist identisch mit den Strukturen, die Baranecky, Carnoy, Balbiani, Janssens, Bonnevie, Vejdowsky, Schneider u. a. m. beschrieben haben und die mit gewissen Einschränkungen mit den Achsenfäden der Cilien und Geißeln, den Spiralstrukturen der Bakterien, den Kernstäben usw. zu vergleichen sind[1]. Nach den letzten Untersuchungen von Tönniges (Arch. f. Protistenkde. Bd. **32**, H. 3, 1914) dürfte man sie weiter mit den Chromatinstäbchen der Trichochromidien, der Trichozysten der Infusorien vergleichen, die biologisch von einer analogen Beschaffenheit sind, wie die selbständigen, spiralig sich drehenden „Spindelfasern" der Mikronuclei der Infusorien, die sich z. B. bei *Glaucoma* im Ausstrich gleichfalls rot färben.

III. Eine rote Färbung nehmen die Basalkörper der Ciliaten (Saponinbehandlung), die Blepharoplaste der Flagellaten, besonders der Trypanosomen an.

IV. In einer roten Nuance erscheinen die Geißeln der Flagellaten (*Polytoma*, *Macrostoma*, *Trichomonas*), die Randfäden der undulierenden Membranen (Trypanosomen, Trichomonaden), die Cilien der Infusorien, die Cytostommembranellen derselben (*Glaucoma*), die Stützfibrillen und Achsenstäbe (Trypanosomen, Herpetomonaden, z. Th. Trichomonaden), die myophanähnlichen Strukturen des *Stentor* u. a. m.

---

[1]) Nach nicht abgeschlossenen Beobachtungen scheinen viele dieser Strukturen aus Teilungen von polar differenzierten Granulis durch eine Art von Biokristallisation hervorzugehen (vgl. Paolo della Valle, La morfologia de chromatina etc. Archivo zoologico italiano p. 6, 1912). Von einer Längsspaltung dieser Spiralstrukturen bei den Metazoen-Chromosomen konnte ich mich bis jetzt nicht überzeugen (vgl. Zur Theorie d. Cytomorphe, Zool. Anzeiger Bd. **34**, 1909, p. 707). Sicher spaltet sich der Randfaden der Trypanosomen nicht der Länge nach.

Die Schwanzfäden der Rattenspermatozoen sind im Trockenausstrich nur rötlich gefärbt. Auf einem Zwischenstadium der Spermatozoenbildung umfaßten den Schwanzfaden rot gefärbte Doppelgranulationen (Mitochondrien?) in spiraliger Anordnung.

V. Rot gefärbt ist der Periplast der Trypanosomen und Herpetomonaden sowie die durch Saponineinwirkung bloßgelegte Pellicula der Ciliaten.

VI. Eine rote Tinktion nehmen die Archoplasmen der Erythroblasten des Chamäleons sowie die Archoplasmastrahlen der „Übergangszellen" des Meerschweinchenblutes besonders nach einer Flecktyphusinfektion an.

VII. Rot erscheinen nach einer Giemsa-Färbung in den verschiedensten Zellen die heterogensten Granulationen, die zum Teil als Volutine in der letzten Zeit angesprochen werden. Es sei an die Granula in den Trypanosomenzellen, in den Pilzzellen u. a. m. erinnert. Die Fettröpfchen in der Ciliatenzelle färben sich zart rötlich.

VIII. Seit längerer Zeit ist auch die Rotfärbung der Schleimzysten der Herpetomonaden und Leptomonaden bekannt. Rot färbt sich die Schleimhülle verschiedener Schleimbakterien und der sogen. Trichomonaszysten. —

Aus dieser nicht erschöpfenden Liste geht bereits hervor, daß sich mit Giemsas Eosinazur die heterogensten Strukturen in der Zelle rot färben und daß die Rotfärbung jetzt nicht mehr als eine reine Chromatinfärbung aufgefaßt werden darf, zumal durch neuere Untersuchungen und Versuche die Unabhängigkeit des Kernes[1] von einem Teil der Strukturen (Periplaste, Pellicnlae, Membranen) nahezu nachgewiesen worden ist. Allerdings muß hervorgehoben werden, daß die Rotnuancen der verschiedenen Strukturen nicht immer in ihrer Intensität gleichwertig sind, es muß aber gleichzeitg auch erwogen werden, daß selbst der Chromatingehalt in den Samenzellen erheblich wechselt und diese sich im Laufe ihrer Entwicklung verschiedenartig färben. Aus meinen bisherigen Färbeversuchen geht hervor, daß das Rot des Eosinazurs sich nach Art des Eisenhämatoxylins additiv vielfach an den Grenzflächen verschiedener Zellstrukturen, die in ihrer chemischen Natur sicherlich nicht einheitlich sind, nieder-

[1]) Irregeleitet durch die Färbung führte ich früher den Periplast der Trypanosomen u. a. m. auf den Kern zurück, vgl. hierzu Prowazek. Studien zur Biologie der Protozoen VI. (Arch. f. Protistenkde. Bd. 30, 1913).

schlägt. Die Grenzflächen (Periplaste, Randfäden, Kernmembranschichten usw.) färben sich sowohl vielfach supravital, sobald der Farbstoff in der gebräuchlichen Lösung (ein Tropfen auf 1 cc Wasser) unter später zu erwähnenden Maßregeln hinzugesetzt wird, als auch in Objekten, die mit Sublimat, Methylalkohol, Azeton oder Ätheralkohol fixiert oder nur einfach lufttrocken gemacht worden sind.

Die Rotfärbung scheint ein Grenzflächenphänomen besonderer Art, aber nicht ein Oberflächenphänomen überhaupt zu sein, da ich bis jetzt die Oberflächen der Vacuolen, Nahrungsvacuolen, Chlorophyllkörper u. a. m. nicht rot färben konnte. Als eine derartig spezifische Grenzflächenfärbung leistet der Eosinazurfarbstoff, zumal er nicht wie das analoge Eisenhämatoxylin einer regressiven Differenzierung bedarf, der Zytologie große Dienste, die leider wegen verschiedener, rein technischer Schwierigkeiten bis jetzt in dem gebührenden Maße nicht gewürdigt worden sind.

* * *

Wie über das Wesen der Färbung überhaupt sind wir über den letzten Grund der Eosinazurfärbung bis jetzt im unklaren. Nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse spielen, neben chemischen Vorgängen, sicherlich auch Momente physikalischer Natur bei dieser Färbung eine Rolle. Die Rotfärbung kann aber nicht die Folge rein chemischer Prozesse allein sein, denn sie erfaßt die heterogensten Gebilde der Zelle: Kerne, Zentralapparate, Granulationen der Polynuklearen, Volutine, Geißeln, Membranen und Schleimhüllen, ja rot färben sich einzelne granuläre Ausfüllungsprodukte der Exsudate und der Bouillonkulturen. Nach Lipschütz (Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. **23**, No. 13, 1910) färben sich im Blaseninhalt der verschiedensten bulbösen Dermatosen: Pemphigus, Dermatitis herpetiformis Duhring, Herpes zoster, Erythema bullosum usw. die sogen. Zystokonien nach Giemsa in einem rotvioletten bis dunkelblauen Farbenton. —

Aus der Reihe der verschiedenen Theorien, die das Zustandekommen der typischen Eosinazurfärbung zum Gegenstand haben, mögen nur folgende hier hervorgehoben werden:

L. Michaelis schreibt in der „Einführung in die Farbstoffchemie für Histologen“ (Berlin 1902): „Möglicherweise geht die Färbung in der Weise vonstatten, daß sich zunächst alles mit dem blauen Methylenazur färbt und das Chromatin dann nachträglich das Eosin noch außerdem aufnimmt. Das Methylenazur wäre also nach dieser

Auffassung eine Beize für das Eosin." Nach Michaelis dringt das Eosin nicht gleichzeitig mit dem Methylenazur in chemischer Bindung in den Kern ein, sondern erst nach ihm. „Ziemann hat diese Reaktion als charakteristisches Reagens für Chromatinsubstanz hingestellt. Ich möchte aber ausdrücklich davor warnen, die Reaktion in diesem Sinne zu benutzen."

Der letzten Zeit gehören folgende zwei Angaben an. Giemsa setzt auf p. 25 des „Handbuches der pathogenen Protozoen" (J. A. Barth. Leipzig 1912) über die Färbung mit dem nach ihm benannten Farbstoff folgendes auseinander:

„Michaelis läßt es im Zweifel, ob die Rotreaktion der Kerne auf einer bloßen Metachromasie des Methylenazurs beruht, zu deren Entstehung die Gegenwart des Eosins nur Anlaß gibt, oder ob beide Farbstoffe, das Eosin und das Azur, bei der Färbung aktiv beteiligt sind. Nach eigener Erfahrung ist letzteres, wie durch Sukzessivfärbung festgestellt wurde, sicher der Fall, und zwar müssen wir die Färbung zum Teil als Beizenfärbung (siehe auch Michaelis) betrachten, denn es läßt sich experimentell leicht nachweisen, daß sowohl die Chromatinsubstanz wie die anderen Zellelemente aus wässerigen Lösungen des — in Dissoziation befindlichen — Azureosins zuerst immer nur diejenige Farbkomponente aufnehmen, zu der sie ursprüngliche natürliche Affinität besitzen. Erst im Laufe längerer Färbedauer addieren die azurgefärbten Elemente zum Teil noch Eosin und die eosinroten Azur, wobei aber — vorausgesetzt, daß man mit völlig neutraler Farbflotte operiert — die Präokkupationsfarbe chromatisch fast immer überwiegt. Das Azur scheint somit eine Beize für das Eosin zu bilden und umgekehrt."

Bechhold („Die Kolloide in Biologie und Medizin", Steinkopf Dresden, 1912) nimmt an, daß eine kolloide Lösung von eosinsaurem Methylenazur entsteht: „Die Kernfärbung kann nur in der Weise erfolgen, daß das basische Methylenazur als Beize für das Eosin wirkt; es ist aber auch möglich, daß sich die Kerne mit dem kolloiden eosinsauren Methylenazur besser färben als mit dem kristalloiden Methylenazur und daß in einer zeitlich verlaufenden Reaktion (vielleicht hydrolytische Spaltung) die rote Farbbase des Methylenazurs frei wird." Die erstere Annahme scheint mehr Wahrscheinlichkeit für sich zu besitzen. —

Die Farbflotte stellt zunächst eine Mischung der beiden Farbstoffe dar und man kann sie bei frischen Lösungen (ein Tropfen Giemsa-Farbstoff auf 1 cc Aqua dest.) durch die Methode der Ultra-

filtration, der Absorption und der Reduktion voneinander trennen.

1. Ultrafiltration. Bevor die eigentlichen Versuche mit den sogen. Ultrafiltern vorgenommen worden sind, wurden Filtrationsversuche mit der üblichen Giemsa-Lösung (ein Tropfen Stammlösung Grübler auf 1 cc Aqua dest.), durch Barytfiltrierpapier und durch ein Pukalfilter ausgeführt. Durch gehärtete Barytfilter geht die Lösung in einem etwas lichteren, violetten Farbenton, der Trypanosomenpräparate noch färbt, hindurch. Auch durch Pukalfilter geht die Lösung noch hindurch, mit dem Filtrat sind aber keine typischen Kernfärbungen mehr erzielt worden.

Hierauf wurde die Oberfläche des Pukalfilters, nach einer früher bereits beschriebenen Methode[1] mit 3 Prozent Agar überzogen. Überschichtete man erstarrten 3prozentigen Agar mit der Giemsa-Lösung, so drang die blaue Farbe stufenweise abblassend nach 24 Stunden bei 18° C den etwa 1·5 mm hohen Meniskus abgerechnet 4 mm in die Tiefe der Agarschichte ein. Azur II (0·5 g auf 200 Methylalkohol: ein Tropfen auf 1 cc Aqua dest.) filtrierte durch ein derartiges 3prozentiges Agarfilter nach 4 Stunden 30′ zuerst als vollkommene klare Flüssigkeit hindurch, die sich erst in der Folgezeit leicht bläulich verfärbte — am nächsten Tage war eine blaue Lösung hindurchgegangen. Anders verhielt es sich mit der Giemsa-Lösung — in diesem Falle filtrierte von Beginn des Versuches an das reine, in der Lösung also freie Eosin hindurch und auch am folgenden Tage war in dem Filtrat nur das Eosin nachweisbar, während in dem ursprünglichen Gefäß der restliche Giemsa-Farbstoff in der Form einer violettblauen Schmiere enthalten war. Den Tag vorher färbte dieser violette Farbstoff die Blutkörperchen im Eosinton an, das Protoplasma der Trypanosomen und Lymphozyten wurde blau, dagegen färbte sich der Kern der Trypanosomen (*Fr. Bruci, paddae*) gar nicht, der Kern der Vogelblutkörperchen und Leukozyten kaum rot, während der Blepharoplast der Trypanosomen noch eine rote Tinktion besaß, ein Beweis, daß sich dieses Zellorganell färberisch anders verhält als der eigentliche Kern.

Von einigen Autoren wird die Dialyse als eine Ultra-

[1]) Giemsa, G., u. Prowazek, S., Zur Filtration des Hühnerpestvirus (Münch. med. Wochenschr. Nr. 29, 1908). Für die Ultrafiltration scheinen sich nicht alle Agarsorten gleichmäßig zu eignen; es kommt vor, daß manche Sorte in 3prozentiger Konzentration sehr langsam filtriert. In diesem Falle empfiehlt es sich $1^1/_2$ bis 2 Prozent Agar zu nehmen.

filtration bei Druck 0 angesehen, anderseits unterscheiden andere Forscher die Vorgänge der Dialyse und der Filtration voneinander. So hat Levy (zit. nach Bechhold, Gallertfiltration, Zeitschr. f. Chemie und Industrie der Kolloide Jahrg. **2**, p. 39, 1907) verschiedene Enzyme durch Kollodiumsäckchen filtriert sowie dialysiert und konnte dabei Differenzen feststellen: „Es wäre jedoch vollkommen irrtümlich, wenn man den Wert der Filtrationsmethode an der Dialysiermethode bemessen oder mit ihr vergleichen wollte."

Im Gegensatz zu der Ultrafiltration (Pukalfilter + 3 Prozent Agarschicht) dialysierte die Giemsa-Lösung durch Schleicher und Schüllsche Dialyseschläuche nur in einer schwachvioletten Nuance, die selbst nach 24 Stunden die eingeführten Präparate nicht anfärbte — in der Dialysierhülse blieb eine dunkelblaue Flüssigkeit, der obere Teil der Hülse war infolge der Eosinabsorption rot gefärbt. —

II. Durch Absorption mit Kaolin kann man das Eosin von dem Azur der Lösung trennen. 1 g Kaolin wurden 5 cc der Lösung (ein Tropfen auf 1 cc Wasser) zugesetzt und dann geschüttelt — das Kaolinsediment verfärbte sich lila, über der Masse stand die fluoreszierende Eosinlösung. Diese Trennung gelang mit der oben angeführten Lösung deutlich noch bei einer Verdünnung von 1 : 1000; bei 1 : 10000 waren die Unterschiede kaum sichtbar (vgl. Aluminiumhydroxyd).

III. Da das Azur ebenso wie das Methylenblau zu den leicht reduzierbaren, dann „farblosen" Farbstoffen gehört, kann man durch Schütteln mit Zinnstaub das Azur unsichtbar machen, worauf nach Absetzen des Zinnstaubes das Eosin zum Vorschein kommt. Das Gelingen der Prozedur ist von der Art des Schüttelns sehr abhängig — schüttelt man lange und stark, so mißlingt die Trennung, das Eosin scheint irgendwie absorbiert oder als Eosinazur gefällt zu werden. Auch darf der Zinnstaub nicht im Überschuß vorhanden sein. Die Trennung wurde sowohl in frisch hergestellten Lösungen als auch in Lösungen, die bereits $1^1/_2$ Stunde alt waren und einen Niederschlag enthielten, allerdings mit gewissen Unterschieden reproduziert. Einige Male — wenn auch nicht immer — konnte ich sekundär mit derart entfärbten Lösungen Trypanosomenausstriche, die langsam in den die Lösung enthaltenden, weiten Meßzylinder eingesenkt worden sind, in der üblichen Weise färben, wobei an der Schichtseite des Präparates sich zuerst der Farbstoff wiederum blaute.

Aus den bisherigen Untersuchungen geht hervor, daß die Farbstoffe in der Lösung zuerst im Zustande einer Mischung vorhanden

sind, daß im allgemeinen zuerst das kristalloide Azur chemisch wohl verschiedenartige Strukturen und Grenzflächen in der Zelle nach Art des Eisenalauns bei der Eisenhämatoxylinfärbung vorbeizt[1] und daß sich sekundär hier ein Niederschlag des kolloiden Eosinazurs bildet, der vielfach die erwähnten Strukturen dicker erscheinen läßt. Es macht den Eindruck als ob das kolloide Eosinazur an gewissen Oberflächen abfiltriert worden wäre (vgl. Ultrafiltration).

Von dieser Regel findet man allerdings auch Ausnahmen. Bei einer vitalen bzw. supravitalen Färbung tingiert sich der Kern der Ciliaten *Glaucoma* und *Chilodon* zuerst bläulich, dann blau, später erscheint er violettrot und dicker, dagegen färbt sich die Hülle der *Polytoma* zuerst rot, der Raum zwischen Hülle und Protoplast erscheint ebenso wie zum Teil die periphere Plasmaschicht eosinrot, erst später werden im Inneren violettrote Granula und teilweise auch der Kern sichtbar.

Im Anschluß an die wichtigen Untersuchungen von Liesegang, vor allen von Küster könnte man bei diesen Färbevorgängen auch an rhythmisch verlaufende Niederschlagsprozesse an den Grenzflächen — Pellicula, Kernoberfläche — denken, doch färben sich die zuerst betroffenen Pelliculae zart, während die Kerne in verschiedenen Nuancen die Additionsfarbe elektiv speichern. Bei einer supravitalen Färbung einer *Colpidium*-Kultur schlug sich allerdings der Farbstoff nach einiger Zeit dick rot an der Zelloberfläche nieder, wobei eigenartige helle Lücken ausgespart blieben, — sobald durch Verschiebungen des Deckglases dieser rote Ringwall durchbrochen worden ist, färbte sich der Kern dunkelbläulich. Einzelne Nahrungsvakuolen erschienen infolge der Metachromasie ebenso wie die Geißeln rötlich.

* * *

Mit Sicherheit scheint aus allen bisherigen Versuchen hervorzugehen, daß meistens, und zwar besonders in Fällen der sogen. Kernfärbung zuerst das Azur die färbbaren Orte vorbeizt — färbt man zuerst mit Eosin und dann erst mit Azur II (1 Prozent), so gelingt die typische Färbung nicht. Nun wird von einigen Autoren wie von Lee-Mayer (Grundzüge der mikroskopischen Technik 4. Aufl., 1910, p. 204) angenommen, daß das Eosin nicht etwa als Farbstoff,

[1]) Vgl. L. Michaelis, Giemsa, Bechhold.

sondern als chemischer Körper, der durch Resorcin, Hydrochinon u. a. m. ersetzt werden kann, wirkt. Nach Nocht (Giemsa, G., Färbemethoden für Malariaparasiten [Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **62**, 1912]) genügt es, die eine Komponente des Fluoreszins durch Resorzin, Brenzkatechin und Hydrochinon zu ersetzen. — Das Azur II (1 Prozent) färbt allein bereits die Kerne in vielen Fällen nach längerer Färbedauer metachromatisch rot an, besonders die sogen. Volutingranula treten in manchen Trypanosomen sehr deutlich hervor und scheinen in einigen Fällen hohl zu sein. Neumann faßte die sogen. Kernfärbung teilweise als eine Metachromasie des Chromatins auf. Substanzen wie Pikrinsäure und Kaliumbichromat (ein Prozent), die mit ein Prozent Azur II einen rötlichbraunen Niederschlag liefern, haben nach einer intensiven Vorfärbung mit Azur II im Trypanosomenausstrich eine Rotfärbung der Trypanosomenkerne vor allem der Polynukleären zur Folge. Pikrinsäure 1 : 100 metachromosiert auf diese Weise die Kerne sehr deutlich und ruft im Verhältnis zu den grüngelb gefärbten Blutkörperchen sehr schöne Farbenkontraste hervor. Durch Kaliumbichromat wird der vorher blau gefärbte Ausstrich bereits makroskopisch rötlich verfärbt. Ähnliche Rotfärbungen werden durch Resorzin und nach Neumann[1] durch 0·1promillige Gallussäure, erzeugt. Negativ fielen die Versuche mit Kaliumpermanganat, Kupfersulfat, Zitronensäure, Bests Differenzierungsmittel, Alaun u. a. m. aus.

Die auf diese Weise erzielten Rotfärbungen sind aber auf keine Weise mit der typischen Giemsa-Färbung zu vergleichen und es scheint, daß die mit Azur II imprägnierten Substanzen unter dem Einfluß der angeführten, teilweise sauren Körper nur metachromatisiert werden.

Die typische Giemsa-Rotfärbung ist mit dieser Metachromasiefärbung nicht identisch.

* * *

Zum Schluß soll hier noch über Versuche, die die physikalische Seite des Färbeprozesses mit Eosin-Azur zum Gegenstand hatten, berichtet werden. Es folgen zunächst die Versuche, die sich auf die Änderung der Oberflächenspannung, die Absorption und Kataphorese bezogen haben:

[1]) Neumann, Zum Wesen der Romanowsky-Nochtschen Färbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **43**. 1907, H. 7).

I. Oberflächenspannung. Die Oberflächenspannung der Farbstofflösungen ist von Freundlich und W. Neumann (Koll. Zeitschr. Bd. **3**, 1908), sowie von Traube, Über Oberflächenspannung und Flockung kolloider Systeme (Kolloidchem. Beihefte Bd. **3**, 1912 mit dem Stalagmometer gemessen worden.

Traube stellt für Eosin 1 Prozent 50·4 Tropfen, 0·5 Prozent 50·3 Tropfen fest.

„Wir dürfen wegen der Umsetzungen nicht etwa aus der Oberflächenspannung einer Farbstofflösung auf deren Farbwirkung schließen: trotzdem besteht hier bei Berücksichtigung von Gibbs-Thompsons Prinzip eine Beziehung. —"

„Bemerkt sei hier nur, daß die Oberflächenspannung einer Farbstofflösung sich mit der Zeit etwas ändert. Auch ist es nicht gleichgültig, ob man beim Verdünnen etwa einer Nilblaulösung das Wasser auf einmal oder in verschiedenen Portionen hinzufügt" (Danyszsches Phänomen) Traube.

Die Oberflächenspannung der in der Färbetechnik üblichen Giemsa-Lösung (ein Tropfen der Grübler'schen Lösung auf 1 cc Aqua dest.) wurde mit dem Traube'schen Stalagmometer, und zwar wiederholt gemessen:

a) 23. September 1913. 19° C.

11h 16′	Tropfenzahl	56·4
11h 28′	„	56·3
11h 34′	„	56·2 Niederschl.
11h 42′	„	57·1
1h 40′	„	59
3h 40′	„	59
4h 09′	„	59·1
4h 20′	„	59

24. September.

2h 13′	Tropfenzahl	59·1
2h 29′	„	59

b) 10. Oktober 1913. 20° C.

2h 51′	Tropfenzahl	56·7
2h 57′	„	57·1
3h 21′	„	57·1
4h 41′	„	57

c) 11. Oktober 1913. 21·5° C.

1h 58′	Tropfenzahl	59
2h 10′	„	60·1 Niederschl.
2h 15′	Tropfenzahl	59·8
2h 46′	„	58·6

d) 11. Oktober, andere frische Giemsa-Farbe.

3h 55′		
3h 56′	Tropfenzahl	57·5
4h	„	58·5
4h 29′	„	60·2

e) 3. März 1914. 20° C.

3h 13′		
3h 14′	Tropfenzahl	56
3h 37′	„	55·5
4h	„	55·7
4h 19′	„	56
4h 41′	„	56

4. März.

2h 13′	Tropfenzahl	57·8

f) 4. März 1914. 20° C.

2h 25′		
2h 27′	Tropfenzahl	57·8

2h 33′	Tropfenzahl	56·7	
3h 27′	„	62·5	
3h 35′	„	64	
4h	„	56·4	
	5. März.		
1h 30′	Tropfenzahl	59·2	

g) 5. März 1914. 22° C.

1h 44′		
1h 45′	Tropfenzahl	57·2
2h	„	56·8
3h 7′	„	56·8
4h	„	56·8
5. März	„	59.

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß die Oberflächenspannung bei den verschiedenen Lösungen (ein Tropfen Giemsa-Lösung auf 1 cc Wasser) nicht unerheblichen Schwankungen unterworfen ist. Eine Minute nach der Herstellung der Lösung betrug die Tropfenzahl 56·4, 56·7, 59, 57·5, 56, usw. Die Tropfenzahl unterliegt einige Zeit nach der Herstellung gewissen Schwankungen, die sich zuweilen in der Abnahme der Tropfenzahlen äußern; im allgemeinen nimmt mit der Niederschlagsbildung besonders nach 24 Stunden die Tropfenzahl wieder zu. (Ausnahme Fall c.)

II. Absorptionsversuche[1] sind mit Tierkohle, Kaolin, Weizenstärke, Zinnstaub, Gummi, Kieselgur und Schwefelblüte angestellt worden, und zwar wurde 1 g Substanz + 5 cc Giemsa-Lösung (ein Tropfen Stammlösung auf 1 cc Wasser) verwendet.

Tierkohle + Giemsa-Lösung konz.	nicht sichtbar absorbiert
„ + Farblösung (s. oben)	ganz „
„ + Azur II 1 : 100	etwa ½ „
„ + „ 1 : 1000	ganz „
„ + Methylenblau 1 : 100	nicht sichtbar „
„ + „ 1 : 1000	ganz „
„ + Eosin 1 : 100	nicht sichtbar „
„ + „ 1 : 1000	ganz „
Kaolin + Farblösung (s. oben)	Kaolinschicht lila, oben freies Eosin
Weizenstärke + Farblösung	Lösung lichtblau, oben persistenter Schaum
Schwefelblüte + „	„ „
Kieselgur + „	undeutliche Absorption (bzw. Adsorption)
Gummi + „	keine „

Der lila gefärbte Kaolinniederschlag hält das Methylenazur fest — setzt man zu ihm Methylenalkohol hinzu, so wird selbst nach 24 Stunden nur etwas violett verfärbte Eosinfarbe extrahiert, die im Trypanosomen-

[1]) Bei Zinnstaub und Kieselgur u. a. handelt es sich wahrscheinlich nur um Adsorption (vgl. Zsigmondy, Kolloidchemie p. 25).

ausstrich die Kerne nicht mehr färbt. Läßt man das Pulver trocknen, so ist die Hauptmasse desselben lila verfärbt, nur oben liegt eine zarte eosinfarbene Schicht auf.

Von den angeführten Substanzen zeichnet sich Tierkohle durch die stärkste Absorptionskraft gegenüber dem Eosinazur aus. —

Von Interesse ist die Aufnahme des Farbstoffes durch 20prozentige Gelatine (Ruhland). Ein Tropfen der Farblösung mit einer umgebogenen Normalöse (3 mm) auf die Gelatineoberfläche gebracht, verfärbt nach einer Stunde die Gelatineumgebung bläulich: nach 24h haftet an der Gelatineoberfläche in den Dimensionen des Tropfens ein roter, körniger Azureosinfleck an, während die Tiefe des Gels blau verfärbt ist. Mischt man die 20prozentige Gelatine mit Lezithin, so dringt der Farbstoff infolge seiner Avidität zu dem Lipoid so stark in die Tiefe, daß er nach 24 Stunden in dem „Dispersionsmittel" infolge seiner Distribution unsichtbar wird. —

H. J. Perrin hat auf die Wichtigkeit der Erscheinungen der Berührungselektrizität bei den Färbevorgängen hingewiesen; L. Pelet-Jolivet hat die gewiesenen Pfade weiterverfolgt und nahm sogar mit Unrecht an, daß bei der Giemsa-Färbung der Kern als eiweißartige Substanz im kolloiden Zustand mit positiver Ladung versehen ist und „das Eosin (!) fixiert, während die ebenfalls kolloide Protoplasmamasse als negativ geladen aufzufassen ist" (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Kolloide Bd. 2, 1908, p. 217; vgl. Giemsa, Handbuch d. path. Protozoen).

Bei unseren Versuchen bedienten wir uns des für Kataphoreseuntersuchungen empfohlenen Überführungsapparates von Pauli-Landsteiner; bei 110 Volt und einer Temperatur von 24° C wanderte die Giemsa-Lösung innerhalb von 6h in der Weise, daß die — Seite eine blaue Farbe aufwies, während der + Pol sich durch eine rotviolette Färbung auszeichnete; im unteren Schenkel des Apparates tauchten nach einiger Zeit auf dieser Seite stärkere Präzipitate auf. —

Nach verschiedenen neueren Untersuchungen spielt bei dem sogen. kapillaren Aufstieg, den besonders Goppelsröder zum Gegenstand seiner grundlegenden Studien gemacht hatte, die Berührungselektrisierung gleichfalls eine Rolle. Goppelsröder bediente sich Filtrierpapierstreifen, in denen er die zu untersuchende Flüssigkeit kapillar aufsteigen ließ. Wir ließen nach Ruhland auf eine stets gleiche Marke weißen Filtrierpapiers gleiche Tropfen der Farblösung auftropfen und setzten aus Mittelmaßen zahlreicher Messungen den

Durchmesser der blauen Scheibe in ein Verhältnis zu dem äußeren hellen, nur sehr zartrosa verfärbten Wasserkreis. Auf diese Weise erhielten wir den Kapillarquotienten

$$Q = \frac{Db}{Dw} = \frac{9{\cdot}55}{23{\cdot}8} = 0{\cdot}4012.$$

Die blaue Scheibe ist noch von einem abgetönten Hof umgeben, der gegen das Zentrum zu dunkler verfärbt ist. Je nach dem Alter der Lösung wurde zu verschiedenen Zeiten das Verhältnis dieses blauen Hofes gegen das blaue Zentrum gemessen, die Rechnung ergab aber bei Berücksichtigung aller Fehler keine wesentlich differierenden Resultate.

Nach Ruhland[1] werden alle Farbstoffe mit einem kleineren Kapillarquotienten als 0·7 vital nicht aufgenommen; von dieser Regel existiert nur eine Ausnahme: der saure Farbstoff Chromgrün besitzt für $Q = 0{\cdot}45$ und färbt trotzdem vital.

Nun kann man viele pflanzliche (Algen, *Oedogonium*) und tierische Zellen durch Zusatz der gewöhnlichen Giemsa-Lösung (ein Tropfen auf 1 cc) paravital anfärben, sofern man nur für Zutritt des Sauerstoffes sorgt.

Der niedrige Kapillarquotient scheint gegen eine Paravitalfärbung des Giemsa-Farbstoffes nicht zu sprechen, da dieser Farbstoff eigentlich eine Mischung von zwei Farbstoffen ist, die durch Fällungen einer weitgehenden Kapillarausbreitung entgegenarbeitet. Azur II allein besitzt in einer Verdünnung von 1 : 1000 einen Kapillarquotienten von etwa 0·73 (1 : 10·000 = 0·4—5). Mit Giemsas Eosinazur färben sich in Paramäcien paravital Entoplasmakörnchen und polar gröbere Granula (besonders bei stärkerem Zusatz).

Beim Zerfließen der Infusorien treten in dem Schleim der Nahrungsvakuolen rot gefärbte Pseudospirochäten und Trichitenstrukturen auf, die mit den bekannten Strukturen der Kurloffkörper (Azurfärbung) eine gewisse Ähnlichkeit besitzen. Später erfolgt ziemlich rasch eine Cavulation des Protoplasmas, indem sich in diesem undeutliche Globuliten rasch in Hohlkörper umwandeln — der Kern färbt sich dann oft leicht violett.

Bei den Trypanosomen färbt sich zuerst in dem geblähten Kern das Karyosom und dann der Blepharoplast blau; sobald die Try-

[1] Ruhland, W., Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut (Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 51, 1912).

panosomen abgestorben sind, nimmt der Kern sowie der Randfaden der undulierenden Membran die typische Rotfärbung an. In Azur II färben sich die Trypanosomen nur blau. — Interessanterweise waren die Trypanosomen, die sich teilten, in dem Giemsa-Farbstoff länger beweglich, als die gewöhnlichen Parasiten, eine Erscheinung, die für eine Änderung der osmotischen und kolloidalen Verhältnisse des Protoplasmas während der Teilung sprechen würde (vgl. Lehre von den Partialfunktionen der Zelle von Ehrlich).

Schließlich sei noch erwähnt, daß der Giemsa-Farbstoff in nicht ionisierenden Flüssigkeiten wie Benzol, Äther und Chloroform, sowie ferner in Glyzerin, Methylalkohol, Sublimat nach Mayer, sowie Aceton keine Färbungen liefert — in einer 3prozentigen Kochsalzlösung färben sich in dem üblichen Ausstrichpräparat die Blutkörperchen und das Protoplasma, dagegen kann man auf diese Weise keine typische Kernfärbung erzielen. Saure Lösungen verhindern durch eine frühzeitige Ausfällung des Eosinazurs sowie wahrscheinlich durch eine Behinderung des Eindringens des Methylenazurs (vgl. Alkaloide und Säuren) vermutlich die typische Färbung.

Aus den vorliegenden Untersuchungen und Betrachtungen geht zunächst hervor, daß Eosinazur kein eigentlicher Kernfarbstoff ist, vielmehr ist er eine Mischung von zwei Farbstoffen, wobei das Azur zuerst gewisse Strukturen vorbeizt, worauf an diesen Stellen als eine Grenzflächenfärbung besonderer Art die typische Eosinazurfärbung zustande kommt. Prozesse einer Art von Ultrafiltration des in Form einer Suspension entstehenden kolloiden Eosinazurs, das das Ultrafilter nicht passiert und in Gallerten (Gelatine) nicht eindringt, scheinen an den fraglichen Grenzflächen eine besondere Rolle zu spielen (vgl. Arzneimittelwirkung)[1]. Azur allein nimmt zwar unter Einfluß von Hydrochinon, Resorzin (Nocht) sowie Pikrinsäure, Kaliumbichromat u. a. einen rötlichen Farbton an, dieser ist aber auf eine Art von Metachromasie zurückzuführen und mit den Tinktionen des Eosinazurs in keiner Weise zu vergleichen.

Die Oberflächenspannung der Farblösung ändert sich im Laufe der Zeit. Von der Tierkohle wird der Farbstoff vollständig absorbiert (adsorbiert). Nach den Untersuchungen von R. Kraus, v. Eisler

---

[1]) Versuche mit Tabaschir und Hydrophan würden sich empfehlen; wahrscheinlich dringen auch die unbeweglichen, filtrierbaren Virusarten unter Einfluß gewisser biologischer „Leitstoffe“ in die Grenzflächen der Zellen ein.

und Fukuhara (Zeitschr. f. Immunitätsforschung und experimentelle Therapie Bd. 1, 1909, H. 2), adsorbiert Tierkohle auch verschiedene sogen. ultravisible Virusarten und kann in einem gewissen Sinne die Filtration durch Bakterienfilter ersetzen. Das sauere Adsorbens Kaolin trennt den Farbstoff in dem Sinne, daß das saure Eosin in der oberen Flüssigkeit verbleibt. Versuche mit einem Adsorbens mit Basencharakter (Aluminiumhydroxyd) ergaben eine Trennung im umgekehrten Sinne. Das Verhalten des Farbstoffes im elektrischen Strom, in nicht ionisierenden Flüssigkeiten sowie sein ungefährer Kapillarquotient sind festgestellt worden. Trotz dessen niedriger Zahl eignet sich der Farbstoff für eine paravitale Färbung — auch hier dringt im allgemeinen, wenn auch nicht in allen Fällen zuerst das kristalloide Methylenazur vor und erst später schlägt sich an den Oberflächen das kolloide Eosinazur als Suspensionskolloid nieder.

Tafelerklärung (Tab. I).

Fig. 1. Alter Konjunktivaabstrich (Mensch) mit oberflächlicher Kernfärbung (Vergr. 1000).

Fig. 2. Leukozyten aus Scharlachblut, differenziert. Stellenweise ist die oberflächliche Rotfärbung „abgefallen".

Fig. 3 (Eisenhämatoxylin), Fig. 4 u. 5 (Giemsa-Färbung stark differenziert, Schnitt). Spiralstrukturen an den Chromosomen aus den Känguruhspermatogonien (Vergr. 1400).

Hamburg, Ende März 1914.

[Eingegangen am 6. April 1914.]

H. Sikora. del.

S. v. Prowazek

Verlag von S. Hirzel, Leipzig

Sinsel & Co., G. m. b. H.
Leipzig-Oetzsch

[Budapest, Ungarisches Nationalmuseum.]

Eine neue Hämatoxylinlösung.

Von

Dr. Andreas von Szüts.

Das Mallorysche Phosphormolybdän- oder Phosphorwolframhämatoxylin hat mich in der Untersuchung des Nervengewebes zu schönen Resultaten geführt. Es ist bekannt, daß diese Farblösung in den Bildern der Nervenelemente eine sehr schöne metachromatische Färbung erzeugt, indem die Gliafibrillen blau, die Nervenfasern und Achsenfortsätze der Ganglienzellen rosa gefärbt werden. Der einzige Nachteil dieser vorzüglichen Farblösung sind ihre hohen Kosten.

Nach mehreren Versuchen ist es mir gelungen, die teuren Bestandteile mit dem billigen Ammoniummolybdat zu ersetzen und mit diesem Ammoniummolybdathämatoxylin in der Färbung des Nervengewebes ähnlich schöne Resultate zu erreichen, welche mit der Mallorysche Färbung erzeugt werden.

Die Zusammensetzung der neuen Farblösung ist die folgende:

Einprozentige wässerige Hämatoxylinlösung .	100 cc
10prozentige Ammoniummolybdatlösung . . .	25 „

Die Lösung ist nach dem Zusammengießen der zwei Bestandteile sofort zur Anwendung bereit. Gießt man nur die ersten paar Tropfen der Ammoniummolybdatlösung in die Hämatoxylinlösung hinein, so nimmt die Lösung sofort eine tiefblauviolette Färbung an. Mit dieser Lösung werden die Schnitte sehr schnell, binnen 1 bis 2 Minuten gefärbt. Verdünnt kann man sie auch verwenden, sogar in einer 20fachen Verdünnung, die Färbung bedarf jedoch in diesem Falle 10 Minuten. Jede beliebige Fixierung ist zur Färbung mit Ammoniummolybdathämatoxylin geeignet, ausgenommen die osmiumhaltigen Flüssigkeiten. Für das Zentralnervensystem von Wirbeltieren (Eidechsen, Vögeln) ist eine Fixierung mit Formalalkohol oder Formol besonders geeignet. Das Ammoniummolybdathämatoxylin ist jedoch nur an Schnitten und nicht zur Stückfärbung verwendbar. Ich habe die Stückfärbung an dünnen Scheiben eines Hasengehirns, mit Kalium-

bichromat-Formol fixiert, versucht, die Farblösung ist jedoch kaum unter die Oberfläche eingedrungen.

Ich kann als eine vorteilhafte Eigenschaft der Farblösung hervorheben, daß sie das Celloïdin der Schnitte durchaus nicht färbt, während ich bei anderen Hämatoxylin- oder Hämateïnlösungen, besonders bei dem Glyzerinhämalaun von Rawitz das Entgegengesetzte erfahren habe.

Die Schnitte werden nach der Färbung in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann in schwach alkalischem Leitungswasser gebläut, zu welcher Prozedur 5 Minuten in den meisten Fällen genügend sind. Die Gewebe von verschiedener Struktur werden jedoch durch die Wirkung des Wassers verschiedenartig gebläut, und als Erfolg bekommt man von den verschiedenen Geweben ein metachromatisch gefärbtes Bild. Die bläuende Wirkung des alkalischen Wassers kommt an den Geweben von verschiedener Konsistenz nicht in derselben Weise zur Geltung, während gewisse Gewebe schon blau werden, bleiben noch andere violett oder rötlich.

Die Gewebe von einer feineren faserigen Struktur, wie z. B. die Muskeln, Nerven, Bindegewebe, werden schneller blau. Die homogenen, massigen Gewebe dagegen, wie z. B. die Grundsubstanz des Knorpels und des Knochens, halten die rötliche, violette Färbung länger zurück.

[Eingegangen am 3. März 1914.]

[Zoologisches Laboratorium der Kgl. Forstakademie in Eberswalde Moltkestraße 19.]

Über eine neue Wasserstrahlluftpumpe und das Fixieren und Einbetten mikroskopischer Objekte im Vakuum.

Von

Dr. Max Wolff

in Eberswalde.

Hierzu eine Textabbildung.

Die Firma Erich Koellner in Jena hat vor kurzem eine neue Wasserstrahlluftpumpe herausgebracht, bei der im Gegensatz zu den heute allgemein üblichen ein Wasserstrudel als wirkendes Prinzip zur Anwendung gelangt, der aus dem zu evakuierenden Gefäß die Luft in Form eines Strahles mit sich reißt. Umstehende Abbildung läßt die Konstruktion der Pumpe ohne weiteres verständlich werden. Das bei *w* eintretende Wasser muß die aus den Röhren *c* und *d* gebildete ringförmige Spalte passieren und bildet dabei über dem schwachtrichterförmigen Ansatz von *d* einen Strudel, durch den die Luft über *c* intensiv hineingesaugt wird. Ein sehr exakt gearbeitetes, gläsernes Rückschlagventil verhindert den Austritt des Wassers in das Vakuum.

Die Pumpe wird noch in einem zweiten Modell, mit Dreiweghahn, ausgeführt, der natürlich über dem Kugelstück der Vakuumleitung sitzt und es ermöglicht, mit beliebigen Gefäßen zu arbeiten.

Die neue Wasserstrahlluftpumpe übertrifft alle anderen durch ihre kräftige und schnelle Saugwirkung. So wird ein Zweilitergefäß, bei 720 mm Luftdruck und 2·5 bis 3·00 Atm. Wasserdruck (und einer Wassertemperatur von + 13° C) schon in 70 Sekunden bis 711 mm Quecksilber evakuiert. Dazu gebrauchen andere, sonst gut konstruierte Pumpen die zehnfache Zeit.

Der Grund, warum ich die neue Luftpumpe an dieser Stelle kurz beschreibe, ist aber wesentlich der, daß sie mir geeignet erscheint, die Methoden des Einbettens und Fixierens im Vakuum mehr als bisher und ihrer praktischen Bedeutung in der Mikrotechnik entsprechend einzubürgern. In der Tat kann man, wenn man über die neue Luftpumpe verfügt, mit verhältnismäßig einfachen Apparaturen sich die Vorteile der erwähnten Methodik nutzbar machen, wie in folgenden noch mit einigen Worten näher dargelegt werden soll.

Die Vorzüge der Paraffindurchtränkung unter vermindertem Luftdruck sind so außerordentliche, daß lediglich das Fehlen preiswerter Apparaturen, die ein bequemes Arbeiten gestatten, es erklärt, daß sie nicht ganz allgemein zur Anwendung gelangt. Und doch ist es wünschenswert, nicht nur Objekte, wie z. B. Arthropoden-Larven, deren innere Organe eigentlich nur nach Vakuum-Einbettung eine befriedigende Erhaltung des Reliefs zeigen, so zu behandeln, sondern auch Objekte mit weniger konsistenter Oberfläche. Objekte von relativ gleichmäßigem Gefüge, bei denen das Kollabieren von größeren Hohlräumen nicht zu befürchten ist, werden immer weit vorteilhafter im Vakuum eingebettet, aus dem einfachen Grunde, weil hier wenige Minuten zum Durchtränken von Stücken genügen, die sonst stundenlang im Thermostaten hätten bleiben müssen und also in entsprechendem Maße für feinere histologische Feststellungen ungünstig verändert worden wären. Darüber kann ja kein Zweifel bestehen, daß die Erhaltung der Gewebselemente um so besser ist, je kürzer der Aufenthalt im Thermostaten war, je kürzere Zeit höhere Temperaturen auf das Objekt einwirkten. Hieraus resultiert also, daß die Vakuum-Einbettung es gestattet, größere Blöcke in einem, selbst feinste Strukturverhältnisse konservierenden Zustande auf den Objekttisch des Mikrotoms zu bringen und härtere Paraffinsorten, die für die Erzielung sehr großer und gleichzeitig dünner,

wie überhaupt sehr dünner Schnitte Bedingung sind, unbedenklich verwenden zu dürfen.

Die Vakuum-Methode bietet aber auch noch den Vorteil, daß sich auch das Intermedium schneller und schon bei relativ niedriger Temperatur entfernen läßt, da ja Chloroform, Xylol, Toluol usw. und ähnliche, als Intermedien dienende flüchtige Körper unbedingt im Vakuum leichter verdampfen, als im gewöhnlichen Wärmeschrank und mit der Wasserstrahlluftpumpe dort schneller entfernt werden, als es hier möglich ist.

Wendet man also die Vakuum-Methode auch schon auf die Passage des Objektes durch das Intermedium an, so wird sich auch hier die größere Beschleunigung der Überführung unter Wahrung des allmählichen Übergangs bis zur Stufe höchster Konzentrierung vorteilhaft bemerkbar machen müssen.

Ich pflege mich bis jetzt einer improvisierten Apparatur zu bedienen, die mir praktischer erscheint als ein Vakuum-Einbettungsapparat (sogen. amerikanisches Modell) der Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Berlin N., der mir in Bromberg seiner Zeit zur Verfügung stand. Sie entspricht im Prinzip ganz dem Hoffmann-schen (ebenfalls improvisierten) Einbettungsapparat.

Schon das einfachere Modell, der Jenaer Velox-Pumpe, erst recht natürlich das mit Dreiweghahn versehene, vereinfacht die von Hoffmann (vgl. Zool. Anz. 1884, p. 230) vorgeschlagene Apparatur nicht unwesentlich, indem es mir gestattet, die Luftpumpe direkt durch einen Druckschlauch mit einem beliebigen tubulierten Exsikkator zu verbinden, ohne daß besondere Rückschlagsicherungen und Hähne notwendig wären. Den Exsikkator, der die Paraffinschalen aufnimmt, setze ich in ein passendes Wasserbad, dessen Temperatur die erforderliche kurze Zeit der Überführung oder Einbettung über mit den einfachsten Heizquellen genügend konstant erhalten werden kann. Die Temperatur im Exsikkator zeigt ein in diesen hineingestelltes kleines Thermometer an.

Genauere Zahlen über die Schnelligkeit, mit der bestimmte Objekte sich im Vakuum mit Paraffin gleichmäßig durchtränken lassen, beabsichtige ich in einer späteren Arbeit mitzuteilen. Hier sei nur als Anhaltspunkt angegeben, daß nach meinen Erfahrungen die Durchtränkung im Vakuum durchschnittlich nur ein Zehntel der Zeit erfordert, die unter normalem Luftdruck notwendig ist.

Es ist also auch die Ersparnis an Heizmaterial eine sehr beträchtliche.

Ich hoffe in Bälde einen recht einfachen elektrisch beheizten Vakuum-Paraffin-Einbettungs-Apparat an dieser Stelle beschreiben zu können, den Herr Koellner-Jena jetzt auf meine Anregung hin konstruiert. Infolge der Anordnung des Heizkörpers ist die Beheizung bis zur gewünschten Temperatur sehr schnell zu erzielen (was man von den üblichen doppelwandigen Schränken mit Wasserfüllung wahrhaftig nicht sagen kann) und deshalb unter allen Umständen, auch wenn man nicht im Vakuum arbeitet, der Betrieb sparsamer, als es bisher, gleichviel mit welchem Heizmittel er bewirkt wurde, der Fall sein konnte. Daß er auch bequemer und sauberer ist, liegt in der Natur der elektrischen Beheizung.

Auch für die Fixierung von Objekten mit großen, lufthaltigen Hohlräumen wird die neue Luftpumpe, wie ich mich an verschiedenem Material überzeugte, wesentlich bessere Dienste, als die bisher verwendeten Modelle leisten. Ohne kräftige Evakuierung ist es z. B. ganz unmöglich, dem Fixierungsmittel genügend Eingang in die Höhlen des Felsenbeines zu verschaffen, und das gleiche gilt für Insekten (Tracheen, Luftsäcke).

[Eingegangen am 30. Januar 1914.]

[Aus dem I. Anatomischen Institut der Universität Budapest.
Vorstand: Prof. Dr. M. v. Lenhossék.]

Die histologische Darstellung des Glaskörpers.

Von

A. Szent-Györgyi

in Budapest.

Die histologische Darstellung des Glaskörpers in seiner natürlichen Lage und Ausdehnung gehört zu den schwierigsten Aufgaben der mikroskopischen Technik. Ihre Schwierigkeit ist begründet in der im Säugetierkörper einzig dastehenden Armut dieses Gewebes an geformten Bestandteilen, an der so gut wie flüssigen Beschaffenheit seiner Grundsubstanz: besteht doch bekanntlich der Glaskörper des Menschen zu 98·5 Prozent aus Wasser (Berzelius). Sind diese Schwierigkeiten schon beim embryonalen und fötalen Auge vorhanden, so steigern sie sich noch beträchtlich beim entwickelten Tier und Menschen. Kein Wunder, daß Totalschnitte des vollentwickelten menschlichen und tierischen Auges mit Erhaltung und tadelloser Konservierung des Glaskörpers wohl zu den größten Seltenheiten mikroskopischer Präparatensammlungen gehören. Hieraus erklärt sich wohl auch die Tatsache, daß eine bildliche Gesamtdarstellung des menschlichen Glaskörpers mit Berücksichtigung der normalen topographischen Anordnung seiner Fibrillen meines Wissens in der Literatur bisher noch nicht vorliegt. Alle bisherigen histologischen Methoden, mit denen wir bei der technischen Behandlung des Objektes Schrumpfungen der Gewebe zu verhindern oder auf ein geringes Maß zu reduzieren wissen, versagen hier: gewöhnlich tritt die Schrumpfung schon bei den ersten Akten der Behandlung ein, ist dies nicht der Fall gewesen, so ist es dann immer die Einbettung, die den Erfolg vernichtet, indem sie trotz größter Sorgfalt und Geduld Schrumpfungen und Zerreißungen des Glaskörpers herbeiführt. —

In folgendem möchte ich die Methoden beschreiben, deren ich mich bei meinen Untersuchungen über den Bau des Glaskörpers der Wirbeltiere und des Menschen bedient habe und mit deren Hilfe es

mir gelungen ist, dieser Schwierigkeiten zum größten Teile Herr zu werden, d. h. Totalschnitte des Glaskörpers herzustellen, die dieses so strukturarme Gewebe in seiner natürlichen Lage und Ausdehnung, den Hohlraum des Auges vollkommen ausfüllend vorführen, die das Fibrillenwerk des Glaskörpers in seiner regelmäßigen, typischen Anordnung, ohne Defekte und Verzerrungen zur Ansicht bringen. Meine Angaben beziehen sich ausschließlich auf den Glaskörper entwickelter Tiere und des entwickelten Menschen, nicht aber auf embryonales und fötales Material.

Nur bei ganz großen Tieren, wie Rind, Pferd, Haifisch, gelang es mir bisher nicht, tadellose Präparate zu erhalten, indem eine Schrumpfung des Glaskörpers nicht völlig auszuschließen war. Auch das Vogelauge erwies sich refraktär, und zwar aus einem ganz besonderen Grunde, nämlich infolge des starken Knochenringes in der Sklera, der nicht entfernt werden konnte ohne nachteilige Folgen für den Glaskörper und der durch seine Gegenwart ein ordentliches Mikrotomieren des Auges verhinderte. Besonders hervorheben möchte ich, daß meine Methode bei dem menschlichen Auge befriedigende Resultate gibt, obgleich sich gerade der Glaskörper des Menschen durch besonders zerfließliche und fein strukturierte Beschaffenheit auszeichnet. Es eröffnet sich so durch die Möglichkeit eines Studiums der pathologischen und mit dem Alter einhergehenden Veränderungen des menschlichen Glaskörpers ein neues Feld der Forschung.

Ich beschreibe im folgenden zwei verschiedene Methoden: das typische, aus Fixieren, Einbetten, Schneiden und Färben bestehende Verfahren, und die Silberimprägnationsmethode. Letztere eignet sich nur für kleine und mittelgroße Augen, während das erstere Verfahren gleicherweise bei den Augen kleinerer und größerer Tiere Anwendung finden kann. Ich möchte gleich hervorheben, daß die Beschränkung des Silberverfahrens auf kleinere Augen bedauerlich ist, da dieses Verfahren außerordentlich übersichtliche und demonstrative Bilder des Glaskörpers gibt.

Zunächst einige für beide Methoden gültige Bemerkungen. Natürlich ist es viel vorteilhafter, wenn man in der Lage ist, das Auge sofort nach dem Tode in die Fixierungsflüssigkeit oder das Silbernitrat zu legen, doch habe ich auch von menschlichen Augen, die erst 24 Stunden nach dem Tode oder noch später der Leiche entnommen waren, gute Präparate erhalten. Schon S. Mayer (1) war es bekannt, daß der Glaskörper verhältnismäßig wenig postmortalen

Veränderungen unterworfen ist. Bei größeren Augen wird man zweckmäßig ein Stück des Sehnerven am Auge belassen, an dem das Auge aufgehängt werden kann. Auch für die nachträgliche Orientierung, was nasal und temporal ist, ist der überall exzentrisch eintretende Sehnerv wichtig, neben der Form der Hornhaut, die bekanntlich beim Menschen in ihrer vorderen, freien Fläche eine leicht querelliptische Form zeigt und dadurch eine nachträgliche Orientierung ermöglicht. Bezüglich des menschlichen Materials möchte ich noch bemerken, daß die Augen jüngerer Individuen bis etwa zum 40. Jahre weitaus vorzuziehen sind; am Auge älterer Individuen hatte ich oft Mißerfolge.

I. Färbungsmethode.

Fixierung des Auges.

Es würde zu weit führen alle Mittel anzuführen, die zur Fixierung des Glaskörpers besonders im fötalen Zustand empfohlen wurden. Ihre Liste deckt sich so ziemlich mit der Reihe unserer bekannteren Fixierungsmittel. Am besten bewährt hat sich bei meinen Untersuchungen folgendes, von mir auf theoretischer Grundlage konstruiertes Fixierungsgemisch:

Aceton[1]	125 cc
Acid. aceticum glac.	5 „
Formalin	40 „
Sublimat	4 g
Aqua dest.	100 cc

[1]) Das in dieser Lösung offenbar die Hauptrolle spielende Aceton (Dimethylketon) ist in der histologischen Technik kein neuer Stoff. Als Fixierungsmittel, ohne weiteren Zusatz, ist es schon von Henke und Zeller für alle Gewebsgattungen und von Bing und Ellermann speziell für die Markscheiden der Nervenfasern empfohlen worden. Als Bestandteil eines Fixierungsgemisches hat es Held in Verbindung mit Sublimat empfohlen.

In letzterer Zeit wurde Aceton von Szécsi (Lucidol, ein neues Fixiermittel. Deutsche med. Wochenschr. 1913, No. 15. p. 84), als Lösungsmittel des von ihm zur Fixierung empfohlenen wasserunlöslichen Lucidols (Benzolsuperoxyd) empfohlen. Die Nachprüfungen, die ich vornahm, ließen mich zur Überzeugung kommen, daß die günstigen Resultate, die man bei Ausstrichpräparaten mit dieser Methode erhält, dem Aceton und nicht dem Lucidol zuzuschreiben sind. Der Erfolg ist nämlich genau derselbe, wenn man nur reines Aceton anwendet. Aceton ohne Zusatz als Fixierungsmittel für Ausstrichpräparate ist schon von Jagic empfohlen worden. Aceton ist ja auch, ohne jeglichen Zusatz, ein energisches Fällungsmittel des Eiweißes.

Kleinere Augen läßt man 2 bis 3 Tage, größere 6 bis 7 Tage in diesem Gemisch, wonach man auf je 100 cc noch 50 cc Aceton hinzufügt und das Objekt noch 1 bis 2 Tage, bzw. 3 bis 4 Tage in der Lösung beläßt.

Da die Lösung nicht haltbar ist, muß sie vor dem Gebrauch immer frisch bereitet werden.

Einbettung.

Als Einbettungsmittel kommt bei dem Auge nur Celloïdin in Betracht. Eine Paraffineinbettung ist ausgeschlossen, da hierbei eine Zerstörung und Dislokation des Fibrillengerüstes nicht zu vermeiden ist.

Aber auch bei der Celloïdineinbettung mußte der Alkohol bei der Vorbehandlung unbedingt aus dem Spiele gelassen und ein anderes geeignetes Entwässerungsmittel gefunden werden. Als solches ergab sich derselbe Stoff, der auch bei der Fixierung die Hauptrolle spielt, nämlich das Aceton. Es ist nicht das erstemal, daß dieser Stoff als Vormedium der Einbettung in Vorschlag gebracht wird. Ohne auf die Geschichte dieses Gegenstandes einzugehen, möchte ich hier nur auf die Namen Henke, Zeller, Jagic, Held, Fisch und Henneguy hinweisen. Es ist auffallend, daß trotz dieser vielfachen Empfehlungen dieses wertvolle Mittel sich in der histologischen Technik bisher nicht die Stellung erringen konnte, die es verdient.

Das Entwässerungsverfahren ist ganz einfach: das Objekt wird aus der Fixierungsflüssigkeit ohne jedes Auswaschen direkt in konzentriertes Aceton gebracht und darin 3 bis 4 Tage belassen. Es ist zweckmäßig, am Tage nach dem Einlegen das Aceton zu erneuern. Um das Objekt möglichst wasserfrei zu machen, empfiehlt es sich bei dieser Erneuerung auf den Boden des Gefäßes eine dickere Schicht Calcium chloratum sicc. zu bringen[1], wobei das Auge natürlich nicht auf dem Boden liegen darf, sondern aufgehängt gehalten werden muß. Hat das CaCl Wasser angezogen, was man an dem Verkleben der Schollen erkennt, so überträgt man das Stück in neues Aceton mit neuem CaCl.

[1]) Das Calcium chloratum sicc. ist zu diesem Zwecke dem von Brunk empfohlenen Cuprum sulfuricum vorzuziehen, da es energischer wirkt und sich leichter zu Boden senkt.

Zur Entwässerung sind bei kleineren Augen 1 bis 2 Tage, bei größeren 3 bis 4 Tage erforderlich. Aus dem Aceton kommen die Objekte in Ätheralkohol, hieraus in Celloïdin.

Vor der Übertragung des Objektes in das Celloïdin schneidet man vom Auge mit dem Mikrotommesser seitlich eine Kuppe ab, bei größeren Augen (Mensch, Katze usw.) zwei Kuppen an den gegenüberliegenden Seiten, und zwar am zweckmäßigsten oben und unten. Hierbei muß man aber recht rasch vorgehen, da sonst während der paar Minuten infolge des Verdampfens des Ätheralkohols eine Schrumpfung des bloßgelegten Glaskörpers eintreten kann: die Kuppen sollen nicht zu klein sein. Beim Einlegen in das Celloïdin muß man darauf achten, daß alle Luftbläschen, die sich an der Öffnung oder den Öffnungen des Auges angesetzt haben, entfernt werden.

Die Konzentration des Celloïdins wechselt je nach der Beschaffenheit des Objektes. Kleinere Augen, die im allgemeinen weniger leicht schrumpfen, werden sukzessive mit 2-, 4- und 6prozentigem Celloïdin durchtränkt, bei größeren und empfindlicheren Augen darf man nur bis 4 Prozent gehen, bei besonders heiklem Material, wozu auch das Menschenauge gehört, nur bis 3 Prozent, nach vorhergehender Durchtränkung mit ein- und 2prozentiger Lösung[1].

Durch die Öffnung der Augenhäute dringt das Celloïdin leicht in den Glaskörper, so daß für jede Lösung die Zeitdauer von 3 Tagen, zusammen also 9 Tage, auch beim Menschenauge, völlig genügt. Dies ist nur als das Minimum aufzufassen; man kann nämlich das Auge ruhig auch länger in den einzelnen Celloïdinlösungen liegen lassen, da das Objekt darunter nicht leidet[2].

Zur Erhärtung des Celloïdins stellt man die zur Einbettung dienende Papierschachtel bis nahe zum Rand direkt in Chloroform ein; es ist dies vorteilhafter als die Benützung von Chloroform-

[1]) Da sich das 3prozentige Celloïdin nicht zu völliger Schnittfähigkeit erhärten läßt, habe ich es versucht, den Block nach Durchtränkung mit Benzol, Bromoform und einigen anderen Flüssigkeiten von hohem Gefrierpunkt am Gefriertisch zu schneiden. Die Versuche mißlangen, ebenso wie der Versuch, die kombinierte Celloïdin-Paraffineinbettung anzuwenden: die Anwendbarkeit der letzteren scheitert an der großen Empfindlichkeit des Glaskörpers der Wärme gegenüber.

[2]) Anders bei den mit Silber imprägnierten Objekten: hier muß man den Vorgang der Entwässerung und Einbettung auf eine möglichst kurze Zeit reduzieren.

dämpfen, bei welchem Verfahren eine Schrumpfung des Glaskörpers leichter Platz greift[1].

Der mit Celloïdin auf Stabilit aufgeklebte Block wird jetzt geschnitten, und zwar in ziemlich dicke Schnitte. Ich habe die Schnittdicke von 150 bis 200 μ für die Untersuchung des Glaskörpers am vorteilhaftesten gefunden.

Es wurde vorhin erwähnt, daß die allergrößten Augen, wozu auch schon das Menschenauge gehört, in höchstens 3prozentigen Celloïdin eingebettet werden dürfen. Ein solches Celloïdin kann in keiner Weise, auch mit Terpineol nicht, bis zur gehörigen schnittfähigen Konsistenz erhärtet werden. Hier ist ein besonderes Vorgehen nötig, welches in folgendem besteht. Man nimmt den erstarrten Block aus dem Chloroform heraus und löst ringsum die das Auge umhüllende Celloïdinschicht ab, dann wird die Hornhaut mit dem Mikrotommesser weggeschnitten und die Linse nach einem Einschnitt in die Iris mit der Pinzette behutsam entfernt. Noch empfehlenswerter ist es, die Entfernung der Linse von der Seite her, nach vorhergehender Erweiterung der schon früher angebrachten Öffnung, vorzunehmen. Hiernach wird das Auge in Ätheralkohol kurz abgespült und in einer Pappschachtel mit 8prozentigem oder noch konzentrierterem Celloïdin umschüttet, welches dann mit Chloroform und eventuell auch mit Terpineol in der gewöhnlichen Weise erhärtet wird. In diesem festen Rahmen läßt sich dann das Auge sehr gut schneiden, vorausgesetzt, daß man dafür Sorge getragen hat, daß die dicke Celloïdinlösung den durch die Entfernung der Linse entstandenen Hohlraum vollkommen ausfüllt.

Beim Schneiden stellt man das Messer recht schief, um möglichst die ganze Schneide des Messers ausnützen zu können. Die Schnitte kommen in 90prozentigen Alkohol, dann, zur Entfernung der im Schnitt eventuell vorhandenen Sublimatskristalle, in Jodalkohol, weiterhin wieder in reinen Alkohol, und zuletzt unmittelbar vor der Färbung noch in destilliertes Wasser.

Natürlich ist die geschilderte Fixierungs- und Einbettungsmethode nicht nur für den Glaskörper, sondern überhaupt zur Darstellung von topographischen Übersichtsbildern des Auges geeignet.

[1]) Hat der Celloïdinblock eine genügend feste Konsistenz erlangt, so kann er noch eventuell zur definitiven Erhärtung und gleichzeitigen Aufhellung in Terpineol eingelegt werden. Nur bei den mit Silber imprägnierten Präparaten darf kein Terpineol angewendet werden.

Färbung.

Zur Färbung des Glaskörpers sind die verschiedensten Mittel als günstig bezeichnet worden. Während von der einen Seite die spezifischen Gliafärbungen zur Darstellung der Glaskörperfibrillen als besonders geeignet hervorgehoben werden, werden von anderen die elastischen Färbungen, wieder von anderer Seite die spezifischen Bindegewebsfarbstoffe, die Plasma-Färbungen oder die Kernfarbstoffe empfohlen.

Schon aus dieser Mannigfaltigkeit der empfohlenen Färbungsmethoden kann gefolgert werden, daß es überhaupt keine spezifische Färbung für die Glaskörperfibrillen gibt, daß diese Strukturelemente keine besonderen färberischen Reaktionen ergeben.

In der Tat kann man mit sehr verschiedenen Farbstoffen gute Färbungen des Fibrillenwerkes erzielen. Die Schwierigkeit liegt weniger in der Färbung selbst, als vielmehr darin, daß sich bei den meisten Färbungen auch das Celloïdin mitfärbt und dadurch das scharfe Hervortreten der Fibrillen verhindert. G. Retzius (2) versuchte diese Schwierigkeit dadurch zu umgehen, daß er das Celloïdin aus den Schnitten vor der Färbung entfernte. Dieses Verfahren muß unbedingt eine große Geschicklichkeit erfordern: mir ist es bei diesem Vorgehen nicht gelungen, Dislokationen der Fibrillen zu vermeiden.

Da bekanntlich das van Gieson'sche Farbengemisch das Celloïdin ungefärbt läßt, habe ich, wie auch schon andere vor mir, in erster Reihe an diese Färbung gedacht. Leider bleiben dabei auch die Fibrillen so gut wie ungefärbt. Ich habe dann eine Reihe neuerer, zu diesem Zwecke noch nicht versuchter Farbstoffe probiert, so die Heidenhain'sche neutrale Plasmafärbung, das Pikroblauschwarz, Azokarmin, Brilliantschwarz. Alle erwiesen sich als völlig unbrauchbar. Mit Thiazinroth (Differenzierung in Alkohol) erhielt ich eine ganz schwache Färbung der Fibrillen. Besser war das Ergebnis mit phosphormolybdänsaurem Hämatoxylin, noch besser mit Thiazinbraun und am besten mit dem schon von Retzius zu diesem Zwecke angewendeten Bleu de Lyon, das nach der Differenzierung in Alkohol recht hübsche Bilder ergab.

Allen diesen Farbstoffen aber vorzuziehen zur Darstellung des Glaskörpers ist das Held'sche Molybdänhämatoxylin, das zu diesem Zwecke schon von Wolfrum (3) angewendet wurde. Dieser Farb-

stoff genügt allen Anforderungen, da er das Celloïdin nicht mitfärbt und die Fibrillen ziemlich stark hervortreten läßt. Die Lösung wird hergestellt aus:

Hämatoxylin cryst.	1·0	
Alkohol (70 Prozent)	100·0	
Reine Molybdänsäure	2	Messerspitzen.

Die Lösung muß nach ihrer Herstellung mindestens zwei Wochen stehen, wonach sie vom Bodensatz dekantiert wird. Zum Färben verdünnt man das benützte Quantum mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers. Die Schnitte bleiben 24 Stunden im Farbstoff und müssen dann mehrere Stunden lang in destilliertem Wasser ausgewaschen werden.

Die Schnitte werden nach der Färbung recht gründlich ausgewaschen, kommen dann aus dem Wasser in gewöhnlicher Weise in Alkohol, werden in Karbolxylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Man kann die Schnitte nicht auf längere Zeit in Wasser oder Alkohol aufheben, da die Färbung undeutlich wird. Leider werden bei dieser Methode die übrigen Teile des Auges sehr stark überfärbt, was der größte Mangel der Molybdänhämatoxylinfärbung ist. Darum empfiehlt es sich, die Schnitte abwechselnd mit Bleu de Lyon und mit Hämatoxylin zu färben. Da sich das Photoxylin mit den Anilinfarbstoffen etwas weniger als das Celloïdin mitfärbt, ist es ratsam, zur Einbettung gelegentlich auch diesen Stoff anzuwenden. Das Verfahren gestaltet sich auch bei Photoxylineinbettung in der oben angegebenen Weise. Sonst hat das Photoxylin keine besonderen Vorteile vor dem Celloïdin.

II. Silbermethode.

Es ist das Verdienst M. v. Lenhossék (4), zuerst das Cajalsche Silberverfahren zur Darstellung des Fibrillengerüstes des Glaskörpers angewendet zu haben. In der Tat gibt dieses Verfahren so scharfe und anschauliche Bilder von den Glaskörperfibrillen wie keine andere Methode. Allerdings ist die Methode für gewisse histologische Fragen des Glaskörpers, wie für die Frage nach dem Verhältnis der Zonulafasern zu den Zellen des Ciliarepithels, nicht geeignet. Auch erscheinen dabei die Fibrillen stets etwas dicker als sie in Wirklichkeit sein dürften, im Gegensatz zu der oben geschilderten gewöhnlichen Fixierungs- und Färbungsmethode, bei der sie wieder nach meiner An-

sicht eine geringe Verdünnung erfahren. Die Silbermethode gibt hauptsächlich topographisch ausgezeichnete, alle Färbungen übertreffende Bilder; leider läßt sie sich bei größeren Augen, wie etwa beim Menschenauge, nicht anwenden, da das Silber die ungünstige Eigenschaft hat, nur sehr langsam in die Gewebe einzudringen und in massivere Gebilde, wie es bei größeren Tieren der Glaskörper ist, nicht bis zu den zentralen Teilen vorzudringen. Ein zweiter Nachteil ist, daß nach der Versilberung die Celloïdineinbettung bei größeren Augen nicht benützt werden kann, da die Silberbilder während der Einbettung, die hier langsam vorgenommen werden muß, verblassen[1]. Bei kleineren Augen kann man sich eventuell auch der Celloïdineinbettung bedienen, da hier schon ein kurzer Aufenthalt in den Celloïdinlösungen genügt. Ich bemerke, daß man sich hierbei zur Entwässerung statt des Alkohols des Acetons bedienen muß; auch darf hier Terpineol zur definitiven Erhärtung und Aufhellung des Celloïdinblockes nicht herangezogen werden, da es der Imprägnation gefährlich ist.

Bei meinen Untersuchungen über den Glaskörper der Amphibien, Reptilien und Vögel habe ich mich in erster Reihe dieser Methode bedient, die von der Anordnung des Glaskörpergerüstes überraschend klare Anschauungen gibt. Auch bei kleineren Säugern etwa bis zur Größe des Meerschweinchens wird man sich mit Vorteil dieser Methode bedienen.

M. v. Lenhossék hat das Verfahren nur an embryonalem Material, speziell am Auge von Hühnerembryonen angewendet, und zwar ohne Modifikation des ursprünglichen Cajalschen Verfahrens (Fixierung in Alkohol-Ammoniak, Einlegen in Silber auf mehrere Tage im Brutschrank, Reduktion in Pyrogallol). Für das Auge entwickelter Tiere läßt sich die Methode in dieser Form nicht anwenden, sondern es ist eine Modifikation nötig, die ebenfalls von M. v. Lenhossék stammt. Mein verehrter Lehrer war so freundlich, mir sie mündlich mitzuteilen;

---

[1]) Eine Ausnahme bildet das Schweinsauge, das infolge der besonders konsistenten, durch etwas gröbere Fibrillen ausgezeichneten Beschaffenheit des Glaskörpers auch einer raschen Celloïdineinbettung, und damit auch der Silbermethode zugänglich ist. Bei meinen Untersuchungen über den Canalis hyaloideus des Schweines (Graefes Arch. Bd. 85, 1913) habe ich mich beinahe ausschließlich dieser Methode bedient. Das Schweinsauge erfordert eine 12- bis 14tägige Behandlung mit Silber; etwa am 5. Tage der Behandlung eröffnet man das Auge, eventuell auch an zwei gegenüberliegenden Stellen.

sie besteht darin, daß man das frische Auge in ein Gemisch von Silber und Formaldehyd bringt:

Formalin	20 cc
Aqua dest.	80 „
Argentum nitricum crystallisatum	1·5 g

In dieser Lösung verbleiben ganz kleine Augen, wie z. B. das der Schlangen oder Eidechsen, 7 Tage, etwas größere, wie das des Frosches oder des Meerschweinchens, 9 Tage. Ich habe gefunden, daß es für den Erfolg günstiger ist, wenn man das Objekt nicht in den Brutschrank stellt; höchstens während der zwei letzten Tage der Behandlung kommt ein Einstellen der Schälchen in den Brutschrank bei einer Temperatur von 30 bis 35° C in Betracht, bei sehr zart strukturierten empfindlichen Glaskörpern, wie z. B. dem der Vögel, muß man aber auch hiervon absehen.

Kleinere Augen werden bis zuletzt uneröffnet behandelt, bei etwas größeren empfiehlt es sich, das Auge etwa am 5. Tage der Behandlung durch Abtragen eines seitlichen Segmentes zu eröffnen.

Das Silberformalingemisch ist nicht haltbar; schon nach kurzer Zeit bildet sich ein Niederschlag, indem sich infolge der reduzierenden Wirkung des Formaldehyds das Silber aus der Flüssigkeit ausscheidet. Es muß daher das Gemisch immer frisch angefertigt und während der Behandlung jeden Tag erneuert werden, wobei man zweckmäßig immer frische Schälchen nimmt, da das an der Seitenwand des Schälchens in Form eines Spiegels ausgeschiedene Silber auf die Niederschlagsausbildung beschleunigend einwirkt.

Zur Reduktion diente folgendes Gemisch:

Pyrogallol Merck	1·5 g
Formalin	·5 cc
Aqua dest.	100 „

In dieser Lösung bleiben die versilberten Stücke 24 Stunden, wonach sie dann ebenfalls 24 oder bei etwas größeren Augen 48 Stunden lang sehr gründlich in fließendem Wasser ausgewaschen werden. Man soll mit der Lösung nicht sparen, sie nach mehreren Stunden erneuern und die Reduktion in einem gut verschließbaren, bis an den Rand gefüllten Gefäß vornehmen.

Wie schon oben gesagt, eignet sich die Celloïdineinbettung für die versilberten Augen im allgemeinen nicht so gut, wie für anders behandelte Präparate. Ich habe, um Schnitte aus dem versilberten Material ohne Schrumpfung und Verblassung der imprägnierten Fi-

brillen zu erhalten, zur Einbettung und zum Mikrotomieren einen besonderen Weg einschlagen müssen. Er besteht in der Durchtränkung des Objektes mit Gelatine und in der Benutzung des Gefriermikrotoms.

Die Benutzung der Gelatine als Einbettungsmasse ist nicht neu: vielmehr haben wir es hier mit einem der ältesten Einbettungsverfahren zu tun. Die Gelatinmethode ist neuerdings, wie bekannt, von St. v. Apáthy (5) so vervollkommnet worden, daß sie voraussichtlich in der histologischen Technik eine viel größere Bedeutung erlangen wird, als sie bisher besaß. Meine Versuche und Erfolge mit der Gelatindurchtränkung fallen noch in die Zeit vor dem Erscheinen der Apáthyschen Mitteilung und decken sich auch in keinem Punkt mit dem Verfahren dieses Forschers.

Man stellt sich am besten die Gelatinelösungen gleich in größerer Menge her. Man erwärmt destilliertes Wasser bis es kocht und gibt dann erst die reine Gelatine hinzu. Um der Fäulnis vorzubeugen, setzt man dem Wasser etwas Salizylsäure bei. Beim Abkühlen erstarrt die ganze Masse. Zum Gebrauch entnimmt man ihr ein entsprechend großes Stück.

Da der osmotische Druck der Gelatine gleich Null ist, während sie eine hohe Viskosität besitzt, muß das Innere des Auges, mag das Auge noch so klein sein, durch eine in der Sklera gemachte Öffnung der Gelatine zugänglich gemacht werden. Bei schon um ein geringeres größeren Augen (wie z. B. beim Meerschweinchen) wird man zweckmäßig zwei Öffnungen anbringen, natürlich vor dem Einlegen in die Gelatine.

Ich möchte noch einmal betonen, daß das Material vor der Gelatineeinbettung sehr gründlich, in fließendem Wasser, während 1 bis 2 Tage ausgewaschen werden muß. Auch der geringste Reste von Formalin und Pyrogallol ruft Fällungen in der Gelatine hervor, die ihr Eindringen in das Objekt verhindern.

Die Konzentration der Gelatine und die Dauer der Einwirkung sind verschieden je nach der Größe und Beschaffenheit des Materials. Kleinere Augen gibt man auf je 24 Stunden in eine 5- und 10prozentige Lösung. Größere Augen verbleiben je 2 Tage in einer 7- und 14prozentigen Lösung; länger als 4 Tage darf das Objekt keinesfalls in der Gelatine bleiben, da sonst die Fibrillen verblassen. Vor dem Einlegen der Gelatine reguliert man den Brutschrank auf 30 bis 32° C ein. Die aus dem Brutschrank herausgenommene Gelatine, welche das Auge umschließt, erstarrt bald. Man kann das so eingebettete

Objekt längere Zeit im Schälchen aufbewahren, wenn man es nur vor dem Austrocknen und vor der Einwirkung der Wärme schützt.

Nun wird das Auge auf dem Gefriermikrotom geschnitten, nachdem man es von der umgebenden Gelatinschicht einigermaßen befreit hat. Das Objekt wird auf dem Gefriertisch mit einigen Tropfen Wasser befestigt. Das Messer wird ganz quer eingestellt; die beste Schnittdicke für die Untersuchung des Glaskörpers ist 50 μ. Eine Entfernung der Linse aus dem Auge ist nicht nötig, da sie sich stets leicht schneiden läßt. Man soll das Auge nicht übermäßig gefrieren lassen, da es zu fest und zu schwer schneidbar wird[1]. Die Schnitte kommen von dem unbenetzt zu gebrauchenden Messer, bevor noch die Gelatine auftaut, in eine 10prozentige Formalinlösung, damit die den Schnitt durchtränkende Gelatine elastisch und unlöslich wird. Sollen die Schnitte länger unmontiert bleiben, so kommen sie in eine schwache (0·5prozentige) Formalinlösung oder in folgendes Gemisch:

Glyzerin	80 cc
Aqua dest.	15 „
Formalin	5 „

worin sie wie lange immer aufbewahrt werden können.

In derselben Lösung können die Schnitte auch montiert werden nach Anbringung eines Asphaltrahmens. Besser noch ist es, sie in dem Arátnyschen Gummisirup (Gummi arabicum, nicht kandierter Rohrzucker, destilliertes Wasser je 50 g, Zusatz von 5 cg Thymol) aufzuheben, nur muß man die Umrahmung sehr gründlich vornehmen, da die Schnitte sonst durch das Eintrocknen des Gummisirups zugrunde gehen. Leider habe ich auf diese Weise eine Menge von gelungenen Schnitten verloren. —

In den imprägnierten Schnitten kann das Silber in bekannter Weise in Gold übergeführt werden.

Zitierte Literatur.

1) Mayer, S., Über eine neuartige Verwendung des Farbstoffes „Neutralrot" (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 81, 1912).

2) Retzius, G., Über den Bau des Glaskörpers und der Zonula Zinnii in dem Auge des Menschn und einiger Tiere (Biol. Unters. N. F. Bd. 6, 1894, p. 67).

[1]) Ich kann diese Gelatine-Gefriermethode überhaupt für alle besonders harten Objekte, die sich mit den gewöhnlichen Methoden schwer verarbeiten lassen, empfehlen.

3) Wolfrum, M., Über Ursprung und Ansatz der Zonulafasern im menschlichen Auge (Graefes Arch. Bd. 69, 1908, p. 1).
4) Lenhossék, M. v., Die Entwicklung und Bedeutung der Zonulafasern, nach Untersuchungen am Hühnchen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 77, 1911, p. 280).
5) Apáthy, St. v., Neuere Beiträge zur Schneidetechnik (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik Bd. 29, 1912, p. 449).

[Eingegangen am 28. April 1914.]

Anwendung der Gelatine zum Konservieren und Befestigen mikroskopischer Gehirnschnitte auf Kartonpappe.

(Für makroskopische Zwecke.)

Von

Carl Rupp

in Leipzig.

Nachdem das menschliche Gehirn oder Tiergehirn in Formalin und in Kal. bichrom. gehärtet, in Alkohol, Celloïdinlösung eingebettet und mit Hilfe des Mikrotoms in dünne Schnitte zerlegt worden ist, wird es (nach Weigert-Pal) mit Hämatoxylin gefärbt und in Kal. hypermang. und Oxalsäure entfärbt. Die Schnitte verbleiben einige Stunden in Aqua destill., wobei das Wasser zwei- bis dreimal gewechselt wird.

Während die Schnitte wässern, bereite ich eine 20prozentige und eine 30prozentige wässerige Gelatinelösung:

Gelatine	100·0	Aqua destill.	500 cc
„	300·0	„ „	1000 „

Das Quantum der Flüssigkeit richtet sich ganz nach der Anzahl der Schnitte, die von der geschnittenen Serie für die Gelatine-Methode in Anwendung kommen sollen.

Vor dem Gebrauch werden die Gelatineblättchen in Aqua destill. eingeweicht, ausgedrückt und dann in eine Kolbenflasche getan, das dazu bestimmte Quantum Aqua destill. wird hinzugefügt und in einem heißen Wasserbade bis zur Auflösung der Gelatine gelassen; sodann

werden 10 bis 15 cc 2prozentigen wässerigen Chinosols hinzugesetzt und das Ganze umgeschüttelt. (Das Chinosol hat den Zweck Schimmelpilze zu verhüten.)

Nach Herstellung der Gelatinelösung wird von der 20prozentigen ein Teil in eine viereckige Schale gegossen und zwei bis drei weiße Kartonpappen (eventl. auch mehr) 13×18 — je nach der Größe für den Schnitt passend — in sie hineingelegt; gleichzeitig werden auch die für diese Kartons bestimmten Gehirnschnitte mit in die Schale gelegt, mit einem Stückchen Filtrierpapier bedeckt und die Schale mit einer Glasplatte zugedeckt.

Nun wird die Schale mit den Kartonpappen und Gehirnschnitten 3 Stunden bei 35 bis 38° im Wärmeschrank gelassen[1]; nach dieser Zeit sind beide Teile mit Gelatine durchtränkt. Dann werden die Kartonpappen in horizontaler Lage entweder[2] auf eine Glasplatte oder in eine viereckige Schale gelegt und mit der hergestellten dickeren Gelatinelösung übergossen, und zwar muß dieselbe in einer gleichmäßigen, 1 mm hohen Schicht über den Pappen aufgetragen werden.

Dann werden die Gehirnschnitte gleich auf die Kartonpappen gelegt, oder man läßt die Kartons auch 10 bis 20 Minuten an einem staubfreien Platz bei Zimmertemperatur liegen, bis sich eine Haut auf ihnen gebildet hat. (Während der Vorbereitung der Kartonpappen verbleiben die Gehirnschnitte im Wärmeschrank.) Auf diese nun entstandenen Gelatinehäutchen werden jetzt die durchtränkten Gehirnschnitte gelegt und mit dem Finger oder einem Glasstab glattgestrichen, bis alle Luftbläschen zwischen Kartonpappen und Schnitten entfernt sind. Nachdem wird auf jeden Schnitt eine 1 bis 2 mm dicke Schicht Gelatinelösung gegossen und die Schnitte, wie bereits vorhin bemerkt, an einem staubfreien Platz im Zimmer an der Luft getrocknet, bis die Gelatine ihre ursprüngliche Härte wieder erreicht hat. Bei nicht genügender Dicke der Schicht über dem Schnitt kann das Übergießen mit Gelatinelösung noch einige Male wiederholt werden. Um das Krummziehen der Kartonpappen zu verhüten, wird auf ihre Rückseite Schreibpapier oder dickes Filtrierpapier geklebt, dann werden

[1]) Die Temperatur im Wärmeschrank muß möglichst so gehalten werden, daß die Schnitte nicht schrumpfen.

[2]) Das unwillkürliche Ankleben der Kartonpappe auf die Unterlage kann nötigenfalls vermieden werden durch vorheriges Bestreichen der Glasplatten oder Schalen mit etwas Vaseline; nachdem die Pappe trocken geworden, wird die Rückseite mit Alc. gereinigt.

sie auf einem Reißbrett befestigt oder unter einen etwas schweren Gegenstand gelegt.

Nach vollständiger Trocknung der Kartonpräparate können diese zu Demonstrationen (mit dem Epidiaskop) und zur Orientierung bei Vorträgen herumgezeigt und bequem transportiert werden. Zu letzterem Zwecke können die Kartonpräparate in einer Pappschachtel übereinander gelegt oder im Kuvert aufgehoben werden. Auch zum Produzieren sind die nach dieser Methode hergestellten Schnitte verwendbar.

* * *

Schon vor ungefähr 6 Jahren habe ich mich mit dieser Methode beschäftigt und damals eine Reihe mikroskopischer Gehirnschnitte auf die angegebene Weise mit Gelatine auf Kartonpappe befestigt. Die Haltbarkeit der so hergestellten Schnitte war derart, daß sämtliche bis jetzt gut brauchbar geblieben sind. Etliche dieser Schnitte wurden mit warmem Wasser von der Kartonpappe abgelöst und in Aqua destill. gewässert, dann in 30-, 50-, 70- und 96prozentigem Alkohol und in Karbolxylol aufgehellt und in Kanadabalsam auf dem Objektträger eingeschlossen.

Bei der mikroskopischen Durchsicht der Präparate waren die Markscheiden gut erhalten und mikroskopisch verwendbar (nur hier und da zeigten sich in den Präparaten kleine Risse, die jedoch für die mikroskopische Untersuchung nicht wesentlich sind).

Dasselbe Verfahren kann man auch bei mikroskopischen Hirnschnitten anwenden, die bereits in Kanadabalsam auf dem Objektträger eingeschlossen sind. Sie werden in Karbolxylol abgeweicht, in 96prozentigem Alkohol, dann in absteigendem Alkohol und Aqua destill. gewässert und, wie vorher bemerkt, mit Gelatinelösung auf Kartonpappen geklebt.

Zu diesem Verfahren ist auch die Paus- oder Zeichengelatine verwendbar. Dieselbe wird naß auf die Kartonpappe geklebt, dann der Hirnschnitt glatt auf dieselbe gelegt und mit nasser Paus-Gelatine überklebt und das Kartonpräparat, wie vorhin erwähnt, an der Luft getrocknet. Das letztere Verfahren ist für makroskopische Zwecke verwendbar und einfach, aber nicht so haltbar wie die zuerst angegebene Methode [1].

[1]) Die Gelatine-Methode kann bei verschiedenen Schnittpräparaten angewandt werden; ich habe mikroskopische Schnitte von einem 33 cm langen fötalen Corpus angefertigt und dieselben auf Kartonpappe befestigt.

Gesamtzahl der Schnitte.

Schneidet man ein 10 cm hohes Gehirn vom erwachsenen Menschen von oben nach unten in 50 μ dicke Horizontalschnitte, so erhält man von einer 1 mm dicken Scheibe 20 Schnitte, von einer 1 cm dicken Scheibe 200 Schnitte und von einem 10 cm hohen Gehirn 2000 Schnitte.

Eine Hirnhemisphäre von 7 cm querem Durchmesser, in 50 μ dicke Sagittalschnitte zerlegt, gibt 1400 Schnitte.

Von einem 16 cm langen Gehirn in 50 μ Dicke, frontal geschnitten, erhält man 3200 Schnitte.

Wenn nun sämtliche Gehirnschnitte auf Objektträgern in Kanadabalsam eingeschlossen werden sollen, so kostet das Gehirn an dazu verwendetem Material (ohne Arbeitszeit und wissenschaftlichem Wert), an Chemikalien, wie Alkohol, Celloïdin, Hämatoxylin, Photoxylin, Karbolxylol, Kanadabalsam (Objektträger und Deckglas 25 Pfg.) pro Schnitt 50 Pfg., was für 2000 Schnitte einem Betrage von 1000 Mark gleichkommt.

Rechnet man das Gehalt des Laboratorium-Technikers für das Anfertigen der Schnitte hinzu, so stellt sich ein fertiggestellter mikroskopischer Gehirnschnitt auf ungefähr 65 Pfg. bis 1 Mark.

Da es aber wahrscheinlich nicht nötig ist, daß alle Schnitte von Erwachsenen für das Mikroskop hergestellt werden sollen, dürfte jeder fünfte Schnitt für mikroskopische, pathologische und anatomische Untersuchungen vollständig genügen, während dann noch eine Anzahl Schnitte für die Gelatinebehandlung Verwendung finden könnten.

Dagegen ist es wohl notwendig von einem Fötus oder Neugeborenen jeden Gehirnschnitt auf dem Objektträger[1] für das Mikroskop vorzubereiten, da diese Serie, um ihren Faserverlauf zu studieren, nicht lückenhaft sein darf.

Billige Objektträger.

Billige Objektträger kann man erhalten, wenn man die fast in allen photographischen Ateliers vorhandenen beiseitegelegten und für

[1]) Bei einem Gehirn mit nur einem kleinen Herd oder Degeneration ist es selbstverständlich besser, jeden Schnitt aus der erkrankten Stelle, wegen Veränderung der Markscheide und Ausdehnung des Herdes, auf den Objektträger zu bringen.

den Photographen nicht mehr brauchbaren Glasplatten kauft und als Objektträger für mikroskopische Gehirnschnitte verwendet. Außerdem gibt es auch verschiedene Institute, in denen viel photographiert wird und die sicher mißlungene photographische Aufnahmeplatten besitzen, für die sie keine Verwertung haben, die aber diese für sie unbrauchbaren Platten als Objektträger für Gehirnschnitte gewiß billig abtreten würden. Auch in unserem Institut werden seit langem schon die zurückgelegten photographischen Platten als Objektträger für mikroskopische Gehirnschnitte mit verwendet.

Die belichteten Platten werden mit heißem Sodawasser gereinigt, im reinen Wasser gespült und mit Alkohol nachpoliert. 9×12- und 13×18-Platten sind die für die gewöhnlichen kleineren und größeren mikroskopischen Präparate geeignetste Größe. Für außergewöhnlich große oder kleinere Schnitte lassen sich, wenn eine Glasschneidevorrichtung vorhanden ist, die gewünschten Größen aus den verschiedensten Platten herausschneiden.

Als Deckgläser sind die photographischen Platten weniger geeignet, da sie eine Dicke von $1^1/_2$ bis 2 mm haben. Bei Vergrößerungen, wie z. B. Obj. Leitz 3, 4, 5, kann man 1 mm dicke Deckgläser verwenden; für stärkere Vergrößerungen sind dünne Schnitte von 1 bis 15 μ und Deckgläser Dicke 0.17, 0·15 und 0·10 zu empfehlen.

Wenn man die photographischen Platten als Objektträger verwendet, so hätte man sich nur noch die 1 mm dicken Deckgläser von einem Glasschneider anfertigen zu lassen, falls man diese Arbeit nicht selbst vornehmen will, da hierzu Zeit und Geschicklichkeit gehört

Nachtrag.

Ich möchte noch bemerken, daß ich in neuerer Zeit statt der Glasplatten und Schalen, viereckige Pappschachteln mit 1 cm hohem Rande als Unterlage für die Kartonpappen benutze (hierzu lassen sich auch die Pappschachteln verwenden, in welchen die photographischen Platten verpackt sind).

Bei Verwendung von Pappschachteln wird auf den Boden derselben erst eine Schicht Gelatine gegossen, auf diese wird die mit Gelatine durchtränkte Kartonpappe gelegt und hierauf, wie bereits erwähnt, die 30prozentige Gelatinelösung gegossen, dann Gehirnschnitt und auf demselben eine Gelatineschicht.

Um die Gelatine etwas schneller zum Trocknen zu bringen, taucht man die Schachtel mit dem Präparat etwa 5 Minuten in 96prozentigen Alkohol und legt sie zum Trocknen hin.

Nachdem nun die Gelatine hart geworden ist und Schachtel und Kartonpappe fest miteinander verbunden sind, wird der hochstehende Rand der Schachtel sauber abgeschnitten, die Seitenränder mit Papierstreifen wie bei „Diapositiven-Platten," und die Rückseite mit weißem Papier überklebt. Um ein Krummziehen des Kartonpräparates zu verhüten, können diese auch unter eine Papierpresse gelegt werden.

[Eingegangen am 23. Februar 1914.]

Über eine einfachste Methode zur Aufhebung von Zentrifugaten.

Von

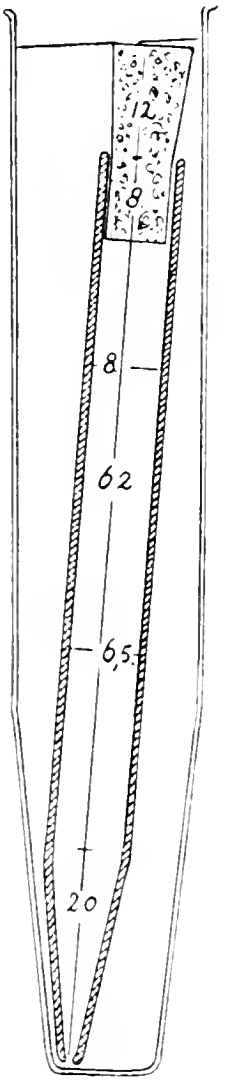
Dr. G. C. van Walsem

in Meerenberg (Holland).

Hierzu eine Textabbildung.

In einem früheren, in dieser Zeitschrift erschienenen Aufsatze (Bd. **21**, p. 172) habe ich ein Verfahren beschrieben, welches besser als die üblichen Methoden ermöglichte, auch kleinste Zentrifugatmengen auf den Objektträger zu übertragen. Obwohl mittels des beschriebenen Verfahrens tatsächlich der vorliegende Zweck erreicht werden konnte, so hat doch eine nähere Erfahrung bewiesen, daß dies auf einfachere und dazu sicherere Weise möglich ist. Bei der älteren Methode geschah der eigentliche Zentrifugierungsakt in dem üblichen Glasröhrchen und lag das Wesentliche der Neuerung in der eigenartigen Konstruktion der Transportpipette und in der besonderen Weise der Aufsaugung mittels dieser und der Ausbreitung der aufgesogenen Flüssigkeit auf den Objektträger. Das Wesentliche des hier zu beschreibenden Verfahrens liegt in der Kombination von

Zentrifugierungsrohr und Transportpipette zu einem Ganzen. Die Vorrichtung, wie sie sich bei der Harnuntersuchung empfiehlt, möge etwas ausführlicher beschrieben werden. Ein Glasröhrchen — ich möchte es Zentrifugierpipette nennen — von mittleren Dimensionen, etwa 9 cm lang, mit einer Lichtung von 6·5 mm und mit nicht zu dünnen Wänden (0·75 mm) läuft nach unten spitz zu und endet mit einer kreisförmigen Öffnung (Diameter 1 mm). Ein kleiner Korkstöpsel (dessen Dimensionen, wie alle anderen, in dem beigegebenen Holzschnitt zu finden sind) ist bestimmt, den oberen Teil der Zentrifugierpipette abzuschließen. Die Füllung der Zentrifugierpipette findet in der Weise statt, daß man, während man die untere kleine Öffnung mit dem Finger abschließt, die Flüssigkeit mittels einer gewöhnlichen Saugpipette in die obere, größere Öffnung, zufließen läßt und zwar bis noch eine kleine Luftblase in dem oberen Ende des Röhrchens stehen bleibt. In die obere Öffnung wird jetzt der Stöpsel eingeführt, man dreht die Zentrifugierpipette um, damit die kleine Öffnung obenan kommt, und schraubt dann den Korkstöpsel ziemlich fest an, jedenfalls so weit, bis die Luftblase völlig ausgetrieben ist. Wird nun die Zentrifugierpipette in den Aluminiumbehälter einer gewöhnlichen Handzentrifuge eingestellt und in den Behälter — der meinige hat eine Tiefe von 11 cm — so viel Wasser zugegossen, daß die Flüssigkeit bis zum oberen Ende des Korkstöpsels reicht, während der zweite Behälter ganz mit Wasser ausgefüllt wird, so sind beide Behälter mit einer praktisch vollkommen genügenden Genauigkeit gegenseitig ausbalanciert. Ist der Stöpsel genügend fest angeschraubt, dann geht, wie sich durch Verwendung stärkerer Farbstofflösungen leicht zeigen läßt, nur eine Spur der in der Zentrifugierpipette befindlichen Flüssigkeit in das umgebende Wasser über, welcher Übertritt zudem teilweise auf Diffusion beruht. Durch Heranziehung isotoner Flüssigkeiten könnte selbstverständlich dem entgegengearbeitet werden. Bei der Harnuntersuchung liegt es auf der Hand den Harn selber als Umgebungsflüssigkeit zu verwenden. Nach Beendung der Zentrifugierung nimmt man die Zentrifugierpipette aus dem Behälter



heraus, am einfachsten mittels einer in den Stöpsel eingesteckten Nadel, spült soviel nötig die Außenseite ab und läßt einen Augenblick abtropfen. Um zu verhüten, daß zugleich mit dem Zentrifugat etwa auch etwas von der Umgebungsflüssigkeit auf den Objektträger käme, schiebe ich an der unteren Spitze ein kleines, mit einem — 3 mm Durchmesser habenden — kreisförmigen Ausschnitt versehenes Stückchen einer dickeren Sorte Fließpapier hinauf. Dieses Stückchen Papier klemmt sich an der Pipette fest und hält alle möglicherweise von der Außenseite abfließende Flüssigkeit zurück. Setzt man jetzt die Zentrifugierpipette mit der Spitze auf den Objektträger und dreht man den Stöpsel etwas an, so sammelt sich das Zentrifugat, es sei so winzig wie es wolle, auf demselben an.

Die Dimensionen der beschriebenen Zentrifugierpipette sind so gewählt worden, wie sie mir für die Harnuntersuchung am geeignetsten erschienen. Durch Verwendung kleinerer (kürzerer oder dünnerer) Röhrchen und bei Abfüllung der Behälter zu der jeweilig entsprechenden Höhe, beziehungsweise durch Verwendung von Kapillarrohren, wird in der angegebenen Weise jede beliebig kleine Flüssigkeitsmenge sich untersuchen lassen.

[Eingegangen am 5. April 1914.]

[Aus dem Königl. Zoologischen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Prof. Willy Kükenthal.]

Die Histologie der Oxydations- und Reduktionsorte.

Von

F. W. Oelze.

Die Atmung ist eines derjenigen physiologisch-chemischen Phänomene, die bereits seit langer Zeit in ihren Anfangs- und Endprodukten genau bekannt sind, die aber in ihrem feineren Verlaufe und ihren Zwischenprodukten bei näherer Untersuchung immer geheimnisvoller und rätselhafter erscheinen. Dabei sind gerade aus Untersuchungen über die Atmung vielfach Anschauungen gewonnen worden, die zu allgemeinen und umfassenden Theorien über das Wesen der Materie der Organismen geführt haben. P. Ehrlich (1) veröffentlichte im Jahre 1885 eine Arbeit: „Über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus", die noch heute für grundlegend gehalten wird und die die Grundlagen der Seitenkettentheorie enthält. Pflüger (2) machte 10 Jahre früher seine Studien über physiologische Verbrennung. Die Abhandlungen Pfeffers (3) und Hofmeisters (4) weisen mannigfache Beziehungen zu diesem Problem auf, trotzdem ist die auf experimentellem Wege gewonnene Einsicht in den Verlauf der inneren Atmung nur gering.

In neuerer Zeit ist der Gedanke der Fermentwirkung, von Schönbein (5) eingeführt und von Traube (6) ausführlich entwickelt, mehr und mehr in den Vordergrund getreten. So ist über fermentative Oxydation und Reduktion im Organismus eine ausgedehnte Literatur entstanden. Besonders Bach (7) und Chodat haben den Gegenstand eingehend bearbeitet und auch eine Klassifikation der Atmungsfermente gegeben; es gibt Oxygenasen, eiweißartige Stoffe, die mit einem Abbaupaar Oxygen zu einer peroxydartigen Verbindung zusammentreten und ihr Oxygen wieder an andere Stoffe abgeben können, sie werden von den Peroxydasen unterstützt, die nur bei Gegenwart von Peroxyd oxydieren können. Diese beiden Fermente wurden früher als Oxydasen zusammengefaßt. Ferner gibt es

Katalasen, welche Hydroperoxyd katalytisch unter Entwicklung molekularen Sauerstoffes zersetzen, und schließlich Perhydridasen, die, um den Anforderungen der Oxydation durch den gebundenen Sauerstoff des Wassers zu begegnen, hydrolytische Oxydations-Reduktionsprozesse ebenso beschleunigen, wie es Platinmetalle tun. Hiermit ist ein wertvoller Anschluß an die zahlenmäßig genau verfolgbaren Verhältnisse bei metallischen Katalysatoren gegeben.

Die Peroxydasen sind von v. Czylharz und v. Fürth (8) qualitativ und quantitativ geprüft worden und besonders von der peroxydaseähnlichen Wirkung des Hämoglobins geschieden worden. Freilich geben diese und andere Arbeiten keine Auskunft über die Lokalisation der Fermente im Organismus. Eine wirkliche Klärung unseres Problems wird aber erst dann erfolgen können, wenn die Vorgänge der inneren Atmung im mikroskopischen Bild der Gewebe und Zellen selbst verfolgt werden können.

Hier schienen die Arbeiten von P. G. Unna (9) und seinen Mitarbeitern einen außerordentlich wesentlichen Fortschritt zu bedeuten, da hier eine eindeutige und entschiedene Beantwortung der gekennzeichneten Fragestellung gegeben wird: Es gibt reduzierende und oxydierende Gewebselemente, die Reduktionsorte enthalten Katalase, aber keine Peroxydase, die Sauerstofforte Peroxydase, aber keine Katalase. Die Sauerstofforte sind die Kerne, die Reduktionsorte das Protoplasma des Gewebes. Der Muskel ist ein Reduktionsort.

So einfach und auf den ersten Blick auch einleuchtend aber diese Theorie ist, so große Schwierigkeiten liegen bei durchgreifender Betrachtung in ihr verborgen. Dies wurde die Veranlassung, die ausgedehnte Methodik, durch die Unnas Erkenntnis gewonnen wurde, einer experimentellen Kritik zu unterziehen. Hierbei hat sich meiner Meinung nach ihre völlige Haltlosigkeit herausgestellt. Bei dem allgemeinen Interesse des Gegenstandes möchte ich hier eine kurze Zusammenfassung der Resultate meiner ausführlichen Arbeit (10) geben, mit Berücksichtigung der neuen Literatur.

Unna bedient sich zur Darstellung der Reduktionsorte verschiedener Methoden, von denen aber nur eine (auch von ihm selbst) als zunächst einwandsfrei bezeichnet wird. In eine Lösung von Kaliumpermanganat in Wasser wird eine frische, unfixierte Gefrier-

schnitte des zu prüfenden Gewebes gebracht, eine Arbeitsweise, für die sich das Wort subvital eingestellt hat. Das Kaliumpermanganat oxydiert die Reduktionsorte und wird hierbei selbst zu braunem Manganoxyd reduziert, das Manganoxyd dokumentiert dann im mikroskopischen Bilde die Reduktionsorte, also nach Unna das Protoplasma.

Nun ist Kaliumpermanganat bekanntlich ein außerordentlich energisches Oxydationsmittel, das auf viele organische Stoffe nicht nur oxydierend, sondern geradezu zerstörend einwirkt. Bei dieser brutalen Oxydation, bei der beispielsweise Oxalsäure zu Kohlendioxyd zerlegt wird, wird nun nach meiner Ansicht auch im Gewebe vieles als „Reduktionsort" gekennzeichnet, was mit dem Verlaufe der normalen Reduktion gar nichts zu tun hat.

Ferner ist unbedingt zu verlangen, wenn anders Unnas Angaben als zu Recht bestehend angesehen werden sollen, daß eine reine Protoplasmafärbung vorliegt, die Kerne also in keiner Weise gefärbt sein dürfen. Wie man sich nun leicht überzeugen kann, ist dies durchaus nicht der Fall: die Schnitte bieten das Bild einer ganz gleichmäßigen, also Kern- und Protoplasmafärbung dar! Demnach sind diese Bilder für die Unnasche Hypothese nicht nur wertlos, sondern geradezu widerlegend, da die Unnasche Hypothese durchaus exklusiv ist, und in den Kernen auf keinen Fall eine Katalase nachgewiesen werden dürfte.

Unna (11) selbst legt besonders Wert darauf, daß die Kerne der Stachelschicht der Haut in den Präparaten als helle ungefärbte Lücken erscheinen, merkwürdigerweise sind diese Kerne aber auf der beigegebenen Farbentafel als schön gelb gefärbte Elemente zu sehen, also Reduktionsorte! Wodurch die Angaben Unnas auch durch seine eigenen Figuren widerlegt werden.

Das Hauptgewicht der Arbeiten Unnas und seiner Mitarbeiter liegt indes im Nachweise der Sauerstofforte. Dieser erfolgt in der gewiß geistreichen Weise, daß die Gefrierschnitte in eine Lösung von Leukomethylenblau gebracht werden. Bekanntlich gehen viele Farbstoffe bei vorsichtiger Reduktion in sogenannte Leukobasen über. Diese tatsächlich mehr oder weniger farblosen Verbindungen regenerieren sich dann durch Sauerstoffaufnahme leicht wieder zu den ursprünglichen Farbstoffen, bei Leukomethylenblau genügt hierzu schon der Sauerstoff der Luft. Nach den übereinstimmenden Angaben von Unna und seinen Mitarbeitern bleibt eine Gefrierschnitte im Leukomethylenblau ungefärbt. Sie wird nach kurzer Zeit herausgenommen

und im Wasser gründlich abgespült, um das überschüssige Reduktionsmittel (im speziellen Falle Rongalit) zu entfernen. Die Schnitten werden dann dem Sauerstoff der Luft ausgesetzt und hier tritt eine intensive Bläuung der Schnitten ein, wodurch sich die Sauerstofforte charakterisieren, denn diese aktivieren nach Unna den Sauerstoff der Luft: diese Sauerstofforte sind die Kerne.

Hiergegen ist nun zunächst zu bemerken, daß auch der nicht aktivierte, molekulare Sauerstoff der Luft die Bläuung der Leukobase bewirkt, was sogar zu dem terminus technicus Autoxydator Veranlassung gegeben hat. Sperrt man die Schnitte von dem freien Sauerstoff ab, etwa durch Einschluß in luftfreies Wasser, so zeigt sich auch nicht die Spur einer Bläuung.

Ferner hat die Methode große theoretische Bedenken. Methylenblau ist ja ein Kernfarbstoff, wird seine Leukobase in einem Gefrierschnitte regeneriert, so ist es natürlich sehr wahrscheinlich, daß dann die Kerne gefärbt erscheinen. Selbst wenn das Protoplasma der „Sauerstoffort" des Gewebes wäre, so würden doch die Kerne am stärksten gefärbt werden. Bei sukzessiver Entstehung der Färbung und bei der doch immerhin beträchtlichen mikroskopischen Vergrößerung würde aber eine sichere Aussage über den tatsächlichen Sachverhalt kaum möglich sein. Bezüglich der hierdurch ausgedrückten „spezifischen Farbwirkung" verweise ich auf meine zitierte Arbeit. Für die Unnasche Methode ist es im Prinzip ganz gleichgültig, was für einen Farbstoff ich wähle: „jeder Farbstoff, der irgendwie zu einer Leukobase reduziert wird, muß bei seiner Regeneration die Sauerstofforte im Sinne Unnas aufzeigen. Wohin wir auf diesem Wege kommen, ist leicht einzusehen. Gelingt es uns, einen typischen Plasmafarbstoff in eine labile Leukobase zu überführen, so werden in der Schnitte, bei eintretender Regeneration des Farbstoffes, voraussichtlich die Sauerstofforte das Protoplasma sein." Diese Sätze haben inzwischen ihre Bestätigung erfahren. Pappenheim und Vacano (12) haben mit Leuko-Indigokarmin gefärbt und als Sauerstofforte Unnas Reduktionsorte erhalten! Allerdings zieht Pappenheim hieraus nicht den Schluß, daß die Methodik Unnas fehlerhaft sei, sondern stellt nur korrigierende chemische Erwägungen an. Nach meiner Ansicht allerdings ist hierdurch die Methodik Unnas unhaltbar geworden.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die Färbung mit Leukomethylenblau wirklich, wie Unna und seine Mitarbeiter angeben, eine reine Kernfärbung ist, und nicht etwa eine Kern- und Protoplasmafärbung. Unter mehreren hundert Präparaten, die ich nach Unnascher Methodik

angefertigt habe, befand sich nun auch nicht ein einziges, das eine reine Kernfärbung gezeigt hätte! Überall fand sich eine deutliche Protoplasmafärbung, es ist mir nicht erklärlich, wie diese Plasmafärbung von einem kritischen Beobachter hat übersehen werden können. Häufig widersprechen meine Präparate auch anderen Angaben Unnas, sie zeigen den Muskel als Sauerstoffort. Auf der meiner zitierten Arbeit beigegebenen Tafel habe ich meine Angaben durch Mikrophotographien erhärtet. Seltsam wirkt es, wenn Leistikow (13), ein Mitarbeiter von Unna, in seinen Abbildungen meine Angaben, Plasma- und Muskelfärbung, durchaus bestätigt und in seiner Arbeit eine Bestätigung der Ansichten Unnas konstruiert.

Ich bin übrigens in der für mich angenehmen Lage, meine Angaben noch durch ein ebenso sinnfälliges wie leicht anzustellendes Experiment belegen zu können. Nimmt man einen Stoff, den wohl niemand im Verdacht haben wird, daß er oxydative Fermente enthalte, nämlich analysenreines Filtrierpapier, und behandelt ihn genau nach Unnas Vorschrift, so dokumentiert sich das Filtrierpapier durch die eintretende intensive Bläuung als ein Sauerstoffort ersten Ranges! Hiermit habe ich nach meiner Meinung Unnas Angaben widerlegt. Nach dieser zwar unerfreulichen, aber zum Steuer der Wahrheit nötigen Kritik könnte es nun scheinen, als ob das Arbeiten mit Leukobasen zum Nachweise der oxydativen Fermente in Geweben und Zellen von gar keinem Nutzen sei. Glücklicherweise ist dem nicht so. Zwar bleibt eine Gefrierschnitte nach übereinstimmenden Angaben von Unna und von allen, die mit seiner Methode gearbeitet haben, im Leukomethylenblau ungefärbt, ein unvoreingenommener Beobachter sieht aber eine deutliche Färbung in der typischen Farbe des Farbstoffes. allerdings verschwindet diese Färbung nach kurzer Zeit (Sekunden bis wenige Minuten) wieder. Ich erkläre diese Färbung folgendermaßen: Durch den Sauerstoff, welcher sich in der Schnitte befindet, bzw. welcher durch die in dem Gewebe enthaltenen Fermente aktiviert wird, wird eine entsprechende Quantität der Leukobase in den Farbstoff zurückverwandelt. Je nachdem ob die Leukobase nun mit einem energischen oder mehr trägen Reduktionsmittel angesetzt ist, wird diese Färbung gar nicht sichtbar werden oder einige Zeit bestehen bleiben. Nach wenigen Minuten wird jedoch auch bei dem Unnaschen Leukomethylenblau die Färbung durch das im großen Überschuß vorhandene Reduktionsmittel, durch Überführen der gebildeten Farbe in die Leukobase vernichtet worden und die Schnitte wieder farblos geworden sein. Aller Sauerstoff ist dann aus der Schnitte entfernt,

wenigstens aller Sauerstoff, der unter den in Betracht kommenden Verhältnissen überhaupt entfernt werden kann. Diese Färbung bezeichne ich als primäre Sauerstoffärbung und unterscheide sie scharf von der von Unna beobachteten sekundären Sauerstoffärbung, durch den Sauerstoff der Luft.

Die primäre Sauerstoffärbung dagegen gibt uns wirklich Auskunft darüber, ob Sauerstoff in einem Gewebe enthalten ist und in welchen Quantitäten. Um die primäre Färbung konstant zu erhalten, bedient man sich der „Einschlußfärbung", man legt die Schnitte auf einen Objektträger und stellt mit dem Mikroskop ein; auf die Unterseite des Deckgläschens bringt man einen Tropfen der Leukobase. Deckt man nun zu, so kann man die sich abspielenden Vorgänge vom ersten Augenblick an verfolgen, gleichzeitig ist der Sauerstoff der Luft abgesperrt, und endlich kann bei der geringen vorhandenen Quantität Reduktionsmittel die regenerierte Farbe nicht oder doch nur äußerst langsam rückgebildet werden.

Mit dieser Methode lassen sich nun in der Tat interessante Verhältnisse nachweisen. So zeigt sich z. B. der Muskel häufig als Sauerstoffort, und in der Lunge läßt sich deutlich ein Gegensatz zwischen oxydierendem und nicht oxydierendem Gewebe feststellen. Da meine Untersuchungen jedoch noch nicht abgeschlossen sind, möchte ich mir eine ausführliche Erörterung dieser Fragen für später vorbehalten.

Es ist aber noch auf einem anderen Wege versucht worden, oxydative Wirkungen im Inneren des Organismus nachzuweisen. Ehrlich (1) wandte die Synthese des Indophenolblaues zur Bestimmung des Sauerstoffbedürfnisses an. Röhmann und Spitzer (14) benutzten die Reaktion zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes von Organbrei. Schultze (15) u. a. arbeiteten mit der Reaktion an Gefrierschnitten. Die Arbeit von Schultze bietet im besonderen einen wertvollen Beitrag zur Differentialdiagnose der Leukämien. Nach Schultze ist ein spezifisches Oxydationsferment in den Leukozyten und ihren Abkömmlingen lokalisiert, und zwar gleicherweise beim Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen und Frosch. Besonders interessant ist die Frage nach der speziellen Lokalisation des Fermentes in der Zelle. Es zeigt sich, daß es in seinem Vorkommen an die Granula der Zellen gebunden ist. Der Kern ist frei von Ferment. v. Gierke (16) weist dieses Ferment in der Granula zahlreicher anderer Zellen nach. Die Befunde von Schultze, v. Gierke u. a. stehen also im geraden Gegensatz zu den Unnaschen Ansichten; nach diesen ist der Kern der

Sitz der Oxydationsfermente, nach jenen die Zellgranula. Schultze (17) konstatiert auch in einem während der Drucklegung meiner ausführlichen Arbeit erschienenen Vortrage vor der Deutschen Pathologischen Gesellschaft, daß Unna den Beweis für seine Behauptungen schuldig geblieben ist.

Allerdings führt Schultze die Entstehung der Unnaschen Bilder darauf zurück, daß „das reduzierte Methylenblau besonders reichlich von den sauren Kernen aufgenommen wird". Diese Behauptung dürfte kaum zu beweisen sein, da das Leukomethylenblau sich als solches der Beobachtung entzieht. Erst bei der Rückbildung in den Farbstoff ist das Methylenblau-Molekül erkennbar, diese Rückbildung findet als primäre oder sekundäre Sauerstoffärbung durch den Sauerstoff der Schnitte oder der Luft statt und ist von einer etwaigen Aneutralität der Schnitte unabhängig. Erst der entstandene Farbstoff selbst läßt eine begründete Äußerung über seine spezifische Wirkung zu, nicht aber die unsichtbare Leukobase.

So sehen wir, daß die Darstellung der Oxydationsorte und Reduktionsorte in Geweben und Zellen, oder was schließlich dasselbe ist, die Lokalisation der oxydierenden und reduzierenden Fermente, noch mit großen Schwierigkeiten verknüpft ist. Vor allen Dingen muß die Frage der spezifischen Farbwirkung geklärt werden. Erst dann wird sich entscheiden lassen, ob sich auf dem gekennzeichneten Wege eine höhere Einsicht erreichen läßt, oder ob es sich nur um eine unklare Fragestellung handelt.

Literatur.

1) Ehrlich, P., Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885.
2) Pflüger, E., Über die physiologische Verbrennung in den lebenden Organismen (Pflügers Arch. Bd. **10**, 1875).
3) Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. II. Aufl. 1887—1904.
4) Hofmeister, F., Die chemische Organisation der Zelle. Braunschweig.
5) Jakoby, M., Stoffwechsel der Zelle (Oppenheimers Handb. Bd. 2, 1, 1910, p. 142).
6) Traube, M., Ges. Abhandl. Berlin 1899.
7) Bach, Ch., Oxydationsvorgänge in der lebenden Substanz (Oppenheimers Handb. Bd. 2, I, 1910, p. 193).
8) Czylharz, E. v., u. Fürth, O. v., Über tierische Peroxydasen (Beitr. z. chem. Phys. Bd. **10**, 1907, p. 358).
9) Unna, O. G., Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Arch. f. mikr. Anat., Festschr. f. Waldeyer. Bd. 78, 1911, p. 1; mit weiterer Literatur).

10) Oelze, F. W., Über die färberische Darstellung der Reduktionsorte und Oxydationsorte in Geweben und Zellen (Arch. f. mikr. Anat. Bd. 84, 1914, p. 91; mit weiterer Literatur).
11) Unna, P. G., u. Golodet, L., Zur Chemie der Haut. III. Das Reduktionsvermögen der histologischen Elemente der Haut (Monatsh. f. prakt. Dermat. Bd. 48, 1909, p. 149).
12) Pappenheim u. Nacano, Folia haemat. vol. 15, 1913; zitiert nach 17.
13) Leistikow, L., Sauerstofforte des tierischen Hautgewebes bei Anämie usw. (Mitt. f. prakt. Dermat. Bd. 53, 1911, p. 481).
14) Röhmann, F., u. Spitzer, W., Über Oxydationswirkungen tierischer Gewebe (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 28, 1895, p. 567).
15) Schultze, W. H., Die Oxydasereaktion an Gewebsschnitten usw. (Ziegelers Beitr. Bd. 45, 1909, p. 127).
16) v. Gierke, Die oxydierenden Zellfermente (Münch. med. Wochenschr. 1911, No. 44).
17) Schultze, W. H., Die Sauerstofforte der Zelle (Verh. d. deutsch. Pathol. Ges., 16 pp., 1913; mit weiterer Literatur).

[Eingegangen am 26. März 1914.]

Über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktions-Orten und ihre Anwendung auf pflanzliche Objekte. — Benzidin als Reagens auf Verholzung.

Von

Hans Schneider

in Bonn.

Die vor kurzem von P. G. Unna veröffentlichte Schrift über die „Biochemie der Haut“ (Jena 1913) hat eine über das Gebiet der Dermatologie weit hinausreichende Bedeutung. Sie bietet nämlich einerseits eine ausführliche färberische Analyse der Kern- und Plasmasubstanzen, die jedenfalls weitere Studien in dieser Richtung anregen wird, anderseits eine Zusammenfassung und Ergänzung der Unnaschen Arbeiten über die Verteilung des Sauerstoffs in tierischen Geweben.

Das wesentliche Ergebnis dieser zweiten Seite der Erörterungen Unnas ist folgendes (p. 63 seiner Schrift): „Die Reduktionsfärbungen sind im strengen Sinne des Wortes Protoplasmafärbungen, was sehr begreiflich ist, da alles Protoplasma reduziert, während die Kerne oxydieren.“ „Die frühere Trennung in Kern- und Plasmafärbungen, gestützt auf die Oxy-Basophilie der Gewebe war ungenau . . . Der durchgreifende Unterschied zwischen Kern und Protoplasma ist durch die Differenz: Oxydation und Reduktion besser gekennzeichnet . . .“

Es schien mir keine unwichtige Aufgabe, dies bemerkenswerte Resultat an pflanzlichen Objekten nachzuprüfen. Bei den darauf gerichteten Versuchen stellte sich aber bald die Notwendigkeit einer kritischen Beschäftigung mit dem Unnaschen Sauerstoffreagens „Rongalitweiß“ heraus. Dabei fand ich in Benzidin ein noch unbekanntes Reagens auf Verholzung. Die folgende Mitteilung zerfällt demnach in drei Abschnitte, die die Ergebnisse meiner Versuche schildern.

I. Reduzierende und oxydierende Wirkung der Zellbestandteile.

Über die Gültigkeit der zitierten Unnaschen Sätze hat bereits M. Schmidt[1] eine Mitteilung veröffentlicht. Ich kann mich daher hinsichtlich dieser Frage kurz fassen.

1) Legt man Schnitte der Stengel von Tradescantia zebrina in einen Tropfen Rongalitweiß, so bläuen sich die Gefäßbündel und das ihnen direkt anliegende Parenchym sofort; das übrige Parenchym folgt bald nach. Man findet, daß sich besonders die Zellwände intensiv blau gefärbt haben. Die Kerne, besonders die Kernkörperchen, heben sich dunkelblau vom übrigen Zellinhalt ab. Es ist aber deutlich zu sehen, daß sich auch das Plasma gefärbt hat, wenn auch schwächer. Dies widerspricht den Ergebnissen, die Unna bei seinen Objekten erzielt hat. Tatsächlich ist aber dies Verhalten das für Pflanzenzellen typische. Man kann es z. B. an Epidermis-Streifen von Allium-Blättern leicht demonstrieren.

Anderseits kommt es vor, daß die Kerne sich in Rongalitweiß überhaupt nicht bläuen. Bei der Orchidee Vanda teres z. B. bleiben die Kerne des Stengelparenchyms in Rongalitweiß zunächst farblos. Erst wenn das Rongalitweiß sich auch außerhalb der Objekte bläut, sieht man Kernfärbung eintreten. Das Hadrom dagegen färbt sich sofort nach Berührung mit dem Reagens. Ähnlich verhalten sich die großen Kerne des Blattparenchyms von Cattleya labiata. — Taucht man Schnitte des Blattstiels von Begonia Rex in einem mit Rongalitweiß beschickten Uhrschälchen ganz unter, so tritt selbst in zwei Stunden und noch längerer Zeit nicht die geringste Spur von Bläuung ein, vorausgesetzt, daß man nicht Luft mit den Schnitten ins Reagens gebracht hat. Weder Zellwände, noch Kern, noch Plasma sind gefärbt. Legt man dann aber die Schnitte frei auf einen Objektträger, so färben sie sich schnell im ganzen Umfange blau. Die Kerne färben sich dann auch, aber so wenig stärker als das Plasma, daß man sie bei ihrer geringen Größe nicht leicht findet.

Als Objekte, die sehr unempfindlich gegen Rongalitweiß sind, können viele Algen angeführt werden. An Diatomeen, die ich dem

[1]) Die Reduktions- und Sauerstoff-Orte der pflanzlichen Gewebe. Verhdl. d. naturw. Vereins Hamburg. 3. Folge XIX, p. 109, Hamburg 1912 (Ref. Bot. Centralbl. 123, 1913, p. 405).

Laacher See entnahm, konnte ich auch nach dreistündiger Einwirkung des Reagens keine Bläuung feststellen. Eine Algenprobe aus einem Aquarium, die ich in einen großen Tropfen Rongalitweiß brachte, enthielt Vertreter der Gattungen Cladophora, Mougeotia (De Bary) Ulothrix, Scenedesmus, verschiedene Diatomeen-Arten usw. Es färbte sich zunächst nichts. (Wenn, wie es oft vorkam, gewisse Partien des ausgebreiteten Reagenstropfens sich sofort kräftig bläuten, ließ sich mikroskopisch stets feststellen, daß diese Erscheinung von toten Partikeln [meist Blattstückchen von Myriophyllum spicatum, auch abgestorbenen Algenfäden] ausging und mit den lebenden Objekten nichts zu tun hatte.) Diatomeen und Ulothrix-Fäden reagierten auch weiterhin zunächst nicht. Bei Cladophora färbte sich die Membran relativ schnell, am kräftigsten dort, wo zwei Zellen zusammenstoßen. In Mougeotia ließen sich gelegentlich wenige schwach blau gefärbte, in Brownscher Molekularbewegung befindliche Kügelchen beobachten. Nach Verlauf von $^3/_4$ Stunde war das Bild so: Diatomeen: Wand, vielleicht auch das Plasma, schwach gebläut; Kernfärbung nicht zu bemerken; Chromatophoren ungefärbt; — Ulothrix: ganz schwache Kernfärbung; übriger Inhalt farblos; — Mougeotia: Wand und Plasma himmelblau, Kerne und Pyrenoide etwas dunkler blau; — Scenedesmus anscheinend unverändert; — Cladophora: starke Wandfärbung; der durch Druck auf ein aufgelegtes Deckglas herausgequetschte Inhalt zeigte sich wenig oder gar nicht gefärbt; keine Kernfärbung. Dieses Beispiel beweist, wie verschieden sich pflanzliche Zellen bei gleicher Behandlung mit Rongalitweiß verhalten können.

Interessant war es mir, an der Cladophora-Art zahlreiche Vorticellen zu finden. Bei ihnen färbten sich schnell und intensiv Kern und Plasma und zwar in etwa gleicher Stärke, so daß also auch diese Protozoen sich nicht so verhalten, wie die von Unna untersuchten Zellen.

Um das Verhalten des plasmatischen Zellinhalts beobachten zu können, ohne durch die Zellwände gestört zu werden, wandte ich mich an Nitella. Die Art (Nitella flexilis?) stammte aus dem Laacher See und wurde einem Aquarium entnommen. Der aus den großen Internodialzellen nach Anschneiden heraustretende Zellinhalt bläut sich in Rongalitweiß nicht. Erst wenn das Reagens sich auf dem Objektträger unter dem Einflusse des Luftsauerstoffs zersetzt, tritt Färbung ein. Zuerst bläuen sich die Stachelkugeln, erst weit später die wasserhellen Blasen, das Plasma, die Kerne. Die Färbung der Stachelkugeln ist vielleicht eine „Lebendfärbung", die an diesen Ge-

bilden mit Methylenblau ja leicht erreicht werden kann[1]. Wir werden an diesen Befund bei Nitella später anzuknüpfen haben.

Ich benutzte eine sich mir bietende Gelegenheit, auch einige Algen des Adriatischen Meeres mit Rongalitweiß zu prüfen und fand bei ihnen ein ähnliches Verhalten wie bei den Süßwasseralgen. Ulva lactuca und Dictyopteris polypodioides färbten sich erst dann allmählich, wenn das Reagens an sich bereits geblaut war. Bei Codium bursa reagierte der Zellinhalt nicht auf Rongalitweiß; die Wände tingierten sich dagegen schnell blau. Ebenso verhielt sich eine fadenförmige verzweigte Rotalge; die Schleimhülle färbte sich, der Inhalt nicht. —

Die angeführten Beispiele zeigen, daß die Bestandteile der Pflanzenzelle sich in bezug auf ihr Oxydationsvermögen recht verschieden verhalten können. Vom Unnaschen Standpunkte aus muß man aus ihnen folgern, daß auch das Plasma oxydierende Eigenschaften entfalten kann, daß anderseits dem Kerne solche fehlen können. — Im übrigen wird die Wirkung des Rongalitweiß weiterhin noch näher erörtert werden müssen.

2) Daß in der Tat die Unnaschen Sätze für Pflanzen nicht gelten, läßt sich sicherer mittelst der Unnaschen „Reduktionsfärbungen“ (p. 62 seiner Schrift) erweisen. Als Reagens auf Reduktion habe ich nur eine einprozentige Lösung von übermangansaurem Kali benutzt, da diese nach Unna die allgemeinste Anwendungsfähigkeit besitzt. Die Schnitte werden eine bis 2 Minuten in die Lösung getaucht und in destilliertem Wasser abgespült. — In Übereinstimmung mit M. Schmidt finde ich, daß die pflanzlichen Gewebe im allgemeinen sehr starke reduzierende Wirkungen ausüben. (Außerordentlich stark reduziert z. B. das Blattgewebe von Sempervivum Funckii, von Sedum acre, Sedum reflexum usw.) Nach Unna (l. c., p. 62) zeigt das durch Permanganatbehandlung entstehende Manganbild bei den von ihm untersuchten Geweben die „ganz ungefärbten Kerne“ „als runde und ovale ausgesparte Lücken in den Zellen“. Bei pflanzlichen Zellen ist das nicht, oder doch höchst selten, der Fall. Soweit meine Erfahrung reicht, färbt sich stets auch der Kern gelb bis braun, und meist stärker als das Plasma. Behandelt man z. B. Epidermisstreifen von Iris germanica mit Alkohol, dann mit Permanganatlösung, so findet man in den gewöhnlichen Epidermiszellen die Kerne kräftig gebräunt, das Plasma nur gelblich gefärbt. Die Schließ-

[1]) Overton, Botan. Zentralbl. Bd. 44, 1890, p. 1.

zellen sind so tief gebräunt, daß man die Kerne nicht erkennen kann. Dies liegt an der starken, durch die in ihnen liegenden Chromatophoren ausgeübten Reduktion, nicht an besonders kräftiger Bräunung des Plasma. Wie bei Iris verhält sich die Epidermis von Allium. Bei Begonia dagegen sind die gebräunten Schließzellenkerne, die hier nicht durch die spärlichen Chromatophoren verdeckt werden, deutlich im helleren Plasma zu erkennen. Dieses Verhältnis ist, wie schon bemerkt, bei Pflanzen die Regel. Man kann sich davon überzeugen z. B. an Schnitten von Begonia-Blattstielen, von Cattleya-Blättern, von Blatt- und Blütenstielen von Cyclamen usw. — Bei Nitella untersuchte ich die Wirkung des ausgequetschten Zellinhalts auf das Reagens. Das Plasma färbt sich in ihm gelblich, die Kerne werden sehr wenig dunkler. Energische Reduktion üben nur die Chloroplasten und die Stachelkörper aus. Die wasserhellen Blasen, die Overton (l. c.) als gleichen Wesens mit den Stachelkörpern betrachtet, bräunen sich nicht. —

Es ergibt sich aus den angeführten Beispielen, daß, wie das Oxydationsvermögen, so auch das Reduktionsvermögen der Zellbestandteile nicht bei allen Zellen gleich ist, daß ferner der Kern auch reduzierend wirken und in seiner Reduktionskraft das Plasma weit übertreffen kann.

3) Meine Versuche zeigen somit, daß der von Unna ausgesprochene Gegensatz: Kern = „Sauerstoff-Ort", Plasma = Reduktions-Ort — für Pflanzenzellen im allgemeinen keine Gültigkeit hat, da einerseits das Plasma kein reiner Reduktions-Ort, anderseits der Kern kein reiner „Sauerstoff-Ort" ist.

M. Schmidt (l. c.) bemerkt, es sei durchaus kein Widerspruch, wenn ein bestimmter Zellbestandteil sowohl reduzierend, als auch oxydierend auftrete; man könne dies Verhalten an den Chloroplasten beobachten. Ich kann das bestätigen, habe aber gefunden, daß ihre Reduktionskraft doch ihr Oxydationsvermögen bei weitem überragt. Behandelt man nämlich Schnitte von lebenden Blättern mit Rongalitweiß, so wird man fast immer die Chloroplasten nicht oder nur wenig gebläut sehen, während sie sich mit Kaliumpermanganat meist kräftig bräunen. (Zur Demonstration dieses Gegensatzes ist auch Nitella sehr geeignet.)

Als Beispiel dafür, daß sich, wenn auch nicht gerade dieselben Zellelemente, so doch dieselben Zellen als stark reduzierend und oxydierend erweisen können, möchte ich folgenden Versuch anführen.

Für die Untersuchung benutzte ich auch Algen aus dem Warmhaus des botanischen Gartens zu Bonn. Es handelte sich um einige Oedogonium-Arten und um eine nicht bestimmbare, unverzweigte Alge, die sich von jenen an den langgestreckten Zellen, den dicken Zellwänden und der prallen Füllung der Zellen mit zahlreichen Chloroplasten auf den ersten Blick unterscheiden ließ. Sie färbte sich in Rongalitweiß sofort, im Gegensatz zu den Oedogonien, tiefblau. Bei Behandlung mit Kaliumpermanganatlösung bräunte sie sich anderseits in allen Teilen sehr kräftig, während die Oedogonien nur gelblich gefärbt wurden.

II. Rongalitweiß als Reagens auf freien Sauerstoff in Zellen.

Auf p. 1 seiner Schrift sagt Unna: „Die Untersuchung der frischen Gewebe als Ganzes oder in Form von Gefrierschnitten mittels des Sauerstoffreagens ‚Rongalitweiß' zeigt, daß ... Kerne freien Sauerstoff abgeben, dadurch das Reagens bläuen und mithin als Sauerstoffquellen zu betrachten sind." Die Kerne sollen nach Unna aktivierten Sauerstoff im Überschuß besitzen, und mittels dieses „Kernsauerstoffs", wie man ihn kurz im Gegensatz zum Luftsauerstoff nennen könnte, die Bläuung des Rongalitweiß, von der oben bereits die Rede war, bewirken.

Die gewöhnliche Meinung über den Verlauf von Oxydationen in den Zellen ist das nicht. So sagt z. B. Jost in seinen „Vorlesungen über Pflanzenphysiologie"[1]: Die Enzyme „dürfen in ihrer Tätigkeit nicht mit dem aktivierten Sauerstoff verglichen werden. Dieser müßte, wenn er in der Zelle vorhanden wäre, alle oxydablen Stoffe angreifen, er könnte nicht den Zucker oxydieren und das Protoplasma und die Zellwand intakt lassen. Die oxydierenden Enzyme (Oxydasen) dagegen haben spezifische Wirkung" usw.

Es war indessen nicht das Neuartige der Ansicht Unnas, das mich veranlaßte, systematische Versuche mit Rongalitweiß zu machen; die Gründe dafür liegen in der Methode selbst. Meine ersten Versuche mit Rongalitweiß stellte ich auf dem Objektträger an, ohne ein Deckglas aufzulegen. Dies ist auch Unnas Verfahren. In seinem Buche gibt er nicht an, daß er ein Deckglas auflege, und ich habe Grund

[1]) 3. Aufl. 1913, p. 251.

anzunehmen, daß er es tatsächlich nicht tut.[1] Die Empfindlichkeit, die das Rongalitweiß gegenüber dem Luftsauerstoff an den Tag legt, ließ mich nun bald daran zweifeln, daß es der Kernsauerstoff sei, der die Bläuung des Reagens bewirke. Verschiedene Beobachtungen verstärkten diesen Zweifel.

Ich habe oben angegeben, daß Schnitte von Begonia-Blattstielen und Nitella-Zellen im Uhrschälchen mit Rongalitweiß nicht reagieren. Dies eigentümliche Ergebnis läßt sich nur auf den erschwerten Zutritt von Luftsauerstoff zurückführen; denn wenn man dieselben Objekte in einen flach auf dem Objektträger ausgebreiteten Tropfen des Reagens bringt, wobei das letztere sich unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs bläut, so färben sie sich bald. Man darf den Reagenstropfen nicht zu klein wählen, da er sonst zu schnell eindampft. Befeuchtet man das Präparat von Zeit zu Zeit, so genügt aber bereits eine geringe Menge Rongalitweiß, um die Bläuung des Objekts eintreten zu lassen. — Dies legt den Gedanken nahe, daß die Wirkung des Rongalitweiß, wenigstens in der Hauptsache, hervorgerufen sein könne durch Methylenblau, das durch den nicht abgehaltenen Luftsauerstoff aus dem Reagens freigemacht werde und nun in statu nascendi wirke, zunächst vielleicht intravital. Dafür, daß zunächst sogen. „Lebendfärbung" eintritt, spricht die Beobachtung, daß bei Nitella sich zuerst und am intensivsten die Stachelkugeln tingieren. Bei einem Versuch, den ich mit Spirogyren im Uhrschälchen mit wenig Rongalitweiß ausführte, fand sich, daß sich zunächst die Wand bläute; dann trat im Zellinhalt Bläuung ein, die wesentlich an körnige Fällungen geknüpft war. (Erst viel später färbten sich die Kerne schwach blau.) Die Erscheinung stimmte in manchem mit den bei

[1]) In seinem Aufsatz über „die Reduktions- und Sauerstoff-Orte des tierischen Gewebes" (Arch. f. mikrosk. Anat. 78, 1911) gibt Unna sein Verfahren an. Er behandelt die Objekte mit Rongalitweiß, wäscht dann mit Wasser aus und setzt die Schnitte auf dem Objektträger feucht der Luft aus. Das Auswaschen hat den Zweck, anwesendes Rongalit, das bei Unnas Versuchen die Bläuung der Objekte im Rongalitweiß zunächst ganz verhinderte, zu beseitigen. Bei pflanzlichen Objekten tritt meist sofort beim Einbringen in Rongalitweiß Bläuung ein, wodurch sich die Behandlung mit Leitungswasser erübrigt. Bei Objekten, die sich nicht direkt durch Rongalitweiß bläuen, läßt sich durch nachträgliche Behandlung mit Wasser Färbung erzielen; diese beruht dann aber auf der Wirkung des im Wasser enthaltenen Sauerstoffs. Aus eigenen Versuchen Unnas „geht mit Sicherheit hervor, daß die Bläuung der von Rongalitweiß befreiten Schnitte unter Mitwirkung des Luftsauerstoffs vor sich geht." (l. c.)

der „Lebendfärbung“ des Gerbstoffs durch Methylenblau[1] auftretenden überein. — Außerdem machte mich die starke Färbung der Zellwände, die fast überall an erster Stelle den Gesamteffekt des Reagens bestimmt, stutzig.

Danach war es berechtigt zu fragen: Ist die Unnasche Rongalitweißmethode geeignet, die Existenz freien Sauerstoffs in den Zellen zu beweisen? Zunächst galt es, die Bedeutung des Luftsauerstoffs für die Bläuung des Reagens festzustellen.

a. Abschluß des Luftsauerstoffs durch Auflegen von Deckgläsern.

1) Ich berichte zunächst kurz über einige Vorversuche, bei denen ich den Luftsauerstoff durch schnelles Auflegen großer Deckgläser (45 × 25 mm) auf die mit Rongalitweiß überdeckten Objekte nach Möglichkeit abzuhalten suchte.

a. Allium Cepa. Epidermis junger Blätter: Erst nach 3 Stunden färben sich die Kerne, aber schwach. Das Plasma färbt sich nicht.

b. Mucor, ältere Kultur: Nach 4 Stunden hat sich noch nichts gefärbt, als die Sporen, welche unmittelbar am Rande des Deckglases liegen.

c. Fontinalis antipyretica und Diatomeen, an dem Moos festsitzend: Nach 7 Stunden ist noch gar keine Bläuung zu bemerken.

d. Corylus avellana, Pollenkörner: Völlig negatives Resultat.

e. Taxus baccata, Pollenkörner: Nach einer Stunde ist die Wand etwas gefärbt; der Inhalt erscheint geschrumpft und ungefärbt.

f. Die folgenden Versuche wurden mit teilweise oxydiertem Rongalitweiß unternommen, das bereits durch geringe Sauerstoffzufuhr gebläut wurde:

1) Cladophora sp.: Membran ziemlich schnell blau gefärbt, sonst nichts.

2) Diatomeen an der Cladophora färben sich nicht.

3) Ulothrix sp.: Völlig negatives Resultat.

g. Aphanothece (aus einem Gewächshaus): Der auf eine dünne Schicht der Gallerte gebrachte Reagenstropfen füllte den Raum unter dem Deckglas nicht ganz aus. Sein Rand färbte sich bald intensiv blau. Das Objekt selbst färbte sich aber erst nach 6 Stunden, und nur da, wo sich das Reagens bis an die Grenze der Gallerte zurückgezogen hatte. Die Gallerte wurde schwach gefärbt, die Zellen fanden sich stärker gebläut.

[1]) Pfeffer, Untersuchungen aus d. bot. Instit. Tübingen Bd. 2.

2) Das Ergebnis dieser mit den verschiedensten Objekten unternommenen Versuche, das für das Eingreifen des Luftsauerstoffs in den Bläuungsprozeß spricht, veranlaßte mich, eine Reihe von Objekten zuerst frei, sodann unter einem Deckglas mit Rongalitweiß zu behandeln. Um den Luftsauerstoff abzuhalten, wurde das Rongalitweiß auf ein großes Deckglas geträufelt und letzteres mit schneller Schwenkung dem direkt vom Messer auf den Objektträger gebrachten Schnitt aufgelegt. Oft erwies es sich zweckmäßiger, die Schnitte schnell in ein mit Rongalitweiß gefülltes Uhrglas zu tauchen und darin zu beobachten oder auf den Objektträger zu übertragen und zu bedecken. Beide Methoden sind primitiv; die Ergebnisse lassen aber doch schon einen Schluß auf die Rolle des Luftsauerstoffs bei dem Bläuungsprozeß zu.

a. Iris germanica, Epidermis. Versuch ohne Bedeckung: Schnelle Bläuung der Wände und des Zellinhalts, besonders der Kerne. Versuch mit Bedeckung: Wenn es gelungen ist, die Luft aus dem Objekt fernzuhalten (was hier nicht ganz leicht ist, da sie sich in den Spaltöffnungen fängt), beobachtet man zunächst keine, erst später eine dem ersten Versuch entsprechende Färbung.

b. Begonia sp., Blattstiel. Die benutzte Art weist auf dem ganzen Blattstielquerschnitt anthocyanhaltige Zellen neben anthocyanfreien auf. Es sind hauptsächlich die letzteren, welche Kalziumoxalat in verschiedener Form, meist als Drusen, führen. Versuch ohne Bedeckung: Die Zellwände bläuen sich sofort, besonders stark die der Gefäßbündel und die kollenchymatisch verdickten der äußeren Rindenzone. Im übrigen bläuen sich vorerst nur die anthocyanfreien Zellen. Es treten in ihnen tief grünblau gefärbte Gerinnsel, später auch reinblau gefärbte kreisförmige oder unregelmäßige Flecken auf. Dieselben Erscheinungen beobachtet man weiterhin auch in den Anthocyanzellen. Die Chloroplasten (z. J. als vergrünte Leukoplasten in Stärkebildung begriffen) verändern sich nicht. — Versuch bei Bedeckung: Es färbt sich stundenlang nichts (vgl. oben). Erst wenn das Reagens sich selbst bläut, wird auch das Objekt gefärbt.

c. Algen aus dem Warmhaus des botanischen Gartens zu Bonn. Die Wirkung von Rongalitweiß auf die unbedeckten Objekte ist unter I. schon beschrieben worden. — Versuch bei Bedeckung: Es tritt keine Färbung ein, auch nicht an der Alge, die sich beim Versuch ohne Deckglas intensiv bläut. Beim allmählichen Verdunsten des Reagens färbt sich die ganze Algenprobe.

d. Die oben erwähnten Meeresalgen verhalten sich bei dem Versuch unter Deckglas wie die Süsswasseralgen (bei der Rotalge färbte sich allerdings die Schleimhülle ziemlich schnell).

e. Ficus elastica, Blatt. Versuch ohne Bedeckung: Es färben sich sofort die Gefäßbündel und das umliegende Parenchym, sowie die

Köpfe der Cystolithen (nicht, oder ganz schwach, ihre Stiele). In den gefärbten Teilen ist nichts von Kernfärbung zu sehen. Der Milchsaft von Ficus übt auf das Rongalitweiß sehr geringen Einfluß aus. — Versuch bei Bedeckung: Es ist nicht leicht, die Luft aus den Schnitten abzuhalten. Es genügt, wenn sie streckenweise davon frei sind; an diesen Stellen tritt dann keine Färbung ein. Erst beim Eintrocknen des Reagens findet man Methylenblaufärbung.

f. Iris germanica, Rhizom. Versuch ohne Bedeckung: Es tritt sofort Bläuung im ganzen Schnitt, am tiefsten in den Gefäßbündeln auf, die vor allem die dicken Zellwände, anscheinend nie die Kerne betrifft. — Versuch bei Bedeckung: Eine Bläuung ist nicht zu verkennen; doch ist sie schwach. Solange sich das Rongalitweiß unter dem Deckglas nicht bläut, verstärkt sich diese Färbung, wenigstens bei ganz frischem Material, nicht. Darin liegt ein wesentlicher Unterschied gegen den Versuch bei unbedecktem Objekt.

g. Ebenso verhalten sich Schnitte durch Kartoffelknollen und Blätter von Allium Cepa und Sempervivum Funckii. Bei letzterem Objekt ist die unter Deckglas eintretende Bläuung sehr schwach und mikroskopisch nur an den Nukleolen der großen Kerne zu konstatieren.

h. Cattleya labiata, Blatt. Versuch ohne Bedeckung: Sofort tritt energische Bläuung ein, die vor allem die Gefäßbündel und die Epidermis sowie die darunter liegende Zellschicht betrifft. Dort sind auch manche Parenchymzellen stärker gebläut. Leicht läßt sich feststellen, daß die großen Kerne, vor allem die Nukleolen gefärbt sind. Aber diese Färbung bleibt schwach und verschwindet bald wieder. Die Zellwände sind dagegen kräftig gebläut. — Versuche mit Bedeckung: Man erhält meist dieselbe Färbung. Bei manchen Versuchen bläuten sich die Epidermis und die ihr untergelagerte Schicht nicht, und die Parenchymzellen färbten sich ganz unregelmäßig grünlich bis bläulich; der Effekt des Reagens war hier also geringer.

Überblickt man die beschriebenen Versuche, so wird man zugeben müssen, daß die Bläuung, die die Objekte bei Behandlung mit Rongalitweiß ohne Abschluß der Luft erfahren, zum großen Teil auf der Einwirkung des Luftsauerstoffs beruht. Es muß auffallen, daß dies am entschiedensten durch die Experimente mit einzelligen Objekten, am wenigsten durch die mit Schnitten von Blättern (vgl. Cattleya) bewiesen wird. Wie sich zeigen wird, liegt das daran, daß bei jenen (z. B. Algen) leicht, bei Blattschnitten also kaum die Luft abzuhalten ist. Immerhin wäre auch die Möglichkeit zu erwägen, ob bei den Blättern nicht Peroxydasen im Spiele seien (vgl. unter e).

3) Die Bedeutung des Luftsauerstoffs für die Bläuung des Rongalitweiß ergibt sich deutlich, wenn man die unter 2) erwähnten Versuche fortsetzt, indem man nachträglich Luft einwirken läßt. Der Querschnitt eines Begonia-Blattstiels z. B. färbt sich unter dem Deckglas nicht mit Rongalitweiß. Saugt man nun das Reagens soweit ab, daß an einer Seite die Luft zum Objekt tritt, so sieht man bald an dieser Stelle Bläuung auftreten und sich von hier aus allmählich über den ganzen Schnitt verbreiten (vgl. auch den Versuch 1) g mit Aphanotece).

Bei großen flächenartigen Objekten, z. B. Stücken des Thallus von Ulva, die man nach Zusatz von Rongalitweiß bedeckt und längere Zeit sich selbst überläßt, sieht man die nach zuvoriger Bläuung des Reagens stattfindende Blaufärbung zuerst am Rande eintreten. Wäre wirklich der Kernsauerstoff für die Bläuung bedeutungsvoll, so sollte man erwarten, sie gleichzeitig im ganzen Objekt in Erscheinung treten zu sehen. Hieraus folgt wieder, daß erst der Luftsauerstoff aus dem Reagens Methylenblau gebildet haben muß, wenn die Objekte sich bläuen sollen.

b. Entfernung des Luftsauerstoffs durch Absorption.

Um völlige Beseitigung des Luftsauerstoffs zu erzielen, wandte ich die von der Kultur der anaeroben Bakterien her bekannte Methode der Absorption durch alkalische Pyrogallollösung an. Ich verfuhr folgendermaßen: Auf den Boden eines Schälchens brachte ich einen Tropfen Rongalitweiß und legte den zu prüfenden Schnitt ziemlich dicht daneben. Das Schälchen wurde nun mit der Bodenfläche nach oben in eine Petri-Schale gestellt, auf deren Boden mit Siegellack ein Glasstäbchen von solcher Länge, daß es fast den Boden des Schälchens erreichte, festgekittet worden war. In die Petri-Schale wurde hierauf eine schnell absorbierende Mischung von gleichen Teilen 12·5prozentiger Kalilauge und 5prozentiger Pyrogallollösung[1] gegeben und mit Paraffin- oder Olivenöl überschichtet. Der Abschluß mit Öl, der für Dauerversuche nicht ausreichend ist, bewährte sich hier vollkommen. Nach meist 3- bis 4stündiger Einwirkung des Pyrogallol (diese Zeit genügte stets) verschob ich das umgekehrte Schälchen in der größeren

[1]) Küster, Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen 2. Aufl. Leipzig 1913, p. 69.

Schale, so daß der Glasstab durch das Rongalitweiß zum Objekt geführt wurde bzw. das Objekt in den Rongalitweißtropfen hineinschob.

Wie nach den unter a. beschriebenen Versuchen zu erwarten war, blieb unter den angegebenen Versuchsbedingungen eine Bläuung der Objekte, als welche Schnitte durch nicht ergrünte Spargeltriebe, Radieschenknollen, Begonia-Blattstiele, Sempervivum-Blätter, Stengel von Impatiens Sultani und Lunaria biennis, sowie Zwiebelblätter der Tulpe herangezogen wurden, völlig aus. Dies würde vollkommen beweisen, daß freier Sauerstoff gar nicht in den Zellen existiert, wenn nicht mit dem Einwande gerechnet werden müßte, daß die absorbierende Flüssigkeit auch den Kernsauerstoff entfernt habe. Dieser Entzug des Kernsauerstoffs könnte zwar nur relativ langsam durch Diffusion vor sich gehen; doch ließe sich ja behaupten, sobald die Bläuung des Rongalitweiß nicht mehr eintrete (bei den Radieschenknollen z. B. nach etwa einstündiger Wirkung des Pyrogallol), sei auch kein Kernsauerstoff mehr vorhanden.

Nehmen wir an, daß diese Behauptung zu Recht bestehe, so gibt uns die beschriebene Versuchsanordnung doch nach anderer Seite bestimmte Auskunft. Hebt man nämlich nach Ausführung des vorigen Versuchs das Schälchen mit dem Objekt für einen Augenblick soweit, daß Luft eintreten kann, so tritt unter dem Einfluß des zutretenden Luftsauerstoffs schnelle und intensive Bläuung des Objekts ein, die sich in nichts von der Bläuung eines direkt vom Messer kommenden Schnitts unterscheidet, manchmal sogar noch intensiver zu sein scheint. Bei der erwähnten Annahme beweist dies, daß freier Sauerstoff in den Zellen für die Bläuung der Objekte absolut nicht erforderlich ist.

Entweder gibt es also keinen freien Sauerstoff in den pflanzlichen Zellen (Kernen), oder er ist wenigstens zum Gelingen der Rongalitbläuung ganz unnötig und trägt kaum etwas zu ihr bei.

Zu einer zweiten Versuchsreihe benutzte ich Pflanzen, deren Verhältnis zum Sauerstoff recht verschiedenartig ist: Oscillarien, Aspergillus, Vaucheria repens, Mnium und Fumaria, Schnitte durch Kartoffelknollen und Haare von Begonia und Salvia, Schnitte durch ruhende Samen von Vicia faba und Pisum sativum, sowie durch junge Triebe von Rumex, Asparagus und Pelargonium, als Wasserpflanzen Helodea densa und Batrachium. Bei allen trat keine Bläuung ein. Daß sich assimilierende und nichtassimilierende Zellen

gleich verhalten, ließ sich an Schnitten durch Flechten (Xanthoria) und gefleckte Blätter (Caladium, Acer, Aucuba) feststellen.

c. Entfernung des Luftsauerstoffs durch Evakuierung.

Bei diesen Versuchen entzog ich in luftfreies Wasser gebrachten kleinen Stücken der im vorigen Abschnitt genannten Objekte die Interzellularenluft durch eine kräftig wirkende Wasserstrahlluftpumpe, fertigte schnell Schnitte von ihnen an und übertrug diese auf Objektträger oder tauchte sie sofort in Uhrschälchen mit Rongalitweiß[1]. Trotzdem die Gefahr bestand, daß Luftsauerstoff sich den Objekten anheften könne, war das Resultat eindeutig. Auf dem Objektträger bläuten sich die Schnitte allmählich, im Uhrschälchen blieb die Bläuung aus.

Aus diesen Versuchen ergibt sich wiederum die im vorigen Abschnitt bereits gezogene Folgerung. Da aber nicht anzunehmen ist, daß in der kurzen zur Evakuierung erforderlichen Zeit der von Unna angenommene freie Kernsauerstoff aus den Zellen herausdiffundiert sein könnte, so beweist der negative Ausfall der Versuche im Uhrschälchen nach meinem Ermessen, daß freier überschüssiger Sauerstoff in der Zelle auf Grund von Versuchen mit Rongalitweiß nicht angenommen werden darf.

d. Versuche über die Bedeutung der Peroxydasen für die Bläuung des Rongalitweiß.

1) Es wurde oben gesagt, daß die Frage nach der Bedeutung von Peroxydasen bei der Bläuung durch Rongalitweiß geprüft werden

[1]) Im Prinzip ähnelt die Evakuierung der Objekte unter luftfreiem Wasser dem Unnaschen Verfahren, nach welchem die mit Rongalitweiß behandelten Objekte sukzesive in drei Glasröhrchen mit luftfreiem Wasser gebracht werden, bis die auftretende Bläuung verschwunden ist. Unna (Arch. f. mikrosk. Anat. 78, 1911, p. 36) legt aber nach dieser Behandlung die Schnitte feucht und unbedeckt auf den Objektträger. Daß dann noch eine, allerdings schwache Bläuung eintritt, kann nicht verwundern; ganz geringe Spuren von Rongalitweiß können solche Bläuung an der Luft veranlassen. Die am angegebenen Orte geschilderten Versuche Unnas können darum nicht entscheidend sein.

müsse, weil einige der Pflanzen, die sich auch unter dem Deckglas mit Rongalitweiß bläuten, sehr reich an Peroxydasen sind (Cattleya, Iris, Solanum tuberosum, Sempervivum Funekii). Außerdem regt zu solcher Prüfung an, was Unna auf p. 2 seiner Schrift sagt: „Die Sauerstoffproduktion im Gewebe der Haut, wie aller übrigen Gewebe, beruht auf dem Vorhandensein von Sauerstoffermenten, welche den molekularen, inaktiven Sauerstoff, den das Plasma an die Zelle heranbringt, zu aktivieren vermögen. Die Ferment-Orte fallen mit den primären Sauerstoff-Orten: Kernen und Mastzellen, zusammen. Es ist bisher an diesen Ferment-Orten nur Peroxydase, aber weder Oxydase noch Peroxyd gefunden worden . . . In den Kernen ist außer Peroxydase höchst wahrscheinlich ein mineralischer, eisenhaltiger Aktivator des Sauerstoffs tätig, während Katalase in den Kernen nicht enthalten ist.“ Hiernach haben auch für Unna die Peroxydasen große Bedeutung für die Bläuung des Rongalitweiß in den Objekten, allerdings nicht direkt, sondern nur, sofern sie den erforderlichen Sauerstoff produzieren.

Als Reagens für Peroxydasen kommt Rongalitweiß selbst dann, wenn Peroxydasen die Bläuung mitbedingen, aus denselben Gründen, die gegen seine Verwendbarkeit zum Nachweis freien Sauerstoffs sprechen, nicht in Betracht.

2) Ich verwandte bei den folgenden Versuchen als Reagens auf Peroxydasen das von Unna empfohlene, wohl zuerst von Račiborski[1] eingeführte Benzidin, und zwar nach Unnas Vorschrift, indem ich die Schnitte bzw. Objekte einige Minuten in ein Gemisch gleicher Teile von einprozentiger alkoholischer Benzidinlösung und 3prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung brachte. Die Farbreaktion mit den Peroxydasen ist erst blau und geht dann, je nach dem Enzymgehalt, in braun bis schwarz über. Das Benzidin, in der angegebenen Weise benutzt, ist ein gutes Reagens auf Peroxydasen, da die mit ihm erreichbare Färbung kräftig, gut lokalisiert und, wie es scheint, in Kanadabalsam haltbar ist. — Daneben gebrauchte ich Pyrogallol nach der Angabe von Bach und Chodat[2]. Die Schnitte werden einige Zeit mit einer Mischung gleicher Teile von 10prozentiger wässeriger Pyrogallollösung und einprozentiger H_2O_2-Lösung behandelt. Das Reagens ist nach meinen Erfahrungen auch mikroskopisch wohl

[1]) Über die extrazellulare Oxydase (Bull. Ac. d. Sc. de Cracovie, Math.-nat. Kl., 1905, p. 668).

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 37, 1904.

verwendbar. Die gelbbraune bis orange Färbung, die es hervorruft, ist zwar nicht so kräftig und auffallend wie die Benzidinfärbung, aber doch gut sichtbar und nicht so diffus wie die Guajak-H_2O_2-Reaktion.

3) Es brauchen durchaus nicht immer die „Sauerstoff-Orte" im Sinne Unnas und die Ferment-(Peroxydasen-)Orte zusammenzufallen. Mit Benzidin + H_2O_2 färben sich z. B. die Cystolithen der Ficusblätter nicht, während ihre Köpfe sich mit Rongalitweiß, zumal wenn kein Deckglas aufliegt, intensiv bläuen. Anderseits zeigen die Chloroplasten von Cattleya durch ihre tiefe Bräunung in Benzidin deutlich Peroxydasegehalt an: mit Rongalitweiß reagieren sie aber nicht.

Bei Ficusblättern, die 4 Tage in Alkohol gelegen hatten, also Peroxydasen (eventuell auch Leptomin) noch enthielten, färbten sich mit Rongalitweiß die Sklerenchymscheiden der Gefäßbündel und das anliegende Parenchym grünlichblau, desgleichen viele (nicht alle) Zellen des Schwammparenchyms. Die Gefäßbündel und viele (nicht alle) Zellen der Palisadenschicht reagierten mehr reinblau. Die Cystolithenköpfe färbten sich tiefblau. Auf Benzidin reagierten dagegen nur die Gefäßbündel und das umliegende Parenchym mit schwarzer Färbung. Das gesamte Blattparenchym und die Cystolithen blieben ungefärbt. — Auch dies spricht nicht dafür, daß die Peroxydasen wesentliche Bedeutung für die Rongalitreaktion haben.

4) Wichtiger als diese Versuche sind die folgenden mit peroxydasefreiem Material. Die Objekte wurden 6 Tage lang mit absolutem Alkohol behandelt, dann 10 Minuten lang in destilliertem Wasser gekocht. Hierauf ließ ich sie 18 Stunden lang in destilliertem Wasser stehen, kochte sie noch einmal kurz auf und brachte sie in Alkohol. Bei so energischer Behandlung werden alle oxydierenden Fermente beseitigt. Ich überzeugte mich aber vorsichtshalber von der Abwesenheit der Peroxydasen durch Versuche mit Benzidin und Pyrogallol (s. o.), von der des Leptomins durch Ausführung der Rac̆iborski-schen Reaktion mit α-Naphthol + H_2O_2[1]. Dann behandelte ich mit Rongalitweiß auf dem Objektträger und erhielt folgende Resultate:

Iris germanica, Rhizom	Diffuse und nicht sehr starke Bläuung des ganzen Schnitts.
Kartoffelknolle	„

[1]) Flora Bd. 85, 1898, p. 362.

Begonia sp., Blattstiel	Allgemeine Bläuung, am stärksten in den Gefäßbündeln und im Kollenchym der Rinde.
Ficus, Blatt	Diffuse Grünblau-Färbung. Cystolithenköpfe tiefgefärbt (manchmal nur die innere Partie).
Cattleya, Blatt	Diffuse Färbung. Kutikula und Sklerenchympartien ungefärbt.

Im allgemeinen war die Färbung weniger schnell und intensiv, auch verschwommener als bei frischem Material; sie glich darin der nach Evakuierung eintretenden. Immer aber trat Färbung ein. Damit ist gezeigt: Peroxydasen sind zur Bläuung der Objekte durch Rongalitweiß nicht erforderlich. Es ergibt sich daraus indirekt, daß auch der nach Unna durch die Peroxydasen produzierte freie Sauerstoff nicht erforderlich ist. Übrigens beweisen die Versuche das auch direkt, denn nach der geschilderten Vorbehandlung der Objekte konnte freier Sauerstoff in ihren Geweben doch wohl nicht mehr anwesend sein. — Selbstverständlich beweisen die Versuche nicht, daß auch bei frischen Objekten die Peroxydasen nicht an der Rongalitbläuung beteiligt seien; eine wesentliche Rolle spielen sie aber wohl auch bei ihnen nicht. —

Es verdient Aufmerksamkeit, daß nach Evakuierung und nach der geschilderten, zur Entfernung der Peroxydasen dienenden Behandlung die Bläuung langsamer eintritt und diffuser ausfällt, als bei frischen Objekten und nach Absorption des Sauerstoffs. Der Grund ist der, daß in den ersten Fällen die Objekte vollständig von Flüssigkeit durchtränkt und somit keine Orte besonders intensiver und schneller Oxydation des Rongalitweiß gegeben sind. In den anderen Fällen stellen die weitlumigen Gefäße, die sich normalerweise zuerst bläuen, solche dar. (Im Anschluß hieran sei erwähnt, daß das Rongalitweiß in lebenden Pflanzenteilen schnell aufsteigt. Schnitte, die verschiedenen Höhen entnommen werden, lassen erkennen, daß die Färbung zuerst nur die Gefäßwände betrifft, dann auf das Leptom und schließlich von den Gefäßbündeln aus auf das umliegende Parenchym übergeht.)

5) Die Ergebnisse an peroxydasenfreiem Material gaben Veranlassung, das Rongalitweiß auch auf Schnitte aus Holundermark anzuwenden. Sie bläuen sich selbst nach Auskochen, schnell und kräftig. Ebenso verhielt sich altes Alkoholmaterial von Saccharum

officinarum und Cucurbita Pepo. Selbst durch Bestreuen des Objektträgers mit Kreidepulver, zerriebenem Löß u. dgl. erreicht man, daß sich das Rongalitweiß schneller bläut, als es auf dem glatten Objektträger der Fall ist. Die Größe der Berührungsfläche des Reagens mit Sauerstoff bedingt demnach zum Teil die Schnelligkeit der Bläuung. Schnitte durch Pflanzenteile vergrößern die wirksame Oberfläche gegenüber der glatten Ebene des Objektträgers bedeutend; bei ihnen kommt außer diesem rein physikalischen Faktor die Speicherungsfähigkeit ihrer Elemente (Wände, Kerne) für Methylenblau noch in Betracht. — Auch diese Beispiele sind geeignet, zu zeigen, daß Luftsauerstoff allein die intensive Bläuung der Objekte zu bewirken imstande ist.

e. Bemerkungen über die Sauerstoffempfindlichkeit des Rongalitweiß.

Einer unangenehmen Eigenschaft des Rongalitweiß möchte ich hier gedenken. In einem nicht ganz gefüllten Gefäß oxydiert sich die oberste Schicht des Rongalitweiß und wird blau: zum mindesten bläuen sich die Tropfen, die oberhalb des Flüssigkeitsspiegels am Glase hängen. Schüttelt man das Gefäß nun, so mischt sich das gebläute Reagens mit dem nicht oxydierten, und die Bläuung verschwindet. Das macht sich auch bei den Versuchen mit pflanzlichen Objekten bemerkbar. Wenn die Bläuung im Rongalitweiß schwach ist, so verschwindet sie sehr bald bei weiterer Einwirkung des Reagens. Es zeigt sich also, daß das Rongalitweiß Sauerstoff aufnehmen kann, ohne sich zu bläuen; die dauernde Bläuung tritt erst bei einer bestimmten Sauerstoffladung ein.

Ich habe einige orientierende Versuche mit Glaskapillaren angestellt, die ich zum Teil mit Rongalitweiß füllte und dann beiderseits verschloß. Selbst wenn man die Kapillaren nur zum 4. bis 5. Teile füllt, sieht man doch noch die zuerst auftretende Bläuung verblassen und verschwinden. Bei erschwertem Sauerstoffzutritt brauchte danach eine Bläuung gar nicht einzutreten, wenn nämlich die Oxydationsprodukte Zeit hätten, sich im Rongalitweiß genügend zu verteilen. Auch von dieser Seite könnten sich demnach Bedenken gegen die Möglichkeit des Nachweises freien Sauerstoffs in Kernen oder Zellen überhaupt mittels des Rongalitweiß erheben.

f. Folgerungen.

Das Ergebnis dieses Abschnitts läßt sich wohl dahin zusammenfassen, daß die Bläuung der Objekte durch Rongalitweiß eine sekundäre Erscheinung ist und auf Methylenblaubildung durch Einwirkung des Sauerstoffes der Luft zurückgeführt werden muß. Freier Sauerstoff in Kornen spielt bei dem Prozeß keine Rolle. Es ist nicht gestattet, auf Grund von Experimenten mit Rongalitweiß die Existenz solchen Sauerstoffs anzunehmen: vieles spricht vielmehr dafür, daß in der lebenden Zelle überschüssiger aktivierter Sauerstoff nicht vorkommt. Auch Peroxydasen sind zur Bläuung des Rongalitweiß nicht erforderlich.

III. Benzidin als Reagens auf Verholzung.

Bei der Prüfung pflanzlicher Gewebe auf Peroxydasen mittels Benzidin + H_2O_2 fand ich, daß Benzidin in saurer Lösung eine spezifische Holzreaktion gibt. Es verleiht den verholzten Wänden, und nur diesen, eine kräftige gelb- bis rot-orange Färbung. Beseitigt man die aromatischen Anteile der Holzmembran, so bleibt die Reaktion (wie auch andere Holzreaktionen) aus.

Die von mir gefundene Holzreaktion, die in der mir zugänglichen Literatur nicht erwähnt wird, scheint für histochemische Zwecke recht brauchbar zu sein. Ihre Ausführung ist sehr einfach: Schnitte von frischem oder von Alkoholmaterial werden zunächst für kurze Zeit in angesäuertes Wasser gebracht und sodann in einprozentige alkoholische Benzidinlösung übertragen. Verholzte Wände färben sich dann schnell orange, je nach dem Grade der Verholzung mehr nach gelb oder rot hin.

Zur Ansäuerung des Wassers kann man, wie es scheint, eine beliebige Säure benutzen: wenigstens konstatierte ich den Eintritt der Reaktion bei Verwendung von Salzsäure, Salpetersäure, Essig-, Salizyl- und Oxalsäure. Man fügt zu einem Uhrschälchen voll Wasser einen Tropfen konzentrierter Säure (1 Teil konz. Säure: 25 bis 30 Teilen Wasser). Die Möglichkeit beliebiger Wahl der Säure kann von Vorteil sein, wenn bestimmte Stoffe in den Geweben erhalten bleiben sollen. Bei Benutzung von Essigsäure würden beispielsweise Calciumoxalatkristalle natürlich nicht zerstört werden.

Bei der Übertragung der Schnitte in die Benzidinlösung entsteht infolge der Bildung von Kristallnadeln eine weiße Trübung, die durch Auswaschen in Alkohol beseitigt wird. Man kann die Kristallbildung ganz vermeiden, indem man erst mit der Benzidinlösung, dann mit dem angesäuerten Wasser behandelt. Die Reaktion tritt dabei in der gleichen Weise ein, scheint allerdings einen mehr gelben Farbenton zu erzeugen. Noch einfacher ist es, das Übertragen zu umgehen und mit nur einer Lösung zu arbeiten, die man durch Zusatz von etwas Benzidin — es löst sich nur wenig — zu angesäuertem Wasser erhält. Des besseren Eindringens wegen setzt man etwas Alkohol zu. Dies Verfahren wäre auch zu makroskopischen Demonstrationen (Nachweis von Holz in Zeitungspapier usw.) zu empfehlen.

Die Holzfärbung mit Benzidin wird von destilliertem Wasser und reinem Alkohol nicht ausgezogen. Über ihre Haltbarkeit in Dauerpräparaten habe ich naturgemäß noch wenig sichere Erfahrung. Im Apáthyschen Gummisirup verblaßt sie jedenfalls schnell. Auch in Glyzerin-Gelatine (nach Kaiser) verschwindet sie in einigen Tagen bis Wochen. Dagegen scheint sie in Kanadabalsam bei Verwendung von Alkoholmaterial, nach gutem Auswaschen in Alkohol und schnellem Übertragen durch Xylol wenigstens längere Zeit haltbar zu sein.

IV. Zusammenfassung.

1) Der von Unna aufgestellte Satz, daß der Zellkern oxydierend, das Plasma dagegen reduzierend wirke, trifft auf Pflanzenzellen nicht allgemein zu, wie die im ersten Abschnitt erwähnten, vom Unnaschen Standpunkt aus unternommenen Versuche zeigen.

2) Mit Hilfe des Sauerstoffreagens Rongalitweiß läßt sich die Anwesenheit freien überschüssigen Sauerstoffs in Kernen nicht nachweisen. Die Bläuung des Reagens wird durch Luftsauerstoff bewirkt.

3) Benzidin in saurer Lösung ist ein spezifisches Reagens auf Verholzung, reiht sich somit den zahlreichen schon bekannten Holzreagenzien aus der Gruppe der aromatischen Basen an.

[Eingegangen am 25. April 1914.]

Über die bei petrographischen Untersuchungen erforderliche Größe der Dünnschliffe.

Von

Dr. techn. R. Grengg.

Hierzu drei Textabbildungen.

Petrographische Untersuchungen leiden zuweilen daran, daß bei Auswahl des Materials für die Dünnschliffe nicht Durchschnittsproben genommen wurden und daß das Ausmaß der Schliffe, auf die sich die Beschreibung des betreffenden Gesteins stützt, zu gering war.

Während sich für das Aufsammeln des Materials keine bestimmte Regel aufstellen läßt und es der Erfahrung des betreffenden Petrographen zukommt, das richtige an frischen und typischen Proben der Bearbeitung zuzuführen, soll hier im Nachstehenden einiges über das notwendige Ausmaß der Dünnschliffe festgehalten werden.

Ein Dünnschliff soll nicht bloß die einzelnen Mineralkomponenten dem Namen nach feststellen lassen und in die Struktur des Gesteinsgewebes Einblick verschaffen, sondern die einzelnen Minerale sollen an der Hand orientiert getroffener Schnitte optisch weiter geprüft werden können. Bei der optischen Prüfung eines doppelbrechenden Gemengteiles müssen gemessen werden: Höhe der Doppelbrechung, Größe des Winkels der optischen Achsen sowie die Auslöschungsschiefe; ferner sind Angaben über den optischen Charakter, die Lage der Achsenebene, die Dispersion der optischen Achsen sowie eventuell über den Pleochroismus zu machen. Bei isotropen wie anisotropen Mineralen soll ferner die Lichtbrechung, der Verlauf der Spaltebenen sowie eine etwa vorhande Begrenzung der Schnitte durch Kristallflächen angegeben werden. Ein Dünnschliff wird dann das notwendige Ausmaß haben, wenn er von der am spärlichsten vorkommenden der optischen Charakteristik werten Mineralkomponente noch soviel Durchschnitte enthält, daß die geforderten notwendigen Bestimmungen gemacht werden können.

Die Betrachtung einer größeren angeschliffenen Fläche eines richtungslos-körnigen oder eines porphyrischen Gesteines erweckt den Eindruck, als schwanke das bunte Gemengsel der einzelnen Minerale um einen gewissen Idealfall, in dem die einzelnen Bestandteile die ihnen zukommende mittlere Korngröße besäßen und ihrer durchschnittlichen Distanz entsprechend gleichmäßig weit voneinander entfernt wären. Die Methode von Rosiwal[1] gibt ein ziemlich einfaches Mittel zur Hand, mit dem man die Konstanten eines solchen Idealfalles, die mittlere Korngröße der einzelnen Komponenten sowie ihre durchschnittliche Entfernung angeben kann. —

Die richtungslos-körnige Struktur hat, nachdem jeder Gemengteil jede beliebige Lage zu seinen Nachbarkörnern einnehmen kann, die Folge, daß bei hinreichender Größe einer am Gestein angebrochenen oder angeschliffenen Fläche angenähert je gleichviel Körner ungefähr die gleiche relative Lage zur Schliff- oder zur Bruchfläche einnehmen werden. Diese für die Fläche geltende Gesetzmäßigkeit, die sich durch die Wahrscheinlichkeitsrechnung mathematisch formulieren läßt, gilt natürlich auch für räumliche Verhältnisse. In einem Block richtungslos-körnig struierten Marmors ist jede beliebige Richtung durch angenähert gleichviel Kalzitkörner vertreten, deren optische Achse parallel dieser Richtung liegt. Diese Gesetzmäßigkeit, die dadurch bedingt ist, daß jedes Korn eigentlich gesetzlos gelagert ist, tritt auch dort zutage, wo die Gesamtheit der Mineralkomponenten reagiert. So schwankt die Zug-, Druck-, Bohr-, Schleiffestigkeit eines und desselben Gesteins in verhältnismäßig engen Grenzen: auch die Farbe eines richtungslos-körnigen oder porphyrischen Gesteins ist bei entsprechender Entfernung ein einheitlicher Gesamtton, der aus den Farben der einzelnen Komponenten resultiert. —

Eine betaute Glasplatte zeigt im reflektierten Licht besehen so viele aufglänzende Stellen als Wassertröpfchen auf ihr vorhanden sind. Ein mit feinsten Eiskriställchen bereiftes Fenster, eine gefrorene Schneedecke.

---

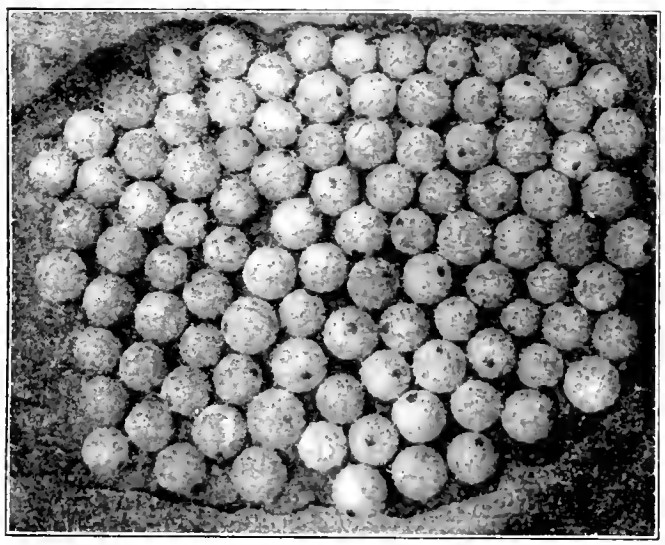
[1]) Rosiwal, A., Über geometrische Gesteinsanalysen. Ein einfacher Weg zur ziffernmäßigen Feststellung der Quantitätsverhältnisse der Mineralbestandteile gemengter Gesteine (Verhandlg. k. k. geol. Reichsanstalt Jahrg. 1898, p. 143ff.). — Dieser Methode liegt bekanntlich die Ausmessung mittels der sogen. Mengen-Indicatrix zugrunde, einer materiellen Linie, die willkürlich auf einer angeschliffenen Fläche des Gesteines gezogen wird. Durch entsprechende Umrechnung der mittels der Mengen-Indicatrix erhaltenen Werte ist es möglich die mittlere Korngröße der Mineralkomponenten sowie den mittleren Abstand der gleichen Mineralkörner festzulegen.

die von schräg einfallendem Licht getroffen werden, zeigen dem entsprechend stehenden Beobachter über die betrachtete Fläche verstreute aufglitzernde Punkte, deren Entfernungen voneinander um einen bestimmten Mittelwert zu schwanken scheinen. Die einzelnen Eiskriställchen liegen jedes für sich regellos; für einen beliebig herausgegriffenen Eiskristall, der gerade so liegt, daß eine seiner Flächen einspiegelt, muß nach dem Früheren eine entsprechende Zahl von Kristallen in der weiteren Umgebung zu finden sein, die so liegen, daß auch bei ihnen je eine Fläche aufblitzen kann. Analoge doch wegen der Einheitlichkeit des Baues der Komponenten einfachere Verhältnisse bietet eine schräg beleuchtete halbwegs ebene Bruchfläche von körnigem Kalk oder Marmor. Der mittlere Abstand der bei einer bestimmten Stellung aufleuchtenden Kalzitspaltflächen wird auch für jede andere Stellung der Bruchfläche zur Lichtquelle sich wenig verschieden erweisen und kann folgendermaßen ermittelt werden. Jedes Kalzitkorn spaltet nach den drei Rhomboederflächen. Von allen möglichen Lagen sind für Reflexe jene Fälle günstig, wo eine der Spaltflächen in die Ebene gelangt, welche nach Ort der Lichtquelle und Lage des beobachtenden Auges gerade spiegelt. Da die Spaltflächen gewöhnlich nicht völlig eben sind, und auch aus Ursachen, die mit der Beleuchtung zusammenhängen, blitzt eine solche Fläche auch dann noch auf, wenn sie selbst um Grade von der dem Reflex genau entsprechenden Lage abweicht. Da die äußere Begrenzung der Kalkspatkörner hier belanglos ist, kann jedes Korn durch eine Kugel ersetzt gedacht werden, auf der die sechs Rhomboederflächen durch die zugehörigen Flächenpole markiert werden. Jeder Polpunkt wird zum Scheitel einer kleinen Kalotte gemacht, deren zugehöriger Kugelsektor den Spielraum versinnbildlicht, innerhalb welchem die Lage der Normalen zur spiegelnden Fläche variieren kann, ohne daß der Reflex völlig erlischt. Die Summe der sechs Kalottenoberflächen zur gesamten Oberfläche der Kugel gibt das Verhältnis der für das Entstehen eines Reflexes günstigen zu den überhaupt möglichen Lagen eines Kalzitkornes in einem kristallinen Kalk an. Wäre dieses Verhältnis z. B. 1 : 20, so käme, eine genügend große Zahl von Körnern vorausgesetzt, durchschnittlich auf je 20 nach Spaltflächen angebrochene Körner eines, das aufleuchtet. Aus dieser Überlegung und aus der durchschnittlichen Korngröße läßt sich die mittlere Distanz zwischen den aufblitzenden Körnchen einer größeren Bruchfläche bestimmen.

Bei tatsächlich richtungslos gleichkörnig struiertem Material sollte jede beliebige angebrochene Fläche ein ähnliches Verhältnis in der

Verteilung der aufleuchtenden Körnchen geben und könnte diese Konstatierung bei Prüfung z. B. von Marmorsorten auf möglichste Gleichartigkeit in der Struktur einige Bedeutung haben.

Mit Hilfe ähnlicher Überlegungen läßt sich auch die notwendige Größe eines Dünnschliffes gefertigt aus richtungslos körnigem Gestein ableiten. — Ein gleichmäßig dicker Schliff z. B. eines Quarzsandsteines zeigt zwischen gekreuzten Nicols im Mikroskop ein buntes Mosaik von anscheinend regellos verteilten Interferenzfarben, die einen dicken Schliff von 60 μ vorausgesetzt, bei den einzelnen Körnern zwischen Grauschwarz und Indigo 2. Ordnung liegen werden. Die



1.

Schnitte mit höheren Interferenzfarben überwiegen in einem solchen Schliff über die mit niederen. — Die Interferenzfarbe eines Durchschnittes im Dünnschliff ist abhänig von der Schliffdicke, von der Höhe der Doppelbrechung des Minerals und von der Richtung, in der dasselbe geschnitten ist. Beim Schliff des als Beispiel gewählten Quarzsandsteines, der nur aus dicht aneinander schließenden nicht zu kleinen Quarzkörnchen[1] bestehen soll, hängt die verschiedene Interferenzfarbe der einzelnen Quarze nur von der Lage ihrer optischen Achse zur Schliffebene ab. Figur 1 stellt gewissermaßen ein Modell zur Veranschaulichung der Gesetzmäßigkeit in der Verteilung der Interferenzfarben bei einem solchen Quarzsandstein vor. An 100

[1]) Die mittlere Korngröße soll bedeutend größer als 60 μ sein, damit Überlagerung von Durchschnitten im Schliff möglichst vermieden wird.

ungefähr gleichgroßen Kugeln wurde je eine Achsenrichtung durch zwei diametral gegenüberliegende kräftige Punkte festgelegt; die Kugeln sind darauf willkürlich durcheinandergerollt und dann photographiert worden. Einige wenige Kugeln zeigen nun einen Polpunkt angenähert in der Mitte ihres Umrisses, es sind jene Kugeln, deren eingezeichnete Achse beiläufig vertikal steht — diese Kugeln entsprechen den Quarzkörnern, die angenähert normal zur optischen Achse getroffen wurden, sonach die niedersten Interferenzfarben zeigen müssen. Am häufigsten sind in Figur 1 solche Kugeln zu sehen, bei denen die eingezeichnete Achse eine horizontale Lage einnimmt — diese Kugeln versinnbildlichen die Schnitte mit den höchsten Interferenzfarben.

Zu einem analogen Bilde würde man gelangen, wenn eine Kugel mit markiertem Pol und Gegenpol 100mal in willkürliche Stellungen gerollt worden wäre und man jede Ruhelage einzeln abgebildet hätte. Werden möglichst viele Richtungen durch die entsprechenden Pole auf der Kugeloberfläche markiert, so liegen die Punkte mit gleicher Neigung ihrer zugehörigen Diameter zur optischen Achse auf Parallelkreisen, deren Ebene normal zur optischen Achse ist. Die Parallelkreise werden um so größer sein, je mehr die ihnen entsprechende Strahlenrichtung zur optischen Achse geneigt ist. Der Umfang dieser Parallelkreise steht in direkten Beziehungen zu der Zahl der Schnitte mit der der betreffenden Neigung zur optischen Achse entsprechenden Interferenzfarbe. —

Bedeckt man die Kugel mit Parallelkreisen, die Strahlenrichtungen je mit dem Winkel 10^0, 20^0 usw. bis 90^0 zur optischen Achse entsprechen, und rollt die Kugel hierauf in willkürliche Lagen, so wird bei einer großen Zahl von Versuchen der direkte Zusammenhang zwischen Umfang eines Parallelkreises und der Häufigkeit, mit der die Kugel auf einen seiner als materiell aufgefaßten Punkte zur Ruhe kommt, sich bemerkbar machen.

Umfang eines Parallelkreises: $2\,\pi\,\varrho = 2\,R \cdot \sin\,\alpha$ (ϱ Radius des Parallelkreises, R Radius der Kugel, α Winkel des Strahls zur optischen Achse — vgl. Fig. 2). Der Umfang der Parallelkreise derselben Kugel wächst mit zunehmenden Winkel wie der sin.

Quarzkügelchen von je 60 μ Durchmesser (jede Kugel aus einem Kristall geschnitten), willkürlich nebeneinandergerollt, geben zwischen gekreuzten Nicols keinen anderen Eindruck, was die Verteilung der Interferenzfarben anbetrifft, als ein Quarzsandsteindünnschliff von 60 μ Dicke. In einem größeren Schliff eines solchen rich-

tungslos-körnigen Materials mit nur einer Mineralkomponente wird die Zahl der Durchschnitte mit gleicher Interferenzfarbe mit um so größerer Annäherung je mehr Körner in Betracht gezogen werden können, proportional sein dem sin α. Wobei α den Winkel bedeutet, den die Normale auf die Schliffläche mit der optischen Achse der einzelnen Körner bildet.

Einer Schliffdicke von 60 μ entspricht ein Kugelradius von 30 μ; wird eine solche Kugel mit dem System der Bertin'schen Flächen[1] für Quarz in der Weise zentrisch verbunden, daß eine Achse der Kugel zusammenfällt mit der Achse des Bertin'schen Systems, so schneiden die Flächen gleichen Gangunterschieds die Kugel nach Parallelkreisen. Der Umfang jeder dieser Kreise gibt das Maß für die Häufigkeit des Auftretens der Interferenzfarbe, die dem betreffenden Gangunterschied entspricht. Die Interferenzfarbe für einen bestimmten Gangunterschied läßt sich aus Tabellen[2] entnehmen. Auf diese Weise ist es möglich die Interferenzfarben, die für ein bestimmtes optisches einachsiges Mineral in einem Dünnschliff vorkommen, auf einer Kugel durch verschiedenfarbige Zonen darzustellen, deren Ausmaß gleichzeitig die Häufigkeit mit der die betreffende Farbe im Schliff zu erwarten ist, ausdrückt.

Das Verhältnis der Zahl der Durchschnitte mit gleicher Interferenzfarbe wird in gleich dicken Schliffen bei dem positiven Mineral ein etwas anderes sein als bei dem gleich stark doppelbrechenden negativen. Aus folgender Tabelle, deren Werte Herr Inspektor F. Witek so freundlich war zu berechnen, kann dies entnommen werden. Angenommen wurden in einem Fall $\varepsilon = 1{\cdot}4846$, $\omega = 1{\cdot}6585$ (negat. M.), im anderen $\varepsilon = 1{\cdot}6585$, $\omega = 1{\cdot}4846$ für das positive Medium; aus diesen Werten wurde von 10° zu 10° (Neigung der Normale des Schnittes zur optischen Achse) die Höhe der Doppelbrechung, immer gleiche Schliffdicke 10 μ angenommen, berechnet unter Zuhilfenahme der Formeln[3]

$$e^2 \sin^2 \gamma + o^2 \cos^2 \gamma = n^2; \quad \operatorname{tg} \sigma = \frac{e^2}{o^2} \cdot \operatorname{tg} \gamma$$

$$e = \frac{1}{\varepsilon}, \quad o = \frac{1}{\omega};$$

γ Winkel der Wellennormalen zur optischen Achse, σ Winkel des Strahls zur optischen Achse, n Wellengeschwindigkeit.

---

[1]) Vgl. Rosenbusch, Mikroskopische Physiographie Bd. **1**, H. 1 (4. Aufl.) p. 305 ff.

[2]) Daselbst p. 228.

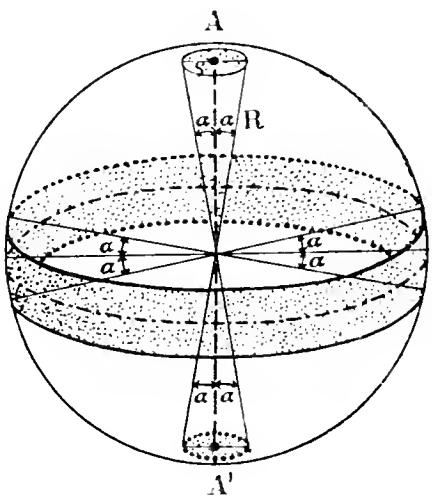
[3]) Daselbst p. 73 ff.

γ^0	σ	Doppelbrech. f. d. posit. M.	Interferenzfarbe bei Schliffdicke 10 μ	Doppelbrech. f. d. negat. M.	Interferenzfarbe bei Schliffdicke 10 μ
0°	0°	0	Schwarz	0	Schwarz
10°	12° 22′ 52″	0·0030	Eisengrau 1. Ord.	0·0053	Eisengrau - Lavendelgrau 1. Ord.
20°	24° 22′ 37″	0·0232	Grünlichweiß 1. Ord.	0·0183	Hellgrau 1. Ord.
30°	35° 42′ 29″	0·0504	Rotorange 1. Ord.	0·0391	Lebhaft Gelb-Braungrün 1. Ord.
40°	46° 15′ 4″	0·0785	Grün 2. Ord.	0·0655	Himmelblau 2. Ord.
50°	56° 1′ 14″	0·1084	Violettrot 2. Ord.	0·0954	Orange 2. Ord.
60°	65° 7′ 15″	0·1348	Meergrün 3. Ord.	0·1235	Grünlichblau 3. Ord.
70°	73° 42′ 13″	0·1556	Karminrot 3. Ord.	0·1507	Fleischf. 3. Ord.
80°	81° 56′ 19″	0·1686	Graublau 4. Ord.	0·1709	Mattmeergrün 4. Ord.
90°	90°	0.1739	Bläulichgrün 4. Ord.	0·1739	Bläulichgrün 4. Ord.

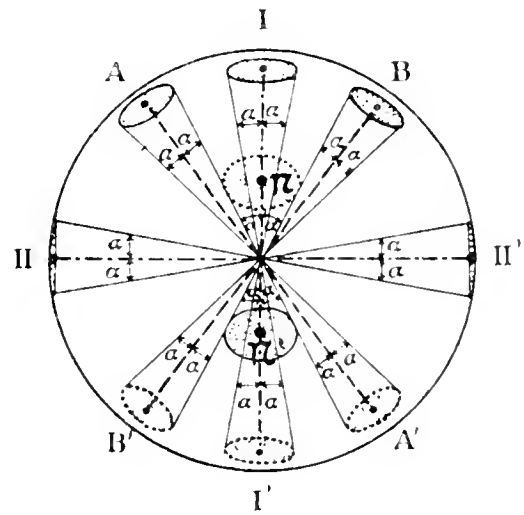
Die Werte der Tabelle in ein rechtwinkliges Koordinatensystem eingetragen, und zwar als Abszissen die Grade, als Ordinaten die zugehörigen Werte der Doppelbrechung, ergeben durch Verbindung der einander entsprechenden benachbarten Punkte zwei Kurven. Dieselben sind Diagramme für die Änderung der Doppelbrechung mit zunehmender Neigung zur optischen Achse. Durch Drehung der einen Kurve um 180°, so daß deren Endpunkt in den Ursprung des Koordinatensystems gelangt, werden die beiden Linienzüge zur Deckung gelangen. Beide Kurven schneiden sich in zwei Punkten, und zwar im vorliegenden Beispiel haben die Schnittpunkte Abzsissen von etwa 15° und 75°. Bei diesen beiden Neigungswinkeln der Normalen gleich dicker Platten (von Medien mit gleicher Doppelbrechung 0·1739, das eine jedoch positiv, das andere negativ) zur optischen Achse ist noch außer bei 0° und 90° die Doppelbrechung die gleiche.

Es werde ein größerer Dünnschliff angenommen, der ein richtungsloses Gemenge der beiden hier als Beispiel geführten Materialien von gleicher Doppelbrechung, aber von verschiedenen Vorzeichen derselben enthält. Nach dem Verlauf der Diagramme für die Änderung der Doppelbrechung mit der Schnittrichtung zu urteilen müßten bei Durchschnitten, deren Normale von 0° bis ungefähr 15° zur optischen Achse geneigt sind, die Körner des negativen Mediums etwas höhere Interferenzfarben zeigen als die des positiven, ebenso im Intervall von ungefähr 75° bis 90°. In den Schnittlagen zwischen 15° bis 75°, also in der Mehrheit der Fälle, wird die Doppelbrechung der optisch positiven Schnitte etwas höher sein als die der negativen gleichen Neigung und dementsprechend die Interferenzfarben.

Um Achsenaustritte optisch einachsiger Mineraldurchschnitte im Schliff zur Bestimmung des Charakters der Doppelbrechung (positiv oder negativ) noch verwenden zu können, ist eine Abweichung der Normalen zur Schlifffläche von der Richtung der optischen Achse um $\alpha = 10^0$ und auch noch mehr erlaubt. Nach Figur 2 können alle günstigen Schnittlagen durch zwei diametral gegenüberliegende Kalotten versinnbildlicht werden, die je einem Kugelsektor mit 2×10^0 Scheitelwinkel zugehören. Die Oberfläche der zwei gleichen Kalotten zur Gesamtoberfläche der Kugel gibt das Verhältnis der günstigen Schnittlagen (die z. B. bis $\alpha = 10^0$ von der normalen zur optischen Achse abweichen dürfen) zu den überhaupt möglichen.



2.



3.

AA', BB' optische Achsen; II', $IIII'$ Mittellinien; NN' opt. Normale; R Kugelradius.

$$\frac{4\pi R^2}{4\pi R^2 (1-\cos\alpha)} = \frac{1}{1-\cos\alpha} = \frac{\text{mögliche Fälle (Oberfläche d. Kugel)}}{\text{günst. Fälle (Oberfläche d. beid. Kalotten)}}$$

z. B. für $\alpha = 10^0$. $\quad \frac{1}{1-\cos 10^0} = 65$

d. h. bei einer großen Zahl richtungslos angeordneter Durchschnitte eines und desselben optisch einachsigen Minerals wird im Mittel auf je 65 beliebige Körner e i n e s kommen, das Achsenaustritt im Spielraum von 10^0 um den tatsächtlich normalen Austritt zeigt. —

Für andere Werte des α ergeben sich nach der Formel $\frac{1}{1-\cos\alpha}$ die nachstehenden Werte, welche die Zahl der Durchschnitte angeben, unter welchen bei einem erlaubten Schwanken von α^0 um die geforderte Richtung je e i n brauchbarer Schnitt zu erhoffen ist.

$\alpha =$	2^0	1642	erforderliche Schnitte
	4^0	410	„ „
	6^0	182	„ „
	8^0	103	„ „
	10^0	65	„ „
	12^0	46	„ „
	14^0	33	„ „
	16^0	26	„ „
	18^0	20	„ „
	20^0	16—17	„ „
	22^0	14	„ „
	24^0	11—12	„ „
	26^0	10	„ „
	28^0	8—9	„ „
	30^0	7—8	„ „

Für Schnitte parallel der optischen Achse, die zur Ermittlung der Höhe der Doppelbrechung dienen, lassen sich analoge Berechnungen durchführen. Der Bereich der günstigen Fälle ist in diesem Falle eine Äquatorzone deren Breite durch den $\sphericalangle\ \alpha$, das Ausmaß der noch erlaubten Abweichung, beiderseits vom Äquator bestimmt ist (Fig. 2).

$$\frac{4\pi R^2}{4\pi R^2 \sin\alpha} = \frac{1}{\sin\alpha} = \frac{\text{mögliche Fälle (Kugeloberfläche)}}{\text{günstige Fälle (Äquatorzone)}}$$

Z. B. für $\alpha = 10^0$ ist bei einer größeren Anzahl von Schnitten unter 6 bereits einer zu erhoffen, der mit einer Abweichung bis zu 10^0 der optischen Achse parallel getroffen ist.

Folgende Tabelle unterrichtet über die Zahl der Durchschnitte, die bei dem nebenstehenden Winkel α (erlaubte Schwankung) je einen brauchbaren Schnitt erhoffen lassen.

$\alpha =$	2^0	29	erforderliche Schnitte
	4^0	14	„ „
	6^0	9	„ „
	8^0	7	„ „
	10^0	6	„ „
	12^0	5	„ „
	14^0	4	„ „
	16^0	3—4	„ „
	18^0	3	„ „
	20^0	3	„ „
	22^0	2—3	„ „
	24^0	2—3	„ „
	26^0	2	„ „
	28^0	2	„ „
	30^0	2	„ „

Bei Aufsuchung von Schnitten angenähert parallel der optischen Achse ist aber der Betrag der noch gestatteten Abweichung α ein ziemlich geringer. Je kleiner die Doppelbrechung, in um so engeren Grenzen muß $\sphericalangle \alpha$ gehalten werden. Z. B. ergiebt sich für Quarz ($\omega - \varepsilon = 0{\cdot}0091$), bei $\alpha = 6^0$ die Doppelbrechung 0·0089, eine Messung an einem solchen Schnitt ist sonach mit einem Fehler von 2·2 Prozent des richtigen Wertes behaftet. Für Kalzit ($\omega - \varepsilon = 0{\cdot}1721$) beträgt bei $\alpha = 6^0$ die Doppelbrechung 0·1703. Der Fehler beträgt sonach hier bloß 1 Prozent. Werden Schwankungen bei Schnitten parallel der optischen Achse bis 6^0 als erlaubt angenommen, so ist nach der Zusammenstellung p. 78 zur Doppelbrechungmessung ein Dünnschliff notwendig, der mindestens 9 Schnitte desselben optisch einachsigen Minerals, besser natürlich ein Vielfaches dieser Zahl enthält. — Auf je 9 Schnitte sollte nach der ersten Tabelle bereits in Achsenaustritt mit der allerdings bedeutenden Schwankung bis 28^0 rund um die optische Achse kommen. Ist für die Schnitte mit Achsenaustritt eine geringere Schwankung, z. B. $\alpha = 10^0$ erwünscht, so sind nach der ersten Tabelle p. 78 65 Durchschnitte zumindest notwendig, um den Achsenschnitt erhoffen zu können; unter 65 Körnern werden im Durchschnitt aber bereits zwei zu erwarten sein, die bloß um höchstens $\alpha = 2^0$ von der Ebene parallel der optischen Achse abweichen.

Durch Auszählen von 65 benachbarten Körnern desselben optisch einachsigen Minerals auf einer halbwegs eben angeschlagenen Bruchfläche der Gesteinsprobe wird man das Mindestausmaß dieser Schliffläche umgrenzen können.

Bei optisch zweiachsigen Mineralen interessieren Schnitte mit dem angenähert normalen Austritt jeder optischen Achse, ferner solche mit normal austretenden Mittellinien und besonders Schnitte parallel der Ebene der optischen Achsen. Aus solchen Durchschnitten lassen sich die Dispersionsverhältnisse der Achsen und Mittellinien, Größe des Achsenwinkels, Höhe und Charakter der Doppelbrechung feststellen und brauchbare Angaben über Lichtbrechung, charakteristische Auslöschungsschiefen sowie bei gefärbten Mineralen (unter Berücksichtigung der Schliffdicke) über den Pleochroismus machen.

Auf die Kugel zurückgreifend werden diametral gegenüberliegende Kalotten mit dem zugehörenden $\sphericalangle \alpha$, der die erlaubte maximale Abweichung von der betreffenden genauen Richtung (Kugelradius durch den Scheitelpunkt der Kalotte) angibt, wieder die günstigen Fälle veranschaulichen (Fig. 3). Die Gesamtoberfläche der Kugel

versinnbildlicht wie früher die Gesamtheit der überhaupt möglichen Schnittrichtungen.

Schnitte, die zur Messung der Doppelbrechung und der Auslöschungsschiefe geeignet sind, müssen die optische Normale möglichst senkrecht zur Schlifffläche austreten lassen. Angenommen, es seien Schwankungen in diesem Falle bis $\alpha = 6^0$ erlaubt, so orientiert die Tabelle für Achsenaustritte einachsiger Minerale p. 78, die auch für diesen Fall gilt dahin, daß für $\alpha = 6^0$ 182 Durchschnitte notwendig sind, um ein günstig getroffenes Korn erhoffen zu können.

Da für Achsen- und Mittellinienaustritte gewöhnlich eine größere Abweichung von der Senkrechten zur Schlifffläche gestattet ist, als bei der optischen Normale, so sind die 182 Durchschnitte des angenommenen Beispiels auch hinreichend, um unter denselben mindestens je einen brauchbaren Achsen- und Mittellinienaustritt vermuten zu dürfen. Sollte größere oder geringere Genauigkeit erwünscht sein, so belehrt über die Zahl der dann zu mindest notwendigen Durchschnitte eines und desselben Minerals im Dünnschliff die gleiche Zusammenstellung p. 78. Aus der mittleren Korngröße, dem durchschnittlichen Abstand der Körner der in Frage stehenden Mineralkomponente, sowie aus der Zahl der notwendigen Schnitte bei einer bestimmten Annahme des $\sphericalangle \alpha$, ließe sich das notwendige Mindestausmaß des Dünnschliffes für dieses optisch zweiachsige Mineral angeben.

Die Kugelsektoren, als deren Achsen die Normale β, die Mittellinie α oder γ sowie die optischen Achsen A und B angenommen wurden, sind nur bei ziemlich kleinem $\sphericalangle \alpha$ mit großer Annäherung an der Kugel durch Kreislinien abgegrenzt. Z. B. wird sich in der Ebene durch optische Normale und erste Mittellinie bei einer Abweichung der Schnittrichtung um α^0 von der optischen Normalen eine etwas andere Doppelbrechung ergeben, als bei einer Abweichung um denselben Winkel α in der dazu normalen Ebene durch die zweite Mittellinie.

Genauer kann darüber die Verschneidung der Kugel mit dem zugehörigen System der Bertinschen Flächen gleichen Gangunterschiedes orientieren. Werden für die so erhaltenen Kurven gleichen Gangunterschiedes auf der Kugel, deren Radius gleich der halben Schliffdicke ist, die entsprechenden Interferenzfarben ersichtlich gemacht, so wird die Kugel mit einem System farbiger Ringe und Bänder bedeckt sein, deren Flächenausmaß zueinander sich angenähert so verhält, wie die Zahlen der Durchschnitte gleicher Interferenzfarbe desselben Minerals im Dünnschliff bei richtungslosem Gefüge.

Soll für ein richtungslos-körniges aus mehreren Mineralkomponenten bestehendes Gestein oder für ein porphyrisches das Mindestausmaß der für die optische Charakteristik notwendigen Schlifffläche ermittelt werden, wobei unter den vorhandenen Mineralen isotrope, optisch einachsige und optisch zweiachsige vertreten sein mögen, so kann folgendermaßen verfahren werden. Der spärlichste Gemengteil sofern er optisch zweiachsig und der genauen optischen Charakteristik wert ist, diktiert die Schliffgröße. Angenommen eine zulässige Schwankung von der idealen Schnittlage parallel der Ebene der optischen Achsen bis $\alpha = 6^0$, so wäre aus dem mittleren Abstand der betreffenden Komponente deren Korngröße, sowie aus der Zahl der 182 notwendigen Schnitte dieses Minerals das Mindestausmaß des Dünnschliffes zu berechnen. Einfacher ist es diese Fläche zu ermitteln durch Abzählen oder beiläufiges Abschätzen von 182 benachbarten Körnern desselben Minerals. Ist das spärlichst vorkommende Mineral, das optisch charakterisiert werden soll, einachsig, so geben bei $\alpha = 6^0$ nach Tabelle p. 78 nur 9 Mineraldurchschnitte schon die Möglichkeit der genaueren optischen Untersuchung und ist deshalb auch noch für das am seltensten auftretende optisch zweiachsige Mineral das Mindestausmaß der Schlifffläche nach dem Früheren festzustellen. Ist diese Schlifffläche größer als die für die 9 optisch einachsigen Durchschnitte bestimmte, so wird die zweiachsige Gesteinskomponente für die Größe des Dünnschliffes maßgebend sein.

Selbstverständlich wird man sich mit dem so ausgewerteten Mindestausmaß nicht begnügen, sondern Schliffe einer Gesteinsprobe anfertigen, deren Gesamtfläche den so bestimmten Wert um das zwei- bis dreifache übertrifft. —

Es muß darauf hingewiesen werden, daß Gesteinstypen, deren Mineralkomponenten den Eindruck richtungsloser Lagerung erwecken, in Wirklichkeit niemals vollständig richtungslos gebaut sind, sondern daß Fließungs-, Schieferungserscheinungen sowie zentrische Strukturen und Schlierenbildung die besprochenen Gesetzmäßigkeiten in manchen Fällen vollständig ausschalten können.

Dies schränkt wohl die angegebene Methode der Bestimmung des Schliffausmaßes ein, ohne aber deren Unnotwendigkeit zu bedingen, da dieselbe in vielen Fällen brauchbar und in das scheinbar gesetzlose Durcheinander farbiger Mineralschnitte eines Schliffs zwischen gekreuzten Nicols ein ordnendes Prinzip zu setzen vermag. Nicht vergessen darf werden, daß die Werte, die in den Tabellen p. 78 zusammengestellt sind, nach den Annahmen der Wahrscheinlichkeits-

rechnung ermittelt wurden und daher, damit sie angenähert richtig sind, eine möglichst große Zahl Mineralkörner, die in den Kreis der Beobachtung gezogen werden müssen, voraussetzen. —

Anhang.

Bei geschieferten Gesteinen sind gewöhnlich drei verschiedene Schliffe anzufertigen, und zwar einer nach der Ebene der Schieferung oder Schichtung, einer normal zur Streckungsrichtung der Körner, ein dritter normal zu beiden ersteren Ebenen.

Des öfteren sind Schiefer angenähert so struiert, daß die Streckungsrichtung bei gleichen Gemengteilen ungefähr dieselbe kristallographische Richtung ist, während eine beliebige Drehung rund um die Streckungsachse freigegeben bleibt. Ein Modell dieser Anordnung kann durch kurze zylindrische Stäbchen, deren Achsen angenähert parallel liegen, erhalten werden. Für einen optisch einachsigen Gemengteil bedeutet die Zylinderachse die Richtung der optischen Achse. Das durch die Zylinder versinnbildlichte Gestein, das der Einfachheit halber nur eine und dieselbe optisch einachsige Mineralkomponente besitzen soll, wird, wenn parallel der Streckungsrichtung (Zylinderachse) angeschnitten, im Dünnschliff zwischen gekreuzten Nicols lauter hohe Interferenzfarben zeigen. Der Dünnschliff der normal zur Streckungsrichtung angeschliffen ist, zeigt dagegen Achsenaustritte und dementsprechend niedere Interferenzfarben. Ist das Mineral optisch zweiachsig und so gelagert, daß die Ebene der optischen Achsen parallel der Streckungsrichtung liegt, dann läßt sich durch Eintragen der Achsenebene in die Zylinder des Modells, wieder die Frage: „Auf wie viele Schnitte kommt bei solcher Anordnung einer mit Austritt der optischen Normalen?“ ähnlich wie früher bei den Kugeln beantworten.

Wird in einen Kreis, der den Schnitt normal zur Achse eines Zylinders bedeute, die Spur der optischen Achsenebene durch einen wagerechten Durchmesser eingezeichnet, die optische Normale β durch einen vertikalen, so kann durch Ziehen von zwei Durchmessern unter je einem gleichen Winkel α zur optischen Normale das Bereich der zulässigen Abweichung wieder abgegrenzt werden:

$$\frac{\text{günstige Fälle}}{\text{mögliche Fälle}} = \frac{2 \operatorname{arc}. 2\alpha}{\operatorname{arc}. 360} \quad \text{z. B. für } \alpha = 3^\circ \text{ wird dies Verhältnis} = \frac{1}{30}.$$

In das Bild des Dünnschliffes übertragen besagt dies: bei einem geschieferten Gesteine, wo eine bestimmte optisch zweiachsige Mineralkomponente so liege, daß die optische Achsenebene mit der Strekungsrichtung des Gesteines übereinstimmt, wird bei einer zugegebenen Abweichung $\alpha = 3^\circ$ eine große Anzahl Durchschnitte vorausgesetzt unter 30 Körner je eines zu erwarten sein, das normalen Austritt von β (opt. Normale) mit Schwankungen bis zu 3° zeigt.

Das Modell dieser Strukturverhältnisse, kurze Zylinder, auf denen je zwei diametral gegenüberliegende Erzeugende durch kräftige Linien markiert

wurden, zeigte nach beliebigem Durcheinanderrollen unter Erhaltung der Zylinderachsen in annähernd paralleler Lage, gute Übereinstimmung mit dem berechneten Wert. Es kam auf 30 Zylinder angenähert einer, der die durch die eingezeichneten Erzeugenden festgehaltene Ebene (die optische Achsenebene) in fast wagerechter, also in für Doppelbrechungsbestimmung brauchbarer Lage, zeigte.

Eine praktische Bedeutung für Ermittlung der notwendigen Schliffgröße bei geschieferten Gesteinen besitzen diese letzteren Überlegungen aber schwerlich, da von vorn herein die verschiedensten Einschränkungen bezüglich der Struktur und Lage der einzelnen Mineralkörner gemacht werden müssen, die sich bei jedem Schleifsplitter desselben Materials natürlich ändern.

Wien, Lehrkanzel für Mineralogie und Geologie der
k. k. techn. Hochschule, Mai 1914.

[Eingegangen am 6. Mai 1914.]

Über eine Spiegelreflexkamera für Mikrophotographie und einen Mikroskopiertisch für subjektive Beobachtung und Photographie.

Von

Dr. W. Scheffer.

Mit sechs Textabbildungen.

In seinem Lehrbuch der Mikrophotographie hat Prof. Neuhauss einige Spiegelreflexkammern für Mikrophotographie beschrieben. In der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 1909 habe ich einiges über eine Spiegelreflexkamera veröffentlicht, die sich ohne weiteres in die große mikrophotographische Kamera von Karl Zeiss-Jena einsetzen läßt. Die Erfahrungen, die ich seit dieser Veröffentlichung gemacht habe, führten zu einer anderen Ausführungsform einer Spiegelreflexkamera für die Mikrophotographie, die gewisse Vorteile aufweist und sich auch für die schwierigsten Aufgaben auf das beste bewährt hat.

Die gewöhnlichen Kammern für Makro- und Mikrophotographie erfüllen zwei Aufgaben. Erstens, sie erhalten den bildauffangenden Schirm in der richtigen Stellung zum bilderzeugenden Instrument und zweitens schützen sie denselben vor falschem Licht. Der Verschluß gehört nicht unbedingt zur gewöhnlichen Kamera, er kann aber gelegentlich, z. B. in der Form des Schlitzverschlusses, ein wesentliches Stück derselben ausmachen. Er stellt zwangsläufig die gewünschte Belichtungszeit her.

Die Spiegelreflexkammern ermöglichen außer dem Gesagten noch die Einstellung und Beobachtung des Bildes bei geöffneter Kassette bis zum Moment der Aufnahme, so daß zwischen Einstellung und Aufnahme nur die geringe für die Auslösung des Verschlusses nötige Zeit verstreicht.

Man kann mit Hilfe der folgenden Zusammenstellung eine Übersicht über die diesem Zweck dienenden Vorrichtungen gewinnen.

A.

Es sind zwei Pupillen vorhanden, deren eine das Bild der ganzen anderen oder eines Stückes derselben ist. Die eine bestrahlt die Einstellscheibe, die andere die lichtempfindliche Schicht. Einstellscheibe und lichtempfindliche Schicht werden bestrahlt:

I.

Kurz nacheinander.

Die ganze Lichtmenge bestrahlt einmal die Einstellscheibe und das andere Mal die lichtempfindliche Schicht.

II.

Gleichzeitig.

Die aus der A. P. austretende Lichtmenge wird geteilt. Hierbei bleibt die Gestalt der Pupille

a. erhalten,
b. nicht erhalten.

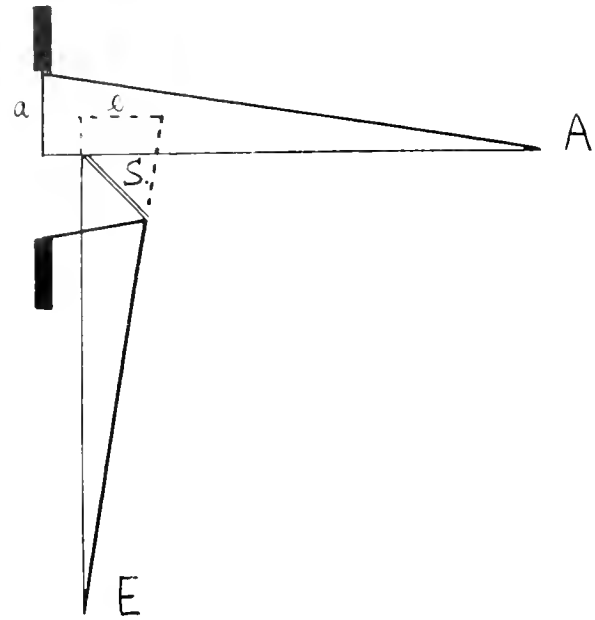
B.

Es ist nur eine Pupille vorhanden. Die lichtempfindliche Schicht dient zugleich als Einstellscheibe. Die Einstellung erfolgt

a. in der Aufsicht.
b. in der Durchsicht.

Die Wirkungsweise dieser Vorrichtungen ist aus den Figuren 1 u. 2 zu ersehen. Bei A. I. erfolgt die Bestrahlung der Einstellscheibe und der lichtempfindlichen Schicht kurz nacheinander. Wie Figur 2 zeigt, wird bei dieser Gruppe von Vorrichtungen ein Spiegel S in den Strahlengang gebracht, der das aus a kommende Büschel knickt und nach E spiegelt. In dieser Stellung geht das gesamte aus a kommende Licht nach E (Einstellung). Für die Aufnahme wird der Spiegel S in die Höhe geklappt und dem Büschel der Weg nach A freigegeben (Aufnahme). Statt des Spiegels kann man unter gewissen Umständen ein Prisma anwenden. Bei der Einstellung sieht man aus E das vom Spiegel S entworfene virtuelle Bild e' der ganzen Austrittspupille a. Die gewöhnlichen Spiegelreflexkammern sind nach A. I. gebaut. Die Einrichtungen der Gruppe A. II. a. sind ebenfalls aus Figur 2 zu ersehen. Hierfür nehme man an, daß der Spiegel S in Figur 2 nicht versilbert, sondern durchsichtig ist. Dann geht ein Teil des von a kommenden Lichtes nach A und ein anderer Teil, etwa 10 Prozent, nach E. Es bestehen dann die Austrittspupille a, die die lichtempfindliche Schicht bestrahlt und ihr Bild e, das die Einstellscheibe bestrahlt, zu gleicher Zeit. e' ist ein vollständiges Spiegelbild von a. Bei A. II. b. entwirft nach Figur 1 der Spiegel S ein Spiegelbild e der halben Austrittspupille. Die Hälfte a derselben be-

strahlt A für die Aufnahme, das Spiegelbild der anderen Hälfte e bestrahlt die Einstellscheibe E. Die Pupille für die Aufnahme ist mit a, die für die Einstellung mit e bezeichnet. Die Einrichtungen B. a. und B. b. sind eigentlich keine Spiegelreflexeinrichtungen. Sie sind aber besonders für die Kinematographie höchst wichtige Einstellvorrichtungen, die demselben Zweck dienen, wie die unter A. aufgeführten Einrichtungen. Sie werden weiter unten beschrieben.



1.

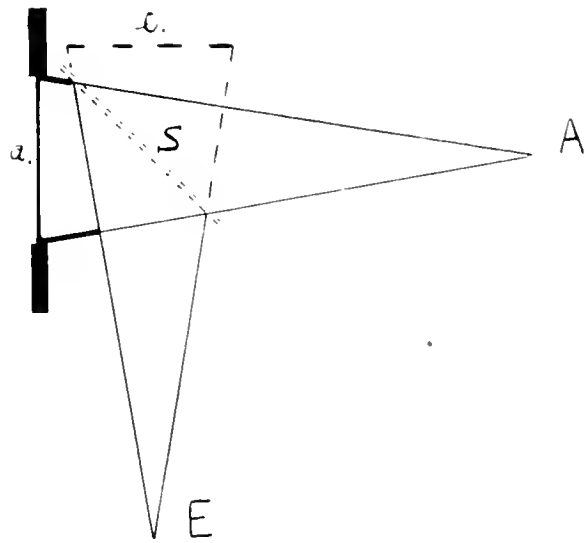
In beiden Fällen, I. und II., müssen kurze Belichtungen mit Hilfe von Momentverschlüssen gemacht werden. Ein systematischer Vergleich ergibt:

I.		II.	
Vorteile:	Nachteile:	Vorteile:	Nachteile:
Belichtung beid. Schirme gleichzeitig. Keine Mechanik für die Spiegelbewegung.	Lichtschwäche beider Bilder, besonders desjenigen für die Einstellung.	Beide Bild. maximal hell.	Aufeinanderfolgende Belichtung der beiden Schirme. Komplizierterer Mechanismus.

Nach eingehenden Versuchen scheinen mir die Vorteile der Gruppe II zu überwiegen, besonders da der Vorteil der gleichzeitigen Belichtung beider Schirme für Momentaufnahmen in der Tat bei I. gegenüber II. nicht ausgenutzt wird, denn in beiden Fällen muß,

wenn der Entschluß zur Aufnahme gefaßt worden ist, ein Mechanismus in Bewegung gesetzt werden, was bei beiden Systemen ungefähr gleich lang dauert. Für einfache Momentaufnahmen ist also I. nicht II. überlegen.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der Kinematographie. Hier ist es wichtig, auch während der Aufnahme die Einstellung zu kontrollieren. Die einfachste und, wie mir scheint, zweckmäßigste



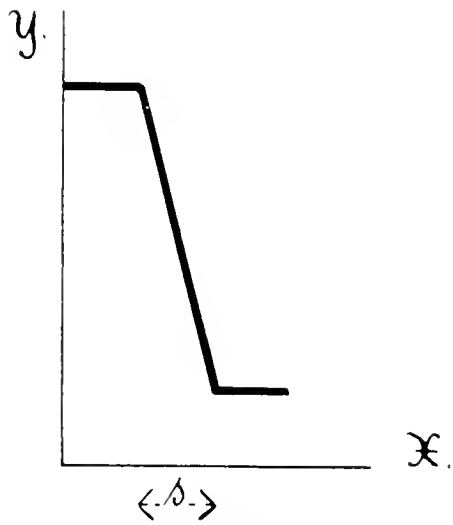
2.

Einrichtung hierfür hat Prof. Neuhauss angegeben. Er beobachtet mit Hilfe eines Prismas durch einen genügend lichtsicheren Tubus mit freiem Auge oder mit geeigneten Lupen von vorne direkt das Bild auf dem Film. Diese Art der Einstellung verlangt die geringsten mechanischen Veränderungen am kinematographischen Aufnahmeapparat, und die Einstellung ist bequem und ganz sicher. — Wenn die Bildhelligkeit nicht mehr zur Einstellung genügt, genügt sie auch nicht mehr für die Aufnahme. Während Prof. Neuhauss also den Film wie eine Projektionswand betrachtet, benutzt der Verf. dieses denselben wie eine Mattscheibe bei einer gewöhnlichen Kamera. Er betrachtet den Film in durchfallendem Licht mit Hilfe eines in den kinematographischen Aufnahmeapparat eingebauten Prismas und einer Betrachtungslupe. Ein weiteres, von Dr. Hans Lehmann vorgeschlagenes System entspricht dem oben erörterten Fall I. b.

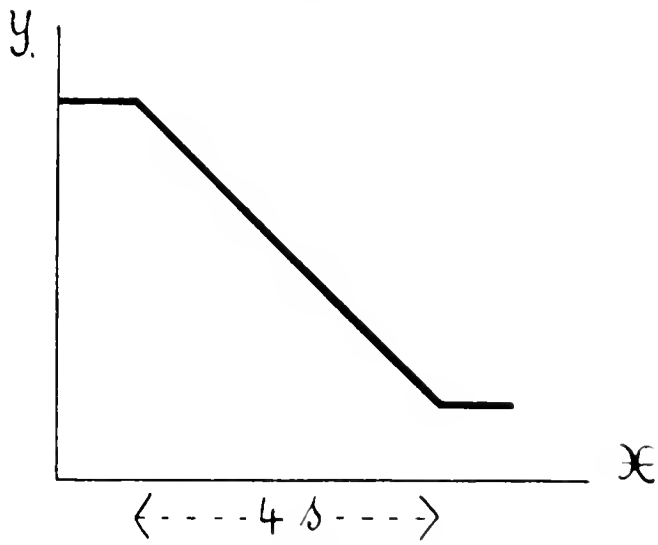
Beim Bau der kleinen Spiegelreflexkamera traten zunächst die Fragen auf, 1) ob sie mit festem oder 2) veränderlichem Auszug versehen werden sollte und welches in dem verwirklichten Fall 2) die passende feste Auszugslänge sei. Für die vorliegende Kamera

habe ich eine feste Auszugslänge von nur 20 cm genommen. Die Gründe hierfür sind folgende. Augenscheinlich erfüllt das photographische Negativ seine Aufgabe, wenn es alle überhaupt im mikroskopischen Bild vorhandenen Struktureinzelheiten enthält. Hierbei ist es zunächst durchaus nicht nötig, daß das unbewaffnete Auge die feinsten Einzelheiten, die es im mikroskopischen Bild bei direkter Beobachtung sieht, auch im Negativ ohne weiteres sehen kann. Es genügt, wenn sie in demselben vorhanden sind und etwa mit Hilfe einer Lupe oder im vergrößerten Positiv befriedigend wahrgenommen werden können. Die zurzeit gebräuchlichen Negativplatten können mit gutem Erfolg erheblich vergrößert werden, ohne daß die Struktur der Negativschicht selbst stört, eine Betrachtung der Vergrößerung mit normalem unbewaffneten Auge aus 25 cm Abstand vorausgesetzt. Ich habe Untersuchungen hierüber in der Photographischen Korrespondenz 1910 veröffentlicht. Für unsere Kamera wurde eine fünffache lineare Vergrößerung der Negativschicht als obere Grenze angenommen, für den Fall, daß die Positive mit unbewaffnetem Auge aus 25 cm Abstand betrachtet werden sollen. Die Grenze der förderlichen Vergrößerung der Mikroskopobjektive beträgt nach Ernst Abbe ungefähr das tausendfache der numerischen Apertur, wenn man 4′ als Grenze des Winkelabstandes annimmt, unter dem zwei Strukturelemente erscheinen müssen, damit sie von einem normalen Auge noch bequem getrennt wahrgenommen werden. Mit einem Schirmabstand von 20 cm kann man diese Vergrößerungen erreichen, ja sogar mit stärkeren Okularen sie erheblich überschreiten. Man braucht diese Werte aber aus den oben angeführten Gründen im Negativ gar nicht zu erreichen, sondern man kann sich mit etwa einem Drittel bis einem Fünftel derselben begnügen. In der Tat ist bei der Mikrophotographie diejenige schwächste Vergrößerung die günstigste, die im Negativ die deutliche Wiedergabe der in Frage kommenden, d. h. im mikroskopischen Bild überhaupt direkt wahrnehmbaren feinsten Struktureinzelheiten bewirkt. Eine wesentlich stärkere Vergrößerung anzuwenden, ist, besonders in gewissen schwierigeren Fällen, geradezu eine Energievergeudung und eine überflüssige Erschwerung der Arbeit. Es ist bekannt, daß die Schwierigkeiten mit wachsender Vergrößerung rasch erheblich größer werden. In diesen Fällen tut man gut, die obige Regel zu befolgen, die geringste den Zweck erfüllende Vergrößerung anzuwenden und das Negativ nachträglich zu vergrößern. Das ist übrigens schon von vielen Mikrophotographen empfohlen und mit Erfolg getan worden.

Ein weiterer Vorteil der Aufnahmen mit geringer Vergrößerung ist eine gewisse Verbesserung der Bildschärfe. Der Helligkeitsübergang eines Strukturelementes in ein benachbartes soll durch die Kurven (Fig. 3) angedeutet werden. Der Helligkeitsunterschied der beiden



rel. Vergr. 1.

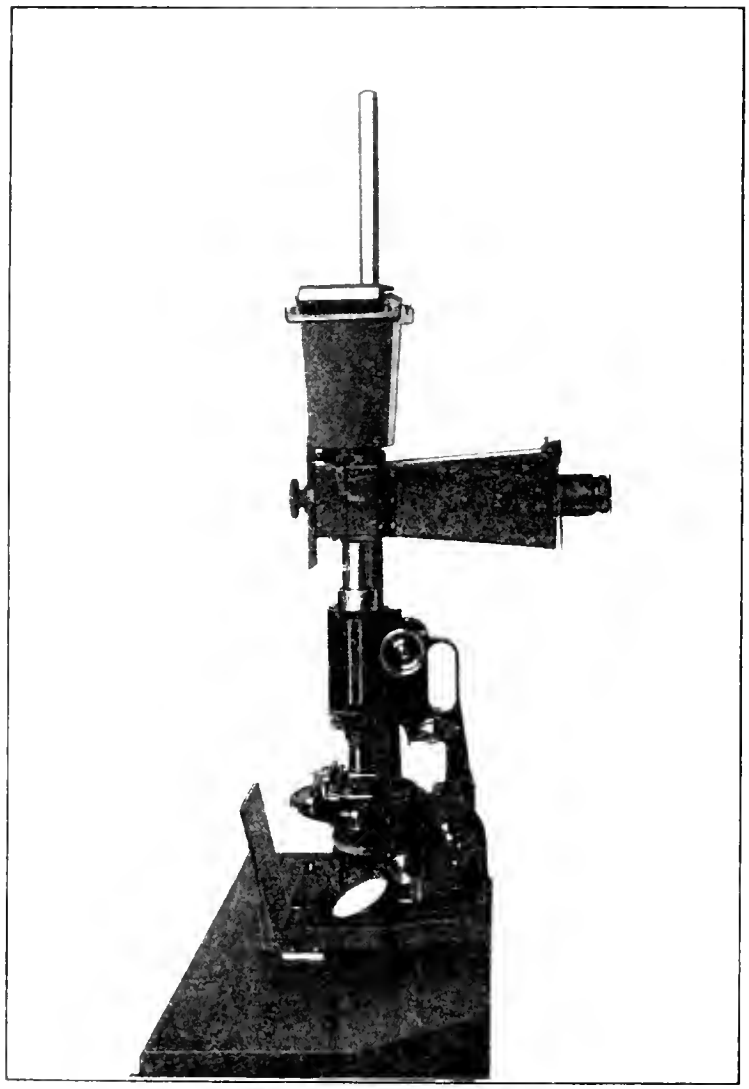


rel. Vergr. 4.

3.

Strukturelemente wird im Objektivbild durch die Ordinatenwerte y bezeichnet. Die Größe des Übergangsgebietes der beiden Strukturelemente ineinander durch die Abszissenwerte. Die Vergrößerung ändert an dem Helligkeitsunterschied der Strukturelemente, d. h. an dem Unterschied der y-Werte nichts. Das Gebiet des Übergangs s dagegen wächst mit der Vergrößerung, und je kleiner diese ist,

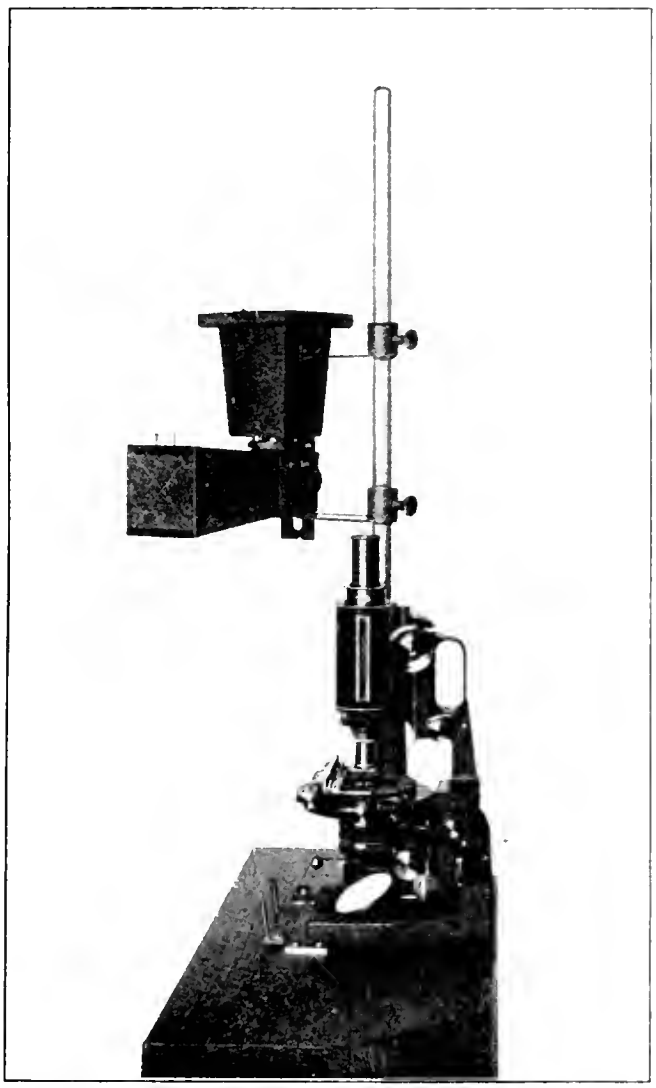
desto schärfer abgesetzt werden uns die beiden Strukturelemente erscheinen. Auch aus diesem Grunde sollte man die Vergrößerung nicht über das notwendige Maß hinaus treiben. Daß Spiegelreflexkammern für Momentaufnahmen bewegter Objekte unerläßlich nötig sind, ist selbstverständlich. Sie sind aber auch von großem Vorteil



4.

für langdauernde Zeitaufnahmen lichtschwacher Bilder. Hier kann man die Aufnahme beliebig oft unterbrechen und durch Einschalten des Spiegels oder Prismas das Licht zur Einstellscheibe leiten und feststellen, ob die Einstellung sich noch gut erhalten hat. Ich habe Aufnahmen von den schwierigsten Diatomeen gemacht, die 5- bis 10mal auf diese Weise unterbrochen und neu eingestellt wurden. Es wurde absichtlich bei jeder Unterbrechung erst ganz unscharf

und dann wieder scharf eingestellt. Die Schärfe der Aufnahmen ist tadellos. Wenn man das mit gewöhnlichen Kammern versuchen wollte, müßte man die Kassette jedesmal herausnehmen und die Einstellscheibe einsetzen. Dies ist aber sehr unbequem, führt zu Erschütterungen und die lichtempfindliche Schicht kommt bei wieder-



5.

holtem Einsetzen der Kassette nicht wieder an denselben Ort. Die Figuren 4 und 5 zeigen die kleine Spiegelreflexkamera in Verbindung mit dem großen Zeiss-Stativ. In Figur 4 steht die Kammer fertig zur Aufnahme über dem Mikroskop, in Figur 5 ist sie zur Seite geschwenkt, so daß das Mikroskop für die subjektive Beobachtung frei ist. Man kann bei dieser Stellung der Kammer ebenso bequem beobachten als wenn sie überhaupt nicht da wäre. Diese kleine

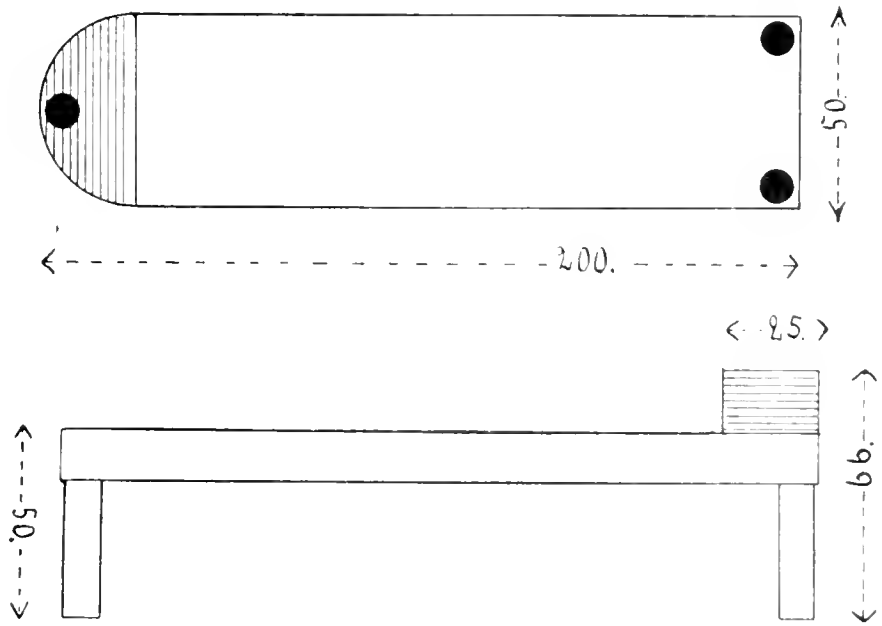
Kamera bietet den Vorteil, daß man während der Einstellung auf der Einstellscheibe das Präparat und alle Teile des Mikroskops bequem direkt mit den Händen erreichen kann. Dies alles geschieht beim Einstellen ebenso leicht wie bei der subjektiven Beobachtung und in ganz ungezwungener Körperhaltung. Der Übergang von der subjektiven Beobachtung zur Aufnahme und umgekehrt erfolgt augenblicklich. Wenn nicht gebraucht, wird die kleine Kamera zur Seite geschwenkt. Sie stört dann das Arbeiten in keiner Weise. Auch diese kleine Kamera kann ohne weiteres an der aufrechten Kamera für Mikrophotographie des Zeiss-Werkes angebracht werden.

Es ist für den Mikroskopiker von größtem Wert, eine Einrichtung zu haben, die es ihm ermöglicht, wenn er eine wichtige Stelle gefunden hat, sofort und ohne irgendwelche Umstände zur photographischen Aufnahme überzugehen, und gleich nachher wieder weiter zu beobachten. Diese Aufgabe wird erreicht durch den einfachen Tisch für Mikroskopie und Mikrophotographie, den ich mir gebaut habe.

Der Tisch ist 50 cm hoch, er steht auf drei Beinen; da, wo das eine Bein ist, läuft er, wie Figur 6 zeigt, spitz zu, und auf der Spitze über dem einen Beine steht das Mikroskop aufrecht auf einem Block mit festen Anschlägen. Auf dem Tisch ist die optische Bank des Zeiss-Werkes von 1 m Länge fest geschraubt. Auf ihr werden die Beleuchtungseinrichtungen und hinter ihr eventuell die Bogenlampe aufgestellt. Neben dem Mikroskop steht die Säule der aufrechten Kamera für Mikrophotographie, die die kleine Spiegelreflexkamera trägt. Der Block, auf dem das Mikroskop steht, ist bei dem vorliegenden Tisch mit Zapfen in denselben eingelassen und abnehmbar, damit der Tisch auch für andere Arbeiten mit der optischen Bank benutzt werden kann, z. B. für spektrographische, sensitometrische und andere in das Gebiet der Mikrophotographie schlagende Untersuchungen. Bei der gewöhnlichen subjektiven Beobachtung wird in den meisten Fällen wenig Wert auf ganz korrekte Beleuchtung gelegt, wie sie bei der Mikrophotographie nötig ist. Wenn man den vorliegenden Tisch benutzt, hat man es leicht, dieselben Einrichtungen, die man für die Mikrophotographie benutzt, auch bei der subjektiven Beobachtung zur Beleuchtung zu gebrauchen. Natürlich wird man für die subjektive Beobachtung entweder Gasglühlicht, oder Nernstlicht oder, was das beste ist, Quecksilberlicht mit den von Dr. A. Köhler in Jena empfohlenen Filtern benutzen. Nur für die schwierigsten Arbeiten bei Dunkelfeldbeleuchtung ist auch für die subjektive Beobachtung Bogen-

licht unerläßlich. Die Vorteile monochromatischen Lichtes für die subjektive Beobachtung und die Photographie sind bekannt genug. Um für die subjektive Beobachtung das Licht eventuell zu dämpfen, stelle ich in einem geeigneten Halter, der vor dem Mikroskop auf dem Block angebracht ist, Matt- oder Milchglasscheiben auf. Als Lichtfilter verwende ich Lösungen in den vom Zeiss-Werk gelieferten Küvetten.

Die hier beschriebene Einrichtung für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie ist nur mit aufrechtem Mikroskop zu gebrauchen. Es hat sich aber in der Praxis gezeigt, daß für gewisse



6.

Arbeiten, z. B. mit der Kondensorsimmersion und mit dünnflüssigen Immersionsflüssigkeiten, das aufrechte Mikroskop dem umgelegten gegenüber Vorteile bietet.

Wie schon gesagt, liegt der Hauptvorteil der vorliegenden Einrichtung in der Erleichterung schwieriger Zeit- und aller Momentaufnahmen. Bei schwachen Vergrößerungen ist es im allgemeinen bequemer, gleich so stark zu vergrößern, daß eine Nachvergrößerung unnötig ist, und die Kontaktkopie für alle Fälle genügt. Hierfür ist die große Horizontal-Kamera mit langem Auszug natürlich das geeignete Hilfsmittel, z. B. für Aufnahmen mit Planaren. Die schwierigsten Diatomeen dagegen sind mit der kleinen Spiegelreflexkamera viel leichter und sicherer zu photographieren.

Wie Kenneth-Mees, der Verfasser dieses und Goldberg untersucht haben, hat die photographische Schicht ein gewisses Auflösungsvermögen, d. h. es gibt einen minimalen Grenzwert für den Abstand zweier getrennt abgebildeter Stellen auf der lichtempfindlichen Schicht, die durch einen Zwischenraum getrennt sind, der mit anderer Stärke beleuchtet wird. Augenscheinlich erfüllt die Schicht ihre Aufgabe vollkommen, wenn sie alle vorhandenen Feinheiten, d. h. die kleinsten im optischen Bilde vorhandenen Strukturen photochemisch wiedergibt. Hierbei ist es natürlich durchaus nicht nötig, daß die feinsten Einzelheiten des Negatives mit bloßem Auge wahrgenommen werden können. Nötig ist nur, daß sie überhaupt im Negativ genügend vorhanden sind. Die gebräuchlichen Negativschichten halten mindestens eine vierfache lineare Vergrößerung aus, wenn man für das vergrößerte Bild ohne Rücksicht auf die Perspektive einen Betrachtungsabstand von 25 cm annimmt. Diese Vernachlässigung der Perspektive ist aber bei der Mikrophotographie sicher erlaubt, da die Objekte fast immer in der Richtung der optischen Achse eine sehr geringe Ausdehnung haben.

Tabelle 1.

$A = n \cdot \sin u$	d; in $^1/_{1000}$ mm.
0·1	2·75
0·3	0·92
0·6	0·46
0·9	0·31
1·2	0·23
1·4	0·19
1·6	0·17

Tabelle 2.

A	Neg.	Betr.
0·1	22	88
0·3	66	264
0·6	132	528
0·9	198	792
1·2	264	1056
1·4	308	1232
1·6	352	1408
2·5	550	2200

Tabelle 3.

Brennweite in mm.	Numerische Apertur.	Vergrößerung mit Kompens.-Okular No. 4	8
16	0·3	62	187
8	0·65	125	375
4	0·95	250	750
3	0·95	333	1000
2·5	1·25	400	1200
2	1·3 u. 1·4	500	1500

Die Tabelle No. 1 gibt die Werte für das Auflösungsvermögen der Objektive von gewisser numerischer Apertur in $d = {}^1/_{1000}$ mm. Praktische Versuche zeigen, daß normale Augen Abstände im Bild von ${}^1/_{1000}$ des Betrachtungsabstandes noch ohne Schwierigkeiten wahrnehmen. Dies entspricht einer Winkelgröße von ungefähr $3{}^1{}_2{}'$. Man hat also das Auflösungsvermögen des Objektivs erschöpft, wenn man bei der Betrachtung des Mikrophotogramms dem Auge die kleinsten noch aufgelösten Abstände unter $3{}^1/_2{}'$, d. h. unter einer Winkeltangente von ungefähr ${}^1/_{1000}$ darbietet. Wie gesagt, wird der Betrachtungsabstand $a = 250$ mm angenommen. Wir bekommen also, da das Negativ für die Betrachtung vierfach linear vergrößert wird, $\frac{250}{4000} = 0{,}06$ mm als kleinsten Abstand im Negativ. Derartige Abstände werden von den käuflichen Negativschichten noch sehr gut wiedergegeben.

Die Tabelle 2 gibt die numerischen Aperturen, die denselben entsprechende Negativvergrößerungen bei der Aufnahme unter „Neg." und unter „Betr." diejenige Betrachtungsvergrößerung, die dem Auge die besagten Abstände unter $3{}^1{}_2{}'$ darbietet. Die hier abgedruckte Tabelle zeigt, daß bei einem Kammerauszug von beiläufig 25 cm mit einem Kompensationsokular 4 (oder Huygens No. 1) ungefähr die passende Vergrößerung für die Aufnahme erhalten wird. Daß die schwächste Vergrößerung, die noch alle in Frage kommenden Bildeinzelheiten gut sichtbar macht, die günstigste für die Aufnahme ist, braucht wohl kaum besonders ausgeführt zu werden. Ich erinnere nur an die hierdurch erreichte größere Bildhelligkeit und die abgekürzte Belichtungszeit, die Erleichterung bei der Anwendung von Lichtfiltern und ähnliches. Die photographische Industrie liefert heutzutage für geringen Preis ganz vorzügliche Vergrößerungsapparate. Eine einigermaßen gute Einrichtung vorausgesetzt, ist das Vergrößern

nicht umständlicher oder mühsamer als das Kopieren, besonders wenn man, wie in unserem Falle, mit einer konstanten Vergrößerung arbeitet. Die Scharfeinstellung fällt dann fort, und man kann auf diese Weise rascher und bequemer seine Positive herstellen, als durch die Kontaktkopie. Daß die Aberrationen der Objektive bei geringer Vergrößerung weniger stören, als bei stärkerer, ist jedem Mikrophotographen wohl bekannt. Infolge gewisser Eigenschaften der lichtempfindenden Schichten wird in der Tat ein bei geringer Vergrößerung aufgenommenes und in mäßigen Grenzen nachvergrößertes Bild mindestens ebenso scharf, unter Umständen sogar noch schärfer, als ein in Originalgröße aufgenommenes.

Die hier beschriebene Spiegelreflexkamera wurde von Herrn A. Stegemann (Berlin) nach meinen Angaben angefertigt.

[Eingegangen am 11. April 1914.]

Notiz, betreffend die Verwendung der „direkten Kühler" für Projektion.

Von

Prof. O. Zoth,

Graz, Physiologisches Institut der Universität.

Das Prinzip der „direkten Kühlung" durch Wärmeleitung, auf das ich vor zwanzig Jahren — wie ich glaube zuerst — aufmerksam gemacht habe[1], hat seither ziemliche Verbreitung in der Projektionstechnik gefunden. Der damals im besonderen beschriebene direkte Kühler für Mikroprojektion, der zuerst von der Firma Zeiss in Vertrieb gebracht worden ist, besteht aus einer flachen metallenen, von kaltem Wasser durchströmten Kühlkammer, deren vordere und hintere Öffnung mit je einem in eine eingedrehte Nut eingekitteten Deckglase verschlossen ist. Später sind ihm andere Kühler nachgebildet worden.

Diese Kühler werden nun überall mit Druckwasser, meist aus den Wasserleitungen, betrieben, was bei unachtsamer Handhabung leicht zum gelegentlichen Zerspringen, Absprengen oder Loslösen eines Deckglases, namentlich des dünnen vorderen, wenn kein Objekt aufliegt, führen kann. Dem kann nun natürlich nicht dadurch begegnet werden, wie es einmal vorgeschlagen worden ist, daß über das Deckglas zwei Metallspangen gespannt werden (!), denn sobald der ganze Objektträger und im besonderen seine Mitte der Kühlkammer nicht genau aufliegt, wird natürlich der ganze Zweck der Einrichtung hinfällig. Ich habe auch schon — selbstgefertigte — Kühler gesehen, deren Deckgläser nicht genau in der Ebene der Kammerflächen lagen, entweder vertieft oder hervorragend eingekittet waren: im ersten Falle wird die Kühlung wieder illusorisch, im zweiten kann bei starkem Drucke der Federklammern ein dünnes Objektglas leicht brechen.

Um gegen das unliebsame Zerspringen oder Ablösen der Deckgläser gesichert zu sein, verwende ich die auf dem Prinzipe der direkten Kühlung beruhenden Kühlkammern schon seit Jahren so, daß

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 10, 1893, p. 152.

die durchströmende Kühlflüssigkeit in ihnen unter etwas kleinerem als dem Atmosphärendrucke steht. Dies wird dadurch erreicht, daß man den Kühler an den höchsten Punkt eines einfachen Heberwerkes verlegt. Aus einem größeren, mehrere Liter fassenden, unter dem Projektionstische aufgestellten Gefäße mit kaltem Wasser, in das allenfalls auch ein paar Eisstücke gebracht werden können, führt ein darin bis zum Boden reichender Schlauch zur Kühlkammer am Projektionsapparate (Objekttisch bei Mikroprojektion) empor; der Abflußschlauch führt von da wieder abwärts in ein zweites etwas tiefer als jenes stehendes Gefäß oder in einen tieferliegenden Ablauf der Wasserleitung. Durch einmaliges Ansaugen mit dem Munde am Abflußschlauch wird das Heberwerk in Gang gebracht, durch einen Quetschhahn am Abflußschlauche kann es dann jederzeit abgestellt oder wieder betätigt werden. Die Durchflußgeschwindigkeit kann durch Veränderung der Niveaudifferenz des Wasservorratsgefäßes und der Auslauföffnung des Abflußschlauches geregelt werden: 50 bis 60 cm genügen.

Es ist klar, daß bei dieser Anordnung ein Zerspringen oder Absprengen eines Deckglases ausgeschlossen ist, da im Kühler kein Überdruck herrscht. Außerdem gestattet die Einrichtung die Anwendung von Eiswasser, wenn es notwendig wäre, auch von Kältemischungen. Der Verbrauch an Kühlflüssigkeit ist sehr gering, besonders wenn in den Pausen der Projektion der Durchfluß gesperrt wird[1]. Bei Verwendung von zwei Sammelgefäßen kann man dieselbe Kühlflüssigkeit wieder verwenden.

[1]) Ich schließe hierbei immer die Irisblendung am Kondensor.

[Eingegangen am 25. März 1914.]

[Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.]

Über neue Mikroskopierbeleuchtungen.

Von

Fritz Levy.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Trotz aller Fortschritte der Beleuchtungstechnik ist die gute Mikroskopierlampe noch ein wunder Punkt in unserer Einrichtung. Nach längeren Versuchen mit der Deutschen Gasglühlichtgesellschaft (Auergesellschaft) gelang es, zwei Beleuchtungen zu schaffen, die, wie ich glaube, den meisten Ansprüchen genügen.

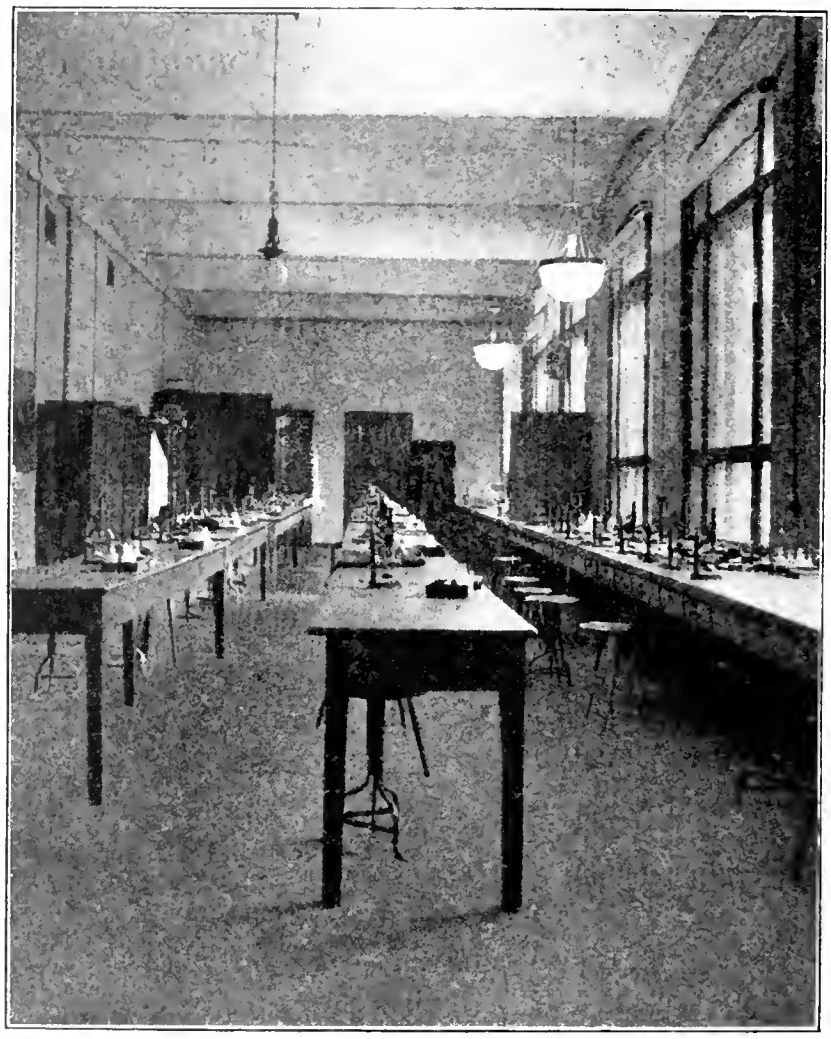
I. Beleuchtung von Kurssälen.

Für die Beleuchtung großer Mikroskopiersäle sind folgende Hauptbedingungen zu stellen:

1) Genügend helle Lichtquelle.
2) Ökonomischer Verbrauch.
3) Leichte Einstellung auf die Lichtquelle.
4) Genügende Beleuchtung der Arbeitsplätze, um dort Präparate, Zeichnungen usw. herzustellen.
5) Genügende Abblendung, daß weder Laboranten noch die umhergehenden Demonstratoren geblendet werden.

Es erschien vorteilhaft, statt vieler kleiner Lampen eine Zentralbeleuchtung anzuwenden. Auf meinen Vorschlag hin wurden in unserem Institut in einem Mikroskopiersaal zwei Armaturen für indirekte Beleuchtung je mit einer 2000kerzigen Osram-Halbwattlampe angebracht. Eine etwa halbkugelige Milchglasschale erwies sich als geeignetste Form. Das Glas muß leicht bläulich sein. Aus räumlichen Gründen mußten die Lampen soweit den Fenstern genähert

werden. Der Raum (Fig. 1) ist sehr schmal und nur bei der gewählten Anordnung konnte auch die Fensterreihe Licht von den Lampen erhalten. Wenn man in breiteren Sälen die Lampen in der Mitte anbringt, kann man so bequem für 100 und mehr Mikroskope



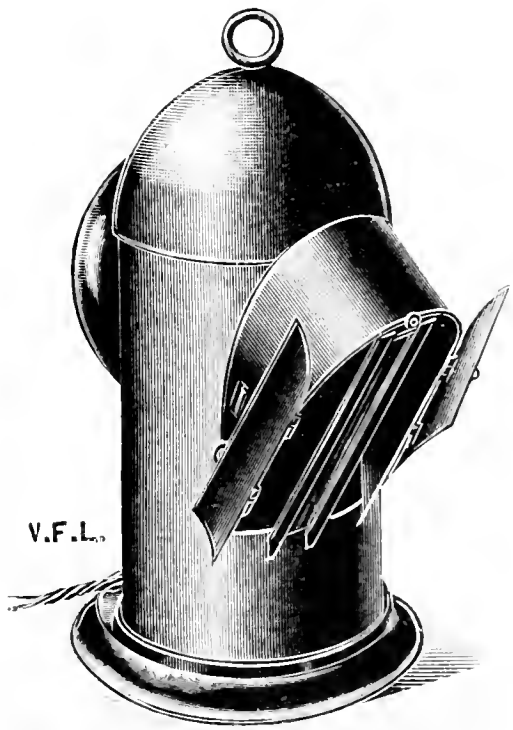
1.

Licht schaffen. Bei der in unserem Saale durchgeführten Anordnung kann an allen 48 Plätzen mit Immersionsmikroskopen gearbeitet werden. Die ungünstigen Plätze, senkrecht unter den Lampen, werden so versorgt, daß immer nach der anderen Lampe eingestellt wird. Die Einstellung ist leicht und wird von den Studierenden schnell erlernt. Die Lampen hängen bei uns 2 m über dem Arbeitstisch.

* * *

II. Einzelbeleuchtung.

Für das Laboratorium reichen in vielen Fällen 50kerzige mattierte Metalldrahtlampen aus. Arbeitet man aber mit starken Vergrößerungen, so ist die Beschaffung einer guten Lichtquelle oft recht schwierig und vor allem recht kostspielig. Die sonst üblichen kleinen Bogenlampen mit Handregulierung haben ja immer die Tücke, im wichtigsten



2.

Augenblick eine Regulierung zu verlangen, die selbstregulierenden sind sehr teuer. Ich habe daher eine Mikroskopierlampe konstruiert (vgl. Fig. 2), die sich mir bei stärksten Vergrößerungen (3000fach) als vollkommen ausreichend erwiesen hat und auch für Dunkelfelduntersuchungen gut zu gebrauchen ist.

Der Leuchtkörper ist eine Spezialosramlampe mit stehendem Wellenfaden von 100 HK Lichtstärke; die Vorderseite der Birne ist mattiert, die Hinterseite verspiegelt. Die Lampe ist so in einem Gehäuse untergebracht, daß der größte Teil des Lichtes auf den Mikroskopspiegel fällt. Die mattierte Vorderfläche dient dabei als

sekundäre Lichtquelle. Ich habe einen Falz anbringen lassen, um durch eingelegte Filterscheiben das etwas gelbliche Licht dem Tageslicht ähnlicher zu machen und durch Mattscheiben für schwächere Systeme die Lichtstärke herabzusetzen. Neben dem Falz sind Öffnungen gelassen, die den Arbeitsplatz erhellen, ohne den Arbeitenden irgendwie zu blenden. Für Arbeiten, bei denen dieses Licht stören würde, ist an den Öffnungen eine Schließvorrichtung angebracht.

Herr Prof. Dr. Heinrich Poll hat mich bei der Ausarbeitung durch manchen guten Rat freundlichst unterstützt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, ihm hier dafür herzlichst zu danken.

Die Lampen werden von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf in Berlin, Luisenstraße 52, in den Handel gebracht; von dort sind auch die nötigen Filterscheiben zu beziehen.

[Eingegangen am 24. Januar 1914.]

[Mitteilungen aus den Optischen Werken von E. Leitz, Wetzlar.]

Über neue Mikrotomkonstruktionen[1].

Von

Dr. Siegfried Becher,

Privatdozenten und Assistenten am Zoologischen Institut in Gießen.

Hierzu zwei Textabbildungen.

II. Das Drehscheibenmikrotom von Leitz (D. R. P.).

Wir belächeln heute ein wenig die antike Wertung geometrischer Formen, nach der der Kreis als vollkommenste Linie eingeschätzt wurde, doch bleiben die praktischen Momente, die solche nur scheinbar rein mathematischen Urteile mitbestimmt haben, vollauf bestehen. Es ist bequemer ein und dieselbe Leistung durch die gleichmäßig kreisförmige Bewegung auszuführen als etwa durch eine geradlinige Bewegung mit ihrem Wechsel von Vor und Zurück. Auch pflegt bei kreisförmiger Bewegung die lebendige Kraft eines Schwungrades oder dergleichen eine gleichmäßigere Verteilung der jeweils notwendigen Kraft herbeizuführen, während bei einfacher Hin- und Herbewegung auch die Kraftanstrengung an verschiedenen Punkten der Bahn eine recht verschiedene ist. Auch unter den verschiedenen Mikrotomtypen hat sich derjenige, bei dem alle Leistungen von einer einzigen Drehbewegung ausgehen, eine hervorragende Stellung erobert.

Die verbreitetste Form des Drehmikrotoms ist die Minotsche, die in zahlreichen verschiedenen Modifikationen existiert. Alle Instrumente von diesem Typus werden zwar durch eine Drehbewegung angetrieben, diese wird aber in eine geradlinige übersetzt, so daß die eigentliche Schnittbewegung (die hier vom Objekt ausgeführt wird) in einer einfachen Hin- und Herbewegung besteht. Nur selten ist der

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 30. 1913, p. 192.

Versuch gemacht worden[1], nicht nur die Antriebbewegung, sondern auch die Schnittbewegung kreisförmig zu machen. Dieser Versuch wird in dem neuen Drehscheibenmikrotom von Leitz in neuartiger Weise wieder aufgenommen.

Die bisherigen Konstruktionen mit kreisförmiger Schnittbewegung haben keine weitere Verbreitung gewinnen können. Nur die sogenannten Studentenmikrotome, bei denen das Messer auf kreisförmiger Bahn bewegt wird, haben sich weitgehende Sympathien erworben, und sind offenbar in dieser Form technisch am leichtesten und billigsten herzustellen. Aber die Studentenmikrotome bilden doch einen Typus für sich, da bei ihm die Antrieb- und Schnittbewegung nicht geschlossene Kreise in derselben Richtung beschreiben, sondern nur Hin- und Herbewegungen auf einem Kreisbogen, ganz abgesehen davon, daß diese Bewegung hier vom Messer und nicht wie bei den echten Drehmikrotomen vom Objekt ausgeführt wird. Diese kleinen Mikrotome können also kaum angeführt werden, um mehr Sympathie für die Drehmikrotome zu wecken; das einzige was die Studentenmikrotome mit ihnen wirklich gemein haben, nämlich die Krümmung der Schnittbewegung, wird sogar von vielen für einen gewissen Mangel gehalten.

Für eine objektive Beurteilung der Vorteile und Nachteile kreisförmiger Schnittbewegung scheinen uns folgende Momente in Betracht zu kommen.

Zunächst müssen wir unterscheiden zwischen kreisförmigen Schnittbewegungen, bei denen die Messerschneide sich in der Ebene bewegt, und solchen, bei denen sie eine Zylinderoberfläche beschreibt. Letzteres tritt ein, wenn die Achse der Drehbewegung parallel zur Schnittfläche liegt, wie das z. B. bei den Schaukelmikrotomen der Fall ist. Die Schnitte solcher Mikrotome sind nicht absolut flach, so daß bei ihrer Ausbreitung auf dem Objektträger und bei späterer Rekonstruktion eine wenn auch geringe Verzerrung eintritt, auch ist die Dicke dieser Schnitte in der Mitte und am Rand nicht genau dieselbe. Diese gewissen Bedenken ausgesetzten Eigentümlichkeiten fallen ohne weiteres fort, wenn die Schnittfläche eine Ebene ist und die kreisförmige Schnittbewegung immer in dieser Ebene stattfindet. Nur dieser Fall kommt für die Drehmikrotome in Frage.

Aber eine andere Eigentümlichkeit der ebenen kreisförmigen

[1]) Triepel, H., Ein Zylinder-Rotationsmikrotom (diese Zeitschrift Bd. 22, p. 118—125 und 3 Textfig.).

Schnittbewegung ist in Betracht zu ziehen. Um beim Serienschneiden lange Bänder zu gewinnen, muß man den Querschnitt des Blockes ungefähr rechteckig machen, jedenfalls müssen die dem Messer zugekehrte und die gegenüberliegende Seite parallel sein. Konvergieren diese Seiten, so tritt spiralige Aufrollung des Schnittbandes in einer Ebene ein, ein Verhalten, das im allgemeinen einer rationellen Anordnung, Montierung und Durchsicht der Schnitte sehr ungünstig ist[1]. Stellt man nun aber, wie das zum Serienschneiden üblich ist, die Messerschneide parallel zu der Vorderkante des rechteckig zugeschnittenen Blockes, so wird die Messerschneide zwar an allen Stellen gleichzeitig zu schneiden beginnen, dagegen an der Peripherie, wo sich der Block schneller bewegt, früher aus dem Objekt austreten als an dem der Drehungsachse näheren Ende. Das Messer wird bei Beendigung des Schnittes nicht mit der hinteren Begrenzung des Blockes zusammenfallen, sondern einen Winkel damit bilden. Das periphere Ende des Schnittes wird also durch das Weiterschneiden am zentralen Ende von der Messerschneide abgeschoben und muß dieselbe schon verlassen haben, wenn das zentrale Ende, das an der Messerschneide liegen bleibt, gerade fertig geschnitten worden ist. Der rechteckige Schnitt würde also danach nur mit seiner inneren Ecke an der Messerschneide hängen bleiben und nur dieses Ende würde mit dem parallel der Messerschneide beginnenden Vorderrand des nächsten Schnittes verkleben können. Das wäre ein Nachteil gegenüber den Mikrotomen mit geradliniger Schnittbewegung, bei denen der Schnitt mit dem ganzen Hinterrand an der Messerschneide bleibt und dementsprechend auch mit ganzer Breite mit dem Vorderrand des nächstfolgenden Schnittes zur Bandbildung verkleben kann. Wenn der Radius der Schnittbewegung 5 cm beträgt und der Block 1 qcm Schnittfläche hat, so müßte das periphere hintere Schnittende 2 mm hinter der Messerschneide liegen, wenn es die andere Ecke gerade berührte. Danach müßte die Verschiebung beträchtlich und für das Zustandekommen von Bändern bedenklich erscheinen.

In der Praxis findet aber gar kein schräges Zurückweichen der hinteren Schnittgrenze von der Messerschneide statt. Der Schnitt bleibt auch mit seiner früher fertig werdenden, peripheren Ecke an der Messerschneide hängen und wird beim weiteren Fortschritt

[1]) Dementsprechend ist auch der Versuch von Lebrun (Vgl. diese Zeitschr. Bd. 23, 1906, p. 145—173), eine derartige spiralige Aufrollung absichtlich herbeizuführen und kreisförmige Objektträger dazu zu empfehlen, ohne Einfluß geblieben.

des Messers bis zu der zentralen Ecke allmählich soweit gedreht, bis der Vorderrand des Schnittes wieder parallel zur Messerschneide liegt und der Hinterrand in ganzer Breite an ihr ansitzt. In Wirklichkeit findet denn auch bei kreisförmiger Schnittbahn bei Objekten von der üblichen Ausdehnung stets ein Verkleben der Schnitte mit der vollen Breite von Vorder- und Hinterrand statt — genau so wie bei geradliniger Schnittbewegung. Dem entsprechen übrigens auch die Erfahrungen am Studentenmikrotom.

Endlich darf man aber bei genauer Betrachtung nicht übersehen, daß das zentrale und das periphere Blockende bei kreisförmiger Schnittbewegung ungleich schnell vom Messer durchdrungen werden. Von der Schnelligkeit des Schneidens ist aber das Aussehen des Schnittes nicht ganz unabhängig, der Grad der Aufkrümmung des Schnittes kann z. B. davon beeinflußt werden, so daß man beim Schneiden oft die Geschwindigkeit nicht beliebig wählen kann, sondern damit bei einem, an den ersten Schnitten des Blockes ausprobierten Optimum bleiben muß. Man könnte nun denken, daß die verschiedene Geschwindigkeit, mit der die verschiedenen Objektteile bei kreisförmiger Messerbewegung geschnitten werden, durch das Auftreten verschiedener Krümmungstendenzen störend wirken könnte. Die Erfahrung zeigt indessen, daß die so bedingten (übrigens stetig ineinander übergehenden) Unterschiede unmerkbar klein sind und völlig verschwinden gegen die viel größeren Verschiedenheiten der Krümmungstendenzen, die in dem Schnitt selbst durch das ungleiche Verhalten des reinen Paraffins und der verschiedenen Teile des Objektes hervorgerufen werden.

Ein letztes Bedenken richtet sich nur gegen das Schneiden mit schrägem Messer bei kreisförmiger Messerstellung. Das schrägstehende Messer bildet mit den verschieden großen Kreisen, die die einzelnen Punkte eines Objektes beschreiben, verschiedene Winkel. Auch diese Verschiedenheit der Winkel, unter denen die einzelnen Teile eines Blockes geschnitten werden, könnte möglicherweise ungünstig sein, da sich z. B. für das Schneiden von Celloïdin- oder Gelatineblöcken manchmal nur eine bestimmte „Messerdeklination“ finden läßt, für die das Schneiden am besten geht. Immerhin sind hier die Grenzen im allgemeinen nicht so eng, daß die wenigen Grade Abweichung, die möglicherweise unter den angegebenen Verhältnissen in Betracht kommen, den Erfolg nennenswert beeinflussen könnten.

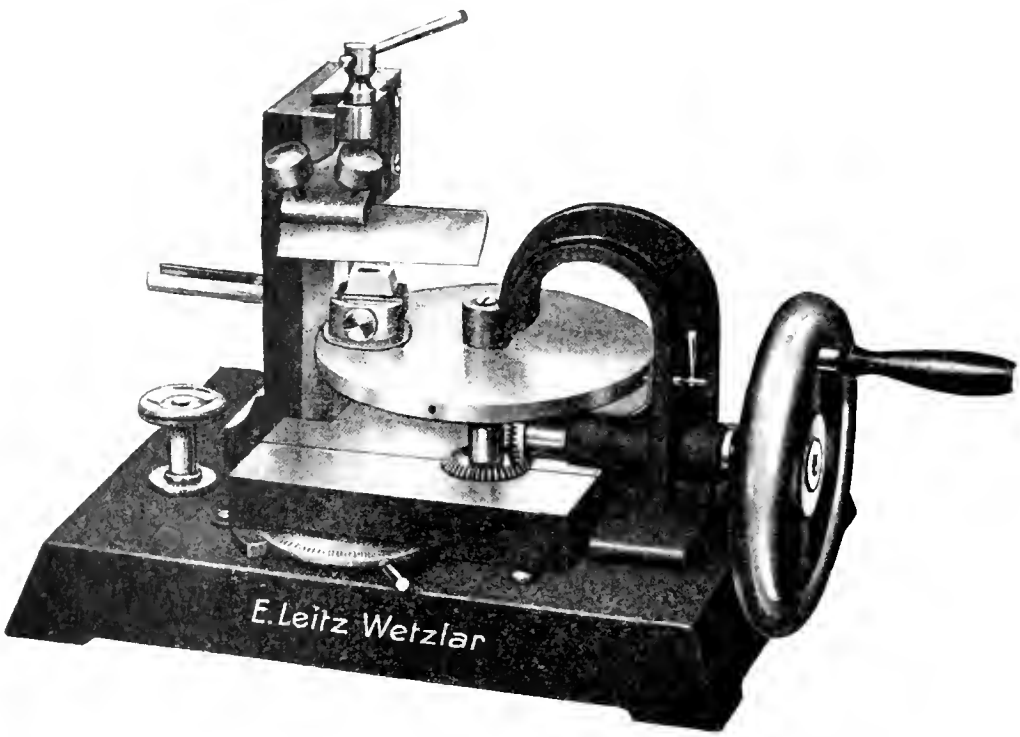
Auf der anderen Seite fehlt es auch nicht an Vorteilen der kreisförmigen Schnittbewegung. Diese Vorteile sind nicht derart, daß sie ein entschiedenes Übergewicht gegenüber dem Schneiden in gerader Bahn geben, aber sie sind immerhin bedeutender als jene aufgezählten Nachteile.

An erster Stelle ist hier darauf hinzuweisen, daß bei geschlossen kreisförmiger Schnittbewegung und einseitiger Messerstellung die Messerschneide vom Objekt nur beim Schneiden selbst und nicht immer noch ein zweites Mal auf dem Rückweg passiert wird. Kleine Scharten des Messers, anklebendes Paraffin oder dergleichen, kann dabei die Schnittfläche ein zweites Mal ritzen oder quetschen. Noch wichtiger ist vielleicht, daß der Block beim Zurückpassieren den letzten Schnitt zuweilen von der Messerschneide lockert und mitnimmt, wodurch dann die Bandbildung sofort unterbrochen wird. Gerade beim Minotschen Mikrotom kann dieses Vorkommnis bekanntlich öfters auftreten, und wenn man noch unwillkürlich weiter dreht, unangenehm werden. Selbst bei Schlittenmikrotomen, mit denen man naturgemäß langsamer arbeitet, ist der mitgenommene Schnitt nicht selten verloren und der nächste Schnitt ist oft gefährdet, weil er noch nicht durch einen auf dem Messer befindlichen Schnitt empfangen wird. Jedenfalls aber ist es für ein schnellarbeitendes Rotationsmikrotom ein nicht zu unterschätzender Vorteil, wenn diese Gefahr von vornherein ausgeschlossen wird, wie es die kreisförmige Schnittbewegung ermöglicht.

Die Einführung der kreisförmigen Schnittbewegung bedingt fernerhin einen noch viel gleichmäßigeren und leichteren Gang als er sich bei anderen Drehmikrotomen, bei denen das Objekt mitsamt dem Vorschiebemechanismus gehoben werden muß, erreichen läßt. Dieser technische Vorteil wird bei der genaueren Beschreibung des neuen Leitzschen Drehscheibenmikrotoms, zu der wir uns jetzt wenden, klar hervortreten.

Beschreibung des Drehscheibenmikrotoms. — Der Bau eines Mikrotoms läßt immer zwei Teile unterscheiden: den Objektteil und den Messerteil; auch die Arbeit des Instrumentes zerfällt in zwei Leistungen, in die Schnittbewegung und in das Gegeneinanderrücken von Objekt und Messer um den Betrag der Schnittdicke. Diese beiden Leistungen sind aber bei den verschiedenen Mikrotomtypen in sehr verschiedener Weise auf jene oben genannten Bauelemente verteilt. Man könnte die Mikrotomformen nach diesem

Gesichtspunkt gruppieren und charakterisieren. Bei den Studenten- und Schlittenmikrotomen vollzieht der Messerteil die Schnittbewegung, während dem Objektteil das Vorrücken übertragen ist. Beim vorliegenden Mikrotom ist es gerade umgekehrt: der Objektteil führt die Schneidbewegung, der Messerteil das Vorrücken aus. Da es sich um ein automatisches Instrument handelt, sind beide Bewegungen gekuppelt, so daß sie nicht einzeln überwacht zu werden brauchen und die „Forderung einer freien Hand" erfüllt ist. Es ist bemerkenswert,

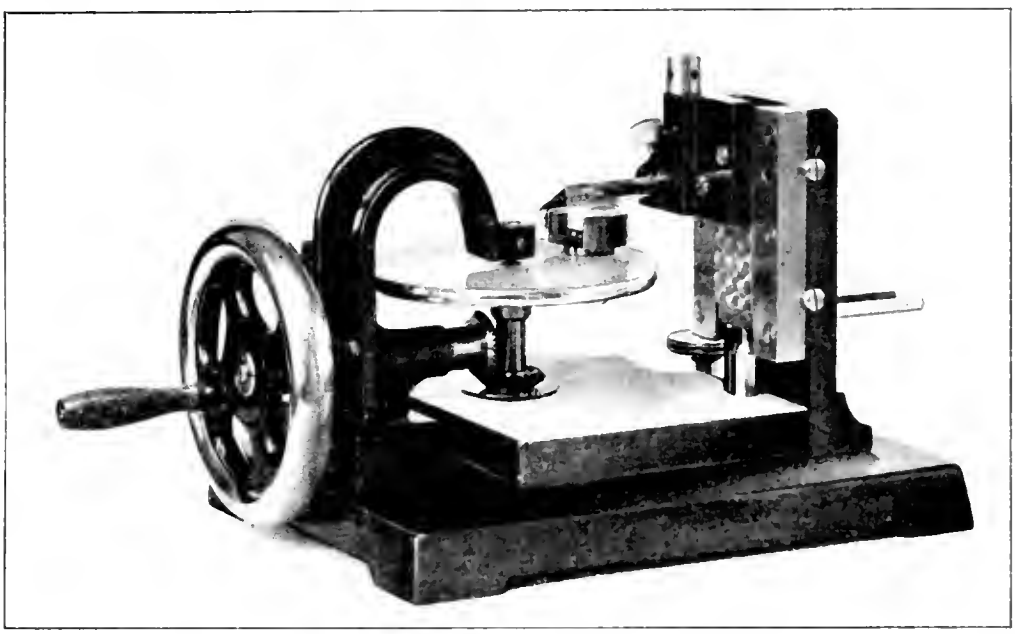


1.

daß bei fast allen anderen automatischen Mikrotomen (z. B. beim Minot-schen, beim Schaukelmikrotom und dem Triepelschen Zylinder-Rotationsmikrotom) fast immer der Objektteil allein jene beiden Bewegungen auszuführen hat. Dieser Gesichtspunkt ist deshalb von Bedeutung, weil der Objektteil, wenn er nicht nur die Schneidbewegung vollzieht, sondern auch noch den Mechanismus zur automatischen Vorschiebung des Objektes trägt, notwendig ziemlich kompliziert und schwer werden muß. Damit wird aber — zumal wenn die Schneidbewegung wie bei den genannten Instrumenten in senkrechter Richtung stattfindet — eine gewisse Ungleichmäßigkeit der Arbeit beim Antrieb notwendig in den Kauf genommen, die sich zwar durch Federn oder Gegengewichte etwas mildern aber nicht mehr völlig beseitigen läßt.

Bei dem neuen Leitzschen Drehmikrotom ist die Entlastung des Objektteiles durch Abgabe der Vorschiebebewegung an den Messerteil kombiniert mit der kreisförmigen Schnittbewegung und diese Kombination gibt dem Instrument sein individuelles, von den älteren Typen abweichendes Gepräge. Sie gewährleistet nicht nur außergewöhnliche Leichtigkeit, sondern auch ganz auffallende Gleichmäßigkeit des Ganges.

Der Objektteil des Mikrotoms besteht im wesentlichen aus einer etwa 8 mm dicken kreisförmigen Metallscheibe



2.

von 14 cm Durchmesser, deren senkrechtstehende Achse oben und unten durch je einen zugespitzten Stahlbolzen gehalten wird. Diese Lagerung der Achsenenden gestattet leichteste Drehung der Scheibe, aber nicht die geringste sonstige Schwankung. Der untere Bolzen sitzt in der Grundplatte, der oberste aber in einem kräftigen gegossenen Träger, der an der einen Seite der Grundplatte befestigt ist und über dem dorthin weisenden Teil der Scheibe einen hohen Bogen bildet. Unter diesem Bogen kann die nahe dem Rande der Drehscheibe angebrachte Klemme mit dem zu schneidenden Block sich ohne anzustoßen vorbeibewegen, wenn die Scheibe in Drehung versetzt wird. Die Klemme ist um ihre Achse drehbar und allseitig neigbar, sie sitzt nämlich auf einem Messingblock von der Form einer Kugelzone, der sich in einem entsprechenden Sattel

der Drehscheibe allseitig bewegen und von unten feststellen läßt. Der Drehungsmittelpunkt dieser Kugelgelenkklemme liegt übrigens nur wenig unter der Klemme, so daß sich bei Veränderung der Neigung des Objektes seine Höhe nur wenig ändert. An Stelle der Klemme, die zum Fassen von Holz oder Stabilitklötzchen (mit darauf befestigten Paraffin- oder Celloïdinblöcken) bestimmt ist, lassen sich auch flache, mit Riefen versehene Metallscheibchen auf das Kugelgelenk schrauben. Mit diesen Metallscheibchen, auf welche Paraffinblöcke ohne weiteres aufgeschmolzen werden können, kommt man dem Drehungspunkt noch näher.

Der Antrieb der Drehscheibe geschieht durch ein Kurbelrad, dessen Achse die Basis des gebogenen Trägers durchbohrt und als Lager benutzt, um unter der Drehscheibe durch zwei schräge Zahnräder ihre Drehung auf die Scheibenachse zu übertragen. Dreht man das Antriebrad, so rotiert die Scheibe mit dem Objekt mit gleicher Geschwindigkeit; die Bewegung braucht nicht immer umzukehren, sondern geht in demselben Sinne weiter, und dabei wird nichts gehoben oder gesenkt, so daß man unsere obigen Bemerkungen über Gleichmäßigkeit und Leichtigkeit des Antriebes gerechtfertigt finden wird.

Die Gegeneinanderbewegung von Messer und Objekt. Diese Bewegung ist, wie bemerkt, dem Messerteil des Mikrotoms zugewiesen, sie wird aber automatisch von der allgemeinen Antriebbewegung aus bewerkstelligt und dem Messerteil durch Drehung einer Mikrometerspindel übermittelt. Diese Spindel ist durch Zahnrad mit einer anderen Achse gekuppelt, die am oberen Ende ein durch einen Mitnehmer drehbares Sägezahnrad trägt. Der Mitnehmer wird bei jeder Umdrehung der Drehscheibenachse durch eine nahe am unteren Ende derselben befestigte Exzenterscheibe vorgezogen, um nachher zurückzugleiten. Dabei würde die Sägezahnscheibe durch den Mitnehmer immer um eine maximale Anzahl von Zähnen gedreht werden, wenn nicht ein mehr oder weniger großer Teil derselben durch eine eng über dem Sägezahnrad verschiebbare Dose mit Ausschnitt verdeckt oder frei gegeben werden könnte. Die Einstellung der Dose und damit der Schnittdicke geschieht von einer mit Skala versehenen Scheibe aus, jeder Teilstrich entspricht bei dem Schnitt einer Dicke von $^1/_{1000}$ mm, man kann zwischen 1 μ und 20 μ auf jede beliebige ganze Anzahl von μ einstellen.

Zu Beginn des Schneidens braucht man oft zur genauen Einstellung des Messers zum Block eine etwas schnellere Drehung

der Mikrometerspindel als sich von der automatischen Einstellung her ausführen läßt. Diese etwas gröbere (aber immer noch sehr feine) Hebung und Senkung geschieht bei dem Drehscheibenmikrotom von einem links angebrachten Schraubkopf aus, der direkt durch ein Zahnrad in das Zahnrad der Mikrometerspindel eingreift.

Eine ganz grobe Verstellung von Block und Messer wird bei dem neuen Leitzschen Mikrotom wie bei den anderen größern Instrumenten dieser Firma durch die Einrichtung der „Mutterzange" erreicht. Die Mikrometerspindel der mit Mutterzange versehenen Instrumente dreht sich nicht in einer festen Mutter vor oder zurück, sondern die Spindel steht selbst fest, während durch ihre Drehung die Mutter vor- oder zurückgeschoben wird. Diese Mutter ist nun halbiert, ihre den kurzen Armen einer Zange aufsitzenden Hälften werden durch eine Feder fest um das Gewinde gepreßt. Durch Zusammendrücken der langen Arme der Zange können die Mutterhälften jedoch von dem Gewinde abgehoben und an beliebiger anderer Stelle wieder angesetzt werden. Da die Mutter mit der Messerklemme verbunden ist, so wird eine ausgiebige Verstellung der Messerhöhe in bequemster Weise ermöglicht.

Im übrigen ist der Bau des Messerteils ein sehr einfacher. Die Spindelmutter ist am unteren Ende eines Messerschlittens befestigt, der in einer schweren senkrechten Schiene supportartig gefaßt wird und auf und ab gleiten kann. Eine nach oben drückende Feder kompensiert das Gewicht des Schlittens, der an seinem vorderen Ende eine Klemme trägt, in der ein Messer mit zwei Schrauben befestigt wird. Kleine Gegenschrauben der unteren Backe der Klemme gestatten die „Inklination"[1] des Messers, d. h. die Neigung seiner Fläche zu verstellen.

Die Messerklemme ist so angebracht, daß die Schneide des Messers (von links nach rechts) senkrecht über einem Radius der Drehscheibe liegt. Ein in radialer Richtung zugeschnittener Block wird also genau quer geschnitten, wie es für Erzielung längerer Bänder notwendig ist. Für ein automatisches Drehmikrotom, das in erster Linie der schnellen Herstellung langer Paraffinserien dient, ist diese quere Messerstellung sozusagen das Normale.

Das Drehscheibenmikrotom gestattet jedoch auch mit schräg gestelltem Messer zu arbeiten, ist also auch zum Schneiden von

---

[1]) Über die Ausdrücke Deklination und Inklination des Messers siehe Becher in dieser Zeitschr. Bd. **30**, 1913, p. 199.

Celloïdin, zumal von Terpineol-Celloïdinblöcken brauchbar. Die Messerklemme kann nämlich nach Lockerung einer oberen Schraube ohne weiteres bis zu einem Winkel von etwa 45 Grad gedreht werden.

Das Drehscheibenmikrotom unterscheidet sich von fast allen automatischen Mikrotomen durch die horizontale Lage der Schnittbahn und die damit zusammenhängende ungefähr horizontale Stellung des Messers. Das hat den Vorteil, daß man bei ungünstigen Objekten jeden Schnitt bequem vor sich hat und wie bei einem Schlittenmikrotom vorsichtig in Empfang nehmen kann. Bei dem senkrecht stehenden Messer der Minotschen Mikrotome ist eine solche Behandlung ungünstig kommender Schnitte sehr viel unbequemer. Auf der anderen Seite bilden sich bei senkrecht stehendem Messer die Bänder oft besonders schön, weil die herabhängenden früheren Schnitte einen leichten, gleichmäßigen Zug auf jeden neuen Schnitt ausüben. Übrigens ist das Drehscheibenmikrotom so eingerichtet, daß man es ohne weiteres um 90 Grad von vorn nach hinten aufkippen kann, so daß auch hier das Band senkrecht nach unten hängt.

Im allgemeinen wird natürlich eine solche Aufkippung nicht notwendig sein; denn das Instrument wird mit einer Bandführung geliefert, die hinter dem Messer angebracht wird und gestattet, das größer werdende Band vorsichtig immer weiter zu ziehen.

Zusammenfassend können wir den im Leitzschen Drehscheibenmikrotom repräsentierten Typus folgendermaßen charakterisieren. Die Schnittbewegung ist eine einsinnig kreisförmige, sie wird ausgeführt von dem auf einer horizontalen Drehscheibe in allseitig beweglicher Kugelgelenkklemme befestigten Objekt, das also das horizontal stehende Messer immer nur beim Schneiden, nicht aber wie bei gerader Schnittbahn auch beim Rückgang der Schnittbewegung passiert. Damit werden eventuelle Beschädigungen des Blockes beim Zurückstreichen unter dem Messer sowie ein Abheben des Bandes durch den Block vermieden. Durch die Kombination von drehender Antriebsbewegung mit kreisförmiger Schnittbewegung verdient das Instrument den Namen Rotations- oder Drehmikrotom in höherem Maße als etwa der Minotsche Typus. Die horizontale kreisförmige Schnittbewegung, bei der keine Umkehr des Bewegungssinnes stattfindet und bei der kein Gewicht zu heben ist, sowie die Abgabe der automatischen Gegeneinanderbewegung an den Messerteil geben dem Antrieb des Mikrotoms unvergleichliche Gleichförmigkeit und Leichtigkeit.

Die Ausrüstung der einzelnen Teile des Mikrotoms ist in modernster Weise durchgeführt. Wir erinnern an die allseitig bewegliche Kugelgelenkklemme des Objektes, an die automatische von 1 bis 20 μ verstellbare Einrichtung zur Bestimmung der Schnittdicke, an die feinere Hebung und Senkung des Messers mit einer besonderen Schraube, an die gröbere Verstellung mit der Mutterzange, ferner an die Möglichkeit, Inklination (Neigung) und Deklination (Schräge) des Messers zu verstellen, sowie endlich an die Bandführung. Die für vorsichtiges Arbeiten vorteilhafte horizontale Messerlage kann durch Aufkippen des ganzen Apparates mit einer an das Minotsche Mikrotom erinnernden Situation mit vertikalem Messer vertauscht werden. Der ganze Mechanismus liegt verdeckt, geölte Flächen, die wie die Bahnen eines Schlittenmikrotoms herabfallenden Schnitten verderblich werden können, fehlen vollständig.

[Eingegangen am 24. März 1914.]

[Aus dem Anatomischen Institut der Universität Moskau.
Direktor: Prof. P. Karuzin.]

Zur Technik der plastischen Rekonstruktion.

Von

S. Lebedkin.

Mit drei Textabbildungen.

Beim Studium der Entwicklung des Chondrocraniums der Säugetiere machte ich Modelle nach der Born-Strasserschen Methode der plastischen Rekonstruktion. Die technischen Schwierigkeiten aber, die entstehen, wenn man beim Modellieren genötigt ist, immer mit dem komplizierten Netz der „Brücken" zu arbeiten, machten diese Arbeit sehr zeitraubend und veranlaßten mich folgende Modifikation der Methode vorzuschlagen, nach welcher ich schon eine Rekonstruktion ausgeführt habe und augenblicklich an einer anderen arbeite.

Das Wesentliche dieser Modifikation besteht in der Trennung zweier Momente: 1) des Orientierens der zu rekonstruierenden Stücke und 2) ihres Zusammenfügens. Nach der gewöhnlichen Bornschen Methode geschieht das Orientieren während des Prozesses des Modellierens selbst mit Hilfe der Aufrechterhaltung einer Verbindung der einzelnen Stücke mit der „Richtlinie". Nach der von mir vorgeschlagenen Methode aber sind an den einzelnen zu modellierenden Stücken vorläufig Zeichen zu machen, die ein regelrechtes Zusammenfügen derselben beim Modellieren gestatten.

Die Zeichnungen werden auf einfachem, ungeleimtem Papier gemacht, wie es die Strassersche Methode der Anfertigung der Platten verlangt, doch werden außer den zur Rekonstruktion nötigen Konturen (z. B. des Knorpels) auch die Konturen des Körpers und die Organe, die eine bestimmte und einfache Form haben (die Chorda, das Auge, die Nervenknoten und Nerven oder die Konturen des Gehirns) aufgezeichnet. Wenn auch keins dieser Organe auf allen Schnitten zu

treffen ist, so treten sie doch gleichsam eins nach dem anderen auf, d. h. das in der Serie der Schnitte folgende Organ beginnt früher, als das erste endet, und deshalb gibt es in der ganzen Serie immer eine genügende Anzahl von Organen, die nicht zur zukünftigen Rekonstruktion gehören und als Stützpunkte für das Zusammenfügen jeder Zeichnung mit der nächstfolgenden dienen können. Unter solchen Bedingungen kann man auch ohne Richtlinie auskommen, wenn sie aber vorhanden ist, so muß auch sie zur Kontrolle mit aufgezeichnet werden. Dann werden die Zeichnungen zu zwei auf ein schräg gestelltes und von unten beleuchtetes mattes Glas folgerichtig aufeinandergelegt und nach den Konturen der nicht zur zukünftigen Rekonstruktion gehörenden Organe[1] (und nach der „Richtlinie", wenn eine solche vorhanden ist) ausgegliehen[2]. (Dabei ist es leicht, Zeichnungen von deformierten Schnitten, wenn solche sich vorfinden sollten, zu bemerken und durch neue zu ersetzen, die nach den beiden zunächst liegenden und der verdorbenen kombiniert sind.) Die aufeinandergelegten Zeichnungen werden durch kleine Klemmen zusammengefügt und auf allen zu rekonstruierenden Teilen werden entweder eins oder mehrere Kreuzchen gestellt, die dabei mit Hilfe von Kopierpapier gleichzeitig auf die entsprechenden Teile der unten liegenden Zeichnung übertragen werden (s. Figg. 1, 2, 3). Das kann mit Leichtigkeit mit Hilfe eines mit einem langen Stiele versehenen Rahmens aus Draht oder Karton, in welchen ein kleines Stück Kopierpapier befestigt ist, ausgeführt werden. Das Kopierpapier aber ohne diese Vorrichtung direkt zwischen die Zeichnungen zu legen ist unbequem, da es die Konturen der unteren Zeichnung verdeckt und das richtige Anbringen der Kreuzchen verhindert. Beim Zusammenfügen des zweiten Paars (z. B. der zweiten Zeichnung mit der dritten, wenn eine erste und eine zweite vorhanden sind) überträgt man alle Kreuzchen der oberen Zeichnung, welche sich innerhalb der Konturen des zu rekonstruierenden Organs befinden, auf die nächste. Wenn das Kreuzchen auf der unteren Zeichnung

[1]) Ich benutzte bei dem Orientieren der Zeichnungen die Konturen der nicht zur Rekonstruktion gehörenden Organe, um die subjektive Einwirkung zu vermindern und die Möglichkeit zu haben, jedes kleine Relief künftiger Modelle zu bewahren.

[2]) Ich benutzte zu diesem Zwecke einen hölzernen Kasten (in Form eines Pultes) mit einem schräg abfallenden oberen Deckel aus mattem Glase. Im Inneren dieses Kastens waren acht kleine elektrische Lampen gleichmäßig verteilt. Dieser Apparat war zur Demonstration von Röntgenogrammen hergestellt.

nahe am Rande oder ganz außerhalb der Konturen des nötigen Organs zu stehen kommt, so stellt man neben diesem in der Richtung der Abweichung der Konturen des Organs ein neues Kreuzchen, das jetzt auch auf alle folgenden Zeichnungen übergetragen wird. Überall, wo man ein neues Kreuzchen einfügen muß, liegen seine Linien in einem Winkel von 45° zu denen des nebenliegenden, so daß später kein Zweifel entstehen kann, welche Kreuzchen aufeinandergelegt werden müssen. Außerdem werden seitwärts von den Konturen

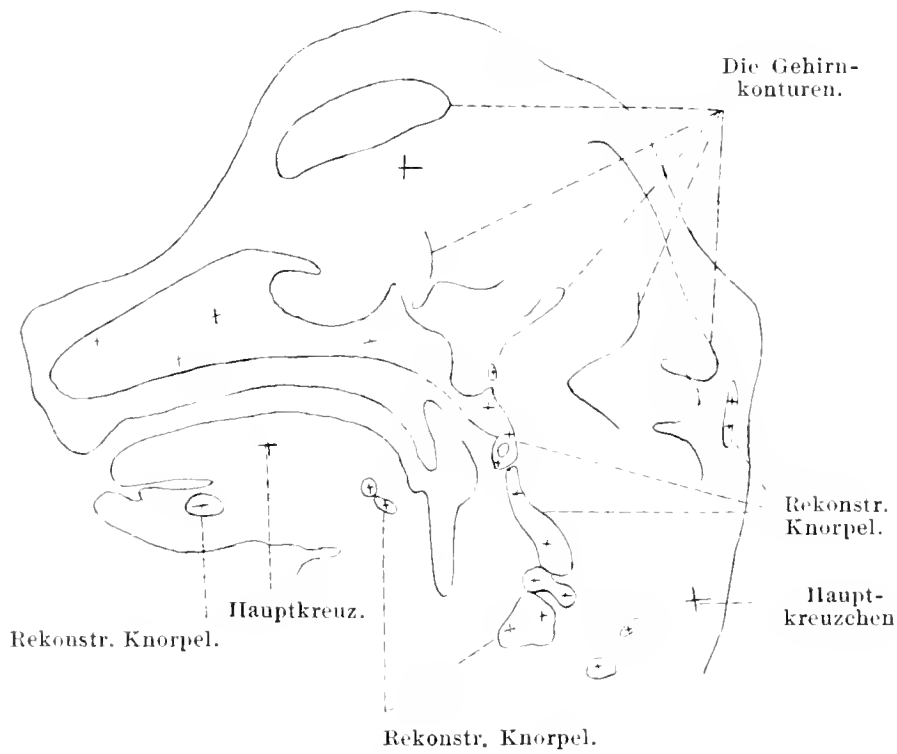


Fig. 1. Zeichnung 76, Schnitt 152.

des zu rekonstruierenden Organs noch drei Kreuzchen (Hauptkreuzchen) (s. Figg. 1, 2, 3) mit solcher Berechnung gestellt, daß sie bei ihrer Übertragung auf die folgenden Zeichnungen immer außerhalb der nötigen Konturen liegen. (Wenn man nun die Blätter nach den drei Hauptkreuzchen aufeinanderlegt, so ist uns die Möglichkeit gegeben, alle Zeichnungen im richtigen Verhältnis zu den Konturen der aufgezeichneten Organe zusammenzufügen.) Bei einem solchen Verfahren wird die Zahl der Kreuzchen auf jedem auszuschneidenden Teile nicht groß sein, und es wird in der Folge nicht schwer fallen zu bestimmen, welche Kreuzchen der aufeinanderliegenden ausgeschnittenen Teile einander entsprechen. Wenn eine „Richtlinie“

vorhanden ist, die die möglichen kleinen Abweichungen beim Zusammenfügen der Zeichnungen berichtigt, so ist die vorbereitende Arbeit damit abgeschlossen; wenn aber keine „Richtlinie“ vorhanden

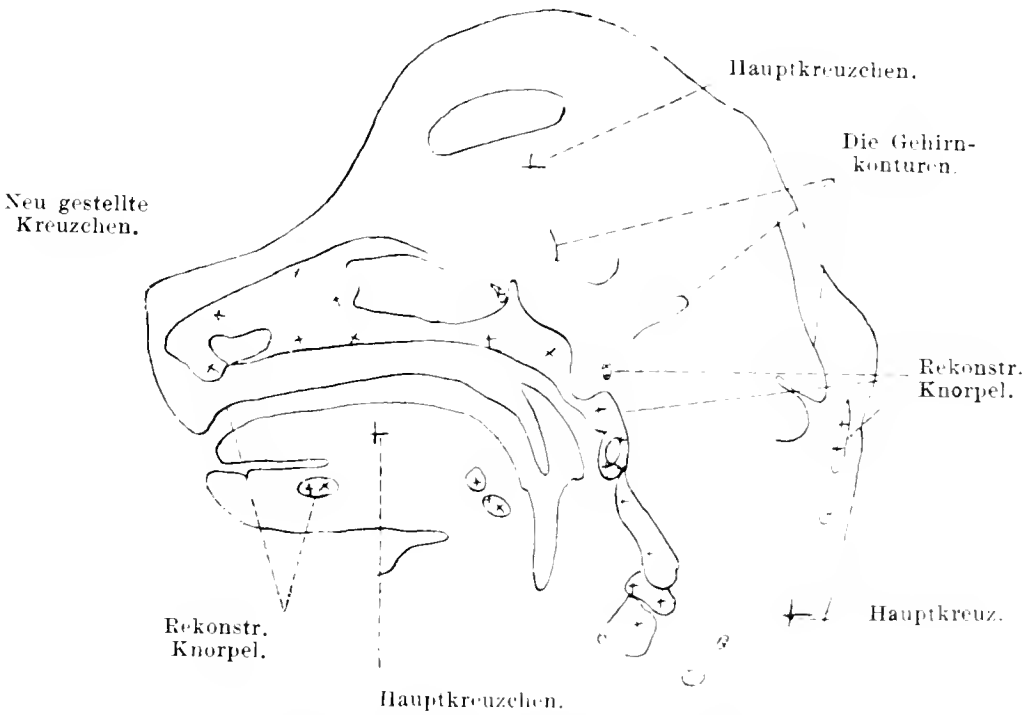


Fig. 2 Zeichnung 77, Schnitt 154.

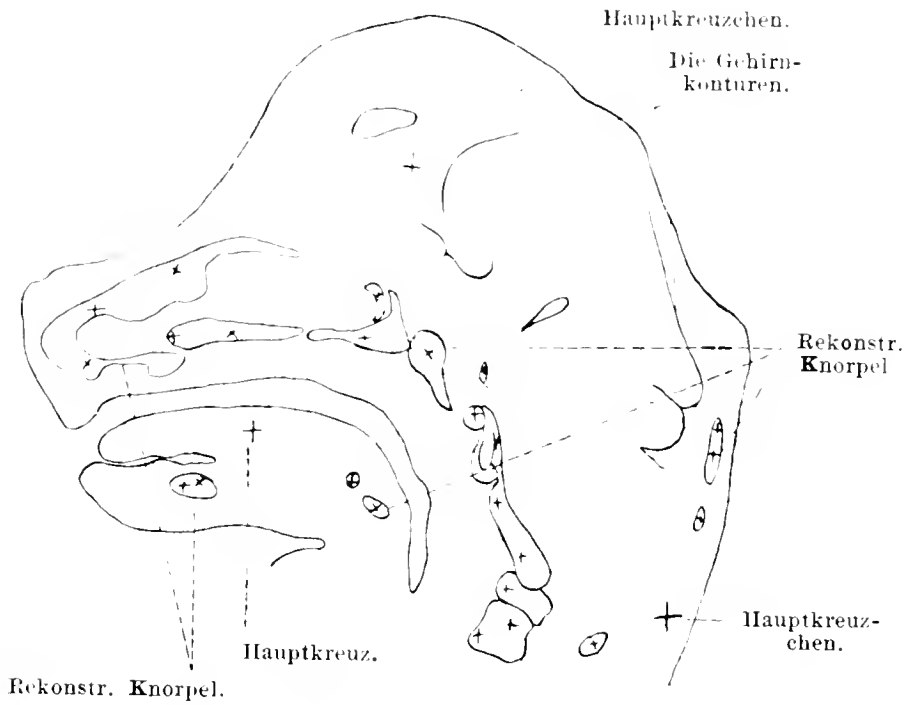


Fig. 3. Zeichnung 78, Schnitt 156.

ist, so ist man genötigt das richtige Aufeinanderlegen der Zeichnungen während der Arbeit durch Zusammenfügen zu kontrollieren, was nach jeder fünften oder zehnten geschehen könnte (also 1 und 5; 5 u. 10; 10 u. 15 . . . oder 1 und 10; 10 u. 20; 20 u. 30 . . .) Zu diesen Zwecke werden sie so aufeinandergelegt, daß die entsprechenden Kreuzchen in den Organen oder die drei Hauptkreuzchen, welche am Rande stehen und auf allen Zeichnungen zu treffen sind, zusammenfallen. Wenn es sich aber erweisen sollte, daß bei einem solchen Zusammenfügen die Konturen des Körpers und die nicht zur Rekonstruktion gehörenden Organe nicht richtig zueinander liegen, so kann man diesen Fehler leicht entfernen, indem man fünf oder zehn von den letzten Zeichnungen aufs neue durchsieht. Zum Schluß legt man eine Zeichnung aus dem Anfang der Serie und eine aus dem Ende nach den drei Hauptkreuzchen aufeinander, und wenn dann die Konturen des Körpers sich richtig zueinander legen — was besonders augenfällig bei einer s t r e n g sagittal geschnittenen Serie ist, — so kann man das Orientieren der Stücke des zukünftigen Modells für fehlerlos richtig halten. Wenn auf der Serie des Schnittes keine „Richtlinie“ vorhanden ist und man will eine solche bekommen, so sind nur zwei Hauptkreuzchen auf jeder Zeichnung durch eine Linie zu vereinigen.

Darauf werden die Platten nach der gewöhnlichen Strasserschen Methode gewalzt. Wenn die zu rekonstruierenden Stücke (ohne „Brücken“) ausgeschnitten sind, werden sie so aufeinandergelegt, daß die Kreuzchen zusammenfallen. Das kann man sehr leicht erreichen, wenn man bestimmte Stellen des Kreuzchens des oberen Stückes mit zwei sehr feinen Nadeln (Insektennadeln) durchsticht und die Spitzen derselben auf die entsprechenden Stellen des Kreuzchens des unteren Stückes setzt. Alle einzelnen Stücke werden parallel zusammengesetzt. Um die noch nicht miteinander verbundenen zusammengesetzten Stücke in bezug aufeinander zu orientieren und die Regelmäßigkeit ihrer Form zu kontrollieren, kann man sie mit der Grundlinie ihrer Basen wieder in die Nute der ersten Platte setzen. (Es empfiehlt sich die Rekonstruktion von sagittalen Schnitten lieber von der Mitte aus zu beginnen.) Dann wird von oben die letzte der Platten, deren Ausschnitte schon zusammengesetzt sind, in der Weise aufgelegt, daß die Öffnung des Hauptausschnittes über dem daraus herausgenommenen und zusammengesetzten Stücke zu liegen kommt. Dann müssen sich die übrigen Öffnungen den entsprechenden zusammengesetzten Teilen gegenüber befinden. Ist eine „Richtlinie“ vorhanden, so wird sie

ausgeschnitten und besonders modelliert. Dann wird zur Kontrolle die oberste Platte mit den ausgeschnittenen Stücken so aufgelegt, daß die Öffnung der ausgeschnittenen „Richtlinie" dem oberen Teil des an seine Stelle gesetzten Modells derselben bedeckt. Dieses Verfahren mit den sich nicht verschiebenden Öffnungen scheint mir eine genauere und beständigere Kontrolle zu ermöglichen als die sich leicht deformierenden und zerbrechlichen „Brücken", auch besitzt es den großen Vorzug der Einfachheit der Manipulationen, da man so die Möglichkeit hat, jeden Teil besonders zu modellieren, ohne es mit dem verwirrenden komplizierten Netze der Verbindungslinien zu tun zu haben. Wenn man außerdem beim Orientieren der einzelnen zu rekonstruierende Teile noch Zeichnungen auf durchsichtigem Papier gebraucht, so kann man sich mit größerer Bequemlichkeit und ohne technische Schwierigkeiten nicht nur der „Richtlinie" oder der Konturen des Körpers bedienen, sondern auch einer ganzen Reihe von durchlaufenden Stützpunkten, wodurch natürlich die Rekonstruktion bedeutend an Genauigkeit gewinnt. Bei diesen Bedingungen kann man auch ohne „Richtlinie" rekonstruieren.

Wenn man nun die nach Herausnahme der zu rekonstruierenden Teile übriggebliebenen Platten je zu 6 bis 12 Stück zusammenklebt und die Wände der Flächen mit einem heißen Spatel oder mit einem Messer glättet, so erhält man eine Form, die man zum Guß entweder der ganzen Rekonstruktion oder einzelner Teile derselben benutzen kann. Dieser Umstand kann bei einer Kontrolle von langen und dünnen Bildungen, die quer durchschnitten sind und sich schwer orientieren, von Bedeutung sein. Außerdem kann nach dieser Form mit Leichtigkeit ein Gipsmodell gegossen werden, das zur Reproduktion von Kopien dienen kann.

[Eingegangen am 13. April 1914.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Schmid, B., Handbuch der naturgeschichtlichen Technik für Lehrer und Studierende der Naturwissenschaften. Leipzig (B. G. Teubner) 1914. 555 pp. 15 M., geb. 16 M.

Der stattliche Sammelband soll die Aufgabe erfüllen, den Lehrer der Naturgeschichte in die gesamte, sein Arbeitsgebiet betreffende Technik einzuführen. Die Verff. bieten mit Recht vielfach mehr, als der Unterricht unbedingt erfordert. Anderseits ist es verständlich, daß manches nur andeutungsweise behandelt werden konnte. Viele der Abschnitte enthalten übrigens Literaturangaben, die der ferneren Orientierung dienen können. — Von den hier interessierenden Abschnitten ist der erste, die zoologische Mikrotechnik behandelnde, von H. Poll bearbeitet. Er bietet eine kurze, aber gründliche Einführung in das Gebiet und berücksichtigt in ausgiebiger Weise Auswahl, Beschaffung und Behandlung des Demonstrationsmaterials. Die von H. Fischer bearbeitete mikroskopisch-botanische Technik setzt den erwähnten ersten Abschnitt zum Teil voraus; manches in ihr ist etwas zu kurz ausgefallen, was wohl durch die Kürze des verfügbaren Raumes bedingt wurde. Das Mikroskop und seine Nebenapparate werden ebenfalls von H. Fischer, und zwar in populärer Weise, besprochen. In dem Abschnitt über Photographie (H. Wandolleck) wird auch die Mikrophotographie erwähnt. Es wäre zweckmäßig gewesen, statt des großen Zeissschen mikrophotographischen Apparates, der einer Schule kaum zur Verfügung stehen dürfte, als Beispiel eine einfachere Konstruktion zu wählen. — Auf die anderen Kapitel kann hier nicht eingegangen werden. Das empfehlenswerte Werk wird hoffentlich in

die Hände vieler Lehrer gelangen und durch sie zur Vervollkommnung des naturgeschichtlichen Unterrichts beitragen.

Hans Schneider (Bonn).

Levy, O., Elementares Praktikum der Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere mit Einführung in die Entwicklungsmechanik. Berlin (Bornträger) 1913. 183 pp. u. 89 Figg. geb. 5·60 M.

Oppel, A., Leitfaden für das embryologische Praktikum und Grundriß der Entwicklungslehre des Menschen und der Wirbeltiere. Jena (Fischer) 1914. 313 pp. u. 323 Figg. 10 M., geb. 11 M.

Das „elementare Praktikum" der Ontogenie der Wirbeltiere von Levy macht die ganze Technik auf den ersten 19 Seiten ab und bringt hier nichts Neues, verwendet prinzipiell die einfachsten Mittel und legt daher besonderen Wert auf die „Celloïdin-Rasiermessermethode", bespricht jedoch auch die Paraffintechnik. Als Paradigmen dienen Ascaris, Rana — hier wird auch die künstliche Befruchtung gelehrt — und Gallus. Die Technik der Entwicklungsmechanik wird wesentlich nach Roux geschildert. Bei den Eiern von Rana wird im allgemeinen als das beste Fixiermittel Perényis Gemisch empfohlen, dagegen für die Eier, die geschnitten werden sollen, heißes (80°) 5prozentiges Formol. — Die Unterschrift zu Figur 17 lautet: „Eier und Samenkörnerchen von Ascaris megalocephala, frisch aus dem Uterus eines Weibchens entnommen. Um $^1/_5$ zu verkleinern." Hie und da bezeichnet Verf. beim Ei von Gallus das Eigelb als Gelbei (p. 24 sogar „des Gelbei")!

Im Gegensatz zu Levy hält sich Oppel in seinem umfangreichen „embryologischen Praktikum" wesentlich an die mit dem Mikrotome gewonnenen Schnittserien, die er derart eingerichtet hat, daß jede Serie der Lehrsammlung von Embryonen vieler Vertebraten für 20 Studenten ausreicht: Schnitt 1, 21, 41, 61 usw. sind nebeneinander aufgeklebt, ebenso Schnitt 2, 22, 42, 62 usw. bis zu Schnitt 20, 40, 60 usw. Jedoch werden auch ganze Embryonen untersucht sowie die größeren unter der Lupe seziert. Das Kapitel von der embryologischen Technik (p. 17—51) bringt absichtlich „nur wenige bewährte Methoden": für die Amphibien werden außer Formol Sublimatchromsäure, Chromessigsäure und Sublimatchromessigsäure benutzt, für Gallus außer Formol das Flemmingsche und Zenkersche Gemisch; für die Säugetiere kommt auch Carnoys Gemisch in Anwendung. Das Intermedium beim Einbetten in Paraffin ist Xylol, über Nacht sollen die Objekte nie im Thermostaten bleiben. Die Celloïdinblöcke werden unter 70- bis 80prozentigem Alkohol geschnitten, auch darin aufbewahrt. Die Schnitte (Paraffin oder Celloïdin) werden stets mit Eiweiß aufgeklebt. Zum Färben in toto dient

Boraxkarmin, für die Schnitte Hämatoxylin nach Delafield (nachgefärbt werden sie mit Eosin oder Pikrinsäure) oder (nur nach Flemmings Gemisch) Safranin. Für ältere Embryonen wird folgende Mehrfachfärbung empfohlen: erst in toto mit Boraxkarmin, dann die Celloïdinschnitte mit Pikrinsäure plus Indigkarmin (konz. wässerige Pikrinsäure 100, Indigkarmin 3, jedesmal frisch zu mischen) und hinterher mit van Gieson's Gemisch. — Einen Hauptteil des Werkes (p. 114—176) bildet die „Beschreibung einiger Schnittserien durch Embryonen"; hierzu ein eigener „embryologischer Atlas" von über 100 Figuren. Auch die „Entwicklung der Gewebe, Organe, Systeme und Apparate" wird sehr eingehend (p. 177—282) behandelt.

P. Mayer (Jena).

Unna, P. G., Biochemie der Haut. Jena (G. Fischer) 1913. (Anhang zu Oppenheimers Handbuch der Biochemie, p. 1—105.) 3 M., geb. 4 M.

Unna gibt hier eine Zusammenfassung der zahlreichen Arbeiten, die er in den letzten Jahren über die Biochemie der Haut ausgeführt hat und die zugleich den Versuch einer allgemeinen Zellchemie darstellen. Der größere Teil des Heftes ist dieser Zellchemie und ihrer Begründung gewidmet, wobei die anatomischen Bestandteile der Haut sehr eingehend besprochen werden, aber eigentlich nur das Experimentalfeld darstellen, auf dem die allgemeinen Anschauungen erarbeitet sind. Nur etwa das letzte Drittel behandelt Fragen, die für die Haut spezifisch sind.

Bekanntlich haben sich physiologische Chemie und Histologie im wesentlichen unabhängig voneinander entwickelt, und die Histologie ist, trotzdem sie in den Härtungsmitteln und Farben dauernd chemische Reagentien verwendete, im allgemeinen empirisch fortgebildet worden, ohne sich groß um die chemischen Reaktionen zu kümmern, die ihren Vorschriften zugrunde lagen. Eine Ausnahme machen Ehrlichs Arbeiten über Sauerstoffbedürfnis, M. Heidenhains Untersuchungen über Eiweißkörper und Anilinfarben und vor allem G. Manns in Deutschland wohl zu wenig gewürdigte Physiological Histology. Unna hat nun einen ganz neuen Weg eingeschlagen, in dem er systematisch folgendermaßen vorging: Er behandelt Gewebsschnitte mit einer bestimmten Farbe und stellt fest, welche Bestandteile einer Zelle sich färben. Dann legt er ebensolche Schnitte in eine Lösung, die gewisse Zellbestandteile löst, und sieht nach, inwieweit die früher gefärbten Zellbestandteile durch das Lösungsmittel ausgezogen sind. Nebenher sucht er in der Lösung nach dem ausgezogenen Zellbestandteil, entweder chemisch, oder indem er die Lösung eintrocknet und mit denselben Farben zu färben sucht, wie den Schnitt.

Dabei benutzt Unna zwei Einteilungsprinzipe.

Sein erstes Einteilungsprinzip ist das Verhalten der Gewebsbestandteile zum Sauerstoff. Er benutzt:

1) Rongalitweiß, ein farbloses Gemenge von Methylenblau mit Sulfoxylsäure, das nicht durch O_2, wohl aber durch aktiven Sauerstoff gebläut wird.
2) Ein Gemenge von Benzidin mit Wasserstoffsuperoxyd, das Peroxydase anzeigt und auch auf alkoholfixierte Schnitte anwendbar ist.
3) Permanganat, das durch reduzierende, sauerstoffentziehende Stoffe gelb bis dunkelbraun wird.
4) Die Eisen-Cyan-Färbung, ein Gemenge von Eisenchlorid und Ferricyankalium, das bei neutraler Reaktion durch Reduktion gebläut wird. Säuren stören die Färbung, Alkalien, auch alkalisches Eiweiß, geben eine Gelbfärbung.
5) Nitrochrysophan, eine Lösung der gelben, leicht reduzierbaren Tetranitrochrysophansäure $[C_{15}H_{16}O_4(NO_2)_4]$ in Chloroform.
6) Methylgrün. Es ist eine Base und reduktionsempfindlich, färbt daher nur saure Bestandteile, die nicht reduzieren.
7) Pikrinsäure. Als hochoxydierter Stoff hat sie eine oxypolare Affinität zu reduzierenden Stoffen: bei der Säurefuchsin- — Pikrinsäure-Färbung färben sich reduzierende Stellen gelb, nicht reduzierende rot.

Es ergibt sich in der Haut folgende Reihe der Reduktionskraft: 1) Basale Hornschicht und Wurzelscheide. 2) Mittlere Hornschicht. Cuticula der Knäuelgänge. 3) Muskeln und Nerven. 4) Spongioplasma und oxyphile Substanzen der Bindegewebszellen und Epithelien. 5) Keimschichten des Deckepithels, des Haarbalgs, der Knäuel- und Talgdrüsen. 6) Elastin. 7) Kollagen. 8) Talg- und Fettzellen. 9) Granoplasma. 10) Mastzellen. 11) Kerne und Kernkörperchen.

9 bis 11 sind Sauerstofforte, d. h. sie vermögen Sauerstoff abzugeben und vermögen ihn zum Teil zu aktivieren. Die genaue Feststellung und Einteilung dieser Sauerstofforte gehört zu den wichtigsten Teilen der Unnaschen Untersuchungen. Spitzer, Jacques Loeb u. a. haben den Kernen, bzw. den in den Kernen enthaltenen eisenhaltigen Nukleoproteïden eine entscheidende Bedeutung für die Oxydationskraft der tierischen Zelle zugeschrieben. Batelli und Stern haben Peroxydasen, oxydierende Fermente, Katalasen und Sauerstoffüberträger in den Zellen beobachtet, und Thunberg und Warburg und Meyerhof haben die Bedeutung katalytisch wirkenden Eisens für die Oxydation erst neuerdings wieder nachgewiesen. Unnas Feststellungen stimmen mit allen diesen Befunden vortrefflich überein, erweitern sie aber sehr wesentlich durch die exakte Lokalisation der einzelnen Vorgänge und ihre Beziehung auf einzelne Zellbestandteile. Da Unnas Vorschriften heute schon teilweise und bald wohl vollständig eine Isolierung dieser Zellbestandteile ermöglichen, so ist der physiologischen Chemie hier ein neuer Weg gewiesen, der voraussichtlich erfolgreich sein wird. Unna sagt: „Es existieren zunächst primäre Sauerstofforte oder Fermentorte, die den vom Blute kommenden inaktiven Sauerstoff aktivieren. Sie enthalten kein Peroxyd, keine Oxydase und keine Katalase (daher in ihnen Speicherung von O_2 möglich ist), dagegen eine Peroxydase und einen eisenhaltigen Aktivator.“ Diese primären Sauerstofforte sind 1) alle Kerne, 2) die sogenannten Mastzellen, die

aus gewöhnlichen Bindegewebszellen durch Einlagerung stark basophiler Körnchen in das Protoplasma entstehen, die sich zu den Sauerstoffreagentien, auch zu den meisten basischen Farben wie die Kerne verhalten. Eine erste Kette dieser Mastzellen schmiegt sich dicht an die Gefäßkapillaren an; durch sie erhält das Cutisgewebe bis zu den verschiedenen Epithelgrenzen — im Deckepithel, in den Knäuel- und Talgdrüsen, in den Haarbälgen — einen Vorrat an aktivem Sauerstoff. Hier wird er erst durch eine zweite Kette von Mastzellen und dann durch die Epithelkerne aktiviert, und zwar um so mehr, je mehr diese Kernteilung zeigen. Neben diesen „primären Sauerstofforten" gibt es „sekundäre", die keinen Aktivator für O_2 besitzen, und daher nicht auf Benzidin wirken, wohl aber Rongalitweiß bläuen, d. h. überschüssigen Sauerstoff besitzen, mehr Sauerstoff erhalten, als sie verbrauchen. „Sekundärer Sauerstoffort" ist das „Granoplasma"; aus ihm bestehen zum Teil die protoplasmatischen Zelleiber der Zellen, in denen die Kernmasse überwiegt, wie die Keimzellen der Stachelschicht des Deckepithels, der Haarbälge und Knäuelgänge; sehr reich an Granoplasma sind die Plasmazellen, die in der Haut nur pathologisch vorkommen, und die Lymphozyten. Sekundärer Sauerstoffort ist auch die Knorpelgrundsubstanz. Die übrigen Teile der Haut sind „Reduktionsorte", No. 1 bis 5 der obigen Tabelle; 6 bis 8 reduzieren weder, noch oxydieren sie. Diese indifferenten Stellen, das Kollagen, das Elastin und das Fettgewebe faßt Unna als gerade für ihren Bedarf mit Sauerstoff gesättigt auf. Dem Ref. scheint die Auffassung näherzuliegen, daß diese Teile überhaupt keinen Sauerstoff verbrauchen, weil sie als Stützgewebe, das nicht mehr Teil einer lebenden Zelle ist, keinen Stoffwechsel haben.

„Reduktionsort" ist zunächst das basische „Spongioplasma", die eigentliche Grundsubstanz des Zelleibes, und Unna lehrt, daß der Gegensatz „oxydierend — reduzierend" den Unterschied zwischen Kern und Protoplasma besser bezeichnet, als das meist gebrauchte „sauer — alkalisch". Reduktionsorte sind aber weiterhin Muskeln, Nerven und vor allem alles Verhornte (s. u.). Unna findet dann, daß von den Aminosäuren des Eiweiß das Tyrosin Permanganat und Eisen-Cyan reduziert, und er macht für die Reduktion der Hornschicht deren hohen Tyrosingehalt verantwortlich, während die nicht reduzierenden Stützgebilde das tyrosinfreie Kollagen und das tyrosinarme Elastin liefern. Für die Stützgebilde leuchtet das ein, zumal die Oxydation des Tyrosins, allerdings nicht des im Eiweiß gebundenen Tyrosins, durch die pflanzliche und tierische Tyrosinase ja bekannt ist. Dagegen scheint es dem Ref. zu weit zu gehen, auch bei Gebilden mit lebhaftem Stoffwechsel, d. h. O_2-Verbrauch, wie den Muskeln, ihren Tyrosingehalt als bestimmend für diesen ihren Stoffwechsel anzusehen.

Unnas zweites Einteilungsprinzip ist die Reaktion und die durch die Reaktion bedingte Löslichkeit der Gewebsbestandteile. Hier unter-

scheidet er 1) basische oder „oxyphile" [der Name könnte leicht zu einer Verwechslung mit „sauerstoffliebend" führen. Ref.] Zellbestandteile, die sich in Säuren lösen und mit sauren Farben färben, und 2) saure oder basophile Bestandteile, die sich in Alkalien lösen und mit basischen Farben anfärben. Einer restlosen Aufteilung steht hier die von Unna wohl unterschätzte Schwierigkeit entgegen, daß gerade die Zellbestandteile, die der Masse nach überwiegen, die Eiweißkörper, bekanntlich amphoter sind, und sowohl mit Basen wie mit Säuren Salze bilden, d. h. sich anfärben. Unna hilft sich in zwei Arten: 1) benutzt er die verschiedene Löslichkeit der Eiweißkörper in Wasser (Albumine-Globuline), Salzlösungen und vor allem in Säuren verschiedener Konzentration. Denn obwohl der Theorie nach alle Zelleiweiße mit Salzsäure lösliche Salze bilden sollten, lösen sich aus dem Gemenge der Eiweiße mit prothetischen Gruppen und anderen Körpern tatsächlich in verdünnter, in 5prozentiger und 25prozentiger Salzsäure, jeweils verschiedene Stoffe. Dahin gehören auch die Vorschriften über Spülen und Entfärben der Schnitte, die Unna wie alle Histologen sehr genau präzisiert. 2) verwertet Unna die Doppelfärbungen, gleichzeitig mit einer Säure und einer Base, oder auch mit zwei verschiedenen Basen verschiedener Stärke, bisweilen unterstützt durch zwei saure und basische Fixationsmittel. Stehen gleichzeitig verschiedene Bindungsmöglichkeiten zur Verfügung, so genügen die geringen Unterschiede in der Azidität und Basizität der amphoteren Stoffe, um Differenzierungen zu ermöglichen. — Durch Hitze, durch Behandlung mit Alkohol u. v. a. werden die Eiweißkörper koaguliert, dabei bleibt das relative Verhältnis der Azidität und Basizität aber unverändert, und die Differenzierung ist daher im allgemeinen auch am fixierten Präparat möglich. Ja die vorgängige Behandlung der Schnitte mit Alkohol und Äther verbessert häufig die Differenzfärbung, vielleicht, weil durch die Entfernung der Lipoide gewisse Gruppen der Eiweiße frei und reaktionsfähig werden.

Im Kern lassen sich tinktoriell so 6 Bestandteile unterscheiden: 1) Basophiles Chromatin, das aus Nukleïn besteht, sich mit Methylgrün besonders stark färbt, in Mitosen sehr reichlich vorhanden ist; es ist auch im Kernkörperchen vorhanden. — 2) Basophiles Nukleolin. Es färbt sich bei einer Methylgrün-Pyroninfärbung mit Pyronin rot. In den Kernkörperchen ist es reichlich vorhanden und läßt sich besonders bei Mitosen schön neben dem Nukleïn sehen. Das Nukleolin ist ein stark saurer Eiweißkörper (Globulin), hat dagegen nichts mit Nukleïn zu tun. 3) Oxyphile Kerngrundsubstanz. Sie bleibt sichtbar, wenn alles andere herausgelöst ist: die Form der Kerne bleibt dann schattenhaft erkennbar. Plastin von Reinke. 4) Oxyphiles Chromatin. Kein Sauerstoffort, vielleicht mit dem „Linin" des Botanikers Schwarz identisch. Färbt sich stark mit Hämateïn-Alaun. 5) Oxyphiles Nukleolin, im Kernkörperchen. 6) Basophile Kerngrundsubstanz. Entsprechend wie 3.

Die Kerne und die Kernkörperchen enthalten Eisen; freie Nukleïnsäure ist in ihnen nicht vorhanden.

Als Material zu diesen Kernstudien diente in erster Reihe das spitze Kondylom, in zweiter Reihe Hautkarzinome. Hier finden sich auch die sogenannten „sauren Kerne", die aber auch sonst pathologisch und seltener in normaler Haut sich finden. Sie sind besonders groß und haben eine ellipsoidische Gestalt; sie enthalten nie Mitosen und stimmen tinktoriell nicht mit Kernen überein, sondern mit Kernkörperchen. Die Grundsubstanz ist in ihnen basophil, und sie sind starke Sauerstoffaktivatoren. Das letztere ist besonders interessant, weil viele Endothelkerne der Kapillaren zu ihnen gehören.

Dem Kern schließt sich an die Körnung der „Mastzellen", die wie er basophil ist und Sauerstoff aktiviert. Sie ähnelt am meisten den Muzinen und Mukoiden.

Das Protoplasma der Zelle enthält: 1) Spongioplasma, die formgebende Substanz, das Gerüst der Zelle; es ist ein sehr widerstandsfähiger, schwer tingibler Eiweißkörper von wabigem Bau, in dessen Maschen Granula oder amorphe Massen eingelagert sind. Es ist Reduktionsort. — 2) Lösliches basisches Eiweiß, das sich in das Spongioplasma einlagert, und sich nun wieder mit sauren Stoffen beladen kann. 3) Granoplasma: In fast allen Zellen decken stark basische Färbungen, besonders Azurkarbonat und Pyronin, die Gegenwart einer mehr oder weniger großen Menge eines einheitlichen amorph-körnigen Eiweißkörpers auf, der sauer, basophil ist, und sekundärer Sauerstoffort. Er ist identisch mit der „Cytose", die Unna aus der Leber gewonnen hat, und die er für eine Deuteroalbumose hält, etwa der alten Kühneschen Akroalbumose vergleichbar. Bekanntlich wird angenommen, daß sich in frischen Geweben nur Eiweißkörper und Proteïde befinden, dagegen keine Albumosen. Ref. hat sich davon überzeugen können, daß man aus der Leber, unter Vermeidung postmortaler Bildung, in der Tat einen Körper extrahieren kann, der in Wasser löslich, nicht koagulabel und durch Ammonsulfat erst bei der Ganzsättigung fällbar ist; Säuren fällen, wenn auch schwierig, also genau nach Unnas Angaben, und nach der üblichen Nomenklatur eine Albumose. Ob es sich nicht vielleicht doch um ein Proteïd handelt, müssen weitere Untersuchungen lehren.

Von den chemischen Untersuchungen, die sich speziell auf die Haut beziehen, seien hervorgehoben: 1) Hautpigmente: Unna unterscheidet drei Arten Pigment: die Epithelgruppe, die Bindegewebsgruppe und die Horngruppe. Das Pigment der Epithelgruppe leitet sich von dem gewöhnlichen Pigment der basalen Stachelschicht ab, das hier durch aktiven Sauerstoff (Bildung also nur in der Tiefe) aus Lipochrom gebildet wird (Meirowsky, Dyson). Die Haarpigmentierung hängt mit dem Sauerstoffreichtum der Haarpapille zusammen. Auch das Nävusepithel gehört hierher, und ein Melanin in der Oberhaut an varikösen Unterschenkeln. — Bindegewebspigmente sind das

Hämosiderin und das Hippomelanin der Pferde, das nichts mit dem Melanin der eigentlichen Haut zu tun hat. — Das Hornpigment haftet in diffuser und homogener Weise an der Substanz der Haarzellen: es ist hellgelb bis rot und kommt allen Haaren zu, während die dunklen Haare daneben körniges Epithelpigment enthalten. Durch die Kombination des Epithelpigments mit der Hornfarbe kommen alle Nuancen der Haarfärbung zustande. Hornfarbe findet sich außer den Haaren auch an anderen Stellen übermäßiger Verhornung, auf ihr und nicht auf Schmutz beruht der schwarze Kopf der Comedonen.

2) Verhornung. Das Keratin zeichnet sich durch einen besonders hohen Gehalt an Schwefel (Cystin) und an Tyrosin aus: für histologische Zwecke ist das Tyrosin als Leitkörper besser zu brauchen. Die chemischen Untersuchungen haben ergeben, daß die einzelnen Keratine in ihrer Zusammensetzung stark differieren. Unna hat diese Differenzen aufgeklärt; es gibt nämlich drei Hornbestandteile, Keratin A, Keratin B und Hornalbumosen, die tinktoriell, aber auch in ihrer Elementarzusammensetzung stark voneinander abweichen, und die an dem Aufbau der einzelnen Horngebilde in ganz verschiedenem Mengenverhältnis teilnehmen. Bei der Oberhaut-Hornzelle verhornt die Randschicht des Protoplasmas zu Keratin A, der Inhalt wird zum Teil zu Keratin B, teils bleibt er unverhornt. Keratin A : B verhalten sich wie 1 : 0·6, 77 Prozent sind nicht Keratin. Im Ochsenhorn verhält sich A : B dagegen wie 1 : 6, und nur 58 Prozent sind unverhornt, d. h. gar kein Keratin. Von diesen Nebenprodukten ähneln manche Kernreste in der Unlöslichkeit dem Keratin so, daß sie bei einer etwaigen Reinigung sich mit dem Keratin zusammen anreichern. Die Chemie der Nebenprodukte der Verhornung, Trichohyalin, Keratohyalin, Eleïdin usw. ist noch nicht abgeschlossen, sehr charakteristisch für Unnas Anschauungen ist seine Auffassung der verhornenden Zelle, die ihm eine Erklärung dafür ermöglicht, daß das Keratin so außerordentlich schwer löslich und ganz unverdaulich ist, gleichzeitig aber einen besonders hohen Gehalt an den Aminosäuren besitzt, die sonst für den leichtest spaltbaren Teil des Eiweißes charakteristisch sind, Tyrosin, Tryptophan, Cystin. Unna vergleicht die verhornende Oberhautzelle mit einem Verdauungsgefäß. Der abgestorbene Inhalt der Zelle zersetzt sich autolytisch, und die dabei zuerst abgespaltenen Aminosäuren wandern nach außen und lagern sich in die festgewordene äußere Hornschicht an, dadurch deren hohen Gehalt an Tyrosin usw. bedingend, während im Innern ein Brei zurückbleibt, der tyrosinfrei ist und an die Heteroalbumose erinnert. Für den physiologischen Chemiker ist die ganze Auffassung durchaus neu, sie widerspricht den beobachteten Tatsachen aber nicht und erscheint diskutabel und einleuchtend, wenn auch unbewiesen.

3) Hautfette. Außer eigentlichen Fetten findet man in ihnen Cholesterin, Cholesterinester und Phosphatide. Ihrer Herkunft und

Zusammensetzung nach unterscheiden sie sich in Zellfette und Sekretfette. Die Zellfette (Oberhautfett, Hornschichtfett, Nagelfett, Vernix caseosa) enthalten 16 bis 20 Prozent Cholesterin, die Sekretfette (Comedonenfett, Hand- und Fußschweiß, Ohrenschmalz) nur 1·4 bis 2·8 Prozent, und dies zum Teil in oxydiertem Zustande.

Zum Schluß folgt eine kurze „Chemie der Hautoberfläche", in der es gelingt, die tatsächlich beobachtete Wirkung bzw. Nichtwirkung von Medikamenten auf die Haut aus dem chemischen Charakter der Hautoberfläche und der oberen Zellschichten abzuleiten.

Otto Cohnheim (Hamburg).

Pascher, A., Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz.

Heft 1: Flagellatae I. Allgem. Teil von A. Pascher: Pantostomatinae, Protomastiginae, Distomatinae, bearbeitet von E. Lemmermann. Jena (G. Fischer) 1914. 3·50 M., geb. 4 M.

Heft 14: Bryophyta (Sphagnales-Bryales-Hepaticae), bearbeitet von C. Warnstorff, W. Mönkemeyer, V. Schiffner. 222 pp. Mit 500 Abbild. im Text. Jena (G. Fischer) 1914. 5·60 M., geb. 6·20 M.

In der Einleitung bespricht Pascher unter anderem das Fixieren und Präparieren der Flagellaten. Als einfaches raschwirkendes Fixierungsmittel empfiehlt er ein- bis 2prozentige Osmiumsäurelösung. Vorzügliche Resultate gibt Sublimat, z. B. in folgender Mischung: 100 cc konzentrierte wässerige Sublimatlösung + 50 cc absoluten Alkohol + 5 cc Eisessig. Besonders labile Formen werden zweckmäßig sehr kurze Zeit mit heißer Sublimatlösung behandelt und dann in der kalten Lösung fixiert. Bei einzelnen Formen geben auch Chrom-Osmium-Essigsäuregemische, Kleinenbergsche Pikrin-Schwefelsäure, sowie Pikrin-Essigsäure gute Resultate. Zur Färbung werden Eisen-Hämatoxylin, Boraxkarmin, Safranin und Gentianaviolett empfohlen.

„Gehäuse, Periplasten, Kragen und Anhangsbildungen kommen gewöhnlich bereits durch den Zusatz von Jod leicht zur Ansicht." Die zarten Gehäuse der Chrysomonaden färben sich leicht mit Gentianaviolett. Gallerthüllen macht man durch Zusatz von verdünnter Tusche oder Karmin deutlich. Auch Färbungen mit Mucikarmin und Gentianaviolett lassen speziellere Strukturen erkennen. Zur Anwendung der Tannin-Vesuvin-Methode ist das Material meist nicht reichlich genug.

Die zum Nachweis der wichtigsten bei der Bestimmung von Flagellaten und Algen in Frage kommenden Stoffe erforderlichen Substanzen sind am Schlusse der Einleitung in einer Tabelle zusammengestellt. —

Lemmermann empfiehlt für die drei von ihm behandelten Flagellatengruppen außer den oben genannten Fixiermitteln Jodwasser und Formalin,

zur Färbung noch Pikrokarmin und die Lösungen nach Romanowsky oder Giemsa. —

Das die Moose behandelnde Heft brauchen wir hier nur zu erwähnen, da mikrotechnische Mitteilungen in ihm der Natur der Sache entsprechend fehlen. *Hans Schneider (Bonn).*

2. Mikroskop und Nebenapparate.

Rohr, M. v., Richtlinien in der Entwicklung, Erkenntnis und Wertung optischer Instrumente (Die Naturwiss. Bd. **1**, 1913, p. 417—424, 445—452).

Kurze Geschichte der konstruierenden Optik aus der Feder eines Mannes, der aus eigener fruchtbarer Tätigkeit und mit weitem Blick die heutige Optotechnik beherrscht. Von besonderem Interesse sind die feinen psychologischen Beleuchtungen des Verhältnisses zwischen Produzenten und Konsumenten und die Hinweise auf die weitere einzuschlagende Politik der Produktion in bezug auf Fühlung mit den Ansprüchen wissenschaftlich gereifter Abnehmerkreise.

Wychgram (Kiel).

Siedentopf, Hilfsobjektiv für Voruntersuchungen zum Kardioid-Ultramikroskop (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide Bd. **12**, 1913, H. 2, p. 68—69).

Es wird kurz auf ein neues Immersionsobjektiv D* von Zeiss hingewiesen, welches eine n. A. von 0·9, eine Brennweite von 1·9 mm hat, und als Wasser-Immersion konstruiert ist. Der freie Objektabstand ist kaum ein zehntel Millimeter, welche Eigenschaft für ultramikroskopische Voruntersuchungen von Vorteil ist. Der Preis ist 75 Mark. *Wychgram (Kiel).*

Hartridge, H., A method of investigating diatom structure (Journ. R. Microsc. Soc. 1913, pt. 4, p. 65—72.)

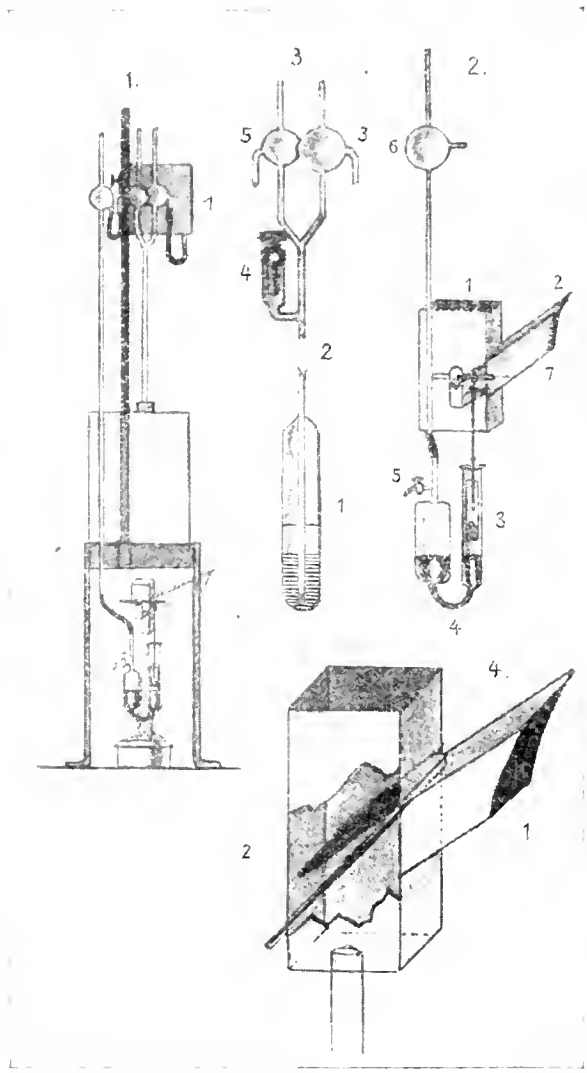
Versuch, auf Grund der bekannten Formeln für das Auflösungsvermögen mikroskopischer Objektive dadurch regelmäßige Diatomeenstrukturen darzustellen, daß das Beugungsspektrum in der hinteren Fokalebene des Objektives untersucht wird, und zwar bei monochromatischen Lichtern der Quarzlampe. Einzelheiten sind wegen den erforderlichen Konstruktionszeichnungen nicht zu referieren. Die mathematische Begründung ist nicht ganz frei von Unklarheiten.

Wychgram (Kiel).

3. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Heydenreich, L. v., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1. Bd. **73**. 1914. H. 6. p. 414).

Verf. heizt den Thermostaten mit einer großen Petroleumlampe bei kleiner Flamme. Die Kosten sind geringer als bei Gas oder Elektrizität. Der Thermoregulator ist nach nebenstehender Figur eingerichtet. Figur 1 zeigt den ganzen Apparat. In das Wasser des Thermostaten taucht der Kolben 1 der Figur 3, der drei Finger breit mit Methylenchlorid und darüber vier Finger breit mit Quecksilber beschickt ist. Mittels einer Radfahrerpumpe wird so viel Luft eingepumpt, daß das Quecksilber in der Röhre 2 (Fig. 3) 55 bis 56 cm hoch steht. Wird das Wasser des Thermostaten auf 37° erwärmt, so steigt das Quecksilber. Angenommen, es erreicht die Gabelung (Fig. 3) nicht. Die Regulierung erfolgt dann durch Wasser in folgender Weise: Das Leitungswasser tritt in den Wasserkasten (Fig. 1 oben), dann in den Ast 3 und 5 der Gabelung (Fig. 3), weiter in das lange Rohr 6 (Fig. 2). Hier drückt es das Quecksilber des U-Rohrs 4 herunter und bei 3 in die Höhe. Diese Bewegung überträgt sich durch ein Gestänge mit Gelenk auf eine im Schornstein der Lampe befindliche Klappe, die um die Rohrabzweigung 1 (Fig. 4, bzw. 7 Fig. 2) ganz oder teilweise schließt, so daß dem Thermostaten mehr Wärme zugeführt wird, worauf das Quecksilber in der Röhre 2 (Fig. 3) steigt. Hat es die Gabelung erreicht, so hört der Wasserstrom auf. Das Wasser im Kugelrohr 6 (Fig. 2) fließt dann am Hahn 5 ab. Sinkt die Temperatur, so wird der Weg



für das Wasser wieder frei, und es tritt alsbald neue Erhöhung in der beschriebenen Weise ein. Unter den Hahn 5 (Fig. 2) wird ein Trichter mit Ablaufrohr gestellt. *Hans Schneider (Bonn).*

Marmier, L., Modification d'un régulateur de chauffage électrique (Ann. de l'Inst. Pasteur t. **27**, 1913, no. 6, p. 498).

Verf. beschreibt eine Änderung des elektrischen Wärmeregulators von Lequeux, die gleichmäßigeres Arbeiten des Apparates zur Folge hat. *Hans Schneider (Bonn).*

Höber, R., u. **Nast, O.,** Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung (Biochem. Zeitschr. Bd. **50**, H. 5, 6, p. 418—436; Ref. i. Zentralbl. f. Biochem. u. Biophys. Bd. **15**, 1913, Nr. 10, 11, p. 401).

Die Verff. fassen die Ergebnisse, zu denen sie in bezug auf die Theorie der Vitalfärbung von Ruhland gelangt sind, folgendermaßen zusammen: 1) Es ist nicht hinreichend bewiesen, daß für die Aufnahme der basischen Farbstoffe in die lebende Zelle deren Dispersionsgrad ausschlaggebend ist. 2) Es ist nicht bewiesen, daß die relativ hochdispersen unter den Säurefarbstoffen die Plasmahaut sämtlicher Pflanzen- oder sämtlicher Tierzellen durchdringen können, sondern es ist für die Säurefarbstoffe nur an einem noch größeren Materiale gezeigt, was bereits bekannt war, daß die Zellen, die überhaupt die Säurefarbstoffe aufnehmen können, in ihrem Importvermögen beschränkt sind, sobald der Dispersionsgrad der Farbstoffe unterhalb einer gewissen Grenze bleibt. Warum zahlreiche pflanzliche und tierische Zellen die höher dispersen Säurefarbstoffe nicht aufnehmen, bleibt nach wie vor unerklärt. Es handelt sich bei der Permeabilität der Farbstoffe also nicht nur um einen Filtrationsprozeß, die Plasmahaut hat diesen Stoffen gegenüber nicht nur die Funktion eines Ultrafilters. *Schiefferdecker (Bonn).*

Szécsi, St., Lucidol, ein neues Fixiermittel (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**, 1913, No. 33, p. 1584—1585).

Die Fixierung beruht in den meisten Fällen auf einer Oxydation des Gewebes, die besten Härtungsmittel, z. B. die Chromsäure, sind in erster Linie Oxydatoren. Die meisten Fixatoren sind metallische Salze, die in wässerigen Lösungen verwendet werden. Bei allen diesen Verfahren werden gewisse wasserlösliche Elemente der Gewebe der oxydativen Wirkung des Fixiermittels entzogen. Ehrlich, auf dessen Anregung hin die Versuche angestellt wurden, wollte nun prüfen, ob man nicht Oxydatoren finden könnte, die in nichtwässerigen Lösungen angewandt werden können. Als die besten Oxydatoren sind in der Technik schon lange die organischen Super-

oxyde bekannt, und unter diesen besonders das Benzoylsuperoxyd (Benzoperoxyd). Dieses Präparat kommt in den Handel unter dem Namen „Lucidol" und wird von den Vereinigten chemischen Werken in Charlottenburg geliefert. Es ist in Wasser unlöslich. Lucidol ist ein festes, weißes Pulver, das in Aceton und Pyridin leicht löslich ist. Beide Lösungen können verwendet werden, während für allgemein histologische sowie für hämatologische Zwecke die Acetonlösung geeigneter ist, verwendet man für parasitologische Zwecke besser die Pyridinlösung. Bei der Wahl der Lösungsflüssigkeit, besonders zur Fixierung von Gewebsstücken, muß auch berücksichtigt werden, ob man eine schnelle oder eine etwas langsamere Fixierung wünscht; im ersteren Falle verwendet man besser die Acetonlösung, im letzteren die Pyridinlösung. Die Ergebnisse waren sehr gut sowohl in bezug auf den Erhaltungszustand der Gewebe wie in bezug auf die Färbefähigkeit. Eine besonders schöne Färbung ergibt die Romanowsky-Färbung. Im Blute wird die Form der roten Blutkörperchen erhalten, die Blutplättchen sind gut fixiert, die Zentralsubstanz und die diese umgebende blaßblau gefärbte körnige Substanz sind bei der May-Giemsa-Färbung sehr deutlich zu erkennen. Besonders gut treten auch in den weißen Körperchen die Granula hervor. Wegen der näheren Beschreibung wird auf das Original verwiesen. Bei parasitologischem Materiale liefert die Methode auch ganz vorzügliche Resultate. Auch hier tritt die Eigenschaft der Methode hervor, daß die Granula (so z. B. in den Trypanosomen) ganz besonders deutlich gefärbt werden. Die Methode ergibt Bilder, wie man sie sonst nur bei feuchter Fixierung bekommt. Besondere Vorteile bietet aber die Lucidolbehandlung für parasitologische Zwecke dadurch, daß das Lucidol die durch Osmium geschwärzten Präparate durch Oxydierung wieder weiß und so für die nachfolgende Romanowsky-Färbung geeignet macht. Dasselbe geschieht bei den Präparaten, die mit osmiumhaltigen Flüssigkeiten (Hermann, Flemming) fixiert waren, und in dieser Kombination eignet sich die Lucidolfixierung auch sehr gut für feuchte Fixation: man fixiert in diesem Falle die noch feuchten Ausstriche in Hermannscher oder Flemmingscher Flüssigkeit und behandelt sie feucht weiter mit Lucidol. So vereinigt man die Vorteile der Fixierung mit Hermannscher oder Flemmingscher Lösung (rasche Abtötung der Parasiten, gute Kernfixierung) mit denen des Lucidols (oxydative Härtung, Abbleichen der Osmiumschwärzung usw.), und es werden Einzelheiten sichtbar, die man bisher nur mit verschiedenen Methoden und in mehreren Präparaten deutlich machen konnte. Man kann aber auch direkt in Lucidol feucht fixieren ohne Vorfixierung mit anderen Substanzen. Die Fixierung von Gewebsstücken gelingt sehr gut. Die so fixierten Stücke zeigen bei der nachfolgenden Färbung weit schönere Farbenkontraste als die mit anderen Methoden fixierten Stücke, und die Romanowsky-Färbung gelingt in den Schnitten ohne Schwierigkeit.

Die Fixierung von Gewebsstücken geht dabei außerordentlich schnell vor sich. Die Einbettung der durch Lucidol fixierten Stücke wird auch noch dadurch beschleunigt, daß bei der Überführung der Stücke aus der Fixierungflüssigkeit in Paraffin die ganze Alkoholreihe und auch das Auswaschen wegfällt. Besonders vorteilhaft ist nach Verf. auch das gänzliche Fehlen von wässerigen Medien. Methodik: Es ist besser, sich keinen größeren Vorrat der Lucidollösung zu halten, da, namentlich aus der Acetonlösung, das Lucidol sehr schnell an der Luft auskristallisiert, und so die Konzentration der Lösung sich ändert. Verf. löst gewöhnlich 50 g Lucidol in 500 cc Aceton oder 30 g Lucidol in 250 cc Pyridin. Diese Lucidolmengen lösen sich leicht und schnell. Nimmt man mehr Lucidol, so wird die Lösung übersättigt. Neben diesen beiden Fixierungsflüssigkeiten hält man ein Gemisch von Aceton und Xylol im Verhältnisse von 3:2 bereit, welches zur Auflösung der im Präparate eventuell vorhandenen Lucidolkristalle und gleichzeitig auch zur Aufhellung des Präparates dient. I. Fixierung von Blut- und Knochenmarksausstrichen. 1) Fixierung der lufttrockenen Ausstriche in Aceton-Lucidol 15 Minuten (gutverschlossene Gefäße, absolut trocken!). 2) Schnell überführen in Aceton-Xylol für 10 Minuten. 3) Kurz eintauchen bzw. übergießen mit Methylalkohol eine halbe bis eine Minute. 4) Färben. Verf. bemerkt hierbei, daß nach Lucidolfixierung die May-Giemsa-Färbung von Pappenheim etwas zu modifizieren ist: a. Vorfärben mit May-Grünwald-Lösung und destilliertem Wasser zu gleichen Teilen eine Minute; b. Färben mit Giemsa-Lösung 18 Tropfen auf 10 cc destillierten Wassers 15 Minuten (Maximum!). — II. Fixierung von parasitologischem Materiale. A. Trokkenfixierung: 1) Fixierung der lufttrockenen Ausstriche in Pyridin-Lucidol 20 Minuten. 2) Schnelles Überführen in Aceton-Xylol oder Pyridin-Xylol (in letzterem Falle müssen die Ausstriche nachher etwas länger mit Methylalkohol ausgewaschen werden) 10 Minuten oder auch länger. 3) Kurzes Eintauchen in bzw. Übergießen (nach Pyridin-Xylolbehandlung längeres Verweilen) mit Methylalkohol eine halbe bis eine Minute. 4) Färben wie gewöhnlich. — B. Feuchte Fixierung: 1) Fixierung der feuchten Ausstriche in Sublimat-Alkohol, Hermannscher oder Flemmingscher Lösung wie gewöhnlich oder mit heißen Osmiumdämpfen. 2) Nachfixierung mit Aceton-Lucidol 15 bis 30 Minuten (bei osmierten Präparaten so lange, bis die Ausstriche weiß werden). 3) Schnelles Überführen in Aceton-Xylol 10 Minuten. 4) Methylalkohol eine halbe bis eine Minute. 5) Färben wie gewöhnlich. — III. Fixierung von Gewebsstücken: 1) Fixierung der möglichst kleinen Stücke in a. Aceton-Lucidol 4 bis 6 Stunden, oder in b. Pyridin-Lucidol 10 bis 13 Stunden in gut verschlossenen Gefäßen bei Zimmertemperatur. 2) Aceton-Xylol 8 bis 10 Stunden (ein längeres Verweilen schadet, da die Stücke zu hart werden). 3) Xylol, Xylol-Paraffin usw. wie bei der gewöhnlichen

Paraffineinbettung. Verf. ist der Meinung, daß sich mit dieser neuen Methode noch interessante Resultate werden erhalten lassen. Die Fixierung mit Lucidol ist nichts anderes als eine sehr energische und rasche Oxydation des Gewebes. *Schiefferdecker (Bonn).*

Edinger, L., Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Apparaten (38. Wanderversammlung d. südwestdeutschen Neurologen und Irrenärzte in Baden-Baden 24. u. 25. Mai 1913; Ber. in Neurol. Zentralbl. Jahrg. 32, 1913, No. 14, p. 927—928).

Verf. hat seit mehr als 20 Jahren sich bemüht, die Deckgläser und den Kanadabalsam durch etwas Billigeres zu ersetzen. Alle möglichen Lacke, Zelluloidfilms, Zelluloidplatten, die verschiedensten Zellitlösungen wurden im Laufe der Jahre versucht. Ein wesentliches Resultat wurde erst erhalten, als auf den Vorschlag des Verf. der bekannte photographische Chemiker R. Liesegang in dem Laboratorium des Verf. Versuche mit bester photographischer Gelatine (Deutsche Gelatinefabriken, Höchst) machte. Es gelang nun, große und kleine Hirnschnitte durchsichtig zu konservieren. Das Liesegangsche Verfahren hatte aber noch Mängel, einige wurden durch Nieuwenhuijse beseitigt, welcher empfahl, die Objektträger mit Formollösung zu härten. In dem Frankfurter Neurologischen Institute, wo das Verfahren weiter ausgebildet worden ist, fallen jetzt für die Markscheidenfärbung, für Silberfibrillen- und Hämatoxylinpräparate, für Karmin und andere in Wasser unlösliche Färbungen alle Prozeduren des Entwässerns und Aufhellens weg, und das Deckglas wird gespart. Die Schnitte kommen, nachdem sie gefärbt sind, direkt aus dem Waschwasser für eine Stunde in 10prozentige Lösung von photographischer Gelatine, der 2 Prozent Glyzerin zugesetzt sind. Bei ganz kleinen Schnitten ist das kaum nötig, bei größeren aber vermeidet diese Durchtränkung Risse und Luftblasen. Die Schnitte kommen dann auf eine Glasplatte, auf der die gleiche Gelatine vorher etwas erstarrt ist, und werden mit derselben Gelatine nochmals übergossen. Alle diese Prozeduren werden auf einem Tellerwärmer bei etwa 40° vorgenommen. Die fertigen, zunächst noch undurchsichtigen Schnitte läßt man abkühlen, taucht sie dann für eine halbe Stunde in 10prozentige Formollösung, wodurch der Leim in Wasser unlöslich wird, und läßt sie trocknen. Dann werden die Schnitte genau so durchsichtig wie Kanadabalsam, steinhart und haben nur eine so dünne Schicht des dem Glase gleich lichtbrechenden Leimes über sich, daß sie mit schwacher Vergrößerung ebensogut wie mit Ölimmersion betrachtet werden können. Das Verfahren eignet sich auch für Sudanfärbungen, Marchi-Präparate usw., nicht aber für die wasserlöslichen Anilinfarben, also z. B. nicht für Nissl-Präparate, auch Golgi-Präparate scheinen gefährdet. Wegen seiner großen Einfach-

heit und Billigkeit wird dies Verfahren voraussichtlich bald in vielen Fällen Kanadabalsam und Deckglas verdrängen. Doch sind noch einige Mängel zu beseitigen. So kommt es immer noch gelegentlich vor, daß ganz große Schnitte von der Glasplatte abspringen, und auch das Auftreten von einzelnen Rissen im Gewebe kann noch nicht sicher vermieden werden. Es ist wichtig, die Gelatinelösung jedesmal neu zu machen, weil mehrfach erhitzte in eine andere Modifikation übergeht, welche zum Springen neigt. Die Markscheidenpräparate haben sich seit 3 Jahren gehalten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Massont, P., Imprégnation argentique du pigment (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **75**, 1913, no. 28, p. 210—211).

Es ist bekannt, daß die Gold- und Silbersalze eine besondere Affinität haben für die Pigmentkörnchen. Leider geben die bisher angewendeten Methoden keine konstanten Resultate und besonders machen störende Niederschläge die Präparate zum Nachweise des Pigmentes ungeeignet. Nach Verf. ist die folgende Methode sehr einfach und sicher: Schnitte von Material, das in der Flüssigkeit von Bouin fixiert worden ist, werden mit Brunnenwasser ausgewaschen bis zur vollständigen Entfernung der Pikrinsäure, dann 15 Minuten bis eine Stunde mit destilliertem Wasser, um jede Spur der Chlorsalze zu entfernen. Dann kommen sie für 48 Stunden im Dunkeln in die in folgender Weise bereitete Mischung von Fontana: Zu einer 5prozentigen Lösung von Silbernitrat fügt man Ammoniak hinzu, bis zur Auflösung des Niederschlages. Dann setzt man tropfenweise wieder 5prozentige Lösung von Silbernitrat hinzu, bis die Flüssigkeit opalesziert. Man läßt absetzen und bewahrt im Dunkeln auf. In 48 Stunden ist das ohne Hilfsmittel wenig sichtbare oder unsichtbare Pigment schwarz geworden. Auswaschen während einiger Minuten in destilliertem Wasser, dann Behandlung während 5 Minuten mit einer Bleifixierung. Auswaschen in Wasser. Man kann die Schnitte noch in beliebiger Weise färben. Diese Methode gibt kein Resultat für bakteriologische Untersuchungen und besonders nicht für das Treponema von Schaudinn. *Schiefferdecker (Bonn).*

Champy, Ch., Granules et substances réduisant l'iodure d'osmium (Journ. de l'Anat. et de la Physiol. t. **49**, 1913, no. 4, p. 323—343 av. 15 figg.).

Bringt man eine Lösung von Osmiumsäure mit einer Lösung eines Jodalkalis zusammen, so entsteht eine hellgelbe Färbung und es entwickelt sich eine Verbindung, über deren genauere Beschaffenheit Verf. aber nichts aussagen kann. Der neue Körper unterscheidet sich von der Osmiumsäure vom histologischen Standpunkte aus durch seine größere Diffusibilität und dadurch, daß er reduziert wird von Substanzen, welche die Osmiumsäure nicht reduzieren, Substanzen,

welche wir in den verschiedensten Zellen vorfinden. Technik: Kurz vor dem Gebrauche stellt man sich die folgende Mischung her:

Osmiumsäure, 2prozentige Lösung	1 Teil
Jodnatrium, 3prozentige Lösung	3 Teile

Es entsteht eine goldgelbe Färbung. Die Gewebsstücke werden in diese Mischung gebracht. Man soll verhältnismäßig dicke Stücke einlegen, etwa Würfel von 5 bis 6 mm Seite, etwa von Erbsengröße. Nimmt man sehr kleine Stücke, wie die, die man gewöhnlich für die Osmiumsäure benutzt, so erhält man eine Fixierung und Imprägnation durch die Osmiumsäure im Überschusse und nicht durch den neuen Körper, dessen Einwirkung in den oberflächlichen Schichten stets durch die Osmiumsäure maskiert wird. Die große Diffusibilität der neuen Substanz bewirkt stets eine recht gute und mitunter ausgezeichnete Fixierung der tieferen Teile der Stücke in der oben angegebenen Größe. Die Stücke verbleiben in der Fixierungsflüssigkeit wenigstens 24 Stunden. Die Flüssigkeit färbt sich dabei braun, sie muß stets in reichlichem Maße angewendet werden, damit sie in den 24 Stunden nicht vollständig reduziert wird. Nach Fixierung wird das Stück durch Alkohol und Toluol in Paraffin übertragen und geschnitten. Färbung mit der Methode von Altmann oder mit Eisenhämatoxylin. Die erstere Methode ist bei weitem vorziehbar. Mitunter, namentlich nach einem zu langen Aufenthalte in der Fixierungsflüssigkeit, ist der Grund des Präparates gelb gefärbt und erlaubt keine Färbungen. Man kann dann die Schnitte mit einer sehr schwachen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd bleichen, oder noch besser mit einer Lösung von Kaliumhyper manganicum, das langsamer oxydiert, so daß man den Grund bleichen kann, ohne die schwarz gefärbten Körner zu entfernen. Das Fett, welches in den so behandelten Stücken die Osmiumsäure gleichfalls reduziert, kann man von den durch diese Methode spezifisch dargestellten Bildungen unterscheiden: 1) durch Vergleich mit einem Stücke desselben Organs, das in Flemmingscher Flüssigkeit fixiert ist, oder 2) durch Vergleich des Zentrums der Stücke mit der Peripherie, an der die Fixierung nur durch die Osmiumsäure geschieht. Meistens ist es leicht, die Körper, welche die Jod-Osmiumverbindung reduzieren und sich kohlschwarz färben, von den Fetten zu unterscheiden, welche die Osmiumsäure reduzieren und gewöhnlich weniger stark gefärbt sind. Übrigens lösen sich in vielen Fällen (Leber, Hoden, Nebenniere) die Fettstoffe nach Imprägnation mit der Osmiumsäure, durch deren Reduktion sie grau, aber nicht schwarz werden. Es gibt indessen eine Anzahl von Fällen, in denen die Kontrolle durch ein in Flemmingscher Flüssigkeit fixiertes Präparat durchaus notwendig ist. Verf. hat seine Methode bei den verschiedensten Geweben ausprobiert: ihre Resultate sind nicht absolut konstant, aber sie variieren nicht mehr als bei irgendeiner anderen histologischen Methode. — Verf. hat die eigentümlichen

Körnchen, welche bei dieser Methode deutlich hervortreten, als „Katalyosome" oder einfacher als „Lyosome" bezeichnet, um ihnen einen Namen zu geben, und gibt an, daß sie sich dicht an die Mitochondriabildungen anschließen, aber mit ihnen nicht identisch sind. Wahrscheinlich wandeln sich die Mitochondriabildungen in die Lyosome um. Verf. bespricht sodann seine Resultate bei sehr verschiedenen Zellarten, es muß dieserhalb auf das mit Abbildungen versehene Original verwiesen werden. — Besonders hervorzuheben ist noch, daß diese Körnchen in den Nervenendigungen in ganz besonders großer Menge zusammengehäuft liegen, so daß man durch diese Färbung die Nervenendigungen direkt darstellen kann, ebensogut wie mit einer sonstigen für sie angegebenen Methode. Nach dem, was oben angegeben worden ist, würde diese Färbung allerdings nur für tiefliegende Nervenendigungen anwendbar sein, da auf die oberflächlich liegenden Teile die neue Methode ja nicht einwirkt. Auch die Achsenzylinder schon sind von den Körnchen oft so stark erfüllt, daß sie deutlich hervortreten, doch scheint die Menge der Körnchen zuzunehmen mit der größeren Entfernung vom Zellkörper.

Schiefferdecker (Bonn).

Krüger, P., Ein neues Verfahren zur elektiven Färbung der Bindesubstanzen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 75—90 m. 1 Tfl.).

Die Färbung gelingt am besten an Material, das mit Sublimat-Eisessig (5prozentige Sublimatlösung + 5 Prozent Eisessig) fixiert worden ist. Eingebettet kann sowohl in Paraffin als auch in Celloïdin werden. Die Schnitte kommen, gegebenenfalls nach Entfernung des Paraffins, in 80prozentigen Alkohol, dem soviel Jodjodkaliumlösung (5 g Jodkalium in 5 cc Wasser gelöst gemischt mit 0·5 g Jod in 45 cc 90prozentigem Alkohol gelöst) zugesetzt wird, bis er etwa kognakfarben aussieht. Hierin bleiben sie, bis sie eine kräftige gelbe Färbung angenommen haben, am besten über Nacht bis 24 Stunden. Nach flüchtigem Abspülen (nicht Auswaschen!) bringt man sie dann in eine Farblösung, die in ihrer Zusammensetzung qualitativ dem Delafieldschen Hämatoxylin entspricht, nicht aber quantitativ und gewiß auch andere chemische Eigenschaften als diese besitzt. Sie wird aus folgenden vier Bestandteilen gemischt: 1) konzentrierter wenigstens mehrere Tage alter Lösung von kristallisiertem Hämatoxylin in absolutem Alkohol; 2) konzentrierter Lösung von Ammoniakalaun in destilliertem Wasser; 3) konzentriertem Glyzerin; 4) Methylalkohol. Von 1 nimmt man 4, von 2 150, von 3 25 und von 4 ebenfalls 25 Teile. Diese vier Flüssigkeiten werden zusammen in eine Flasche mit möglichst großem Durchmesser gegossen und ohne zu filtrieren mindestens 3 Monate offen stehen gelassen. Das Hämatoxylin muß hoch oxydiert sein, um mit der Jodbeize die ge-

wünschte Bindegewebsfärbung zu geben. In der Farblösung bleiben die Schnitte mehrere Stunden, am besten wiederum über Nacht bis 24 Stunden. Spült man jetzt die Präparate mit destilliertem Wasser ab, was ohne Schaden für die Färbung auch sehr gründlich geschehen kann, so zeigen die Schnitte ein dunkelbraunes bis schwarzes Aussehen. Die folgende Differenzierung wird mit Salzsäure-Alkohol (70prozentiger Alkohol + 1 Prozent Salzsäure) ausgeführt, und zwar solange bis nur noch die Kerne gefärbt erscheinen, worauf die Säure mit alkalischem Alkohol (80prozentiger Alkohol + $^1/_2$ bis 1 Prozent Ammoniak) neutralisiert wird. Falls eine Gegenfärbung wünschenswert erscheint, so ist eine solche immer möglich und Eosin dafür zu empfehlen, besonders wenn man auf folgende Weise verfährt: Man löst Eosin in absolutem Alkohol und gibt von der ziemlich konzentrierten Lösung einige Tropfen in Xylol, so daß es eben rot erscheint. Hierin müssen allerdings die Schnitte oft mehrere Stunden bleiben und nach der Färbung nochmals in reines Xylol gebracht werden. Das Endresultat bei dieser zwar einige Zeit in Anspruch nehmenden Färbung ist: Kerne blau, plasmatische Substanzen rot, oft in den verschiedensten Tönen, Bindesubstanzen braun bis schwarz. Von anderen Hämatoxylinfarben kommt übrigens das Mayersche Hämalaun nach vorangegangener Beizung mit Jodjodkalium in der Wirkung der hier empfohlenen Lösung nahe. — Schließlich ist noch zu erwähnen, daß Beizung und Färbung auch mit recht gutem Erfolge zu einer Prozedur vereinigt werden können, wenn man der Hämatoxylinlösung Jodjodkaliumlösung zusetzt, und zwar soviel, bis einer Vorschrift Pappenheims entsprechend unterschichtetes Chloroform schwach rosa gefärbt wird. *E. Schoebel (Neapel).*

4. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Alexeieff, A., Recherches sur les sarcosporidies. I. Etude morphologique (Arch. de Zool. expériment. et générale t. **51**, 1913, p. 521—569 av. 3 pl.).

Die Meinungsverschiedenheiten über die Bedeutung der verschiedenen Teile der Spore der Sarcosporidien sind zu einem großen Teile zurückzuführen auf die verschiedenen Methoden, die von den verschiedenen Autoren benutzt worden sind. Verf. hat nun versucht, indem er die Technik mannigfach variierte, den Bau dieser Spore kennen zu lernen, gewissermaßen unabhängig von der Technik. Zur Fixation benutzte er die Bouinsche wässerige Flüssigkeit (für die

Schnitte), die Flemmingsche Flüssigkeit und besonders die alkoholische Sublimatlösung mit Essigsäure (nach v. Lenhossék: Gesättigte Sublimatlösung 75 cc, absoluter Alkohol 25 cc, Eisessig 5 cc). Eine sehr einfache Färbung mit Hämatein oder Hämalaun ergibt schon eine deutliche Vorstellung von dem Baue der Spore. Die Methode von Mann (Methylblau-Eosin) ergibt sehr deutliche Farbenkontraste: diese Methode eignet sich besonders für Serienschnitte. Das Eisenhämatoxylin von Heidenhain ergibt die wertvollsten Resultate. Um diese zu erhalten, muß man aber die beiden folgenden Bedingungen erfüllen: 1) Mit Eisenalaun ziemlich stark und verschieden weit differenzieren. 2) Eine sorgfältige Plasmafärbung anwenden. Wenn man übrigens die Entfärbung hinreichend weit getrieben hat, so daß gewisse Kernelemente (das Linin und das reine Chromatin) entfärbt worden sind, so wirkt diese Ergänzungsfärbung nicht nur auf das Plasma. Verf. bedient sich dazu aufeinanderfolgender Färbungen mit Eosin und Pikro-Indigo-Karmin: dieses letztere färbt das Protoplasma grünlichblau, während das Eosin nur an den Kernelementen haftet, die entfärbt worden sind. Das Caryosoma, das aus einer innigen Mischung von Chromatin und Plastin besteht, hat eine große Neigung zum Eisen und bewahrt die intensive Schwarzfärbung. Auf diese Weise ist die Deutung der verschiedenen Teile der Zelle sehr leicht. — Verf. hat sich auch der Giemsa-Lösung bedient (trockene Deckglasausstriche) und des Methylgrüns mit Essigsäure, doch sind dies Methoden, die nicht als Grundlage für Zellstudien dienen können. — Verf. bemerkt zu seiner Färbung, daß sie im wesentlichen die Dreifachfärbung von Prenant ist, in welcher das Lichtgrün durch das Pikro-Indigo-Karmin ersetzt ist. Verf. verfährt auf die folgende Weise: Nach Differenzierung mit Eisenalaun gutes Auswaschen in Wasser, das Präparat verbleibt in der wässerigen Eosinlösung (2:1000) eine Minute, dann ohne Auswaschen Übertragen in eine wässerige Lösung von Pikro-Indigo-Karmin (von verschiedener Stärke, einprozentig z. B.), wo es ebenfalls etwa eine Minute verbleibt, dann durch steigenden Alkohol mehr oder weniger schnell in Xylol und Kanadabalsam. *Schiefferdecker (Bonn).*

Arndt, W., Über das Vorkommen von Fett bei Actinien (Zool. Jahrb. Abt. f. allg. Zool. u. Phys. Bd. **34**, 1913, p. 27—42 m. 1 Tfl.).

Das zur Untersuchung verwandte Material wurde meist mit 4prozentigem Formol fixiert, jedoch zur Kontrolle auch unfixiertes verwendet. Zur Herstellung der Schnitte diente das Gefriermikrotom. Zur Feststellung des Charakters der in Frage kommenden Kügelchen wurde ihre Löslichkeit einerseits in absolutem Alkohol, Äther und Xylol, anderseits in verdünnter Essigsäure und schwachen Alkalien geprüft, dann ihr Verhalten gegen Osmiumsäure und die Farben

Sudan III, Scharlach R und Indophenol untersucht und schließlich die Art der Lichtbrechung im Polarisationsmikroskop festgestellt.
E. Schoebel (Neapel).

Müller-Calé, K., Zur Entwicklungsgeschichte einiger Thecaphoren (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **37**, 1913, p. 83—112 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Zur Fixierung diente hauptsächlich das Sublimatgemisch von Kaiser aus 10 g Sublimat, 3 g Eisessig und 300 cc Wasser, zur Färbung der nach Paraffineinbettung gewonnenen Schnitte Heidenhains Eisenhämatoxylin kombiniert mit Eosin, Lichtgrün oder Pikrokarmin, häufig auch die einfache Doppelfärbung mit Delafields Hämatoxylin und Eosin oder Pikrokarmin. *E. Schoebel (Neapel).*

Hilton, W. A., The central nervous system of Tunicata nigra (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **37**, 1913, p. 113—130 m. 11 Figg.).

Die Untersuchung wurde teils an frischem, teils an konserviertem Material ausgeführt. Die Schnitte der mit Carnoys Flüssigkeit fixierten Objekte wurden mit Methylenblau und Eosin, die jener mit Flemmings Gemisch fixierten mit Eisen- oder Kupferhämatoxylin gefärbt. *E. Schoebel (Neapel).*

Kuschakewitsch, S., Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchiern 1. (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 237—323 m. 26 Figg. u. 4 Tfln.).

Als Material dienten ausschließlich frisch im Meer gefangene Prosobranchier. Um die Tiere möglichst unbeschädigt von der Schale zu befreien, zerbricht man diese am besten mit Hilfe eines Schraubstockes. Zum Fixieren wurden die Gemische von Hermann, Flemming, Bouin, Benda, Carnoy und Zenker verwendet. Die besten Resultate gaben die Osmiumgemische und die Bouinsche Flüssigkeit. Die Fixierung nach Carnoy hatte den Nachteil, daß die mit ihr fixierten Gewebe beim Einbetten in Paraffin sehr brüchig wurden. Zur Färbung der Schnitte diente besonders Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, zum Teil kombiniert mit Lichtgrün. Außerdem kam zur Verwendung die Färbung nach Benda, Boraxkarmin mit Lichtgrün oder Bleu de Lyon, Dreifachfärbung nach Flemming (nach Fixierung mit dessen Gemisch), Dreifachfärbung nach Biondi (gelang nur bei Fixierung nach Carnoy), Delafields Hämatoxylin mit Eosin, Magenta-Pikroindigokarmin (nach Osmiumgemischen und Zenkerscher Flüssigkeit). Reife Spermatozoën wurden sowohl im lebenden Zustande in einem Tropfen Seewasser, als auch auf Ausstrichpräparaten nach Fixierung und Färbung untersucht. Die Anfertigung der Ausstrichpräparate von Samenflüssigkeit

solcher Prosobranchier, welche zweierlei Arten von Spermatozoën haben, erfordert besondere Vorsichtsmaßregeln, da die großen und zarten atypischen Samenkörper einiger Formen bei dem Auftragen der Samenflüssigkeit auf das Deckglas selbst dann, wenn der weichste Pinsel verwendet wird, außerordentlich leicht zerdrückt oder deformiert werden, oder aber alle zwischen den Haaren des Pinsels eingeklemmt bleiben. Auf sehr zuverlässige Weise lassen sich aber Ausstrichpräparate herstellen, wenn mit einem feuchten Pinsel etwas mit Seewasser verdünntes Sperma auf das sehr gut gereinigte Deckgläschen so aufgetragen wird, daß der Pinsel selbst dessen Oberfläche nach Möglichkeit nicht berührt. Zum Fixieren läßt man dann das Deckgläschen, Schichtseite natürlich nach unten, auf der Fixierungsflüssigkeit schwimmen. Um größere Mengen von Deckgläschen mit aufgestrichenem Sperma ungefärbt aufzubewahren und zu transportieren, ohne die Präparate zu gefährden, verfuhr Verf. folgendermaßen. Nach dem Fixieren und eventuellen Wässern wurden die Gläschen durch die Alkoholreihe bis zu absolutem geführt, dann nach Passieren eines Alkohol-Äthergemisches in eine Celloïdinlösung getaucht und nachdem der Überschuß dieser letzteren abgetropft war, in 70prozentigen Alkohol gelegt. Von diesen auf solche Weise mit einer Celloïdinschutzschicht versehenen Deckgläschen wurden immer die gleichartigen zusammen in ein mit Aufschrift versehenes Papier gewickelt und die einzelnen Päckchen in einem Gefäß mit 70- bis 78prozentigem Alkohol bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt. Sollte diese erfolgen, so wurde natürlich erst die Celloïdinschicht von den Präparaten in Alkohol-Äther entfernt und diese dann durch Alkohol in Wasser überführt. Außer den bereits erwähnten Fixierungs- und Färbemethoden wurde für Ausstrichpräparate auch noch die Fixierung mit einprozentiger Osmiumsäure und die Färbung mit einprozentigem Fuchsin angewendet, mit darauffolgendem Einschluß in essigsaurem Kali.

E. Schoebel (Neapel).

Herbers, K., Entwicklungsgeschichte von Anodonta cellensis Schröt. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **108**, 1913, p. 1—174 m. 104 Figg.).

Zur Untersuchung dienten fast ausschließlich Embryonen, Larven und junge Muscheln von Anodonta cellensis und A. piscinalis. Zur Zucht der parasitierenden Stadien wurden kleine 3 bis 5 cm lange Fischchen benutzt. Die Larven hefteten sich meist an den Flossen, weniger an den Kiemen an. Die Präparation der Larven für Totalpräparate, die anfangs große Schwierigkeiten bereitete, wurde schließlich in einer schon von Schierholz angedeuteten Weise vorgenommen. Nachdem die Fischchen in halbgesättigtem Chloroformwasser getötet und darauf kurze Zeit in reinem Wasser gelassen worden waren, wurde die Epidermis der Flossen mit den anhaftenden Larven abgestreift.

Da nur in seltenen Fällen die Larven aus ihren Cysten herausfielen, mußten sie meist unter der Lupe mit feinen, messerförmig zugeschärften Nadeln frei präpariert werden. So isoliert wurden sie dann mit heißer Sublimat-Eisessig-Lösung fixiert und zum Teil für Schnittpräparate zum Zweck genauer Orientierung nach der Nelkenölkollodiummethode, wie sie Wasserloos angegeben hat, eingebettet. Hiernach wird der Nelkenölkollodiumtropfen mit den Objekten auf kleine Glasplättchen gebracht, auf die mit einem Diamanten eine gerade Linie eingeritzt ist. Da das Nelkenölkollodium in den Riß hineinfließt, erhält man auf dem abgelösten Plättchen eine erhabene Linie. Orientiert man nach der eingeritzten Linie das Tier in gewünschter Weise, so kann man nach der Paraffineinbettung bequem die gewollte Schnittrichtung einhalten. Heißer Sublimat-Eisessig gab bei einer Einwirkungsdauer von 10 Minuten entschieden die besten Resultate, oft auch dann noch, wenn die Larven die Schalen dicht geschlossen hielten und somit ein rasches Eindringen der Fixierungsflüssigkeit verhinderten. Diese Gefahr war auch besonders bei den Najaden sehr groß. Da Narkotisieren mit Kokaïn oder Chloralhydrat nicht den gewünschten Erfolg gab, wurde schließlich so verfahren, daß die Najaden in ganz wenig Wasser in einem Uhrschälchen unter dem Mikroskop beobachtet und in dem Moment, wo sie die Schale öffneten und den Fuß vorstreckten, mit der bereitgehaltenen heißen Fixierungsflüssigkeit übergossen wurden. Die älteren 1 bis 3 cm langen Muscheln, die für die Untersuchung der Entstehung der Darmschlingen dienen sollten, wurden zunächst eine halbe Stunde in einprozentige Chloralhydratlösung gelegt und dann, nachdem mittels einer Pinzette der hintere Schloßrand der Schale entfernt war, vom Enddarm aus mit kalter Injektionsmasse injiziert. Die Bloßlegung des Darmausgusses erfolgte dann durch Mazeration in $^1/_2$prozentiger Kalilauge. Zur Färbung der Schnitte diente meist Heidenhains Eisenhämatoxylin, bei größeren Objekten auch Delafields Hämatoxylin oder irgendeine der gebräuchlichen Doppelfärbungen. *E. Schoebel (Neapel).*

Kemnitz, G. A. v., Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 470—506 m. 1 Tfl.).

Die im Dünndarm von Salamandra maculosa vorkommenden Trematoden wurden mit Carnoys Gemisch, Sublimat-Eisessig (10 Prozent), Pikrin-Essigsäure und nach Benda fixiert und die Schnitte dann meist mit Eisenhämatoxylin tingiert. Daneben wurden aber auch die für verschiedene Verhältnisse recht brauchbaren Totalpräparate mit Boraxkarmin- oder Essigsäurekarminfärbung hergestellt.

E. Schoebel (Neapel).

Kühtz, K., Über die Spermio- und Oogenese der Selerostomum-Arten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Heterochromosomenforschung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 83. Abt. 2. 1913, p. 191—265 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.).

Von frisch geschlachteten Pferden wurden das Coecum und Colon rasch geöffnet und die an der Darmwand festgesaugten Selerostomiden vorsichtig abgezogen. Bleibt der Darm erst längere Zeit liegen und kühlt ab, so lassen die Würmer selbst los und werden dann im Darminhalt schwimmend gefunden. In dem auf 35° C warmgehaltenen Darminhalt kann man die Parasiten bis zu 2 Tagen lebend erhalten.

Da die Cuticula sehr dick ist, so müssen die Geschlechtsorgane herauspräpariert werden. Die von Gulick angewandte Methode, die Genitalorgane mittels einer kleinen Kautschukwalze herauszupressen, versagte. Es wurde deshalb in folgender Weise präpariert: Nachdem der mit Igelstacheln auf einer Wachsplatte in ausgestrecktem Zustande befestigte Wurm mit einem feinen Skalpell dicht neben einer der durchschimmernden Seitenlinien vom Kopf aus gegen den Schwanz aufgeschlitzt war, wurde der ganze Cuticula- und Hautmuskelschlauch mit einem Zuge geöffnet. War dies geschehen, so wurde der eine Rand des Schlauches mit einem Igelstachel in der Mitte festgeheftet, der Darm am Hinterende durchschnitten und nun mit den daranhängenden Geschlechtsorganen über den freien Rand mittels des flachgehaltenen Skalpells hinübergeschoben. Sodann wurde der Hautmuskelschlauch in Höhe des Oesophagus und beim Weibchen noch die Vagina durchtrennt. Da die ganze Prozedur kaum eine Minute dauert, ist jeder Zusatz von Kochsalzlösung oder dergleichen zu vermeiden. Der Darm bleibt während der ganzen weiteren Behandlung erhalten und dient als Stütze der sehr feinen Geschlechtsröhren.

Die Untersuchungen wurden teils an lebendem Material, teils an Ausstrichen, die in Osmiumsäuredämpfen fixiert wurden, zum größten Teil aber an Schnittpräparaten angestellt. Als Fixationsflüssigkeiten wurden hierzu gebraucht: Zenkers und Flemmings Flüssigkeit, Pikrinsublimateisessig, die Gemische von Carnoy, Helly und Bouin (75 Teile konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung, 20 Teile käufliches Formol und 5 Teile Eisessig); erstere beiden besonders für die Untersuchung der Chromatinveränderungen in den Mitosen der Männchen. Bei reifen Eiern versagten jedoch beide ihren Dienst, denn diese enthalten einerseits zu viele sich durch Osmiumsäure stark färbende Bestandteile, anderseits werden die winzigen Mitosen bei der Bildung der Richtungskörper durch das Sublimat verklumpt und lassen keine distinkte Färbung zu. Vorzügliche Resultate gab aber das Bouinsche Gemisch. Die weitere Behandlung des Materials erfolgte in der üblichen Weise.

Zum Färben kamen Heidenhains Eisenhämatoxylin, Safranin, Böhmers Hämatoxylin und Hämalaun, sowie an Ausstrichen Giemsa- und May-Grünwald-Lösungen mit Erfolg zur Anwendung. Die besten Resultate wurden aber bei dem nach Bouin fixierten Material mit der Gramschen Färbung erzielt. Man benutzt hierzu zwei Lösungen: a) 1 g Gentianaviolett gelöst in 40 cc 95prozentigen Alkohols + 5 cc Anilin und aufgefüllt mit destilliertem Wasser auf 300 cc; b) 1 g Jod und 2 g Jodkalium gelöst in 300 cc destillierten Wassers. Die Schnitte werden horizontal liegend eine Minute mit a) gefärbt, kurz mit destilliertem Wasser abgespült, eine Minute mit b) behandelt, 15 Sekunden in 95prozentigem Alkohol differenziert, 5 Sekunden mit absolutem Alkohol behandelt und dann durch Xylol in Balsam gebracht.

E. Schoebel (Neapel).

Fülleborn, F., Zur Technik der Mikrofilarienfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 6. p. 427).

Das Resultat dieser Arbeit sind folgende Methoden der Mikrofilarienfärbung: I. Gewöhnliche Trockenpräparate für die klinische Diagnose. Auf ganz fettfreien Objektträgern nicht zu langsam eingetrocknete „dicke Tropfen" — 2 bis 3 große Blutstropfen zu einer Fläche von 2×3 mm ausgebreitet — werden, am besten nach einigen Stunden, mit destilliertem Wasser enthämoglobinisiert (eine bis einige Minuten), getrocknet, 10 Minuten oder länger mit absolutem Alkohol fixiert, getrocknet, mit Hämatoxylin nach Böhmer kräftig ($^1/_4$ Stunde oder länger) gefärbt, in 0·2prozentiger HCl differenziert, mit destilliertem Wasser, dann gründlich mit Leitungswasser abgespült, getrocknet und schließlich in Zedernöl oder Balsam untersucht. — II. Feuchtpräparate aus „dicken Tropfen", zum Studium der Anatomie. Möglichst frische, in Petrischalen langsam getrocknete oder zu $^1/_2$ der Fläche bei Durchsicht noch feucht erscheinende „dicke Tropfen" (s. o.) werden mit Kochsalzlösung (0·9 Prozent) 5 Minuten enthämoglobinisiert, fixiert (Alkohol oder Schaudinns Gemisch, bzw. wässerige konzentrierte Sublimatlösung, 5 Minuten lang), vorsichtig in absoluten Alkohol und zurück in Wasser gebracht, mit Hämatoxylin nach Böhmer wie in I. gefärbt und durch Alkohol, Gemisch von Alkohol und Origanum-, Cajeput- oder Bergamottöl, reines Öl, Zedernöl in Kanadabalsam eingeschlossen. — III. Frischfärbung von „dicken Tropfen". Möglichst frische getrocknete „dicke Tropfen" kommen in eine Mischung von 4 cc einer leicht alkalisierten einprozentigen Azur II-Lösung mit 100 cc 0·9prozentigem NaCl, bis die Mikrofilarien ganz leicht bläulich angefärbt sind ($1^1/_2$ bis 3 Stunden; die gewöhnlichen Kerne sollen nicht gefärbt sein). Sie werden dann 10 bis 20 Minuten mit Eosin BA extra Grübler 1 Teil + 0·9prozentigem NaCl 1000 Teile differenziert, bis die Objekte deutlich und mit guter

Differenzierung der anatomisch wichtigen Elemente (auf rosenrotem Grunde) erscheinen. Konservierung der Präparate nicht möglich. — IV. Methylgrün-Pyroninfärbung. Sie gelingt auch an älteren Trockenpräparaten und ist, wenn keine Scheidenfärbung erforderlich, der Methode II. für Dauerpräparate vorzuziehen. Getrocknete „dicke Tropfen" werden kurz mit physiologischer Kochsalzlösung enthämoglobinisiert, in Karbol-Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim-Unna (Grübler), das mit dem 10. Teil seines Volumens an 9prozentiger Kochsalzlösung versetzt ist, etwa $^1/_2$ Stunde gefärbt, schnell durch die Alkohole gebracht und durch Xylol in Zedernöl oder Kanadabalsam gebracht. „Am besten ist die Färbung, wenn in der vorderen Mikrofilarienhälfte nur die Exkretionszelle und die Umgebung des Exkretionsporus Pyroninton zeigen, alles andere blaugrün ist."

Hans Schneider (Bonn).

Wassermann, F., Die Oogenese des Zoogonus mirus Lss. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 2, 1913, p. 1—140 m. 43 Figg. u. 4 Tfln.).

Unter 96 untersuchten Fischen (Labrus merula) wurden im Darmbrei von 26 die gesuchten Parasiten gefunden. Die Fixierung erfolgte durch Sublimatlösung mit 5 Prozent Essigsäurezusatz und die Gemische von Flemming, Zenker, Gilson, Carnoy, Brasil und Bouin. Besonders das letztere gab ausgezeichnete Resultate. Die Färbung mit Hämatoxylin nach Hansen, eventuell mit Eosin oder Orange S kombiniert, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Boraxkarmin, Safranin. Methylgrün wurde gewöhnlich an den Schnitten vorgenommen und nur einzelne Exemplare in toto mit Boraxkarmin tingiert. Letzteres geschah, um durch Zerzupfen Totalpräparate der Eier herstellen zu können.

E. Schoebel (Neapel).

Sánchez y Sánchez, D., Sobre la estructura íntima de la fibra muscular en los invertebrados. Nota preliminar (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid. t. **11**, 1913, fasc. 1, p. 11—18 c. 2 figg.).

Verf. hat mit der neuen von Cajal angegebenen Silberimprägnation nach Fixierung in Urannitrat Muskelfasern der Wirbellosen behandelt: Schnecken, Miesmuscheln, verschiedene Blutegel und einige Insekten. Methode: Kleine Stückchen von 2 bis 4 mm Dicke kommen für 8 bis 12 Stunden in eine einprozentige wässerige Lösung von Urannitrat mit Zusatz von Formol im Verhältnisse von 15 auf 100, dann rasches Abwaschen in destilliertem Wasser und Übertragen in eine einprozentige Lösung von Silbernitrat für 24 Stunden, dann nach neuem Auswaschen in destilliertem Wasser Übertragen in die Reduktionsflüssigkeit (Hydrochinon 2 g, Formol 6 cc, destilliertes Wasser 100 cc, dazu eine sehr geringe Menge von wasserfreiem

Natriumsulfit), in der sie 24 Stunden verbleiben. Dann neues Auswaschen in destilliertem Wasser, Entwässerung in der Alkoholreihe, Einschluß in Celloïdin oder Paraffin, Schneiden und Aufheben wie gewöhnlich. *Schiefferdecker (Bonn).*

Sánchez y Sánchez, D., Sobre las terminaciones motrices en los insectos (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **11**, 1913, fasc. 2, p. 113—118 c. 2 figg.).

Die Formeln der CAJALschen Silberfärbung, welche bis jetzt die besten Resultate für die Darstellung der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Biene ergeben haben, sind: Die Fixierung mit Alkohol allein, mit Pyridin und mit ammoniakalischem Alkohol. Die erste färbt besonders, und zwar sehr stark, die Neurofibrillen sowohl die der Nervenzentren wie die der Nerven in den verschiedenen Teilen des Körpers. Die anderen beiden färben die Fibrillen auch, aber in verschiedener Stärke, zeigen häufig eine Körnung und die Fasern vakuolisiert, Fehler, die wahrscheinlich verschwinden werden, wenn man die Formeln in bestimmter Weise ändert. In jedem Falle soll man ziemlich starke Silberlösungen anwenden, die schwachen (1 bis 2:100) geben ungenügende Resultate, während solche von 4 bis 6:100 ausgezeichnete Imprägnationen ergeben, wenn man die Präparate in ihnen 3 bis 4 Tage lang bei Temperaturen von 36 bis 38° beläßt. Die Reduktion, Entwässerung und Montierung wie üblich. *Schiefferdecker (Bonn).*

Prell, H., Das Chitinskelett von Eosentomon, ein Beitrag zur Morphologie des Insektenkörpers (Zoologica, Heft 64, 1913, 58 pp. m. 6 Tfln.).

Zur Untersuchung diente hauptsächlich Eosentomon germanicum, das sich durch Größe und bessere Färbbarkeit des Chitins von anderen Arten vorteilhaft unterscheidet. Zum Vergleich wurden aber auch E. transitorium und das seltene südalpine E. ribagai herangezogen. Als Fundstellen kommen die verschiedensten Lokalitäten in Frage, nur eine gewisse Feuchtigkeit scheint unbedingtes Erfordernis für das Vorkommen von Proturen zu sein. So fand Verf. Eosentomon und Acerentomon in Gemeinschaft mit vielen anderen niederen Arthropoden unter der Rinde verschiedener Waldbäume (Eiche, Fichte, Kiefer), ferner im Mulm alter Stämme, unter großen Steinen mit Laubunterlage und gelegentlich auch im Humus und im Moos. Es erwies sich als praktischste Sammelmethode, draußen nach Proturen zu suchen und von dem Materiale, das solche beherbergte, größere Quantitäten einzutragen. Bei der Untersuchung daheim kann man dann leicht auf schwarzer Unterlage die Proturen mit bloßem Auge erkennen und an ihrer durchscheinenden Färbung und gleichmäßigen Bewegung von den ebenso großen Collembolen unter-

scheiden. Zur Aufbewahrung lebenden Materials für einige Zeit erwies es sich als vorteilhaft, die Tiere in ein flüssiges Medium zu übertragen, da auf diese Weise ein Vertrocknen sicherer vermieden wird, als durch die Unterbringung in einer feuchten Kammer. Überdies lassen sich die mit einem feuchten Pinsel aufgenommenen Tiere leichter unbeschädigt in einer Flüssigkeit, als auf einer festen Unterlage abstreifen. Versuche mit Leitungswasser, destilliertem Wasser, physiologischer Kochsalzlösung und RINGER'scher Flüssigkeit zeigten bald die Überlegenheit der letzteren.

Das Exoskelett von Eosentomon zeichnet sich durch seine große Durchsichtigkeit aus. Auf einer glashellen Chitinmembran liegen die Sklerite, von ihrer Umgebung nur durch etwas größere Dicke und eine ganz leichte Gelbfärbung unterschieden. Diese Unterschiede sind zu gering, um eine sichere Grenze der einzelnen Hartgebilde danach festzustellen. Immerhin wurde von der Beobachtung lebender Tiere, die sich in Wasser leicht bewerkstelligen läßt, ausgiebig Gebrauch gemacht. Hauptsächlich wurde die Untersuchung aber an zweckmäßig gefärbten Dauerpräparaten durchgeführt. Es kamen die verschiedensten Färbemethoden zur Verwendung. Unzureichend waren in den meisten Fällen die Resultate mit wässeriger oder alkoholischer Eosin- und Methylenblaulösung, ebenso gaben Eosin und Pikrinsäure in Nelkenöl gelöst oft keine klaren Bilder. Ausgezeichnete Präparate wurden aber mit Wasserblaufärbung erhalten. Die Tiere wurden in starker Kali- oder Natronlauge auf dem Thermostaten bei etwa 40° C gehalten und waren, wenn sie vorher angestochen worden waren, nach einiger Zeit völlig von allen Fleischteilen befreit. War es nicht möglich, frische Tiere in die Lauge zu werfen, so beschleunigte eine vorangegangene kurze Behandlung mit Eisessig die Reinigung des Skelettes wesentlich. Die gründlich in 40prozentigem Alkohol abgespülten Häute wurden vorsichtig in Wasser gebracht und weiter in die Farblösung übertragen. Als solche diente eine 0·25prozentige Lösung von Wasserblau in konzentrierter wässeriger Pikrinsäure, welche mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt war. Nach mehrtägigem Aufenthalte in der Farbe wurden die Häute rasch gewässert, durch die Alkoholreihe in Nelkenöl gebracht und konnten in diesem, da es die Farbe nicht auszieht, beliebig lange aufbewahrt werden. Gut bewährte sich auch eine Färbung mit etwa 0·5prozentiger Lösung von Wasserblau in angesäuertem 96prozentigem Alkohol mit nachfolgendem Spülen in 96prozentigem Alkohol und Übertragen in Nelkenöl. Die Untersuchung, beziehungsweise die Zerzupfung, welche mit feinen Nadeln vorgenommen wurde, erfolgte stets in Nelkenölkollodium, das zum Schluß mit Xylol zum Erstarren gebracht wurde. Noch schönere Bilder als durch Färbung ließen sich durch Silberimprägnation erreichen. Die zur Imprägnierung bestimmten Tiere wurden zunächst 24 Stunden mit Pyridin behandelt, in destilliertem Wasser abgespült und dann im Dunkeln auf verschieden lange Zeit

(2 bis 10 Tage) in eine 3prozentige Silbernitratlösung von 40° C gebracht. Nach sorgfältigem Auswaschen wurden die Tiere meist zur Entfernung des Fettes vorsichtig durch die Alkoholreihe, für kurze Zeit in Xylol und dann wieder allmählich in Wasser gebracht. Zuletzt wurden die Weichteile in leicht erwärmter Kalilauge zerstört und die in 40prozentigem Alkohol zum Quellen gebrachten Tiere, nachdem der Alkohol aus der Flüssigkeit verdunstet war, in hohlgeschliffenen Objektträgern in Wasser oder Glyzerin eingeschlossen. Mit allen Imprägnierungen teilt auch diese Methode eine gewisse Launenhaftigkeit. Vor allen muß man die Dauer des Aufenthaltes im Silberbad je nach den zu untersuchenden Einzelheiten bemessen und genau kontrollieren. Ist die Imprägnierung aber geglückt, so heben sich die Sklerite je nach ihrer Stärke schwarz oder bräunlich getönt außerordentlich deutlich von der gelblich gefärbten oder durchsichtigen Interskleritalhaut ab. Leider stellt sie nur diejenigen Chitinteile dar, welche schon im Leben eine leichte, oft kaum erkennbare Gelbfärbung zeigen. Sollte zur Übersicht auch das Entoskelett mit dargestellt werden, so wurde — und zwar geschah dies hauptsächlich bei jüngeren Tieren — mit Wasserblau nachgefärbt. Zu bemerken ist noch, daß die Imprägnierung fast ganz diffus ausfällt, wenn sie nach der Behandlung mit Lauge angewendet wird, und daß ihre Haltbarkeit nur eine begrenzte ist. — Die Untersuchung der Muskulatur wurde teils am lebenden Tier, teils am gefärbten Präparate vorgenommen. Die für Dauerpräparate bestimmten Objekte wurden entweder frisch in einer filtrierten Lösung von Syndetikon zerzupft, durch Übergießen mit hochprozentigem Alkohol festgeklebt und mit Lösungen von Eosin oder Methylenblau in absolutem Alkohol gefärbt, oder aber die Tiere wurden mit dem Gemisch von Petrunkewitsch fixiert in einer Nelkenöleosinlösung tingiert und in Nelkenölkollodium orientiert respektive zerzupft. Stets erwies es sich als äußerst mißlich, daß es nicht möglich war, Chitinskelett und Muskulatur gleichzeitig zu färben. Aus diesem Grunde bot auch die Schnittmethode keine klaren Ergebnisse. *E. Schoebel (Neapel).*

Zimmermann, K., Über die Fazettenaugen der Libelluliden, Phasmiden und Mantiden (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **37**, 1913, p. 1—36 m. 3 Figg. u. 2 Tfln.).

Zur Fixierung dienten hauptsächlich Sublimat-Essigsäure und Zenkersche Flüssigkeit. Sehr hinderlich für die Anfertigung guter dünner Schnitte ist die Cuticula. Bei Tieren mit großen Augen kann man sich leicht helfen, denn nach der Einbettung in Paraffin läßt sich bei einiger Übung die Cuticula mit einem Messerchen abheben, ohne das darunterliegende Gewebe zu verletzen. Unter Benutzung eines binokularen Präpariermikroskopes gelingt übrigens diese Operation auch bei kleinen Augen. Bei den Libellen konnte das Absprengen

vermieden werden, indem eben der Larvenhaut entschlüpfte Imagines gesammelt wurden. Bei kleineren Objekten erwies es sich übrigens vollständig ausreichend, wenn in Celloïdin-Paraffin eingebettet wurde. Zur Färbung der dickeren Übersichtspräparate wurde Eosin und Delafields Hämatoxylin angewandt, für die dünneren histologischen Schnitte Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Aus den mit Eisenhämatoxylin zu färbenden Präparaten wurde immer erst das Pigment entfernt, und zwar entweder mit dem Grenacherschen Gemisch aus einem Teil Glyzerin und 2 Teilen 80prozentigem Alkohol mit einem Zusatz von 2 bis 3 Prozent Salzsäure, oder mit der von Jander empfohlenen Flüssigkeit aus 70 Teilen einprozentiger Chromsäure, 3 Teilen Salpetersäure und 200 Teilen Wasser. Bei sehr widerstandsfähigem, namentlich dunkelschwarzem Pigment mußte immer letzteres Reagens angewendet werden, das sicher, wenn auch sehr langsam wirkt. Bei lang dauernder Depigmentierung ist ein Photoxylinüberzug der Schnitte zu empfehlen. *E. Schoebel (Neapel).*

Schellenberg, A., Das akzessorische Chromosom in den Samenzellen der Locustide Diestrammena marmorata de Haan (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, p. 489—514 m. 2 Tfln.).

Zur Untersuchung kamen Individuen von 6 mm bis zu geschlechtsreifen Exemplaren von etwa 16 mm Länge. Die kleinsten Tiere enthielten in ihren Hoden nur Spermatogonien oder mitunter noch ganz junge Spermatocyten 1. Ordnung. In den Hoden der geschlechtsreifen Tiere fanden sich alle Stadien von Spermatogonien bis zu den fertigen Spermatozoen.

Gute Fixierung lieferte das Carnoysche Gemisch, ferner Schaudinns Flüssigkeit mit einem geringen Zusatz von Eisessig. Zur Färbung der Schnitte fand vor allem Heidenhains Eisenhämatoxylin Anwendung, da nur diese Methode bei der Masse der Chromosomen klare Bilder lieferte. *E. Schoebel (Neapel).*

Wilke, G., Chromatinreifung und Mitochondrienkörper in der Spermatogenese von Hydrometra paludum Fabr. (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 203—236 m. 7 Figg. u. 2 Tfln.).

Die herauspräparierten Hoden wurden 12 bis 24 Stunden mit dem starken Flemmingschen Gemisch fixiert und die Schnitte meistens mit Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt. Bei dieser Färbung ist aber wohl darauf zu achten, daß der Farbstoff genügend ausgezogen wird, da sonst wesentliche Strukturen der Chromosomen, Tetraden, Mitochondrien usw. verdeckt bleiben können. Zum Nachweis von Chromatin wurde hauptsächlich Delafields Hämatoxylin benutzt.
E. Schoebel (Neapel).

Reinhard, L., Zum Bau der Spermien und zur Spermatogenese von Potamobius leptodactylus [Astacus leptodactylus] (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 324—342 m. 2 Tfln.).

Zur Fixierung der Spermien wurden Sublimat-Essigsäure (5 Proz.), die Flüssigkeiten von Hermann und Flemming, Osmiumdämpfe und das Mevessche Gemisch von Kaliumbichromat und Osmiumsäure benutzt. Letztere gab nach Ansicht des Verf. die besten Resultate, da die wirkliche Form der Spermien durch sie am wenigsten verändert wird. Für die Spermatogenese ist aber Sublimat-Essigsäure sehr zu empfehlen. Zum Färben der Dauerpräparate diente: Eisenhämatoxylin, Hämalaun, Boraxkarmin, Triacid nach Biondi, Safranin, Gentianaviolett, Methylgrünessigsäure. Außerdem wurden die Spermien mazeriert und lebendig untersucht mit Färbung nach Biondi-Heidenhain, Bismarckbraun, Methylgrünessigsäure und Neutralrot. *E. Schoebel (Neapel).*

Scheurig, L., Die Augen der Arachnoideen (Zool. Jahrb. f. Morph. Bd. **33**, 1913, p. 553—636 m. 15 Figg. u. 6 Tfln.).

Zur Untersuchung kam meist Material, das mit Alkohol, Pikrinsalpetersäure, verschiedenen Sublimatgemischen und einem Gemisch aus 48 Teilen absolutem Alkohol, 48 Teilen Formol und 4 Teilen Eisessig fixiert war. Letzteres wurde sowohl kalt als auch lauwarm angewandt und fixierte durchweg vorzüglich. Es hat außerdem die angenehme Eigenschaft, das Chitin etwas quellen zu lassen und zu erweichen, so daß nach Einbettung in Celloïdin-Paraffin fast immer bei einer Schnittdicke von 5 bis 10 μ vollständige Serien zu erhalten sind. Bei anderen Fixationsmethoden wird dies jedoch bei erwachsenen Tieren durch die dicke Cuticula unmöglich gemacht und erfordert besondere Behandlung. Die von Hesse empfohlene Methode, vor oder nach dem Einbetten in Paraffin die Cuticula abzusprengen, ist für die Frontalaugen gut anwendbar, nicht aber für die Seitenaugen. Versuche, die Verf. sowohl an Spinnen als auch an Skorpionen anstellte, um das Chitin geschmeidiger und zum Schneiden geeigneter zu machen, schlugen entweder ganz fehl oder hatten den Nachteil, auch auf das Gewebe lösend und mazerierend einzuwirken. Bei der Einbettung empfahl es sich, als Zwischenmedium statt Chloroform Tetrachlorkohlenstoff zu benutzen. Zur Entpigmentierung der Augenschnitte wurde durchweg Salpetersäure in verschiedener Konzentration benutzt. Gewöhnlich ist das Pigment selbst gegen stärkere Säure sehr resistent, und es bedarf bis zu seiner völligen Entfernung öfters einer langen Einwirkung. — Gefärbt wurden die Schnitte entweder mit Hämatoxylin nach Böhmer (Hansen) oder mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Als Plasmafarben dienten Pikrofuchsin, Pikrinsäure-Wasserblau, Pikrinsäure-Eosin und Orange G. — Mazerationspräparate wurden nur selten für ganz spezielle Fälle benutzt. Da, wo sie erforderlich waren, wurde

mit Erfolg die Grenacher'sche Mazerationsflüssigkeit [?] angewandt und mit Pikrinsäure-Wasserblau oder Thionin gefärbt.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Tschassownikow, S., Über Becher- und Flimmerepithelzellen und ihre Beziehungen zueinander. Zur Morphologie und Physiologie der Zentralkörperchen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 150—174 m. 2 Tfln.).

Untersucht wurde das Schleimhautepithel der Speiseröhre, des Magens und des Darmes vom Frosch, Triton, Salamander und hauptsächlich vom Axolotl. Speiseröhre und Magen wurden in toto, der Darm in Stücken während 24 Stunden in einem Gemisch von 30 Teilen konzentrierter Sublimatlösung in physiologischer Kochsalzlösung, 10 Teilen 2prozentiger wässeriger Osmiumsäurelösung und einem Teil Eisessig fixiert, darauf sorgfältig in fließendem Wasser ausgewaschen und nach entsprechender Zerkleinerung der Objekte in gewöhnlicher Weise nach der üblichen Alkoholbehandlung in Paraffin eingebettet. Die Schnittserien wurden dann nach einer vorläufigen Behandlung mit schwacher wässeriger Kalihypermanganatlösung und Bleichung mittels stark verdünnter Palscher Flüssigkeit in gewöhnlicher Weise mit Eisenhämatoxylin gefärbt und darauf sehr kurze Zeit mit einer alkoholischen Lösung von Säurefuchsin (zu 40 cc 90prozentigen Alkohols 8 bis 10 Tropfen einer gesättigten wässerigen Lösung des Farbstoffes) behandelt. Durch dieses Verfahren wurden sehr instruktive Bilder erzielt. Zur Kontrolle wurden Organstücke auch in Sublimat mit Essigsäure und in Zenker'scher Flüssigkeit fixiert, und die von ihnen angefertigten Schnitte zuerst mit Eisenhämatoxylin und darauf mit Mucikarminsäure nach Rawitz gefärbt. Solche Präparate gaben die Bestätigung, daß in denen nach der ersten Methode hergestellten das Säurefuchsin bei richtiger Handhabung in Becher- und Flimmerzellen nur den Schleim tingiert. *E. Schoebel (Neapel).*

Saguchi, S., Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Ebertn'sche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anuren nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 177—246 m. 5 Figg. u. 5 Tfln.).

Als Untersuchungsmaterial dienten hauptsächlich Larven von Rhacophorus, die sich besser als die von Rana zu den in Frage

stehenden Studien eigneten. Als Fixierungsmittel kam in erster Linie das von Meves modifizierte Flemmingsche Gemisch, bestehend aus 15 cc $^1/_2$prozentiger Chromsäure mit ein Prozent Kochsalzzusatz, 3 bis 4 cc 2prozentiger Osmiumsäure, und 3 bis 4 Tropfen Eisessig zur Verwendung, außerdem noch Sublimat-Eisessig und Formol. Die mit Mevesschem Gemisch und Sublimat fixierten Schnitte wurden vor allem mit Eisenhämatoxylin zum Teil kombiniert mit Eosin, Säurefuchsin u. a. gefärbt, ein Teil der Schnitte aber auch mit Alaunhämatoxylin und Eosin und besonders nach der Kromayerschen Methode (vgl. diese Zeitschr. Bd. 9, 1892, p. 84). *E. Schoebel (Neapel).*

Achúcarro, N., y Calandre, L., El método del tanino y la amoniacal plata aplicado al estudio del tejido muscular cardíaco del hombre y del carnero (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **11**, 1913, fasc. 2, p. 131—143 c. 5 figg.).

Untersucht wurde ein Papillarmuskel des linken Ventrikels; das Material muß möglichst frisch sein. Man muß möglichst genaue Längsschnitte herzustellen versuchen. Die Imprägnationsmethode war die folgende: 1) Fixierung eines Muskelstückes in 12prozentiger Formollösung wenigstens 2 Tage lang. 2) Schnitte von 10 μ Dicke auf dem Gefriermikrotome nach Auswaschen des Blockes in fließendem Wasser. 3) Nach dem Auswaschen kommen die Schnitte in destilliertes Wasser, dann werden sie in zwei Portionen zerteilt, je eine von diesen kommt in ein Gefäß mit einer kaltgesättigten Tanninlösung. Eins von diesen Gefäßen wird eine halbe Stunde lang auf 55^0 erwärmt, das andere verbleibt 24 Stunden bei Zimmertemperatur. 4) Die Schnitte (die erwärmten werden erst abgekühlt) werden dann einer nach dem anderen in folgender Weise behandelt: Rasches Abwaschen in destilliertem Wasser, Übertragen in ein Gefäß mit 20 cc destillierten Wassers mit Zusatz von 10 Tropfen der unverdünnten ammoniakalischen Silberlösung nach Bielschowsky. Die Schnitte nehmen einen gelblichen, später braunen Ton an und werden dann nach raschem Abwaschen in destilliertem Wasser übertragen 5) in eine 20prozentige Formollösung, in der sie dunkler werden. Sie verbleiben darin etwa 15 Minuten, werden dann gut abgewaschen und durch Xylol in Balsam überführt. Die Längsschnitte des Herzmuskels (bei Mensch wie Schaf), die in der Wärme gefärbt worden sind, zeigen eine große Kompliziertheit des Bindegewebsbaues. Bei diesen warm behandelten Präparaten tritt auch der Z-Streifen meist weit besser hervor als bei den kalt behandelten. Verf. hat, um die Muskelstruktur selbst genauer mit dieser Methode zu untersuchen, auch Muskeln von Hydrophilus verwendet und sie ebenfalls mit Wärme behandelt. Dann wurden sie auf dem Objektträger zerzupft und in Balsam oder Glyzerin aufgehoben. Es war nicht schwierig, den An-

satz des Z-Streifens an das Sarkolemm zu sehen und ebenso auch den des M-Streifens. In den kalt imprägnierten Präparaten des Herzens treten die dunklen Querstreifen besonders gut hervor und auch helle Querzüge, welche den Schaltstücken entsprechen.

Schiefferdecker (Bonn).

Ahrens, H., Die Entwicklung der menschlichen Zähne (Anat. Hefte, H. 145 [Bd. **48**, H. 2], 1913, p. 169—266 m. 25 Figg. im Text u. 4 Tfln.).

Das Material wurde durchweg in Formol fixiert, Entkalkung in salzsaurem Alkohol. Meist Stückfärbung mit Boraxkarmin, in einigen Fällen Nachfärbung mit Hämalaun resp. Eosin oder Erythrosin. Einbettung fast ausnahmslos in Celloïdin, nur sehr kleine Objekte in Paraffin, lückenlose Serien. Bei sehr jungen Embryonen wurde der ganze Kopf, bei mittleren Ober- und Unterkiefer einer Seite zugleich, bei älteren Stadien Oberkiefer bzw. Unterkiefer allein geschnitten. Von jedem Stadium wurden Frontal-, Horizontal- und Sagittalschnitte zur genauen Kontrolle angefertigt. Die Schnittdicke war im allgemeinen 20 μ, bei jüngeren Stadien 10 μ, sie stieg bei den größeren Objekten, z. B. Sagittalschnitten durch den Unterkiefer eines neunjährigen Kindes bis auf 40 μ. — In bezug auf das Schneiden von Celloïdinblöcken gibt Verf. die folgenden Neuerung an: Er versieht vor Beginn des Schneidens eine Anzahl von Objektträgern mit einer dünnen aber vollkommen gleichmäßigen Schicht von Phenol-Gelatine und läßt sie an der Luft gut trocknen. Man braucht diese Schicht nicht jedesmal kurz vor Beginn des Schneidens frisch herzustellen, sondern kann gut bestrichene und gut getrocknete Objektträger, sogar übereinandergeschichtet, wochenlang aufbewahren, ohne daß die Klebfähigkeit leidet. Verf. schneidet mit schräg gestelltem Messer unter reichlichem Alkohol und klebt den Schnitt sofort auf den ebenfalls gut mit 50prozentigem Alkohl befeuchteten Objektträger mit Pinzette und Pinsel auf. Ist der Objektträger voll, so trocknet er die Schnitte mit Fließpapier gut ab und preßt sie dann mit einem Bogen Schreibpapier, der mit reinem Formol gesättigt ist, einige Augenblicke mit dem Daumenballen fest auf den Objektträger auf; dann führt er sie sofort durch die aufsteigende Alkoholreihe in Toluol über. Dies Verfahren hat vor den sonstigen den Vorzug der größeren Schnelligkeit, auch lassen sich die Schnitte bedeutend leichter und faltenloser aufkleben, als wenn sie erst vorher in einem Glase aufeinandergeschichtet aufgehoben werden. Die Methode ergibt tadellose Serien. — Verf. hat auch die „Versteinerungsmethode“ angewandt, hat sie aber bald aufgegeben, da bei seiner Arbeit nur lückenlose Serien Beweiskraft besaßen, der einzelne Schliff kam da gar nicht in Betracht. — Von Rekonstruktionen wurde weitestgehender Gebrauch gemacht. Von allen in Betracht kommenden Stadien wurde eine

Kieferhälfte in Wachs nach Born rekonstruiert. In einigen Fällen, namentlich wo es sich um das Innere der Schmelzorgane handelte, und wo es auf die Durchsichtigkeit des Materials ankam, wurde mit großem Vorteile die Zeichenmethode von His auf Glas angewendet. Der Versuch, zu diesem Zwecke das bedeutend bequemere Celloïdin bzw. Cellit zu benutzen, wurde wieder aufgegeben, da Schnitte aus diesem Materiale, in größerer Anzahl übereinandergeschichtet, nicht mehr die genügende Durchsichtigkeit besitzen.

Schiefferdecker (Bonn).

Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 6. Über Blutmastzellen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 247—289 m. 2 Tfln.).

Die Untersuchung erstreckte sich auf das normale zirkulierende Blut und das Knochenmark. Von beiden wurden in der üblichen Weise trockene und feuchte fixierte Ausstrichpräparate auf Deckgläschen gemacht. Da die Mastzellengranula in Wasser löslich sind, muß bei der Fixierung und Färbung darauf Rücksicht genommen werden. Ein Teil der Deckglaspräparate wurde nach der gewöhnlichen Methode getrocknet und weiterbehandelt, wobei aber nie einwandfreie Resultate zu erzielen waren. Die meisten wurden sofort nach der Ausbreitung der Blut- oder Markschicht, also noch feucht, in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Als solche kam vor allem absoluter Alkohol zur Verwendung. Bei dieser Methode taucht man die Deckgläschen mit der Präparatseite nach oben in die Flüssigkeit ein und läßt sie am Boden des Schälchens liegen. Sie können darin bis zur Färbung, ohne Schaden zu nehmen, mehrere Tage bleiben. Außerdem wurde aber auch stets eine Anzahl Deckglaspräparate mit Zenker-Formol fixiert. In diesem Fall läßt man sie mit der Präparatseite nach unten auf der Fixierungsflüssigkeit 10 bis 15 Minuten schwimmen, dann 24 Stunden auf mehrfach gewechseltem destilliertem Wasser. Hierauf kommen die Deckgläschen in 50prozentigen Alkohol, der mit Jodtinktur etwas gelbgefärbt ist, und werden schließlich bis zur Färbung in reinem 75prozentigem Alkohol aufbewahrt. — Zur Färbung der Alkoholpräparate diente in erster Linie konzentrierte Thioninlösung in 75prozentigem Alkohol. Da die einfache alkoholische Thioninlösung die Kerne relativ schwach färbt, wurde sie stets schwach alkalisch gemacht: 2 Tropfen einer 2prozentigen Lösung von kohlensaurem Natron auf 10 cc Farblösung genügen. Nach dem Alkalisieren muß die Farbe 24 Stunden stehen und absetzen, sie ist dann gebrauchsfertig und hält sich etwa 2 bis 3 Wochen. Vor jedem Gebrauch muß aber stets filtriert werden. In der Farblösung wurden die Präparate 10 bis 20 Minuten gelassen, dann mit absolutem Alkohol differenziert und durch Xylol in Xylolbalsam eingeschlossen. Eine sehr deutliche Färbung der Mastzellengranula ist nach Alkoholfixierung

auch mittels der MAY-GRÜNWALDschen Lösung zu erzielen. Um aber hierbei die Granula nicht zu gefährden, darf die Lösung nicht mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt werden, sondern es ist auf 2 Teile der Stammlösung nur ein Teil Wasser zu nehmen. Darin bleiben die Präparate eine halbe Stunde, werden dann mit Alkohol differenziert und in Balsam eingeschlossen. Die mit ZENKER-Formol fixierten Ausstriche wurden mit Eosin-Azur nach NOCHT oder mit GIEMSA-Lösung tingiert. Die Trockenpräparate wurden den verschiedensten gebräuchlichen Färbungen unterworfen.

E. Schoebel (Neapel).

Björkenheim, E. A., Golgis Apparato reticolare interno in den Plazentarepithelien (Arch. f. Gynäkol. Bd. **100**, 1913, H. 2, p. 446—453 m. 1 Tfl.).

Da der Apparato reticolare interno von GOLGI in allen Organen des Körpers nachgewiesen werden kann, erschien es merkwürdig, daß er im Syncytium nicht vorkommt. Nach dieser Richtung hat Verf. Untersuchungen angestellt. Als Material dienten drei menschliche Plazenten nach ausgetragener Schwangerschaft und eine menschliche Plazenta aus dem vierten Schwangerschaftsmonate. Stücke von 4 bis 5 mm Dicke wurden aus den frischen (innerhalb der ersten Stunde nach der Geburt) Plazenten herausgeschnitten und sowohl nach der Arsensäure-Methode von GOLGI wie nach der Urannitrat-Methode von CAJAL behandelt. Diese Methoden wurden in folgender Weise benutzt: I. Methode von GOLGI: 1) Einlegen der Stücke in die folgende Mischung:

Käufliche arsenige Säure, gesättigte Lösung.	
Formol	20 Prozent
Alkohol, 96prozentig	20 „

Hierin verbleiben die Stücke eine bis 24 Stunden lang. 2) Einlegen der Stücke für 24 bis 48 Stunden in eine einprozentige Lösung von Silbernitrat. 3) Rasches Abspülen in destilliertem Wasser, hierauf Übertragen in die folgende Mischung für 24 Stunden:

Hydrochinon	2·0 g
Formol	5·0 cc
Natriumsulfit, wasserfrei	0·5 g
Destilliertes Wasser	100·0 cc

Es ist vorteilhaft, die Lösung unmittelbar vor dem Gebrauche zu bereiten. 4) Auswaschen mit Wasser, rasche Übertragung durch die Alkoholreihe in Chloroform. 5) Schnelle Einbettung in Paraffin. II. CAJALS Methode: 1) Fixierung der Stücke in folgender Mischung (2 bis 20 Stunden):

Urannitrat	1·0 g
Formol	15·0 cc
Destilliertes Wasser	100·0 „

2) Rasches Abspülen in destilliertem Wasser, dann Einlegen der Stücke für 36 bis 48 Stunden in eine einprozentige Lösung von Silbernitrat. 3) Abspülen in destilliertem Wasser während einiger Sekunden und Reduktion in der folgenden Mischung:

Hydrochinon	2·00 g
Formol	6·00 cc
Natriumsulfit	0·25 g
Destilliertes Wasser	100·00 cc

Hierin verbleiben die Stücke 24 Stunden. 4) Auswaschen mit Wasser, Übertragen durch die Alkoholreihe und durch Chloroform in Paraffin. Die Schnitte, die eine Dicke von 10 μ nicht überschreiten dürfen, werden auf den Objektträger aufgeklebt, von Paraffin befreit, durch Alkohol in Wasser übergeführt. Dann: a. Tonung der Schnitte mit einer Flüssigkeit, welche die beiden folgenden Mischungen vereinigt:

Lösung A:

Natriumhyposulfit	30 Teile
Cyanschwefelammonium	30 „
Destilliertes Wasser	1000 „

Lösung B:

Goldchlorid	1 Teil
Destilliertes Wasser	100 Teile

Die beiden Lösungen werden zu gleichen Teilen gemischt. b. Sorgfältiges Abspülen in Wasser, hierauf Bleichung der Schnitte mit der von Veratti angegebenen Methode: Einlegen der Schnitte für 5 bis 10 Minuten in die folgende Mischung:

Übermangansaures Kalium	0·50 g
Schwefelsäure	1·00 cc
Destilliertes Wasser	1000·00 „

c. Schnelles Eintauchen in eine einprozentige Lösung von Oxalsäure. d. Mehrfaches Auswaschen in destilliertem Wasser. e. Färbung mit Alaunkarmin 30 Minuten. f. Alkohol, Xylol, Balsam. — Vor dem Einlegen in die Silbernitratlösung wurden die Stücke aus der ersten Lösung in Zeitabständen von einer Stunde bis zu 24 Stunden herausgenommen. Verf. beobachtete, wie die Reaktion nach etwa 2stündiger Einwirkung sich zu zeigen begann und bis zur dritten Stunde an Stärke allmählich zunahm; zu dieser Zeit war die Durchtränkung am deutlichsten. Die vor oder nach dieser Zeit herausgenommenen Stücke zeigten entweder keine Durchtränkung oder sie lieferten nur grobe, verschwommene Bilder. Die Reaktion zeigte sich sowohl bei gewöhnlicher Temperatur wie auch bei 30° im Thermostaten.

Schiefferdecker (*Bonn*).

Annap, E., Über die Chondriosomen der Gonocyten bei Knochenfischen (Anat. Anzeiger Bd. **44**, 1913, No. 19, p. 449—459 m. 5 Figg.).

Untersucht wurde Coregonus maraena. Die Embryonen wurden fixiert in verschiedenen Flüssigkeiten, so in denen von Helly, Regaud, Meves, Champy. Eine erfolgreiche Nachfärbung der Präparate erfordert eine unmittelbare Berührung der Objekte mit der fixierenden Flüssigkeit, daher ist die Vorbehandlung der Eier mit der Flüssigkeit von Virchow (Chromsäure 2 Teile, destilliertes Wasser 900 Teile. Eisessig 100 Teile) zur Beseitigung der Eihülle nicht zulässig, weil sie die spätere Färbung der Präparate unmöglich macht. Die Eier wurden vor der Fixierung von der Hülle befreit, was bei jüngeren Stadien sehr schwierig ist. Dann wurde auch der Dotter entfernt, wenn die Objekte in Paraffin eingebettet werden sollten, für Celloïdin ist das nicht nötig. Nach Helly wurden die Objekte fixiert, um sie später mit Eosinazur zu färben und ein allgemeines Übersichtspräparat zu erhalten. Die Fixierung und Färbung der Chondriosomen war sehr schwierig, so daß ein sehr großer Prozentsatz der Präparate mißlang. Das Gemisch von Meves und das von Regaud gaben keine guten Resultate. Die besten Erfolge ergab die Fixierungsmethode von Champy: Kaliumbichromat 3prozentige Lösung 7 cc; Chromsäure einprozentige Lösung 7 cc; Osmiumsäure 2prozentige Lösung 4 cc. Die Objekte blieben 24 Stunden in dieser Flüssigkeit, wurden dann mit Wasser abgespült, und dann für 24 Stunden in eine Mischung von Chromsäure einprozentige Lösung und Acid. acet. pyrolign. rect. zu gleichen Teilen gebracht. Nach halbstündigem Ausspülen in Wasser kamen die Präparate für 24 Stunden in eine 3prozentige Lösung von Kaliumbichromat, dann 24stündiges Auswaschen in fließendem Wasser. Einbettung durch Xylol in Paraffin oder Paraffin-Celloïdin. Färbung der Schnitte nach Benda, Heidenhain, Altmann. Sehr nützlich ist für die Färbung die vorhergehende Behandlung der Schnitte mit der Mischung von Kalium hypermanganicum, Acidum oxalicum und Kalium sulfurosum nach Rubaschkin, oder noch besser nach Cowdry: Eine Minute in einer einprozentigen Lösung von Kalium hypermanganicum; eine Minute in einer 5prozentigen Lösung von Acidum oxalicum, dann Auswaschen in fließendem Wasser während 15 Minuten. *Schiefferdecker (Bonn).*

O'Donoghue, Ch. H., Über die Corpora lutea bei einigen Beuteltieren (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 84, Abt. 2, 1914, p. 1—47 m. 1 Fig. u. 4 Tfln.).

Die meisten Ovarien waren in Pikro-Sublimat-Eisessig-Alkohol fixiert, einige wenige in Flemmingschem und Zenkerschem Gemisch. Das ganze Ovarium oder bei größeren Tieren der mittlere Teil des Corpus luteum und das benachbarte Gewebe wurden in Paraffin eingebettet, wobei hauptsächlich darauf geachtet wurde, daß der Übergang vom Alkohol zum Xylol und von diesem zum Paraffin nicht zu plötzlich geschah. Die Färbung der Schnitte erfolgte mit Ehrlichs Hämatoxylin und Eosin. *E. Schoebel (Neapel).*

Levi, G., Note citologiche sulle cellule somatiche dell'ovario dei mammiferi (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, p. 515—556 m. 2 Tfln.).

Die beste Fixierung war mit dem etwas modifizierten Gemisch von Maximow zu erzielen. Es wurden nämlich unmittelbar vor dem Gebrauch zu 10 cc der 2·5 Prozent Kaliumbichromat und 5 Prozent Sublimat enthaltenden wässerigen Lösung 2 cc Formol und 2 cc einer 2prozentigen Osmiumsäurelösung zugesetzt und hierin die Stücke 2 bis 3 Tage gelassen. Diese wurden dann nach einstündigem Auswaschen in fließendem Wasser in üblicher Weise weiterbehandelt. Die Färbung der Schnitte erfolgte nach Bleichung derselben mittels der Methode von Rubaschkin mit Eisenhämalaun, womit bessere Resultate als mit den von Regaud und Benda empfohlenen Methoden gewonnen wurden. *E. Schoebel (Neapel).*

Oppermann, K., Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 2, 1913, p. 141—189 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Zur Bestrahlung des Samens standen zwei Radium- und ein Mesothoriumpräparat zur Verfügung. Zu jeder Bestrahlung wurde frischabgestrichener Samen verwendet; zwei bis drei kleine Tröpfchen davon wurden auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gebracht, darüber auf einem 4 mm hohen Glasringe das radioaktive Präparat. Stets wurden Kontrollbefruchtungen mit normalem Samen ausgeführt. Die künstliche Befruchtung muß mit größter Sorgfalt ausgeführt werden. Die Dauer der Bewegungsfähigkeit der Forellenspermien beträgt nicht mehr als 30 bis 40 Sekunden. Im unverdünnten Zustande sind sie unbeweglich; nach Zusatz einer passenden Flüssigkeit beginnt tumultartig die Bewegung, um nach jener kurzen Zeit völlig zu erlöschen. Schon bei normalem Samen, der 24 Stunden steht, scheinen die Spermien durch gewöhnliches Leitungswasser nicht mehr allgemein zu so intensiver Bewegung, wie es bei ganz frischen Samenfäden der Fall ist, angeregt werden zu können. Bedeutend günstiger wirkt ein Zusatz der weiblichen Leibeshöhlenflüssigkeit, die beim Abstreichen der Eier mit austritt. Die gleiche günstige Wirkung dieser Flüssigkeit konnte auch für das Ergebnis der Befruchtungen beobachtet werden. Nach der Befruchtung wurden die Eier in Drahtkörbchen in fließendes Wasser gebracht. Die Temperatur des Wassers, bei der sich die Entwicklung vollzog, betrug durchschnittlich 11° C.

Die Fixierung der Keimscheiben, resp. Embryonen geschah nach der von Virchow und Korsch angegebenen Methode. Nach einer Vorfixierung in Chrom-Essigsäure wurden die Keimlinge in physiologischer Kochsalzlösung herauspräpariert, dann in Pikrin-Sublimat-Eisessig fixiert und in üblicher Weise durch Alkohol und Chloroform in Paraffin

eingebettet. Zur leichteren Orientierung beim Einbetten war es zweckmäßig, alle kleineren Objekte mit Eosin vorzufärben. Für eine geringe Anzahl von Präparaten kam auch die Flemmingsche Fixierung zur Anwendung. Gefärbt wurden die Schnitte mit Boraxkarmin, Hämalaun oder Heidenhains Eisenhämatoxylin.

E. Schoebel (Neapel).

Luna, E., Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 583—629 m. 2 Tfln.).

Die Untersuchung wurde an Eiern und Larven von Bufo vulgaris ausgeführt. Die beste Fixierung gab eine dreitägige Behandlung der Objekte mit dem einmal während dieser Zeit zu erneuernden Regaud-schen Gemisch aus 5 Teilen 3prozentiger Kaliumbichromatlösung und einem Teil Formol mit einem Zusatz von ein bis 2 Tropfen Eisessig auf 25 cc Flüssigkeit und nachfolgende zehntägige Chromierung in dreimal zu erneuernder 3prozentiger Kaliumbichromatlösung. Nach gründlicher 24stündiger Wässerung und der üblichen Weiterbehandlung erfolgte Einbettung in Paraffin, Mikrotomieren und Färben der Schnitte mit Eisenhämatoxylin. Zur Entfernung des reichlichen und meist störenden Pigmentes wurden die Objekte in toto nach der der Chromierung folgenden Wässerung während 24 Stunden abwechselnd 4 bis 6 Stunden mit einer 2prozentigen Lösung von Kaliumpermanganat und 15 bis 30 Minuten mit einer $^1/_3$prozentigen Lösung von Oxalsäure behandelt. Diese Methode ergab nicht nur eine vollständige Entpigmentierung, sondern beeinflußte auch die Färbarkeit der Plastosomen in günstiger Weise. *E. Schoebel (Neapel).*

McKibben, Paul S., The eye-muscle nerves in Necturus (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, No. 3, p. 153—163 w. 6 pl.).

Die außerordentlich geringe Größe der Augenmuskelnerven erschwert ihr Studium an frischem oder konserviertem Materiale, man muß sie daher intravital mit Methylenblau färben und sorgfältig unter einem Binokularmikroskope präparieren, dann sind die Nerven leicht darzustellen. Die vom Verf. angewendete Methode entsprach im wesentlichen der von Wilson (Wilson, J. Gordon, Intra-vitam staining with methylene blue. Anat. Rec. vol. **4**, 1910). Die Tiere wurden auf einem Brette festgelegt, die Schwanzwurzel wurde durch eine hölzerne Klammer unbeweglich festgehalten. Der Schwanz wird abgeschnitten und nach Ausbluten wird die Injektionsmasse durch die Schwanzarterie eingespritzt. Eine 0·066- bis 0·075prozentige Methylenblaulösung (Grübler „medicinale purum" oder „rectificatum nach Ehrlich") in Salzlösung erwies sich am brauchbarsten:

Methylenblaulösung, 0·5prozentig, wässerig.	13—15 cc
Kochsalzlösung, 0·75prozentig	87—85 „

Ungefähr 200 cc dieser Farblösung werden meist einem 40 cm langen Tiere eingespritzt, dabei Ausfluß durch die Schwanzvene und durch die an den Enden abgeschnittenen Flossen, welche komprimiert werden, wenn die Gefäße gut gefüllt sind. Druck wird durch die Schwere der Flüssigkeitssäule erzeugt. Zu einer guten Injektion der Kopfgefäße ist ein Druck nötig, der mitunter hinreicht, um die Kapillaren des Unterleibes zu zersprengen. Nach guter Füllung der Gefäße und nach Abschluß des Ausflusses läßt man das Tier 3 bis 5 Minuten ruhig liegen, dann wird der Kopf abgeschnitten, der Unterkiefer entfernt und die zu untersuchende Gegend mit Kochsalzlösung befeuchtet und der Luft ausgesetzt. Nach genügender Einspritzung tritt die Färbung der Augenmuskelnerven fast unmittelbar, nachdem sie der Luft ausgesetzt worden sind, ein, — in den anderen Nerven tritt die Färbung etwas später. Um Dauerpräparate zu erhalten, fixiert man mit einer kalten Lösung von Ammoniummolybdat (8prozentige wässerige Lösung). Fixierung in einem Eisschranke 18 bis 48 Stunden. Einiges so fixiertes Material wurde zum Zwecke der Präparation mit Nutzen 4 oder 5 Tage in einer 4prozentigen neutralen Formaldehydlösung gehalten (9 Teile Wasser, ein Teil käufliches 40prozentiges Formol), ohne daß die Nerven vollständig entfärbt wurden. Das Molybdat wird dann in kaltem fließendem Leitungswasser ausgewaschen oder durch öfteren Wechsel von kaltem Wasser in dem Eisschranke, worauf das Präparat im Eisschranke durch mehrfach gewechselten 96prozentigen Alkohol in absoluten Alkohol übergeführt wird. Dann Aufhellung in Xylol, Aufheben des Gewebes in Balsam oder Einbettung in Paraffin. Werden die Präparate im Dunkeln aufbewahrt, so halten sie sich mehrere Jahre lang. Wegen weiterer Details wird auf die Methode von Wilson verwiesen. Die Präparation wird nach der Fixierung in kalter Lösung von Ammoniummolybdat fortgesetzt, eventuell bei weiterer Untersuchung in der neutralen Formaldehydlösung. — Die Zeichnungen, welche Verf. auf zwei Tafeln von den ganzen Gehirnen gegeben hat, wurden ausgeführt nach Präparaten, die in Formol-Zenker fixiert waren, wobei das neutrale 40prozentige Formol statt der Essigsäure der Zenkerschen Lösung zugesetzt wird. Messungen ergaben, daß diese Flüssigkeit in dem Gehirne weniger Veränderungen in bezug auf die Größe, Gestalt und die Beziehungen der Teile zueinander erzeugt als andere Lösungen, die meistens zur Fixierung von ganzen Gehirnen benutzt werden.

Schiefferdecker (Bonn).

Hayaski, A., Über das Verhalten der Gitterfasern in der Rachitismilz (Jahrb. f. Kinderheilkde. Bd. 78, 1913, H. 2, p. 196—211 m. 2 Figg. im Text).

Fixierung in 10prozentiger Formollösung 24 Stunden lang, Gefrierschnitte, Färbung teils mit der für elastische Fasern üblichen Methode nach

Weigert, teils nach der Methode von Maresch zur Darstellung der Gitterfasern. Weiter wurden in Zenkerscher Flüssigkeit fixierte Stückchen in Celloïdin eingebettet und die Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin und nach van Gieson gefärbt. Es ergab sich, daß in der rachitischen Milz die Gitterfasern regelmäßig bedeutend vermehrt waren, und zwar geht diese Vermehrung mit der des Bindegewebes überhaupt nicht parallel, während in der nichtrachitischen Milz sich keine solche Vermehrung zeigt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Vance, B. Morgan, A new staining method for bile canaliculae (Anat. Anzeiger Bd. **44**, 1913, No. 17, p. 412—413).

Die bisher gewöhnlich angewendete Methode, um die Gallenkanälchen in Leberschnitten deutlich zu machen, ist die von Eppinger (Zieglers Beiträge Bd. **31**) angegebene. Diese Methode färbt die Kanälchen, ist aber kompliziert und braucht lange Zeit. Verf. gibt eine neue Methode an, welche die Kanälchen sicher deutlich hervortreten läßt und dabei weit einfacher und kürzer ist. Methode: Fixierung in einer von den folgenden Mischungen: a) gleiche Teile von Zenkerscher Flüssigkeit ohne Essigsäure und von einer 10prozentigen Formollösung; b) gleiche Teile einer 10prozentigen Formollösung und einer 5prozentigen Sublimatlösung. Dann Härtung, Einbettung in Celloïdin, Schneiden. Die Schnitte kommen in eine verdünnte Lösung von Jod in 96prozentigem Alkohol für 5 bis 15 Minuten. Auswaschen in mehrfach gewechseltem 95prozentigem Alkohol, um das Jod zu entfernen. Färbung in dem phosphorwolframsauren Hämatoxylin (Mallory, Journ. Exper. Med., No. 5. 1900) für 12 bis 24 Stunden. Direktes Übertragen in 95prozentigen Alkohol und Auswaschen darin. Aufhellen in Karbolxylol oder Origanumöl. Balsam. In Formol fixiertes Gewebe kann benutzt werden, wenn die Celloïdinschnitte in eine gesättigte Sublimatlösung für 15 bis 30 Minuten eingelegt werden, dann Übertragung derselben in die alkoholische Jodlösung, weiteres Verfahren wie oben. Paraffinschnitte färben sich bei dieser Methode nicht so gut wie Celloïdinschnitte. Gewebe, das in Orthscher oder Müllerscher Flüssigkeit fixiert worden ist, ist nicht brauchbar. Bei dieser Methode treten die Gallenkapillaren als feine, dunkelblaue oder schwarze Doppellinien hervor, die sich scharf abgrenzen gegen die heller blau gefärbten Leberzellen. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist der, daß die Bindegewebsfibrillen tiefrot gefärbt werden und die Zell- und Kernstrukturen scharf hervortreten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Kuntz, A., On the innervation of the digestive tube (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, no. 3, p. 173—192 w. 5 figg.).

Die Beobachtungen beruhen im wesentlichen auf Präparaten aus Magen und Dünndarm von Katze und Hund. Gute Präparate zum Studium des myenterischen und des submukösen Plexus sind nicht leicht zu erhalten. Die Silbermethoden von Cajal und Bielschowsky, welche mehr oder weniger erfolgreich zum Studium anderer Teile des sympathischen Nervensystems verwendet wurden, ergaben durchaus keine Resultate für den vorliegenden Zweck. Eine intravitale Färbung mit Methylenblau ergab nach zahlreichen erfolglosen Versuchen Präparate des Magens und des Dünndarms der Katze in denen einige Neurone des myenterischen Plexus und viele Faserzüge der beiden Plexus gut gefärbt waren und gut untersucht werden konnten. Methylenblaupräparate, in denen die Zellkörper der Neurone des submukösen Plexus gut gefärbt waren, wurden nicht erhalten. Die Pyridin-Silbermethode von Ranson (Amer. Journ. Anat. vol. **12**, p. 69) erwies sich als sehr brauchbar zum Studium der Neurone in beiden Plexus. In Schnitten aus dem Dünndarme des Hundes nach dieser Methode sind die sympathischen Neurone und Fasern gut gefärbt und können genügend untersucht werden. In diesen Präparaten ist es indessen nur selten möglich, sympathische Fasern bis zu ihren Endigungen an Drüsen- oder Epithelzellen zu verfolgen. Aber auch diese Methode ergibt bei ihrer Verwendung an den sympathischen Plexus in der Darmwand nicht so gleichförmig gute Resultate, wie an anderen Teilen des sympathischen Nervensystemes oder an dem cerebrospinalen Nervensysteme. *Schiefferdecker (Bonn).*

Weill, P., Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 305—360 m. 2 Tfln.).

Zur Untersuchung kam die Thymus der Ratte und des Menschen. Fixiert wurde in einem Gemisch von Zenkerscher Flüssigkeit und Formol, eingebettet in Paraffin. Von Färbungen wurden angewandt: Hämalaun-Eosin, Triacid nach Ehrlich (Färbungsdauer in der unverdünnten Lösung 15 Minuten, Entwässerung in Aceton), Giemsa-Färbung (2 Tropfen Farbe auf 1 cc destilliertes Wasser, Färbungsdauer 20 Minuten, Entwässern in Aceton), Methylgrün-Pyronin-Färbung (Pyronin 35 Teile, Methylgrün 15 Teile, Färbungsdauer 3 Minuten, Entwässern in Aceton). *E. Schoebel (Neapel).*

Göthlin, G. F., Die doppelbrechenden Eigenschaften des Nervengewebes, ihre Ursachen und ihre biologischen Konsequenzen (Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar Bd. **51**, 1913, H. 1). Berlin (B. Friedländer & Sohn). 5 M.

Nachdem Verf. aus weißer Hirnsubstanz vom Rind die Phosphatide Kephalin, Lecithin und Sphingomyelin dargestellt, zeigt er an Material von diesen Substanzen, daß die Phosphatide des Nervensystems gegenüber Dehnung und Druck ein optisches Verhalten aufweisen, das gewissermaßen entgegengesetzt ist demjenigen der Gelatine und überhaupt der Proteïde. Denn während bei Dehnung von gequollenen Proteïden die Zugrichtung — wenn man an der Ausdrucksweise Fresnels festhält — zugleich zur Richtung kleinster Ätherelastizität in der deformierten Masse wird, so wird umgekehrt, wenn Phosphatide einer Dehnung ausgesetzt werden, die Zugrichtung zur Richtung größter Ätherelastizität. Die Doppelbrechung, die im ersten Falle entsteht, nennt Verf. proteotrop, diejenige, die im zweiten Falle auftritt, myelotrop (weil das Myelin, d. h. der Inhalt der Markscheide, diesem Typus angehört).

Unter Benutzung eines Polarisationsmikroskops mit eingeschobenem Gipsplättchen entsprechend Rot I. Ordnung bestimmt Verf. an einem großen, aus allen Stämmen des Tierreichs ausgewählten Material von Nerven die Art der Doppelbrechung, und zwar sowohl bei Nervenstämmen im ganzen als auch, soweit sich dies ausführen läßt, bei einzelnen Nervenfasern und Strukturelementen der Nervenfasern. Aus diesen Untersuchungen ergibt sich folgendes.

Im natürlichen Zustande zeigen alle weißen Nerven myelotrope Doppelbrechung. Ebenso verhalten sich die Riechnerven der Vertebraten bis herab zu den Selachiern, nur ist ihre Doppelbrechung überhaupt schwach. Die Nerven dieser Gruppe werden als manifest myelotrop bezeichnet.

Im Gegensatz hierzu sind die meisten grauen Nerven im natürlichen Zustande proteotrop doppelbrechend. Einige, darunter die eigentlichen sog. Remakschen Fasern, behalten auch nach Überführung (Entwässerung) in Glyzerin diese Art der Doppelbrechung unverändert bei und werden deshalb stabil proteotrop genannt. Die große Mehrzahl der grauen Nerven zeigen jedoch bei Überführung in wasserfreies Glyzerin einen höchst charakteristischen, außer bei Nerven und Hilfsorganen des Nervensystems nur bei den Ruderplättchen der Ctenophoren beobachteten Zeichenwechsel der Doppelbrechung. Letztere geht nämlich unter der Einwirkung des Glyzerins allmählich von proteotroper in myelotrope über. Verf. nennt diese von ihm entdeckte Reaktion, die zur Identifizierung von grauen Nerven sehr geeignet ist, metatrope Reaktion in polarisiertem Licht und die betreffenden Nerven metatrop doppelbrechend. Endlich gibt es bei vielen Tieren in den niedrigsten Vertebratenstämmen atrope Nerven, bei denen eine Doppelbrechung überhaupt weder in natürlichem Zustande, noch nach Glyzerineinbettung nachweisbar ist.

Viel Mühe wird auf die Analyse der optischen Markscheidenstruktur aufgewandt. Es wird zuerst dargetan, daß die Fähigkeit des Markscheideninhalts, schon bei Zimmertemperatur unter Wasser-

einwirkung „Myelinformen“ zu bilden, ganz an die Gegenwart von Glycerophosphatiden gebunden ist, während Cholesterin, Sphingomyelin, Cerebron dieser Eigenschaft entbehren. Ferner werden durch Experimente und Auseinandersetzungen, die sich kaum in gedrängter Form wiedergeben lassen, die Ursachen der charakteristischen Doppelbrechung des Markscheideninhalts festgestellt. Verf. zeigt, daß die Doppelbrechung der Markscheide infolge der Gegenwart von Glycerophosphatiden ihre besondere Qualität annimmt. Die Glycerophosphatide (Kephalin, Lecithin) der Markscheide bilden nämlich mit einer geringen Menge daselbst vorhandenen Wassers, das sie wahrscheinlich als Kristallwasser binden, eine kristallinische Flüssigkeit. Infolge ihrer großen molekularen Richtkraft können ferner diese wasserhaltigen Phosphatide ohne wesentliche Änderung ihres eigenartigen kristallinisch-fließenden Zustandes oder ihrer Doppelbrechung die übrigen Marksubstanzen in Lösung bzw. Mischung aufnehmen. Die dabei entstehende Materie reagiert gleichwie die reinen Glycerophosphatide gegenüber Zug- und Druckkräften optisch anomal, so daß in ihr bei Einwirkung von Druck eine Doppelbrechung von entgegengesetztem Vorzeichen wie beim Glas unter denselben Verhältnissen auftritt. Endlich befindet sich der Markscheideninhalt eben unter dem Einfluß eines Druckes, nämlich eines von der Kohäsionskraft herrührenden Oberflächendruckes.

An Gefrierquerschnitten von Fasern aus dem N. ischiadicus des Kaninchens kann Verf. die Streitfrage ob die Markscheide aus positiv einachsigen radiären (Klebs, v. Ebner) oder negativ einachsigen longitudinalen (Valentin) Elementen besteht, im Sinne der ersteren Angabe entscheiden. Die Stärke der Doppelbrechung der Markscheiden, bestimmt mit dem Kompensatorokular Babinets an Fasern aus dem N. ischiadicus des Frosches, erweist sich bedeutend größer als beim Quarz, nicht aber so groß wie bei dem Kalkspat. Die kristallinische Struktur der Markscheide macht es verständlich, daß sie trotz ihres Wassergehalts galvanisch isolierende Eigenschaften besitzt. Denn eine Quantität Wasser, die als Kristallwasser vorhanden ist, bedingt, nach vielen Beispielen zu urteilen, nicht im entferntesten dieselbe galvanische Leitfähigkeit wie eine gleich große Quantität, die als Lösungswasser vorhanden ist. Insofern Bildungen mit Kristallstruktur durch mechanische Einwirkungen (Druck, Zug, Torsion) Piëzoelektrizität entwickeln können, besteht auch die Wahrscheinlichkeit, daß die mechanische Reizbarkeit der Nerven sowie der taktilen, statischen und akustischen Endorgane auf eine Entwicklung von Piëzoelektrizität unter dem Einfluß der entsprechenden mechanischen Reize beruht.

Die unter den grauen Nerven sehr verbreitete metatrope Reaktion ist ein Schrumpfungseffekt, der infolge Entwässerung ebensowohl in Syrupus sacchari wie in Glyzerin eintritt. Sie wird durch die Gegenwart von Lipoiden bedingt, denn behandelt man im voraus

die Nerven mit lipoidlösenden Reagentien (Alkohol-Äther, Alkohol, Pyridin; auch Aceton), so bleibt sie aus. Durch die transversale Schrumpfung des Nerven in Glyzerin wird eine anomale Druckreaktion der vorher wahrscheinlich in stark gequollenem Zustande vorhandenen Phosphatide hervorgerufen. Zu dem metatropen Effekt trägt jedenfalls auch das Cholesterin, obwohl in ganz anderer Weise, bei. An Zupfpräparaten, besonders von Hummernerven, ist wahrzunehmen, daß die metatrope Reaktion hauptsächlich an eine ganz oberflächliche dünne Schicht der Faser gebunden ist. Diese Schicht ist wohl im wesentlichen mit der Markscheide der weißen Nervenfasern homolog, nur tritt ihre Doppelbrechung und die Art derselben erst mit der Glyzerineinwirkung deutlich hervor. Infolge der Gegenwart einer solchen oberflächlichen Lipoidschicht bei zahlreichen grauen Nerven, die sich von der Markscheide der weißen Nervenfasern in chemischer Hinsicht wenig unterscheidet, allerdings nicht wie diese präformiert regelmäßig doppelbrechend ist, scheint der Ausdruck „marklose Nervenfaser" in dem jetzt üblichen Sinne dieses Ausdruckes zu Mißverständnis Anlaß geben zu können. Vorzuziehen wäre der ältere Ausdruck blaßrandige Nervenfaser als Gegensatz zu dunkelrandigen Nervenfasern, denn die Dunkelrandigkeit ist eben eine Konsequenz der präformierten regelmäßigen Doppelbrechung der voll entwickelten Markscheide.

Die Untersuchungen des Verf. über Doppelbrechung im Achsenzylinder bestätigen nicht die Angabe Apáthys, daß die Fibrillen isotrop sind. Im Gegenteil erweist sich der Fibrillenapparat, untersucht sowohl an Fasern mit Markhülle aus dem N. ischiadicus des Frosches als auch an Fasern aus dem großen Scherennerven beim Hummer, schwach proteotrop doppelbrechend. Er besteht demnach aus einem Gerüst von Proteïdnatur. Die Existenz einer in natürlichem Zustande nachweisbaren, an Myelin erinnernden Doppelbrechung bei der Interfibrillarsubstanz, wie Apáthy für alle scheidenlosen Nerven behauptet, hat sich bei den Untersuchungen des Verf. eigentlich nur für Cyclostomennerven (Petromyzon) als wahrscheinlich herausgestellt.

Die Neurochorde, deren allgemeines Vorkommen im Bauchstrang der Schizopoden Verf. nebenbei entdeckt, besitzen bei diesen Tieren eine Scheide, die in bezug auf Doppelbrechung sich ganz wie eine Markscheide verhält. Die Neurochorde der Schizopoden sind zweifellos als riesige Nervenfasern zu betrachten. Ihre Struktur und Anordnung machen es wahrscheinlich, daß sie als sehr rasch leitende Bahnen für die motorischen Impulse dienen, welche die „schießenden" Fluchtbewegungen dieser Tiere auslösen.

Außer bei Palaemon, in dessen Nervensystem G. Retzius schon 1888 Nervenfasern mit Markscheide entdeckte, findet Verf. solche bei sämtlichen untersuchten Garnelengattungen (Crangon, Pandalus, Hippolyte, Athanas). Im Bauchstrang des Copepoden Euchaeta nor-

vegica findet er gleichfalls Nervenfasern mit Markscheide, und solche würden wahrscheinlich bei vielen anderen Copepodengattungen nachzuweisen sein, wenn nicht wegen der Kleinheit der Tiere die Anfertigung von Zupfpräparaten des Bauchstrangs mit fast unüberwindlichen Schwierigkeiten verknüpft wäre.

Zusammengestellt mit Beobachtungen über die Beweglichkeit der betreffenden Tiere bestätigen die Strukturverhältnisse der Nervenfasern bei den Crustaceen den früher (Pflügers Arch. Bd. **133**, p. 143—144) vom Verf. theoretisch hergeleiteten Satz, daß eine Differenzierung von Markscheiden zustande kommt, um die Fortleitung besonders schneller Impulse durch die Nervenfasern zu ermöglichen. Auch bringt die Untersuchung Gründe dafür, daß sowohl bei weißen wie grauen Nerven mit einzelnen Ausnahmen (z. B. Cyclostomen) der Gehalt an Lipoiden, wie er sich an Glyzerinpräparaten bei Untersuchung im Polarisationsmikroskop über dem Gipsplättchen durch die Höhe der Interferenzfarbe schätzen läßt, im großen und ganzen in direktem Verhältnis zur Flinkheit der Bewegungen des Tieres steht. *Göthlin (Upsala).*

Achúcarro, N., Ganglioneurom des Zentralnervensystems. [Histologische Beschreibung eines Falles mit besonderer Berücksichtigung der Veränderungen der Ganglienzellenkerne] (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 6, p. 524—548 m. 5 Figg. im Text).

Das ganze Gehirn war in 10prozentiger Formollösung fixiert worden. Der feste Teil der Geschwulst wurde mit den folgenden Methoden untersucht: Imprägnationsverfahren von Cajal und Bielschowsky, Hämatoxylin-Eosin, Toluidinblau, Mannsche Methode mit vorhergehender Beizung in Phosphormolybdänsäure, Hämatoxylin nach Mallory, Tannin-Silbermethode nach Verf., Scharlachrot nach Herxheimer und Bendasche Färbung für die Markfasern. Die Toluidinblaupräparate zeigen, daß in der Geschwulst sich große, rundliche, bipolare, spindelförmige, pyramidale oder multipolare Ganglienzellen finden. Die Silberreduktionsverfahren imprägnieren in allen Gegenden zahllose Nervenfasern, die bei der Bendaschen Färbung keine Markscheiden besitzen. Gliazellen und Gliafasern werden durch das Mallorysche Hämatoxylin dargestellt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Cramer, W., Feiss, H. O., a. **Bullock, W. E.,** The significance of the Marchi reaction in nerve degeneration, and its application as a specific stain for unsaturated ordinary fats [Preliminary communication] (Journ. of Physiol. vol. **46**, 1913, no. 4, 5. p. 51—52).

Die Substanz, welche im degenerierten Nerven die Ursache für die Marchi-Reaktion ist, ist löslich in Aceton und nicht doppelbrechend, im Gegensatze zu dem doppelbrechenden Myelin der normalen Nervenfaser. Versuche mit den reinen chemischen Substanzen, als Repräsentanten der verschiedenen Lipoide, welche in den normalen Nervenfasern vorkommen, ergaben, daß Cholesterin, Lecithin, Protagon oder Mischungen dieser Lipoide in verschiedenen Proportionen sich mit Osmiumsäure nicht färben nach vorheriger Behandlung mit Kaliumbichromat (Marchi-Methode), vorausgesetzt, daß sie der Bichromatlösung in dünner Schicht ausgesetzt werden. Oleïnsäure dagegen wird auch nach Behandlung mit Bichromat geschwärzt. Die Feststellung, daß Cholesterin und Protagon durch Osmiumsäure nicht geschwärzt werden, d. h. sich nicht reduzieren, ist irrig. Setzt man Osmiumsäure zu einer Lösung dieser Lipoide in Chloroform, so schwärzt sich die Lösung allmählich und nimmt eine schwarzgraue Farbe an bei Cholesterin, eine schwarzbraune Färbung bei Protagon. Setzt man dagegen eine wässerige Osmiumsäurelösung zu trocknem Cholesterin oder trocknem Protagon, so findet keine Schwärzung statt. In der normalen Nervenfaser befinden sich Cholesterin und Protagon unter solchen Bedingungen, daß sie fähig sind, Osmiumsäure zu reduzieren. Die Untersuchungen der Verff. haben ergeben, daß gewöhnliches nichtgesättigtes Fett bei dem Vorgange der Nervendegeneration gebildet wird, und daß dieses Fett die Ursache der Marchi-Reaktion ist, sowie endlich, daß die Marchi-Reaktion eine spezifische Färbung für gewöhnliches nichtgesättigtes Fett ist. Fixiert man ein Gewebsstück in Müllerscher Flüssigkeit (direkt oder nach vorhergehender Fixierung in Formol) und behandelt es dann mit einer Mischung von etwa einem Teile Osmiumsäure und 2 Teilen Müllerscher Flüssigkeit, oder fixiert man das Stück direkt in dieser Mischung, so kann man histologisch einen Unterschied auffinden zwischen dem gewöhnlichen nichtgesättigten Fette und allen anderen nichtgesättigten Lipoiden, wie z. B. Lecithin. Bei Anwendung dieser Methode auf normale Organe fand es sich, daß abgesehen von dem Fette des Fettgewebes, das sich bekanntlich mit der Marchi-Methode färbt, gewöhnliches nichtgesättigtes Fett in Form von feinen Tröpfchen immer vorhanden ist in den Zellen der folgenden Organe: Rinde der Nebenniere, Corpus luteum, Hoden, in Laktation befindliche Mamma. Es ist fast immer vorhanden in den gewundenen Harnkanälchen der Katze, aber nicht in der normalen Niere von anderen Tieren. Die Zellen anderer normaler Organe waren frei von gewöhnlichem nichtgesättigtem Fette.

Schiefferdecker (Bonn).

Bindewald, C. A. E., Das Vorderhirn von Amblystoma mexicanum (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 1—74 m. 28 Figg. u. 1 Tfl.).

Als Material dienten erwachsene und fast geschlechtsreife Tiere und als Untersuchsmethoden kamen fast alle gebräuchlichen zur Verwendung meist aber in Modifikationen, da sich das Gewebe des Axolotl nicht ohne weiteres den Spezialfärbungen zugänglich zeigte.

Für die Weigertsche Methode wurde folgende Modifikation am günstigsten gefunden: Das aus dem Schädel herauspräparierte Hirn kommt auf 3 bis 5 Tage in das übliche 4prozentige Formol und dann nach mehrstündigem Auswaschen in fließendem Wasser auf 3 Tage im Wärmeschrank bei 37 ^{0} C in eine Mischung von 5 Teilen 5prozentiger Kaliumbichromatlösung und 100 Teilen frisch bereiteter 2prozentiger Fluorchromlösung. Nach etwa 3tägigem Auswaschen in häufig zu erneuerndem 70prozentigem Alkohol wird wegen der leicht darin entstehenden Niederschläge das Adergeflecht von der Oblongata vorsichtig entfernt und das ganze Gehirn in Celloïdin eingebettet. Hierauf folgt bei Zimmertemperatur während 48 Stunden Behandlung der zurechtgeschnittenen Blöcke mit der üblichen gut ausgereiften Gliabeize aus 30 g Kupferacetat, 15 g Fluorchrom und 600 cc destilliertem Wasser. Diese drei Bestandteile werden zusammen bis zum Sieden erhitzt. Sobald die Lösung aufwallt, wird die Flamme entfernt und langsam 30 cc konzentrierte Essigsäure hinzugefügt. Es ist bei der Herstellung darauf zu achten, daß kein Bodensatz bleibt. Nach Auswaschen in 70prozentigem Alkohol, der mehrmals zu wechseln ist, werden die Objekte in Schnitte von 30 μ Dicke zerlegt. Dabei empfiehlt sich die Edingersche Methode: Abziehen vom Messer mit Papierstreifen, Aufkleben auf Objektträger, die mit einer dünnen Celloïdinschicht überzogen sind, Abtrocknen und Übergießen mit sehr dünnem Celloïdin, so daß die Schnitte zwischen zwei Celloïdinschichten liegen. Die fertigen Serien kommen dann nochmals für 24 Stunden in die Gliabeize und werden kurz ausgewaschen. Hierauf erfolgt die Färbung in folgendem Gemisch: a) Hämatoxylinstammlösung (1:10 in absolutem Alkohol) 10 Teile, 96prozentiger Alkohol 90 Teile; b) Eisenchloridlösung (Ph. G. IV) 5 Teile, destilliertes Wasser 95 Teile. Beide Flüssigkeiten stellt man erst kurz vor dem Gebrauch getrennt her und mischt sie dann unter ständigem tüchtigem Schütteln gut zusammen. Die Farbe muß tiefviolettschwarz (nicht braun!) werden. In dieser Farblösung läßt man die Objektträger über Nacht stehen. Gewöhnlich ist dann alles gut schwarz durchgefärbt, wenn nicht, so hatte man zu dicke Celloïdinlösung zum Übergießen der Schnitte benutzt. In diesem Falle stellt man am besten nochmals neue Farblösung her und läßt die Serien bis zum nächsten Tage darin stehen. Die Objekträger werden dann in destilliertem Wasser abgewaschen und im Borax-Blutlaugensalzgemisch differenziert. Hierzu hält man folgende Mischung vorrätig: Borax 4 Teile, rotes Blutlaugensalz 5 Teile, destilliertes Wasser 200 Teile. Differenziert wird praktischerweise in Petrischalen, in die man die noch auf das Doppelte mit destilliertem Wasser verdünnte Mischung gibt. Nach mehr-

tägigem Auswaschen in öfter gewechseltem Leitungswasser werden die Objekte durch die Alkoholreihe bis zu 96prozentigem gebracht, dann durch Alkohol abs.-Chloroform (1 : 3), Xylol unter Glimmerplatten in Dammarharz eingeschlossen, wobei es gut ist die Glimmerplatten mit Bleiklötzchen bis zum Trocknen des Harzes zu beschweren. Im gut gelungenen Präparat sind die Markscheiden marineblau, die weiße Schicht hellgelb und die Zellen ockerfarbig.

Bei der Darstellung der Nervenfibrillen hat Verf. durch die von Bielschowsky angegebene Vorbehandlung mit Pyridin und durch Anwendung sehr starken Formols bei längerer Einwirkung recht befriedigende Resultate erhalten. Die Modifikation ist folgende: Die Gehirne werden auf 3 bis 4 Wochen in etwa 30prozentiges Formol (12 Teile käufliches Formol, 28 Teile destilliertes Wasser) mit Zusatz einer Spur Ammoniak gebracht. Nach Abspülen in destilliertem Wasser kommen sie auf mindestens 48 Stunden in reines Pyridin, das dann solange in fließendem Wasser ausgewaschen wird, bis sich der charakteristische Pyridingeruch verloren hat. Nach Spülen mit mehrmals gewechseltem destilliertem Wasser kommen die Gehirne auf 8 Tage im Dunkeln in die bekannte 2prozentige ammoniakalische Silbernitratlösung, darauf auf etwa 24 Stunden in 50prozentiges Formol. Nach dem Auswaschen erfolgt in üblicher Weise Einbettung in Paraffin und Zerlegung in Schnitte von etwa 6 μ Dicke.

Bei der Golgi-Methode wurden die besten Resultate bei eintägiger Behandlung mit einem Gemisch aus 4 Teilen 5prozentiger Kaliumbichromatlösung und einem Teil einprozentiger Osmiumsäure und dann eintägiger Versilberung in einer 0·75prozentigen Silbernitratlösung erzielt.

Die Eisenhämatoxylinfärbung gab nach der von Dreyer angegebenen Modifikation ebenfalls recht gute Resultate. Hiernach wird in einem Gemisch aus 15 Teilen mit Pikrinsäure gesättigtem Salzwasser, 5 Teilen käuflichem Formol und einem Teil Eisessig fixiert, dann 8 Tage mit einer Lösung aus 2·5 g Eisenalaun, 5 cc Formol und 100 cc destilliertem Wasser behandelt, in 30prozentigem Alkohol ausgewaschen, in üblicher Weise in Paraffin eingebettet und die 5 μ dicken Schnitte genau wie bei der gewöhnlichen Heidenhainschen Methode behandelt, nur mit der Ausnahme, daß die obige Eisenalaun-Formolmischung anstatt der Heidenhainschen Alaunlösung angewandt wird.

Die übrigen Methoden, die Ramón y Cajalsche Fibrillenimprägnation, die Bielschowskysche Kresylviolett- und Thioninfärbung wurden in der üblichen Weise angewandt. *E. Schoebel (Neapel).*

C. Mikroorganismen.

Oehler, R., Über die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzellenübertragung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **67**, 1913, p. 569).

Der Weg, auf dem Verf. Einzellenübertragung von Trypanosomen erzielte, zerfällt in drei Abschnitte: I. Gewinnung trypanosomenarmer Flüssigkeit. Sehr bequem ist es, das Blut mit Kochsalzlösung (1 bis 3 cc auf einen Blutstropfen) zu verdünnen; doch werden die Trypanosomen leicht unbeweglich. Besser halten sie sich im Blutserum. Das Blut wird in feinen Glasröhrchen von $^1/_2$ bis $1^1/_2$ mm Durchmesser und 3 bis 5 cm Länge aufgefangen, die Röhrchen an einem Ende zugeschmolzen, dann mit der Handzentrifuge verschieden lang zentrifugiert. II. Auffangen einzelner Trypanosomen. Feine Glaskapillaren (0·02 mm Lichtung; 0·01 mm Wandstärke) werden in das verdünnte Blut, bzw. verschieden weit in die zentrifugierten Röhrchen eingetaucht und unter dem Mikroskop kontrolliert. Finden sich Stellen, wo ein Trypanosom 2 bis 3 mm von seinen Nachbarn entfernt liegt, so wird eine solche Stelle markiert und mit dem Messer ausgeschnitten. Hierzu legt man die Kapillare auf einen Objektträger, deckt sie mit zwei anderen Objektträgern, damit die abgeschnittenen Kapillarstückchen nicht fortfliegen, und schneidet nun mit schräg aufgesetztem Messer. III. Übertragen der einzelnen Trypanosomen. Man zieht etwas Kochsalzlösung (0·85%) in die Injektionsspritze, setzt die Nadel auf und preßt ein kleines Tröpfchen hervor. Dieses bringt man mit dem über den Objektträgerrand hinausgeschobenen Ende des abgeschnittenen Kapillarenstücks in Berührung. Die Oberflächenkraft zieht sofort die Kapillare in den Tropfen und in die Nadelröhre hinein. Der Flüssigkeitstropfen wird in die Nadel hineingesogen und nun die Kochsalzlösung + Kapillare + Trypanosom dem Versuchstier injiziert. Verf. injizierte meist in die Schwanzvene (Maus); doch gelingen auch subkutane Injektionen. Durch Ausspritzen der Nadel mit Wasser überzeugt man sich, ob die Kapillare mit eingegangen ist.

Von 31 Einzelleninfektionen, die Verf. vornahm, gingen 10 an. Eine wesentliche Verlängerung der Inkubation trat nicht ein; die Trypanosomen erschienen am 4. bis 6. Tage nach der Infektion. Die Methode ist also recht brauchbar. *Hans Schneider (Bonn).*

Henningfeld, Fr., Über die Isolierung einzelner Trypanosomen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 3, p. 228—240).

Das trypanosomenhaltige Blut wurde mit Rinderbouillon, physiologischer Kochsalzlösung, Kaninchen-, Rinder- oder Pferdeblutserum verdünnt. Mit der verdünnten trypanosomenhaltigen Flüssigkeit

füllte Verf. seine Kapillaren, deren Lumenweite etwa 18 μ und deren Wandstärke etwa 6 μ betrug. Vor der mikroskopischen Untersuchung der Kapillaren wurden ihre Enden in verflüssigten Leitzschen Deckglaskitt getaucht und auf diese Weise luftdicht verschlossen. Mit schwachen oder mittelstarken Objektiven und starkem Okular (Zeiss Comp.-Ok. No. 12) wurden die Kapillaren auf die Verteilung der Trypanosomen untersucht: ist irgendwo ein einzelnes Trypanosoma durch einen besonders großen Zwischenraum nach beiden Seiten hin von den nächsten eingefangenen Organismen getrennt, so wird dieses Stück der Kapillare herausgebrochen. Verf. bestreicht einen Leitzschen Objektmarkierer mit einem roten Fettstift und markiert mit ihm zwei Stellen der Kapillaren oberhalb und unterhalb des isolierten Flagellaten; die Durchtrennung wird mit einem Messer auf weißer Unterlage vorgenommen. Nach abermaliger mikroskopischer Kontrolle wird das Kapillarenstück zur weiteren Kultur verwendet.

Küster (Bonn).

Reitz, A., Apparate und Arbeitsmethoden der Bakteriologie. Bd. 1: Allgemeine Vorschriften, Einrichtung der Arbeitsräume, Kulturverfahren, Färbeverfahren, Bestimmungstabellen. Stuttgart (Franckhsche Verlagshandlung) 1914. 95 pp. 2·25 M., geb. 3 M.

Der Titel der Schrift gibt die behandelten Kapitel der Bakteriologie an. Verf. hat sich bemüht, möglichst populär zu schreiben. Leider ist er dabei in den Fehler verfallen, manches breit zu erörtern, was in einen mikroskopischen Anfängerkurs gehört. Dementsprechend sind auch viele unnötige Abbildungen vorhanden. Wer für das praktische Studium der Bakteriologie reif ist, dürfte Abfalltöpfe aus Ton, Drehsessel, Reagensglasgestelle, Bunsenbrenner u. dgl. Dinge bereits kennen. Durch Weglassen dieses Überflüssigen hätte Raum gewonnen werden können zur ausführlicheren Besprechung der grundlegenden Methoden. Verf. geht überall viel zu schnell von dem allgemein Wichtigen zu speziellen Angaben über Kultur, Färbung usw. von pathogenen Bakterien über. Von der Möglichkeit der Anwendung allgemeiner cytologischer Methoden auf Bakterien (A. Meyer, Swellengrebel, Guilliermond usw.) erfährt man in dem Büchlein nichts. Überhaupt ist es zu einseitig aufs Medizinisch-Hygienische zugeschnitten, und das hätte, da Verf. doch eine Einführung für jeden Mikroskopiker geben wollte, vermieden werden müssen. Die das letzte Drittel der Schrift einnehmende Bestimmungstabelle dürfte manchem willkommen sein, jedenfalls dem Anfänger die erste Orientierung erleichtern.

Hans Schneider (Bonn).

Isabolinsky, M., u. **Smoljan, L.,** Über die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstoffestigkeit der Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73,** 1914, p. 413).

Die Verff. ziehen aus ihren Versuchen folgende Schlüsse: Anilin besitzt keine baktericiden Eigenschaften. Die Mehrzahl der Anilinfarbstoffe, mit Ausnahme der sauren, besitzt jedoch „recht starke baktericiden Eigenschaften in vitro und in vivo, vor allen andern Kristallviolett, Methylgrün und Malachitgrün". Am meisten resistent gegen die Farbstoffe erweisen sich der Typhusbazillus und Coli. Die Choleravibrionen gewöhnen sich bei der Überimpfung in immer stärkere Farbstofflösungen an die Farbstoffe, aber nicht bis zur völligen Resistenz. Bei dem Schutz eines Tieres vor der Infektion bedarf man stärkerer Farblösungen, als zur Wachstumshemmung in vitro. „Dieser Umstand läßt annehmen, daß bei der Wirkung in vitro eine wesentliche Rolle nur der hemmende Einfluß des Farbstoffs auf das Bakterienwachstum spielt." *Hans Schneider (Bonn).*

Carpano, M., Sull' involglio capsulare di alcuni batteri (Ann. Ig. Sperim. vol. **23**, 1913, fasc. 2, p. 149—160; Ref. in Bull. Inst. Pasteur t. **12**, 1914, no. 2, p. 55).

Beim Nachweis der Kapseln verfuhr Verf. folgendermaßen: Streptococcus equi, Bacterium equisepticum und B. suisepticum wurden durch Osmiumsäuredämpfe fixiert und mit Karbolfuchsin oder Karbolkristallviolett gefärbt. Bacterium mallei fixierte Verf. mit einer nach folgendem Rezept zusammengesetzten Lösung:

Sublimat	4 g
Kaliumbichromat	3 g
Eisessig	2 cc
Destilliertes Wasser	100 „

Färbung mit Karbolfuchsin. — Bacterium typhi ließ Verf. ohne Anwendung besonderer Fixiermittel an der Luft eintrocknen; zum Färben dienten folgende zwei Lösungen:

A. Tannin puriss.	10 g
Konzentrierte Lösung von basischem Fuchsin	10 cc
Destilliertes Wasser	100 cc

B. Einprozentige Lösung reinsten Kaliumhydroxyds.

Von Lösung A. werden 5 oder 6 Tropfen auf das Präparat aufgetragen; dann läßt Verf. auf die Mitte des Präparates 2 oder 3 Tropfen von Lösung B. fallen. Hiernach leicht erwärmen bis zur Dampfbildung und zum Erscheinen eines feinen irisierenden Häutchens an der Oberfläche. Nach 4 oder 5 Minuten waschen unter sehr schwachem Wasserstrahl; trocknen; Kanadabalsam.

Küster (Bonn).

Thurn, O., Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter ungefärbter und gefärbter Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 1, 2, p. 81—90).

Vegetative Bakterienzellen (Mikrokokken, Coli, Typhus, Milzbrand, Cholera, Diphtherie) und Hefezellen bleiben bei dem üblichen Anfertigen von Trockenpräparaten am Objektträger noch mindestens 24 Stunden, manche 4 Tage, einige sogar bis zu 26 Tagen lebend. Selbst das bekannte „dreimal durch die Flamme ziehen" hat auf die Lebensfähigkeit der Bakterien keinen hemmenden Einfluß. Bei 56° im Thermostaten leben fast alle noch bis zu 30 Minuten, bei 80° sterben sehr viele, bei 100° fast alle; Cholera ist relativ empfindlich. Milzbrand sehr widerstandsfähig. Methylenblau und Fuchsin töten die getrockneten Zellen bei 5 Minuten langer Färbung noch nicht: Ziehls Lösung tötet sie, die Sporenfärbungsmethode tötet meistens nicht. Diphtherie stirbt bei der Behandlung mit Essigsäure-Methylenblau, die Gramsche Färbung tötet alle vegetativen Zellen (Jodwirkung). *Küster (Bonn).*

D. Botanisches.

Wand, A., Beiträge zur Kenntnis des Scheitelwachstums und die Verzweigung bei Selaginella (Flora N. F., Bd. **6**, 1914, H. 3, p. 237).

Bei der Zerlegung der Sproßscheitel von Selaginellen in Mikrotomschnitte stieß Verf. auf große Schwierigkeiten, besonders bei Arten mit starker Kutikula; die Messer brachen aus und das Parffin gab nach, oder die abgerissenen Kutikularfetzen zerstörten den Scheitel. Die besten Resultate gab folgende Behandlungsweise: Das 24 Stunden mit schwachem Flemmingschen Gemisch behandelte und ebensolange in fließendem Wasser ausgewaschene Material wurde durch 10-, 20-, 30prozentigen Alkohol usw. bis in 90prozentigen Alkohol, dann sehr vorsichtig in absoluten Alkohol und durch Xylol in Paraffin vom Schmelzpunkt 52° gebracht und mit dem letzteren bei einer 55° nicht übersteigenden Temperatur durchtränkt. Objekte mit sehr harter Kutikula wurden bei 61° in Paraffin vom Schmelzpunkt 60° eingebettet. — Wo auch diese Einbettungsweise nicht zum Ziele führte, verzichtete Verf. auf Mikrotomschnitte und hellte das Material auf, indem er es 5 bis 10 Stunden mit 10prozentiger Kalilauge behandelte, unvollkommen auswusch, für 24 Stunden in absoluten Alkohol, dann in Wasser legte und schließlich mit älterem, abgestandenem Eau de Javelle behandelte, dessen Wirkung unter dem Mikroskop verfolgt wurde. *Hans Schneider (Bonn).*

Tswett, M., Zur Kenntnis des „vegetabilischen Chamäleons" (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. **32**, 1914, H. 1, p. 61).

Die Anthocyanlösungen, die dem Verf. bei seinen Versuchen über reversible Entfärbung des Anthocyans dienten, wurden aus den jungen Blättern der Köpfe von Rotkohl, die wenig gefärbte Lipoide enthalten, gewonnen. Verf. verreibt die Lamina, nach Entfernen der Hauptnerven, mit feinem Quarzsand und (zum Abstumpfen der sauren Salze) etwas Kreide. Das Verreiben wird unter Alkohol fortgesetzt, und die violettgefärbten Alkoholate werden auf der Nutsche abgesaugt oder einfach abfiltriert. — „Aus diesem Extrakt kann ein Teil des Anthocyans in schon gereinigtem Zustande mittels Ausfällung durch 2 bis 3 Teile Äther gewonnen und auf dem Filter gesammelt werden. Die feinen Ausfällungen kann man auch sehr schnell mittels Adsorption sammeln, wenn man das trübe Alkohol-Äthergemisch mit wasserfreiem Na_2SO_4 schüttelt. Adsorbierter Farbstoff ist dann aber größtenteils in Alkohol unlösbar und zeigt überhaupt sehr merkwürdige Eigenschaften. Wird farbstoffbeladenes Salz mit Alkohol und ein wenig Essigsäure behandet, so wird es rot, gibt aber nichts in Lösung ab. Mit salzsäurehaltigem Alkohol oder mit konzentrierter Essigsäure läßt sich aber ein Teil des Farbstoffes herauslösen. Beim Liegen unter Alkohol wird das violette anthocyanhaltige Salz gebleicht und durch Säure die Farbe wiederhergestellt." — Für des Verf. Versuche waren auch rohe Alkohollösungen geeignet. Beim Stehen bei Zimmertemperatur wird eine solche Lösung stark gebleicht, behält aber schwach rötlichgelbe Färbung. Hat man die Alkoholate im voraus mit einen bis 2 Teilen Alkohol verdünnt, dann wird sie aber fast farblos; noch besser ist es, die Alkoholate abzudampfen, den Rückstand mit Äther zu waschen und in absolutem Alkohol aufzulösen. Zusatz von etwas Essigsäure, Salzsäure, Ameisensäure genügt, um leuchtend rote Farbe zu regenerieren. Beim Abdampfen der farblosen Alkoholate erhält man einen violetten Rückstand, der sich in Alkohol wieder farblos löst. Die farblose Lösung nimmt bei Verdünnung mit destilliertem Wasser violette Farbe an, um so tiefer, je größer die Verdünnung. Beim Erwärmen wird die Färbung tiefer, beim Erkalten wieder schwächer. — Verf. folgerte aus seinen Versuchen, daß die Entfärbung des Anthocyans durch Alkohol nicht auf einem Reduktions-, sondern auf einem Polymerisationsprozeß beruht. Er schließt seine Ausführungen mit einigen Bemerkungen über künstliches Anthocyan (vgl. Tswett, Biochem. Zeitschr. Bd. **38**, 1913, p. 225). *Hans Schneider (Bonn).*

Maneval, W. E., The development of Magnolia and Liriodendron, including a discussion of the primitiveness of the Magnoliaceae (Bot. Gaz. vol. **57**, 1914, no. 1, p. 1).

Zur Fixierung von Blüten der genannten Gattungen erwies sich besonders Chromessigsäure, daneben auch Alkoholeisessig geeignet. Schnitte durch sporogenes Gewebe oder junge Embryonen wurden mit Eisenhämatoxylin und Orange, solche von älteren Stadien mit Safranin und Delafields Hämatoxylin, auch wohl mit letzterem allein gefärbt.

Hans Schneider (Bonn).

Svedelius, N., Über Sporen an Geschlechtspflanzen von Nitophyllum punctatum; ein Beitrag zur Frage des Generationswechsels bei Florideen (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. **32**, 1914, H. 2, p. 106).

Das Material, das Verf. vorfand, war in einprozentiger Chromalaunlösung fixiert worden. „Diese Fixierung erwies sich zwar als keineswegs erstklassig oder auch nur der mit Flemmings Flüssigkeit vergleichbar; sie erlaubte aber doch die Beobachtung der wichtigsten cytologischen Details."

Hans Schneider (Bonn).

Svedelius, N., Über die Tetradenteilung in den vielkernigen Tetrasporangienanlagen bei Nitophyllum punctatum (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **32**, 1914, H. 1, p. 18).

Verf. fixierte Nitophyllum in dem schwächeren Flemmingschen Gemisch eine Stunde lang. Zur Färbung benutzte er Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und Lichtgrün in Nelkenöl gelöst.

Hans Schneider (Bonn).

Klinken, J., Über das gleitende Wachstum der Initialen im Kambium der Koniferen und den Markstrahlenverlauf in ihrer sekundären Rinde (Diss. Bonn 1913; gleichzeitig Heft 84 der Bibliotheca Botanica, Stuttgart 1914).

Um die Radialreihen in der sekundären Rinde von Taxus baccata verfolgen zu können, zerlegte Verf. ein Rindenblöckchen, das einer ebenen Stelle des Taxusstammes entnommen worden war, nach mehrtägiger Behandlung mit Glyzerin-Alkohol mittels des Vinassaschen Holzmikrotoms in 30 μ dicke Schnitte. Es war unmöglich, unter dem Mikroskop einen Überblick über die Radialreihen eines Schnittes zu bekommen. Verf. zeichnete daher die Schnitte mit dem Projektions- und Zeichenapparat nach Edinger (Leitz). Durch gleichsinniges Verschieben von Präparat und Zeichenblatt ließ sich dabei ein beliebig großer Komplex des Präparates zu Papier bringen. Sämtliche Radialreihen des ersten Zeichenblattes konnten nun leicht in den anderen Zeichenblättern aufgesucht, mit verschiedenen Farben markiert und

so in ihrem Verlauf verfolgt werden; die mikroskopische Betrachtung der Schnitte diente nur noch zur Kontrolle.

Da nach Feststellung des Verf. bei Taxus die nach außen abgegebenen Kambialprodukte tangential und vertikal nicht mehr wachsen, da ferner die Schnitte, weil einer ebenen Stelle entnommen, dem Kambium parallel waren, so ergab jeder Schnitt ein Bild der Initialschicht zur Zeit der Abscheidung der durch ihn getroffenen Elemente. Die ganze Serie stellte also alle Stadien dar, welche von der Initialenschicht überhaupt durchlaufen worden waren.

Es gelang auf diesem Wege, zu zeigen, daß die Initialen von Taxus „räumlich und zeitlich unbegrenztes gleitendes Längenwachstum" aufweisen, das nur durch die Winterruhe unterbrochen wird. Die sonstigen interessanten Ergebnisse können hier nicht dargestellt werden.

Hans Schneider (Bonn).

Killian, K., Über die Entwicklung einiger Florideen (Zeitschr. f. Botanik, Bd. **6**, 1914, H. 3, p. 210).

„Die Schwierigkeit der Florideenkultur liegt hauptsächlich darin, dieselbe längere Zeit entwicklungsfähig zu halten." Entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen müssen sich nämlich über $^1/_2$ bis $^3/_4$ Jahr erstrecken, da die Entwicklung sehr langsam verläuft. — Verf. kultivierte sein Material in verschiedener Weise. Hauptsächlich wurden große Zementbecken benutzt, die mit Crustaceen, Echinodermen und fleischfressenden Fischen besetzt, in einem Raum mit diffusem Oberlicht aufgestellt und ununterbrochen mit frischem geklärtem Seewasser, das durch ein Rohr dicht über dem Boden eintrat und oben abfloß, durchspült wurden. Die Objektträger, auf denen die Sporen in bekannter Weise ausgesät worden waren, wurden mit numerierten Korken versehen und mittelst dieser an der Oberfläche schwimmend gehalten oder, je nach dem natürlichen Standort der Art, an helleren oder dunklen Stellen der Becken schräg versenkt. Einige Formen (Corallina, Gelidium capillaceum, Halymenia) gediehen besser in kleinen, stark mit Seewasser durchspülten Aquarien. Besonders empfindlich gegen Diatomeen und Bakterien erwiesen sich manche fädige Formen (Ceramiaceen); sie erforderten langsamen ständigen Durchfluß von Seewasser, das durch Passieren eines Berkefeld-Filters (Methode Allen-Nelson) keimfrei gemacht worden war.

Die Untersuchung der Kulturen wurde in flachen Glasschalen, bei knapper Bedeckung mit oft erneuertem Wasser, ohne Deckglasauflage mit Trockensystemen (wegen der Vergiftungsgefahr durch das Metall nicht mit Wasserimmersion) vorgenommen; selbst stundenlange Beobachtung, in dieser Art ausgeführt, schadete den Kulturen nicht. Wenn Mikrotomarbeit erforderlich war, fixierte Verf. meist nach Flemming und färbte mit Delafields Hämatoxylin.

Hans Schneider (Bonn).

Boresch, K., Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei Funaria (Zeitschr. f. Botanik Bd. **6**, 1914, H. 2, p. 97).

Verf. studierte die schon länger, besonders von Funaria her, bekannten fadenförmigen Gebilde in Mooszellen näher. Besonders günstige Objekte sind die Öhrchenzellen älterer Blätter von Fontinalis antipyretica und die Zellen des Blattgrundes von Funaria hygrometrica. — Die Fäden sämtlicher untersuchter Moose sind homogen oder mit stark lichtbrechenden Tröpfchen besetzt; sie ändern unaufhörlich ihre Form, Lage und Sichtbarkeit. Besonders auffällig sind die in den genannten Zellen bei Fontinalis anzutreffenden Fadenknäuel, deren Substanz größtenteils Fett ist. Verf. fand und untersuchte, am eingehendsten bei Funaria, folgende Erscheinung: „Sämtliche Filarbildungen mannigfachster Gestalt zerfallen unter der Einwirkung gewisser in die lebende Zelle diosmierender Mittel" — ich nenne von den zahlreichen benutzten nur sehr verdünnte Lösung von Chinin oder Chininsalzen, Alkohol, Äther und Chloroform — „nach Durchlaufen charakteristischer Zwischenstufen (myelinartige Bildungen, Fadenstücke, Schleifen, Ringe usw.) in feine, meist mikroskopisch sichtbare Tröpfchen mit lebhafter Brownscher Molekularbewegung und bilden sich bei Beseitigung des in dieser Weise wirksamen Stoffes durch Auswässern wiederum zurück auf Kosten der immer mehr schwindenden Tröpfchen durch Wiedervereinigung derselben, wobei die erwähnten Zwischenstadien dieser Veränderungen nunmehr in umgekehrter Reihenfolge zur Beobachtung gelangen." Dieser völlig reversible Prozeß, der ohne Schädigung der Zellen erzielt werden kann, ist das charakteristische Merkmal der Filargebilde. Die erwähnten Zwischenstadien kommen gelegentlich auch in intakten Zellen vor. — Verf. findet, daß die Fadenstrukturen wenigstens bei Funaria wahrscheinlich der Zellsaftseite der inneren Plasmahaut anliegen; es spricht auch nichts für plasmatische Natur der Fäden. Die bisher oft vermutete Beziehung der Filarbildungen zur Chloroplastenbewegung wird daher abgelehnt.

Hans Schneider (Bonn).

Elfving, T., Untersuchungen über Flechtengonidien (Act. Soc. Sci. Fennicae t. **44**, no. 2 m. 8 Tfln. Helsingfors 1913).

Der Verf. tritt in der vorliegenden Abhandlung für die alte, vor Schwendiners Untersuchungen allgemein übliche Auffassung der Flechten als einheitliche Organismen ein. Seiner Ansicht nach entstehen die Flechtenalgen (Pleurococcus, Trentepohlia usw.) aus den Endzellen kleiner Hyphenzweige. Eingehend wird der Vorgang z. B. für Physcia pulverulenta (Hoffm.) Nyl. beschrieben. Diese Flechte wurde

mit Flemmingschem Gemisch fixiert, in 7 bis 10 μ dicke Schnitte zerlegt und ohne Färbung in Glyzerin-Gelatine oder Hoyers Gemisch eingeschlossen. Es wäre wünschenswert gewesen, die Methode mitzuteilen, nach welcher die dünnen Schnitte gewonnen wurden, da bekanntlich die Flechten zu den schwierig zu behandelnden Objekten gehören. „Die Hyphenzellen, in denen Gonidien entstehen, zeichnen sich in den aus fixiertem Material hergestellten Schnitten durch eine tiefgrüne bis schwarze Farbe aus"; diese auf Osmiumwirkung beruhende Erscheinung ist dem Aufsuchen von „Gonidienanfängen" günstig. Man findet solche nicht oft, dann aber reichlich. Die gonidienbildenden Hyphenzellen vergrößern sich. Durch Aneinanderreihung von Mikrosomen entstehen in ihnen netzförmige Bänder, die sehr dünn und „scharf konturiert" werden; sie repräsentieren nach Ansicht des Verf. den Anfang der Chromatophoren. „Sie werden breiter, verschmelzen auch wohl miteinander, und dann sieht man deutlich, daß sie grün sind, wenn auch die grüne Farbe infolge der sonstigen dunklen Farbe des Plasmas nicht rein hervortritt." Schließlich bilden sich noch Pyrenoide, und die Gonidie ist fertig.

Bei Parmelia furfuracea bewährten sich die üblichen Fixierungs- und Einbettungsmittel nicht; es wurden daher Längsschnitte von lebendem Material mit der Hand angefertigt und auf dem Objektträger zerzupft. — Die Cephalodien von Peltidea und Nephroma fixierte Verf. mit Pfeiffers Gemisch, färbte die Mikrotomschnitte mit polychromem Methylenblau, zuweilen auch mit Tolnidinblau nach Musgrove, und schloß in Hoyers Gemisch ein. *Hans Schneider (Bonn).*

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Weinschenk, E., Grundzüge der Gesteinskunde. Erster Teil: Allgemeine Gesteinskunde als Grundlage der Geologie. 3. Aufl. m. 138 Textfigg. u. 6 Tfln. (XII u. 274 pp.). Freiburg (Herdersche Verlagshandlung) 1913. 6·60 M.; geb. 7·50 M.

Es ist eine nicht zu verkennende Tatsache, daß der Petrographie in der Geologie noch lange nicht der Platz eingeräumt wird, der ihr gebührt. Man verlangt von dem praktischen Geologen in erster Linie eine tüchtige, paläontologische Schulung, während auf die petrographische Seite der Wissenschaft weniger Wert gelegt wird. Der Grund für die Vernachlässigung der Petrographie in der Geologie liegt vor allem in der historischen Entwicklung begründet. Während die Paläontologie schon frühzeitig zu überraschenden Resultaten gelangte, waren der Petrographie bei ihren geringen Hilfsmitteln und der Größe der Hindernisse solche Erfolge im Anfang nicht beschieden.

Erst mit der Einführung des Mikroskops gelangte man auch hier zu festen, unumstößlichen Tatsachen. Die Resultate der modernen petrographischen Wissenschaft gilt es nun, aus dem Laboratorium hinauszutragen. Nicht das Studium der mikroskopischen Präparate allein kann uns Klarheit in geologischen Fragen bringen, aber in Verbindung mit dem Studium der geologischen Verhältnisse der Gesteine können wichtige geologische Fragen ihrer Lösung zugeführt werden, wie solche über Entstehung, augenblickliche Beschaffenheit und Umbildung der Gesteine.

In diesem Sinne ist auch das vorliegende Werk geschrieben. Unter Berücksichtigung der neuesten wissenschaftlichen Ergebnisse auf dem Gebiet der Petrographie gibt uns der Verf. eine Gesteinsgeschichte. Das Buch ist sehr anregend geschrieben: man merkt, es ist viel Selbsterlebtes dabei. Der Verf. hat schon vieles zur petrographischen Kenntnis der Gesteine der Zentralalpen beigetragen. So geht er auch in vorliegendem Buche des öftern auf die Entstehung und Struktur der kristallinen Gesteine des Zentralmassivs ein; er beleuchtet diese heute noch sehr umstrittenen Fragen von zum Teil ganz neuen Gesichtspunkten, und man muß sagen, er vertritt seinen Standpunkt geschickt und weiß ihn durch treffende Gründe zu stützen. Dabei sind aber die Fehler einer einseitigen Darstellung vermieden, indem mehrere Hypothesen über ein und denselben Gegenstand nebeneinander gestellt und auf ihre innere Berechtigung geprüft werden, indem das Wertvolle aus ihnen herausgeschält wird. Die beigegebenen Tafeln II—VI enthalten gute Mikrophotographien der wichtigsten Strukturformen der Gesteine. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Disselhorst, R., Vergleichende Anatomie und Physiologie der Haussäuger. 2. Aufl. Russisch von NEMILOW. St. Petersburg (Devrient). 8°.

Ellenberger, W., u. **Schumacher, S.**, Grundriß der vergleichenden Histologie der Haussäugetiere. 4. umgearb. Aufl. Berlin (Parey) 1914. VIII u. 379 pp. 468 Figg. 8°. 13 M.

Fusari, R., Compendi di Anatomia umana. Torino (Unione tip. ed.) 1912. vol. **19**, 1168 pp. 8°.

Kolle, W., u. **Wassermann, A. v.**, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Jena (G. Fischer) 1914. 2. Aufl. 8 Bände. Mit 102 Tfln., 984 Textabb., 13 Photogr. u. 14 Kurven. brosch. 323 M. geb. 350 M.

Landouzy et Bernard, Eléments d'anatomie et de physiologie médicales. 366 Figg. Paris. 765 pp. 8°.

Levy, O., Elementares Praktikum der Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere mit Einführung in die Entwicklungsmechanik. Berlin (Bornträger) 1913. 183 pp. u. 89 Figg. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 121.) geb. 5·60 M.

Maximow, A., Grundzüge der Histologie. I. Die Lehre von der Zelle. St. Petersburg (K. L. Ricker) [Russisch.] Mit 138 Figg. im Text und einer kolor. Tfl. 382 pp.

Oppel, A., Leitfaden für das embryologische Praktikum und Grundriß der Entwicklungslehre des Menschen und der Wirbeltiere. Jena (G. Fischer) 1914. 313 pp. u. 323 Figg. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 121.) 10 M., geb. 11 M.

Pascher, A., Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Heft 1: Flagellatae I. Allgem. Teil von A. PASCHER: Pantostomatinae, Protomastiginae, Distomatinae, bearbeitet von E. LEMMERMANN. Jena (G. Fischer) 1914. 3·50 M., geb. 4 M.

Heft 14: Bryophyta (Sphagnales - Bryales - Hepaticae), bearbeitet von C. WARNSTORFF, W. MÖNKEMEYER, V. SCHIFFNER. 222 pp. Mit 500 Abb. im Text. Jena (G. Fischer) 1914. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 128.) 5·60 M., geb. 6·20 M.

Rouville, E. d., Technique microscopique, d'après Böhm et Oppel. 5. édit. Paris (Vigot) 1913. 724 pp. u. 17 Figg. 8 frcs.

Schmid, B., Handbuch der naturgeschichtlichen Technik für Lehrer und Studierende der Naturwissenschaften. Unter Mitwirkung von A. Berg-Berlin, W. Bock-Hannover, P. Claussen-Berlin, P. Esser-Köln, H. Fischer-Berlin-Friedenau, K. Fricke-Bremen, P. Kammerer-Wien, H. Poll-Berlin, R. Rosemann-Münster, B. Schorler-Dresden, O. Steche-Leipzig, F. Urban-Plan, E. Wagler-Leipzig, B. Wandollek-Dresden herausgegeben. Leipzig (B. G. Teubner) 1914. 555 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 120.) 15 M., geb. 16 M.

Spielmeyer, W., Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems. 2. verm. Aufl. Berlin (Springer). VII u. 146 pp. 8°. 4·80 M.

Unna, P. G., Biochemie der Haut. Jena (G. Fischer) 1913. (Anhang zu Oppenheimers Handbuch der Biochemie, p. 1—105.) (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 122.) 3 M., geb. 4 M.

Weinschenk, E., Grundzüge der Gesteinskunde. Erster Teil. Allgemeine Gesteinskunde als Grundlage der Geologie. 3. Aufl. Freiburg (Herdersche Verlagshandlung) 1913. XII u. 274 pp. Mit 138 Textfigg. u. 6 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 178.) 6 M., geb. 7·30 M.

Wohlgemuth, J., Grundriß der Fermentmethoden. Ein Lehrbuch f. Mediziner, Chemiker u. Botaniker. Berlin (J. Springer) 1913. 10 M., geb. 10·80 M.

Trattato di Anatomia umana. Vol. 1: Bertelli, D., Introduzione: Romiti, G., Anatomia generale; Valenti, G., Embriologia generale. Osteologia, Artrologia. 508 Figg. Milano (Vallardi) 1912. XVI u. 561 pp. 8°.

2. Mikroskop und Nebenapparate.

a. Neue Mikroskope.

Beck, C., The binocular microscope of the past, and a new form of instrument (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 17).

Jentzsch, F., The binocular microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 1).

R. a. J. Beck's new binocular microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 205; vgl. Beck's special Catalogue: the Beck binocular microscope, London).

Leitz' stereoscopic binocular microscope for metallurgical purposes (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 203; vgl. Leitz' Spezialkatalog).

Stativ IS. Großes Stativ für Untersuchungen mit durchfallendem und auffallendem Licht. C. Zeiss-Jena (Mikro 236).

Winder's special metallurgical microscope for observing structure of metals under strain (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 71; vgl. W. Watson and Sons' special Catalogue: microscopes and accessories for metallurgy p. 16, 17).

Watson's Vulcan metallurgical microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 70; vgl. W. Watson and Sons' special Catalogues: microscopes and accessories for metallurgy p. 5).

Watson and Sons' micrometer microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 72; vgl. W. Watson and Sons' special Catalogue: microscopes and accessories for metallurgy p. 19, 20).

Watson and Sons' no. 2, metallurgical microscope (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 210; vgl. W. Watson and Sons' special Catalogue: microscopes and accessories for metallurgy p. 10, 11).

b. Objektive.

Heath, C. E., New safety device for high-power lences and cover-glasses (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 78).

Siedentopf, Hilfsobjektiv für Voruntersuchungen zum Kardioid-Ultramikroskop (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide Bd. **12**, H. 2, 1913, p. 68—69; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 129).

Homogene Immersion $^1/_{12}$, n. Ap. 0·90. C. Zeiss-Jena (Mikro 330, Beilage zu Mikro 184).

c. Lupen.

Präpariersystem. Lupen. Lupenstative. Ausgabe 1913. C. Zeiss-Jena (Mikro 188).

Monokellupen. C. Zeiss-Jena Med. 63.

d. Beleuchtungsapparate.

Akehurst, S. C., Some observations concerning substage condensers (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 210).

Draper, B. M., Dark-ground illumination with the greenveigh binocular microscope (Quekett Microsc. Club. 25. Nov. 1913; vgl. Bull. R. Microsc. Soc. 1914, p. 1, p. 81).

Kardioid-Ultramikroskop nach Siedentopf, besonders geeignet zur Untersuchung kolloider Lösungen, verdünnter Niederschläge, für mikrochemische und Lichtreaktionen. 3. Ausgabe, 1914. C. Zeiss-Jena (Mikro 306).

Lumineszenzmikroskop. C. Zeiss-Jena (Mikro 325).

Mikroskopierglühlampe für Gaslicht oder elektrisches Licht. C. Zeiss-Jena (Mikro 322).

Watson-Conrady Condenser vertical illuminator (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 77; vgl. W. Watson and Sons' special Catalogue: microscopes and accessories for metallurgy p. 28, 29).

e. Verschiedenes.

Ainslie, M. A., Microscopical measurement of magnifying power: measurement of numerical aperture (Engl. mechanic vol. 98. 1913, p. 60, 111).

(**Finlayson, R.,**) Circular slide for opaque objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2. p. 216).

Hartridge, H., A method of investigating diatom-structure (Journ. R. Microsc. Soc. 1913, pt. 4. p. 65—67; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 129).

O'Donohoe, T. A., An attempt to resolve Pinnularia nobilis (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2. p. 211).

Rohr, N. v., Richtlinien in der Entwicklung, Erkenntnis und Wertung optischer Instrumente (Die Naturwiss. Bd. **1**. 1913, p. 417—424, 445—452; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914. p. 129).

3. Projektion und Mikrophotographie.

Hind, H. Ll.. a. Randler, W. Br., Handbook of photomicrography. London (G. Routledge a. sons Ltd.) 1913. XII a. 292 pp., 44 plts. a. 71 figg.

Orueta, D. de, La luz ultra-violeta y sus aplicaciones en microscopia con un resumen de los trabajos hechos en el laboratorio del autor durante el año 1911 y primer semestre de 1912 (Revista de la real Academia de ciencias exactas, fis. y natur. Madrid 1913, 92 pp., 14 pl.).

Apparate für die Projektion von mikroskopischen Präparaten, Diapositiven, physikalischen Versuchen ausgerüstet mit Bogenlampen für 5 Ampère. Carl Zeiss-Jena (Mikro 321).

Gebrauchsanweisung für die Bogenlampen für Mikrophotographie und Mikroprojektive sowie für den aplanatischen Kollektor mit Irisblende 1912. Carl Zeiss-Jena (Mikro 316).

Kleiner Projektionsapparat. Carl Zeiss-Jena (Mikro 319).

Kurze Anleitung zum Photographieren mit der kleinen mikrophotographischen Vertikalkamera. Carl Zeiss-Jena (Mikro 321).

Preisliste über kleine mikrophotographische Einrichtungen. Carl Zeiss-Jena (Mikro 328).

Vorläufiger Prospekt über das neue Epidiaskop und Episkop. Carl Zeiss-Jena (Mikro 333).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Burton, J., A method of marking a given object for reference on a mounted slide (Quekett microsc. Club 25. Nov. 1913; vgl. Bull. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 81).

Champy, Ch., Granules et substances réduisant l'iodure d'osmium (Journ. de l'Anat. et de la Physiol. t. 49, 1913, no. 4, p. 323—343 av. 15 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 135).

Conn, H. J., a. **Harding, H. A.**, An efficient electrical incubator (New York agric. exper. stat. techn. Bull. No. 29, 1913, p. 3—16, w. 5 figg.).

Edinger, L., Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Apparaten (38. Wanderversammlung der südwestdeutschen Neurologen und Irrenärzte in Baden-Baden 24. u. 25. Mai 1913; vgl. Neurol. Zentralbl. Jahrg. **32**, 1913, No. 14, p. 927—928; diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 134).

Heydenreich, L. v., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 6, p. 444; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 130).

Höber, R., u. **Nast, O.**, Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung (Biochem. Zeitschr. Bd. **50**, H. 5, 6, p. 418—436; vgl. Zentralbl. f. Biochem. u. Biophys. Bd. **15**, 1913, No. 10, 11, p. 401; diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 131).

Joly, J., A method of microscopic measurement (Notes bot. school Trinity coll. Dublin 1913, vol. 2, p. 152—153).

Knudson, L., Imbedding and warming stand (Bot. Gaz. vol. **56**, 1913, p. 339—340).

Kritschewsky, J. L., Apparate vom Typus „Thermos" als Thermostate (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 1, p. 77—80).

Krüger, P., Ein neues Verfahren zur elektiven Färbung der Bindesubsubstanzen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 75—90 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 137).

Legendre, R., Simple tour de main pour obtenir une chambre humide microscopique (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 6, p. 265—266 av. 1 fig.).

Marmier, L., Modification d'un régulateur de chauffage électrique (Ann. de l'Inst. Pasteur t. **27**, 1913, no. 6, p. 498; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 131).

Massont, P., Imprégnation argentique du pigment (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **75**, 1913, no. 28, p. 210—211; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 135).

Michel, L., Sur l'emploi des membranes en collodion, très perméables, dans les recherches biologiques (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **75**, 1913, no. 31, p. 363—365).

Stansel, L. W., Use of glycerin-jelly in mounting microscopical objects (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 87).

Stone, G. E., Cement aquaria (The plant world vol. **16**, 1913, p. 281—285).

Szécsi, St., Lucidol, ein neues Fixiermittel (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. 39. 1913, No. 33, p. 1584—1585; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 131).

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Alexeieff, A., Recherches sur les sarcosporidies. 1. Etude morphologique (Arch. de Zool. expériment. et générale t. 51. 1913. p. 521—569 av. 3 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 138).

Arndt, W., Über das Vorkommen von Fett bei Actinien (Zool. Jahrb. Abt. f. allg. Zool. u. Phys. Bd. 34, 1913, p. 27—42 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 139).

Couret, M., a. Walker, J., The cultivation of Amoebae in pure culture upon autolyzed tissues (Journ. exper. med. vol. 18. 1913. no. 3, p. 252—258).

Draper, B. M., A live box for the observation of insects and similar objects (Quekett microsc. Club 25. Nov. 1913; vgl. Bull. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 81).

Fülleborn, F., Zur Technik der Mikrofilarienfärbung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 73, 1914, H. 6, p. 427; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 144).

(Harris, G. T.,) Collection and preservation of Hydroida (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 211; vgl. Journ. Quekett microsc. Club vol. 12. 1913. p. 143—154).

Herbers, K., Entwicklungsgeschichte von Anodonta cellensis Schröt. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 108, 1913, p. 1—174 m. 104 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 141).

Hilton, W. A., The central nervous system of Tunica nigra (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 37, 1913, p. 113—130 m. 11 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 140).

Kemnitz, G. A., Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von Brachycoelium salamandrae (Arch. f. Zellforsch. Bd. 10, 1913, p. 470—506 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 142).

Kühtz, K., Über die Spermio- und Oogenese der Sclerostomum-Arten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Heterochromosomenforschung (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 83, Abt. 2, 1913, p. 191—265 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 143).

Kuschakewitsch, S., Studien über den Dimorphismus der männlichen Geschlechtselemente bei den Prosobranchiern 1. (Arch. f. Zellforsch. Bd. 10, 1913, p. 237—323 m. 26 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 140).

(Lewin, K. R., a. Martin, C. H.,) Fixation of soil protozoa (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 214; vgl. Nature vol. 92, 1914, p. 632).

Müller-Calé, K., Zur Entwicklungsgeschichte einiger Thecaphoren (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **37**, 1913, p. 83—112 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 140).

Prell, H., Das Chitinskelett von Eosentomon, ein Beitrag zur Morphologie des Insektenkörpers (Zoologica, H. 64, 1913, 58 pp. m. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 146).

Reinhard, L., Zum Bau der Spermien und zur Spermatogenese von Potamobius leptodactylus [Astacus leptodactylus] Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 324—342 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 150).

Sánchez y Sánchez, D., Sobra la estructura íntima de la fibra muscular en los invertebrados. Nota preliminar (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid. t. **11**, 1913, fasc. 1, p. 11—18 c. 2 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 145).

Sánchez y Sánchez, D., Sobre las terminaciones motrices en los insectos (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **11**, 1913, fasc. 2, p. 113—118 c. 2 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 146).

Schellenberg, A., Das akzessorische Chromosom in den Samenzellen der Locustide Diestrammena marmorata DE HAAN (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, p. 489—514 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 149).

Scheurig, L., Die Augen der Arachnoideen (Zool. Jahrb. f. Morph. Bd. **33**, 1913, p. 553—636 m. 15 Figg. u. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 150).

Wassermann, F., Die Oogenese des Zoogonus mirus Lss. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 2, 1913, p. 1—140 m. 43 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 145).

Wilke, G., Chromatinreifung und Mitochondrienkörper in der Spermatogenese von Hydrometra paludum FABR. (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 203—236 m. 7 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 149).

Zimmermann, K., Über die Fazettenaugen der Libelluliden, Phasmiden und Mantiden (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **37**, 1913, p. 1—36 m. 3 Figg. u. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 148).

b. Wirbeltiere.

Achúcarro, N., Ganglioneurom des Zentralnervensystems. [Histologische Beschreibung eines Falles mit besonderer Berücksichtigung der Veränderungen der Ganglienzellenkerne] (Folia-Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 6, p. 524—548 m. 5 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 166).

Achúcarro, N., y Calandre, L., El método del tanino y la amoniacal plata aplicado al estudio del tejido muscular cardíaco del hombre y del carnero (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid. t. **11**, 1913, fasc. 2, p. 131—143 c. 5 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 152).

Ahrens, H., Die Entwicklung der menschlichen Zähne (Anat. Hefte, H. 145 [Bd. **48**, H. 2], 1913, p. 169—266 m. 25 Figg. im Text u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 153).

Annap, E., Über die Chondriosomen der Gonocyten bei Knochenfischen (Anat. Anzeiger Bd. **44**, 1913. No. 19, p. 449—459 m. 5 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 156).

Biffi, U., Nuovo metodo per valutare il numero degli eritrociti nel sangue umano senza l'uso del microscopio o della centrifuga (Boll. soc. med. Anno **84**, 1913, ser. 9, vol. **1**, fasc. 6, p. 407—408).

Bindewald, C. A. E., Das Vorderhirn von Amblystoma mexicanum (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 1—74 m. 28 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 167).

Björkenheim, E. A., Golgis apparato reticolare interno in den Plazentarepithelien (Arch. f. Gynäkol. Bd. **100**, 1913, H. 2, p. 446—453 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 155).

Cramer, W., Feiss, H. O., a. **Bullock, W. E.,** The significance of the Marchi reaction in nerve degeneration, and its application as a specific stain for unsaturated ordinary fats [Preliminary communication] (Journ. of Physiol. vol. **46**, 1913, no. 4, 5, p. 51—52; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 166).

Dilger, A., Über Gewebskulturen in vitro unter besonderer Berücksichtigung der Gewebe erwachsener Tiere (Diss. med. Heidelberg 1913). 8°.

Göthlin, G. F., Die doppelbrechenden Eigenschaften des Nervengewebes, ihre Ursachen und ihre biologischen Konsequenzen (Kungl. Svenska Vetenskaps Akademiens Handlingar Bd. **51**, 1913, H. 1). Berlin (B. Friedländer & Sohn). (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 162.) 5 M.

Hayaski, A., Über das Verhalten der Gitterfasern in der Rachitismilz Jahrb. f. Kinderheilkde. Bd. **78**, 1913, H. 2, p. 196—211 m. 2 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 160).

Kreibich, K., Färbung der marklosen Hautnerven beim Menschen. 2. Mitt. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Ref. Bd. **115**, 1913, H. 9, p. 993—995).

Kuntz, A., On the innervation of the digestive tube (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, no. 3, p. 173—192 w. 5 figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 161).

Levi, G., Note citologiche sulle cellule somatiche dell'ovario dei mammiferi (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, p. 515—556 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 158).

Luna, E., Lo sviluppo dei plastosomi negli anfibi (Arch. f. Zellforsch. Bd. **31**, 1913, p. 583—629 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 159).

Marinesco, G., et **Minea, J.,** Culture des ganglions spinaux dans du plasma hétérogène (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 5, p. 213—215).

Maximow, A., Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 6. Über Blutmastzellen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 247—289 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 154).

McKibben, P. S., The eye-muscle nerves in Necturus (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, No. 3, p. 153—163 w. 6 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 159).

O'Donoghue, Ch. H., Über die Corpora lutea bei einigen Beuteltieren (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 2, 1914, p. 1—47 m. 1 Fig. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 157).

Oppermann, K., Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 2, 1913, p. 141—189 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 158).

Saguchi, S., Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Ebertsche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anuren nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 177—246 m. 5 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 151).

Tschassownikow, S., Über Becher- und Flimmerepithelzellen und ihre Beziehungen zueinander. Zur Morphologie und Physiologie der Zentralkörperchen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **84**, Abt. 1, 1914, p. 150—174 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 151).

Vance, B. M., A new staining method for bile canaliculae (Anat. Anzeiger Bd. **44**, 1913, No. 17, p. 412—413; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 161).

Weill, P., Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus (Arch. f. miskrosk. Anat. Bd. **83**, Abt. 1, 1913, p. 305—360 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 162).

Zimmermann, A., Über Konservierung von Hirnen und Herstellung von trockenen Gehirnpräparaten für den anatomischen Unterricht (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. **17**, 1913, H. 11/12, p. 514—524).

c. Mikroorganismen.

Baß, Ch., a. **Johns, F. M.**, Cultivation of malariae plasmodia (Plasmodium falciparum) in vitro in the blood of a diabetic without the addition of dextrose (Americ. Journ. trop. dis. a. prevent. med. vol. **1**. 1913, no. 3, p. 246—249).

Belin, M., Culture de virus vaccinal in vitro (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **75**. 1913, p. 348).

Berry, J. L., a. **Smeaton, M. A.**, Comparative tests of sputum by the Kinyoun and Elliman-Erlandsen methods (Journ. of infect. dis. vol. **14**. 1914, no. 1, p. 159—161).

Berthelot, A., Sur l'emploi du chlorure d'éthyle, pour la stérilisation des cultures microbiennes et la préparation des vaccins bactériens (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 1, p. 29—30).

Besredka, A., u. **Jupille, Fr.**, Ein neuer Nährboden für Tuberkelbazillen (Zeitschr. f. Tuberkulose Bd. **21**, 1913, H. 1, 2, p. 53—56).

Broeck, L. L. ten, A rapid method of isolating pathogenic streptococci from contaminated fields (Journ. Americ. med. Assoc. vol. 62, 1914, no. 1, p. 31—32).

Carpano, M., Sull' invoglio capsulare di alcuni batteri (Ann. Ig. Sperim. vol. 23, 1913, fasc. 2, p. 149—160; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. 12, 1914, no. 2, p. 55; diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 172).

Ciani, H., Sulla capsula del Bacillus anthrasis. Ricerche sperimentali (Ann. d. staz. per le mal. infett. del bestiame, Napoli 1911—1913, vol. 1, p. 245—263; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. 12, 1914, no. 4, p. 155).

Cunningham, A., Note on the plate method for enumeration of bacteria (Journ. of hyg. vol. 13, 1914, no. 4, p. 433—437).

Dieudonné, A., u. Baerthlein, K., Über Choleraelektivnährboden (Journ. of state med. vol. 21, 1913, no. 11, p. 672—678).

Fornet, W., Die Reinkultur des Pockenerregers (Berliner klin. Wochenschr. 1913, p. 1864—1867).

(**Glynn, E., Powell, M., Rees, A. A.,** a. **Cox, G. L.,**) Enumeration of bacteria (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 217; vgl. Journ. of Path. a. Bact. vol. 18, 1914, p. 379—400).

Gyenes, E., u. Sternburg, Fr., Über eine neue und schnelle Methode zum Nachweis der Spirochaete pallida in den Geweben (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. 50, 1913, H. 49, p. 2282—2283).

Hanau, A., Über neuere Diphtherienährböden (Zentralbl. f. Bakteriol Abt. 1, Orig. Bd. 72, 1913, H. 3, p. 245—249).

Henningfeld, Fr., Über die Isolierung einzelner Trypanosomen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 73, 1914, H. 3, p. 228—240; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 170).

Holmes, J. D. E., A note on the M'Fadyean staining reaction for anthrax bacilli (Agricult. research. institut Pusa. Bull. no. 36, 1913; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. 12. 1914, no. 4, p. 155).

Holzel, E., Beiträge zur Züchtung, Isolierung und Desinfektion des Rauschbrand-Bacillus (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 71, 1913, p. 147—161).

Isabolinsky, M., u. Smoljan, L., Über die Wirkung einiger Anilinfarbstoffe auf Bakterien. Nebst einem Beitrag über die Farbstoffestigkeit der Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 73, 1914, p. 413; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 172).

Konrich, Eine neue Untersuchungsmethode für anaërobe Stichkulturen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 74, H. 1, 2, 1914, p. 191—192).

Lumière, A., et **Chevrotier, J.,** Sur un nouveau milieu de culture éminemment propre au développement du gonocoque (Compt. Rend. Acad. Sc. Paris. t. 157, 1913. p. 1096).

(**Macalister, G. H.,**) Enumeration of bacteria (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 2, p. 217; vgl. Journ. of Pathol. a. Bact. vol. 18, 1914, p. 441—442).

Mendoza, A., Procedimiento para la obtencion de cultivos homogeneos del bacilo de la tuberculosis (Biol. Inst. nac. de hig. de Alfonso XII., 1913, Anno 13, no. 34, p. 69—73).

Mori, N., Di un nuovo batterio patogeno e di molti altri batteri nei quali può provocarsi l'individuazione di un nucleo tipico (Ann. d. staz. sper. p. l. malattie infett. del bestiame, Napoli 1911—13, vol. **1**; vgl. Bull. Inst. Pasteur t. **12**, 1914, no. 4, p. 156).

Muir, R., a. **Ritschie, J.**, Manual of bacteriology. 6th edit. XXIV a. 736 pp., 192 illustr. a. 6 pl. London (Frowde, Hodder a. Stoughton) 1913. 10 sh. 6 d.

Noguchi, H., Die Züchtung der Spirochaeta pallida (Wien. med. Wochenschr. Jahrg. **63**, 1913, No. 41, p. 2664—2667).

Noguchi, H., a. **Cohen, M.**, Experiments on the cultivation of so-called trachoma bodies (Journ. exper. medic. vol. **18**, 1913, no. 5, p. 572—578).

Oehler, R., Über die Gewinnung reiner Trypanosomenstämme durch Einzellenübertragung (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **67**, 1913, p. 569; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 170).

Ogata, M., u. **Takenouchi, M.**, Einfache Plattenkulturmethode der anaëroben Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 1, p. 75—77).

Reitz, A., Apparate und Arbeitsmethoden der Bakteriologie. Bd. **1**: Allgemeine Vorschriften, Einrichtung der Arbeitsräume, Kulturverfahren, Färbeverfahren, Bestimmungstabellen. Stuttgart (Franckhsche Verlagshandlung) 1914. 95 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 171.) 2·25 M., geb. 3 M.

Rochaix, A., Nouveaux milieux solides végétaux pour les cultures microbiennes (Journ. de phys. et de path. gén. t. **15**, 1913, no. 6, p. 1172—1177).

Rogers, L. A., The preparation of dried cultures (Journ. of infect. dis. vol. **14**, 1914, no. 1, p. 100—123).

Schulze, Eine Nachprüfung des von Conradi angegebenen Öltupferverfahrens zum Nachweis von Diphtheriebazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, H. 2, 1914, p. 148).

Sowade, Über die Kultur der Spirochaeta pallida (Med. Klinik Jahrg. **10**, 1914, No. 4, p. 161—164).

Szécsi, St., A new method of fixation (Journ. of state med. vol. **22**, 1914, no. 2, p. 99—106).

Thalhimer, W., A new hemaglobin agar medium for the cultivation of Bac. influenzae (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 1, 2, p. 189—191).

Thomson, J. G., a. **Fantham, H. B.**, The culture of Babesia (Piroplasma) canis in vitro (Ann. of trop. med. a. parasit. vol. **7**, 1913, no. 4, p. 621—631).

Thurn, O., Über die Lebensfähigkeit an Objektträgern angetrockneter, ungefärbter und gefärbter Bakterien (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, H. 1, 2, 1914, p. 81—90; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 173).

Totire Ippoliti, P., Sulla conservazione della vitalità dei miroorganismi nelle colture in tubi chiusi (La clinica veter., Anno **36**, 1913, no. 17, p. 767—778, no. 18, p. 820—826).

Toyoda, H., Züchtungsversuche mit Babesia canis nach der Bass'schen Methode (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. 72, 1913, H. 1, 2, p. 76—81).

Wiesner, L., Die neueren Methoden zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Auswurf und in Gewebsstücken (Wien. klin. Rundschau Jahrg. 27, 1913, no. 14, p. 211—214, no. 15, p. 228—230).

d. Botanisches.

Boresch, K., Über fadenförmige Gebilde in den Zellen von Moosblättern und Chloroplastenverlagerung bei Funaria (Zeitschr. f. Botanik Bd. 6, 1914, H. 2, p. 97; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 177).

Elfving, T., Untersuchungen über Flechtengonidien (Act. Soc. Sc. Fennicae t. **44**, no. 2 m. 8 Tfln. Helsingfors 1913; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 177).

Hanausek, T. F., Zur Mikroskopie einiger Faserstoffe (Papierfabrikant. Berlin 1914, H. 4).

Killian, K., Über die Entwicklung einiger Florideen (Zeitschr. f. Botanik Bd. 6, 1914, H. 3, p. 210; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 176).

Klinken, J., Über das gleitende Wachstum der Initialen im Kambium der Koniferen und den Markstrahlenverlauf in ihrer sekundären Rinde (Diss. Bonn 1913; gleichzeitig Heft 84 der Bibliotheca Botanica, Stuttgart 1914; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 175).

Maneval, W. E., The development of Magnolia and Liriodendron, including a discussion of the primitiveness of the Magnoliaceae (Bot. Gaz. vol. **57**, 1914, no. 1, p. 1; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 174).

Svedelius, N., Über die Tetradenteilung in den vielkernigen Tetrasporangienanlagen bei Nitophyllum punctatum (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **32**, 1914, H. 1, p. 48; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 175).

Svedelius, N., Über Sporen an Geschlechtspflanzen von Nitophyllum punctatum; ein Beitrag zur Frage des Generationswechsels bei Florideen (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 32, 1914, H. 2, p. 106; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 175).

Tröndle, A., Eine neue Methode zur Darstellung der Plasmodesmen (Verh. d. schweiz. naturf. Ges. Bd. **96**, p. 213—217).

Tswett, M., Zur Kenntnis des „vegetabilischen Chamäleons" (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. **32**, 1914, H. 1, p. 61; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 174).

Wand, A., Beiträge zur Kenntnis des Scheitelwachstums und die Verzweigung bei Selaginella (Flora N. F., Bd. 6, 1914, H. 3, p. 237; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 173).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Hanemann, H., a. **Endell, K.**,) Microscopic examination of metals by means of polarized light (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1. p. 93; vgl. Stahl u. Eisen Bd. **33**, 1913, p. 1644—1646).

(**Klugh, B. G.**,) Microstructure of sintered iron-bearing material (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 91; vgl. Bull. americ. inst. min. engineers 1913, no. 77, p. 813—828).

(**Mathewson, C. H.**,) Micrometry as applied to alloys (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 91; vgl. Met. a. Chem. Eng. vol. **11**, 1913, p. 619—621).

Weinschenk, E., Grundzüge der Gesteinskunde. Erster Teil: Allgemeine Gesteinskunde als Grundlage der Geologie. 3. Aufl. m. 138 Textfigg. u. 6 Tfln. (XII u. 274 pp.) Freiburg (Herdersche Verlagshandlung) 1913. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 178.) 6·60 M., geb. 7·30 M.

(**Wright, F. E.**,) Improved vertical illuminator (Journ. R. Microsc. Soc. 1914, pt. 1, p. 92; vgl. Journ. Washington Acad. Sci., vol. **3**, 1913, p. 14—16).

Wright, F. E., Graphical methods in microscopical petrography. — Graphical plot for use on the microscopical determination of the plagioclad feldspars (Americ. Journ. Sci. vol. **36**, 1913, p. 509—542 w. 10 plts.).

Schluss des redaktionellen Teils.

Gesuch

Für **dauernde** Stelle wird selbständiger, erfahrener

MIKROSKOPIKER

gesucht, der durch vollständige praktische und theoretische Beherrschung der Mikroskopik befähigt sein muß, sich auf jedem optischen Untersuchungsgebiet einzuarbeiten. Gefl. Offerten sind zu richten unter **„Mikroskop"** an S. Hirzel in Leipzig, Königstr. 2.

Band 31. Heft 2.

Über die Herstellung von Delaminationspräparaten von Hühnerkeimscheiben.

Von

weil. Prof. Dr. Otto Drasch.

Hierzu drei Textabbildungen und sechs Tafeln (Tab. II bis VII).

Vorbemerkung des Herausgebers. Auf dem diesjährigen Anatomen-Kongreß in Innsbruck nahm ich Gelegenheit, mehrere Präparate nebst den dazugehörenden stereoskopischen Photographien aus dem Nachlasse von Professor Otto Drasch, Graz, zu demonstrieren. Es handelte sich teils um Hühnerkeimscheiben, die sich noch im Stadium der Zweiblättrigkeit befanden und an denen das äußere Keimblatt entfernt war, teils um ältere Entwicklungsstadien, an denen das mittlere Keimblatt nach Entfernung von Ekto- und Entoderm allein vorlag. Derartige Präparate vermitteln naturgemäß einen viel klareren Einblick in den zellulären Aufbau des Entoderms, beziehungsweise in die Struktur des Mesoderms und die Bildungsweise der Blutgefäße in diesem als ihn intakte Keimscheiben gewähren, in welchen alle Blätter in normaler Anordnung untereinander liegen. Darum begegneten die Präparate auch bei allen Fachgenossen, die sie sahen, dem lebhaftesten Interesse und jeder erkannte rückhaltlos die große Geschicklichkeit ihres Verfertigers an.

Drasch hatte sich vom Jahre 1893 bis zu seinem Tode, der im Jahre 1911 erfolgt war, somit durch 18 Jahre, mit dem Studium junger Hühnerkeimscheiben — von der 4. bis etwa zur 40. Stunde der Bebrütung — beschäftigt. Die Sorgfalt und Gründlichkeit, mit der er alle Entwicklungsvorgänge verfolgte, und die hohen Anforderungen, die er an seine eigene Technik stellte, beweist am besten der Umstand, daß sich im Besitze des histologisch-embryologischen Institutes in Graz viele hundert, von seiner Hand delaminierte Keimscheiben aus dieser eng begrenzten Periode befinden. Leider hinterließ er aber kein abgeschlossenes Manuskript. Eine ganz kurze

Notiz im Anatomischen Anzeiger aus dem Jahre 1894[1], auf die Schaffer in seinem Nachrufe[2] schon hingewiesen hat, welche vor allem von der Entwicklung des Coeloms durch Zusammenfließen getrennter, blasiger Hohlräume und der damit in Zusammenhang stehenden Loslösung der Blutgefäße aus dem Verbande der übrigen mesodermalen Elemente handelt, ist das einzige, was Drasch auf Grund seiner Präparate publiziert hat. In seinem Nachlasse fanden sich außer zahlreichen, auf kleinen Zetteln verstreuten Notizen nur eine historisch-kritische Einleitung zur beabsichtigten großen Arbeit und die sich daranschließende genaue Darstellung der Methode.

Diese letztere übergebe ich im folgenden der Öffentlichkeit. Ich teile sie unverkürzt mit, teils aus Gründen der Pietät, teils weil die Schilderung einer subtilen Technik niemals zuviel an Detailangaben enthalten kann. Um die schönen Resultate, welche die Methode von Drasch liefert, auch denjenigen Fachgenossen vor Augen zu führen, welche die Originalpräparate nicht kennen, sind dieser Arbeit 6 Tafeln beigegeben, welche sich auf zwei verschiedene Entwicklungsstadien des Hühnchens beziehen und einerseits den nicht delamellierten Keim, anderseits den Keim nach Entfernung des äußeren sowie des äußeren und inneren Blattes zeigen. Den Tafelfiguren liegen Photographien zugrunde, die der Assistent des Institutes, Herr A. Hennike, noch zu Draschs Zeit angefertigt hat.

Mögen die mannigfachen Schwierigkeiten, die behufs Herstellung tadelloser Delaminationspräparate überwunden werden müssen, kein allzugroßes Hindernis bilden, daß die Methode gegebenen Falles Anwendung finde.

H. Rabl.

Den Ausgangspunkt vorliegender Arbeit bildete die Untersuchung der Chorda. Nirgends ist angegeben, wie selbe in den frühesten Stadien vorne endet. Davon wollte ich mich überzeugen. So mikrotomierte ich ein Dutzend Keimscheiben und war nach der Durchmusterung der Schnitte so klug als zuvor, d. h. ich fand wie alle andern Untersucher in der Serie auf eine Strecke weit die Querschnitte eines vom Entoderm vollständig getrennten Stranges. Ob aber dieser nach vorne spitz oder stumpf oder abgerundet aufhört, war nicht zu entscheiden. Der Gedanke lag nahe, daß man eine richtige Vorstellung über die fraglichen Verhältnisse sofort gewinnen müßte, wenn es gelänge das äußere Keimblatt zu entfernen, um die ganze Chorda überblicken zu können. Die langen Versuche, welche darauf abzielten, durch mazerierende Mittel die Ektodermzellen zu lockern und sie dann abzupinseln, lasse ich, als vollkommen verfehlt, unerörtert. So griff ich zur Präpariernadel und versuchte, an den in Alkohol gehärteten Keimen

[1]) Die Bildung der Somatopleura und der Gefäße beim Hühnchen. Vorläufige Mitteilung.

[2]) Anatomischer Anzeiger, Bd. 39.

das Ektoderm zu entfernen. Ich brachte den Keim auf einen Objektträger und legte eine Papiermaske darauf, deren runde Lichtung gerade nur die Area pellucida freiließ. Dies aus dem Grunde, um selben mit einer Nadel niederzuhalten, während ich mit einer anderen Stückchen um Stückchen des Ektoderms loszutrennen versuchte. Meine Geduld wurde freilich auf eine harte Probe gestellt. Denn es ist wohl einleuchtend, daß durch das geringste Zittern der Hand, oder wenn die Nadel auch nur um einen geringen Bruchteil eines Millimeters zu tief eindrang, die junge Keimscheibe sofort zertrümmert war.

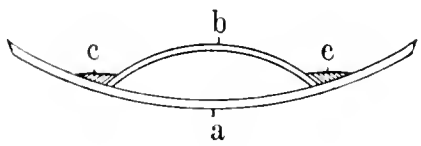
Ich stand aber von meinem Vorhaben nicht ab, und als ich nach vielen Wochen vergeblichen Bemühens und Opferung vieler Dutzende von Keimen das erste brauchbare Präparat erhielt, war ich überzeugt, daß bei weiterer Geduld und Ausdauer und Änderung der Methodik mein Vorhaben, auch das Entoderm zu entfernen, gelingen müßte. Ich arbeitete nun an ganz frischen Keimen, stand aber bald davon als aussichtslos ab. Ebenso erwiesen sich im Verlaufe die Papiermaske, namentlich aber der flache Objektträger als durchaus unpraktisch. Ich verwendete jetzt wieder eine Reihe von Reagentien, mit welchen die frischen aus dem Ei geschnittenen Keime in der Absicht behandelt wurden, sie ohne allzu starke Härtung für die Delamination noch geschmeidig zu erhalten. In der 5prozentigen Salpetersäure fand ich das Gesuchte. Die Anwendung dieses Reagens[1] ist folgende:

Das Ei wird am stumpfen Pole geöffnet, das Eiweiß durch Abgießen möglichst entfernt und der Dotter in die Flüssigkeit gebracht. Eine ihm stets noch anhaftende dünne Eiweißschicht muß erst im Reagens rasch mit einem Pinsel abgestreift werden, noch ehe sie ganz geronnen ist. Man läßt die Salpetersäure eine bis $1^1/_2$ Stunden einwirken. Dann wird der Dotter mit einem kleinen Schälchen herausgeschöpft, kurz im fließenden Wasser abgespült, die Keimscheibe in einiger Entfernung von ihrem Rande unter Wasser mit einer krummen Schere umschnitten, mit einer größeren Menge Dotters mittels eines Spatels abgehoben und sofort wieder in eine mit Wasser gefüllte Schale übertragen. Alles dieses muß natürlich schon mit der größten Behutsamkeit ausgeführt werden. In weitaus der Mehrzahl der Fälle hebt sich der Keim sofort vom Dotter ab, sowie er in das Wasser kommt. Darin lasse man ihn, ohne das Wasser zu wechseln, so lange ruhig liegen — 6 bis 12 Stunden — bis er bei der

[1]) Vorgreifend bemerke ich, daß höchstens vier Dotter auf einmal in einem Liter des Reagens eingelegt werden dürfen.

leisesten Schwenkung der Schale sich vom Dotter loslöst. Jetzt erst wird der vollkommen schmiegsame Keim noch einige Zeit in Wasser ausgespült.

Die Delamination gelingt allerdings am leichtesten, wenn selbe unmittelbar nach der Auswässerung des Präparates vorgenommen wird. Allein aus Gründen, welche später von selbst einleuchten werden, bringe ich die Keimscheiben nun in $^1/_3$ Alkohol. Die Präparation selbst wird mit gewölbten Objektträgern vorgenommen, von welchen ich zwei Arten benutze. Der in Figur 1 abgebildete besteht aus zwei aneinander gekitteten Uhrgläsern, der andere, Figur 2, ist aus Metall hergestellt und geschwärzt. Der Krümmungsradius des kleinen Schälchens in jenem und der der Kuppe in diesem entspricht dem Halbmesser der Dotterkugel. Ob man sich des einen oder des andern zu bedienen hat, lehrt Übung und Erfahrung. Als allgemeine Regel mag gelten,



1.

2.

daß für frühe Entwicklungsstadien der metallene vorzuziehen ist, weil das Präparat auf ihm leichter haftet.

Der Objektträger wird mit Wasser oder $^1/_3$ Alkohol gefüllt, der Keim dahin übertragen und nachdem die Flüssigkeit abgesaugt wurde, mit einem feinen Pinsel ausgebreitet. Ich stelle als Gesetz auf, daß jede Falte des Keimes, welche sich leicht, ohne jede Gewalt, verstreichen läßt, ein Kunstprodukt ist. Dahin gehören namentlich die Grenzrinnen von His, welche ich hiermit als abgetan betrachte.

Nun können zwei Wege eingeschlagen werden: entweder erhält man während der ganzen Arbeit das Präparat halb feucht, — demi-sécation nach Ranvier — oder man läßt dasselbe vom Rande her, bis auf eine bestimmte Entfernung von der Area pellucida ab, vollkommen eintrocknen. Ersteres Verfahren muß natürlich bei Keimen aus sehr frühen Stadien immer eingeschlagen werden, letzteres — kurz „Trocknungsmethode“ genannt — kann nur in Anwendung kommen bei älteren Keimscheiben, wenn man auf Ekto- und Entoderm, welche außerhalb der Grenze des Mesoderms liegen, verzichtet. In ersterem Falle handelt es sich lediglich um Fixierung durch Adhäsion, im

letzteren ist der Keim auf dem Objektträger sozusagen angeklebt. Selbstverständlich muß in beiden Fällen dafür Sorge getragen werden, daß das zu präparierende Feld stets denselben Feuchtigkeitsgrad beibehält. Man erreicht dieses, indem man während der Präparierung das Präparat nach Bedarf mit einem feuchten Pinsel betupft. Die Trocknungsmethode hat den großen Vorteil, daß man vollständig unter der Zusatzflüssigkeit präparieren kann, was die Arbeit ungemein erleichtert. Denn ein auf das Präparat gebrachter Tropfen, welcher gerade so groß ist, daß er dasselbe nur bis an die innere Grenze der ausgetrockneten Zone bedeckt, hält sich in dieser Form lange. Allmählich erst saugt er sich in die trockene Partie ein. Ist diese erreicht, läßt man sie wieder austrocknen, setzt einen neuen Tropfen auf und so fort.

Was die mechanische Ausführung der Delamination selbst betrifft, so kann ich nur allgemeine Regeln und Winke geben.

Recht schwierig ist der erste mit der Nadel auszuführende Einstich, sei es nun, ob es sich um die Lostrennung des Ekto- und Entoderms vom Mesoderm, oder dieses vom Entoderm handelt. Es kommt nämlich vor allem darauf an, von dem abzuhebenden Blatte mit der Nadelspitze ein kleines Fältchen zu erhaschen, welches emporgehoben und eingerissen wird. Nun führt man die Nadel unter das Rißende ein, spießt dasselbe auf, und sucht jetzt dasselbe in sanftem vorsichtigen Zuge abzustreifen. In dieser Art wird Partikelchen um Partikelchen abgetragen, indem man fort und fort die Nadel unter die entstandenen Rißenden einführt, selbe aufhebt und abzieht.

Jedoch stelle man sich diese Arbeit nicht zu leicht vor. Denn die Keimscheibe zeigt bezüglich der Kontiguität ihrer Blätter eine merkwürdige Eigenschaft, welche ich nicht erklären kann, und das, was ich in dieser Beziehung vorzubringen habe, gilt ganz besonders für die Lostrennung des Entoderms. Versucht man nämlich in einem gegebenen Falle das eingerissene Ekto- oder Entodermfältchen z. B. peripherwärts abzustreifen, so gelingt dieses nicht, da das Mesoderm ebenfalls mitgerissen wird, ebensowenig, wenn der Zug gegen das Zentrum des Keimes ausgeübt wird, hingegen leicht, wenn er beispielsweise parallel mit der Peripherie des Keimes geschieht. Und an einer anderen Keimscheibe genau desselben Stadiums stößt man auf das gerade Gegenteil. Hat man also das Fältchen mit der Nadel erfaßt, so sehe man zuerst, ob nicht, wenn man dasselbe zu ziehen beginnt, auch das Mesoderm mit emporgehoben wird. Ist dieses der Fall, so ändere man die Zugsrichtung, eben so lange, bis letzteres nicht mehr eintritt. Die dabei sich darbietenden Schwierigkeiten

kann wieder nur Geduld und Ausdauer mit Aufopferung so manchen Keimes überwinden, und ich erkläre, daß derjenige, welcher über obige Eigenschaften nicht im reichen Maße verfügt, lieber gar nicht den Versuch einer Delamination unternehmen soll. Ich selbst habe erst nach monatelangem Bemühen an zahllosen Keimen das erste Präparat erhalten, an welchen nur das Ektoderm ohne jede Verletzung der übrigen Blätter abgehoben war. Und das waren Keimscheiben der 14. bis 16. Bebrütungsstunde. Noch ungleich mühevoller als die Entfernung des Ektoderms ist die darauffolgende des Entoderms. Mit der fortschreitenden Entwicklung des Keimes wird die Arbeit selbstverständlich stets schwieriger und schwieriger und ich mußte mich sozusagen für jedes Stadium erst immer und immer wieder einüben. Auch begnügte ich mich nicht, das sei schon hier hervorgehoben, von einem Stadium nur ein Flächenpräparat des Mesoderms zu erhalten, weil ich bald erkannte, daß die Mesoderme derselben Entwicklungsstufe so sehr in ihrer Struktur voneinander abweichen, daß man mit dem ersten Blicke meinen könnte, es handle sich um ganz verschiedene Formationen.

In den ersten Jahren meiner Untersuchung brauchte ich zur Freilegung eines Mesoderms, selbst sehr früher Stadien, 2 bis 3 Tage; das war der Grund, daß ich zu dem konservierenden $^1/_3$ Alkohol griff. Jetzt freilich besitze ich die Fertigkeit, dies in wenigen Stunden zu erreichen — allerdings geht noch mancher Keim zugrunde —, und so habe ich in zwölfjähriger Arbeit[1] mehr als 4000 Eier verarbeitet. Ich legte nämlich für jedes zu untersuchende Stadium 10 bis 12 Eier in den Brütofen, in der Überzeugung, daß es nur so gelingen könnte, das allmähliche Wachstum des Keimes in ununterbrochener Reihe überblicken zu können, und da natürlich die Zerlegung nicht an allen Keimscheiben gelang, so wiederholte ich dieses Verfahren für jedes Stadium zum öfteren.

Nun noch einige besondere Winke. Bezüglich der Entfernung des Ektoderms beginnt man bei Keimen, welche noch keinen Primitivstreifen, wohl aber den Embryonalschild zeigen, mit dem Einstich in diesen und versucht die Abtragung peripherwärts. Wenn der Primitiv-

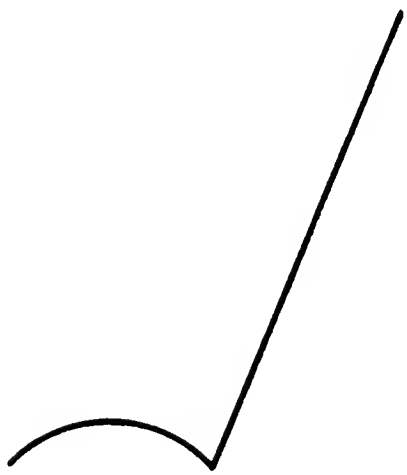
[1]) Anmerkung des Herausgebers. Da Drasch in einem Briefe aus dem Jahre 1895 an Hofrat von Ebner, den mir dieser gütigst zur Verfügung stellte, sagt, daß er bereits fünf Semester der Arbeit gewidmet habe, so dürfte er sie anfangs 1893 begonnen haben. Damit würde die Zeit der Abfassung des vorliegenden Manuskriptes mit dem Jahre 1904 oder 1905 bestimmt sein.

streifen, mit oder ohne Rinne, schon vorhanden ist, muß dieser zuerst ringsum durch unmittelbar aneinanderstoßende Nadelstiche gleichsam eingesäumt werden. Ist dieses ausgeführt, dann versucht man die Delamination, entweder von der Stichreihe aus nach außen oder von der Grenze der Area opaca und pellucida her nach innen. Ebenso wird die Medullarrinne und das Medullarrohr umstochen. Ist erstere noch ziemlich flach, so trennt man von derselben Stück um Stück, von der Primitivrinne beginnend, nach vorne zu. Hat sie sich aber vorne bereits tief eingesenkt, so beginnt man mit der Präparation etwa 1 mm von ihrem vorderen Ende entfernt, indem man wieder nach vorne zu Stückchen um Stückchen abzubröckeln versucht. Ist dieses gelungen, setzt man die Nadel wieder 1 mm weiter hinten ein und so fort. Liegt das schon mehr oder minder geschlossene Medullarrohr vor, so verfährt man auf dieselbe Weise: man schält dasselbe partienweise, vorne beginnend und nach hinten schreitend aus dem Mesoderm heraus. In beiden besprochenen Fällen ist aber zuerst das übrige Ektoderm zu entfernen.

Für die Lostrennung des Entoderms gilt als ausnahmslose Regel, daß der erste Stich im hinteren Teile der Keimscheibe an der Grenze zwischen Area pellucida und opaca zu machen ist. Man versuche stets zuerst den Keimwall nach außen, den übrigen Teil des Blattes von außen nach innen abzuziehen. Will man nach Entfernung des Ektoderms auch das Mesoderm vom Entoderm abpräparieren, so empfiehlt es sich, das bereits bloßliegende Mesoderm mit einer sehr schwachen Eosinlösung zu bepinseln, um dasselbe, namentlich die Blutinseln, deutlicher zu machen.

Große Sorgfalt ist auf die Härtung und Einschließung der Präparate zu verwenden. Erstere wird mit dem Uhrglasobjektträger vorgenommen, indem man mit einem Pinsel, welcher der Reihe nach in 50prozentigen, dann 70prozentigen Alkohol getaucht wird, das Präparat fortwährend bestreichend ausgleicht und so jede Faltenbildung verhindert. Erst wenn eine solche nicht mehr zu beobachten ist, wird es mit 95prozentigem und schließlich mit absolutem Alkohol übergossen. Nach der Färbung, welche ich nur mit Hämatoxylin und Eosin vornehme, bringt man das Präparat auf eine Spatel mit gekrümmter Fläche (Fig. 3), worauf es endgültig entwässert wird. Auf dieser wird es durch eine Reihe von Schälchen durchgeführt, welche mit einer Alkohol-Bergamottölmischung derart gefüllt sind, daß das erste nur eine Spur des Öles, das letzte nur eine solche von Alkohol enthält. Man hat aber peinlich darauf zu sehen, daß das Präparat während

dieses ganzen Verfahrens sich nie von der Spatel abhebt. Jetzt erst wird dasselbe, noch immer auf der Spatel liegend, in eine mit reinem Bergamottöl gefüllte Schale übertragen, welche auf dem Boden zwei parallele Leisten besitzt (Seifenschale), über welche der Objektträger ruht. Es darf in der Schale nur soviel Öl vorhanden sein, daß bei horizontaler Stellung derselben der Objektträger eben noch davon bespült und erst bei einer Neigung der Schale vollkommen unter das Öl getaucht wird. Auf dem Objektträger wird vorerst ein Tropfen ziemlich dickflüssigen Kanadabalsams oder Damarharzes aufgetragen, welchen man, der Größe und Konkavität des Präparates entsprechend, linsenartig formt. Der Rand des Balsams wird an der unteren Fläche des Objektträgers mit einem Glasbleistift markiert.

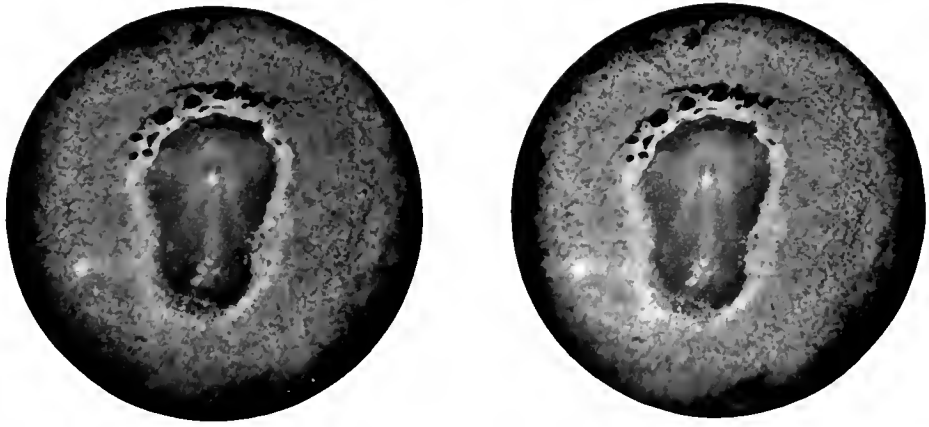


3.

Hat man die Sicherheit, daß der Keim vollständig vom Öle durchtränkt ist, so wird er mit einem Pinsel von der Spatel unter dem Öle abgestreift: er behält jetzt seine konvex-konkave Form bei. Nun neigt man die Schale und führt das Präparat mit dem Pinsel über die Balsamlinse, die Schale wird vorsichtig horizontal gestellt, und so senkt sich das Präparat auf den Balsam nieder. Nach der Reinigung des Objektträgers vom Öle wird auf das Präparat ein entsprechend größerer Tropfen dünnflüssigen Balsams gegeben und das Deckgläschen ohne merklichen Druck aufgesetzt.

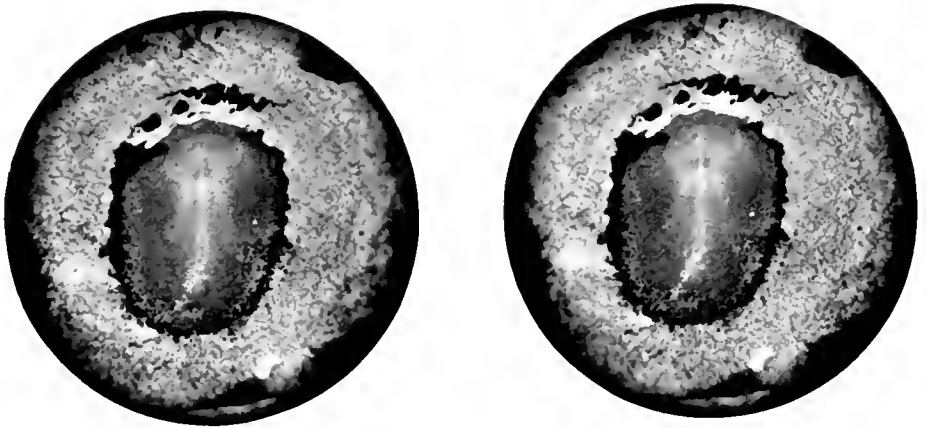
Eine große Anzahl von Präparaten habe ich zwischen zwei verschieden große Deckgläser eingekittet, um sie bequem von beiden Flächen her studieren zu können. Das Übertragen des Präparates auf das größere erfolgt auf demselben Wege, der eben beschrieben wurde, nachdem man dieses Deckglas provisorisch auf einem Objektträger befestigt hat.

* * *



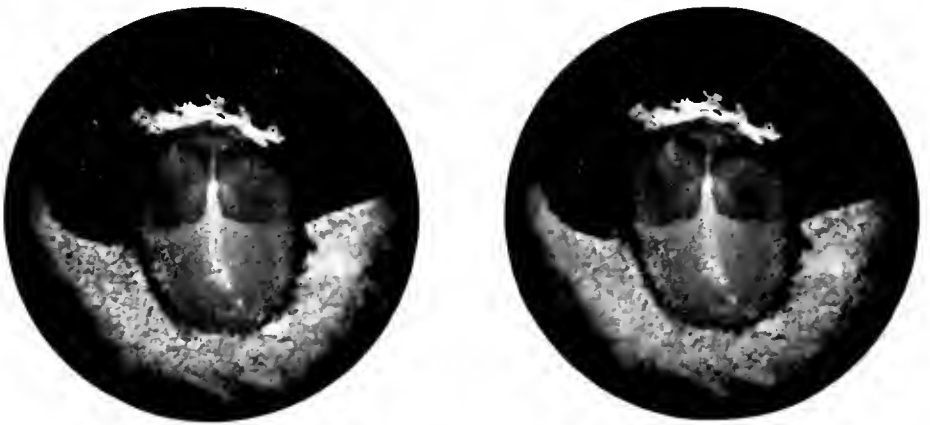
Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

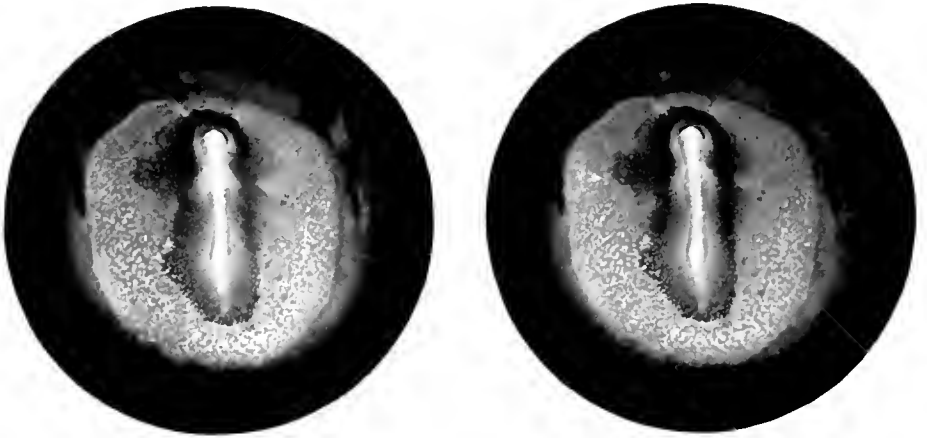


Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

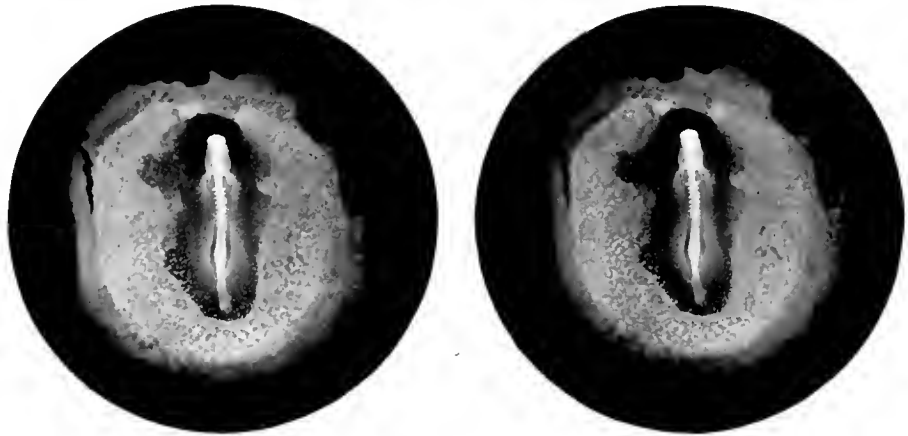


Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

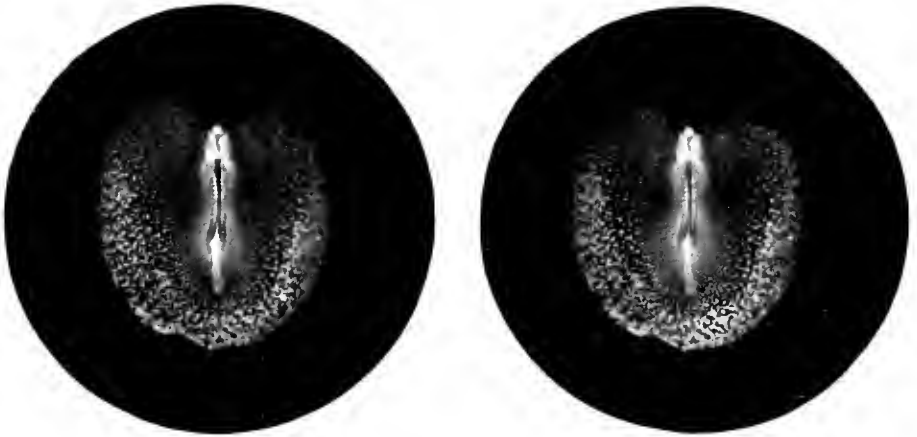


Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

Erklärung der Tafeln.

Tafel II.

Keimscheibe eines Hühnerembryo mit Primitivstreifen und Kopffortsatz, nicht delamelliert, Ansicht von der Bauchseite.

Tafel III.

Dieselbe Keimscheibe wie auf Tafel II, ebenfalls von der Bauchseite aufgenommen. Das Ektoderm ist bis auf einen kleinen Lappen, der im Bereiche des Kopffortsatzes stehen gelassen wurde, abpräpariert. Infolge anderer Beleuchtung ist hier die vordere Hälfte des Keimes undurchsichtiger als in der ersten Aufnahme.

Tafel IV.

Dieselbe Keimscheibe wie auf den Tafeln II und III. Rückenansicht. Im Bereiche der vorderen Hälfte der Keimscheibe, die allseitig freigelegt wurde, ist auch das Entoderm entfernt; daher liegt dort das Mesoderm vollkommen isoliert vor. Man beachte die fächerförmige Verbreiterung des vorderen Endes des Kopffortsatzes.

Tafel V.

Hühnerembryo mit neun Urwirbeln. Rückenansicht nicht delamelliert.

Tafel VI.

Derselbe Embryo wie auf Tafel V, ebenfalls Rückenansicht. Das Ektoderm ist bis an die Anlage des Zentralnervensystems heran abpräpariert.

Tafel VII.

Das gleiche Präparat wie auf den Tafeln V und VI. Rückenansicht. Das Mesoderm ist durch Entfernung des Entoderms vollständig freigelegt.

Der Leser wird gebeten, die Photographien nicht mit unbewaffnetem Auge zu betrachten, sondern sie mit Hilfe eines passenden Stereoskopes zu studieren. Nur so gewinnt man eine klare, weit plastische Vorstellung über die Beziehungen der im Keime zur Anlage gelangenden Organe zu den Blättern desselben.

[Eingegangen am 25. Juni 1914.]

[Zoologisches Laboratorium der Kgl. Forstakademie in Eberswalde, Moltkestraße 19.]

Klapp-Reflex-Kameras mit doppeltem Bodenauszug als Universalinstrumente für wissenschaftliche Makro- und Mikro-Photographie.

Von

Dr. Max Wolff
in Eberswalde.

Hierzu vier Textabbildungen und eine Tafel (Tab. VIII).

Für wissenschaftliche Aufnahmearbeiten müssen von der zur Verwendung gelangenden Kamera eine Reihe von Eigenschaften verlangt werden, von denen eine bisher wohl lediglich deshalb nicht nach Gebühr gewertet worden ist, weil sie einzig und allein dem Typ der Spiegel-Reflex-Kamera eigentümlich ist, und gerade dieser Typ bis vor kurzem allen Bemühungen der Technik gegenüber sich recht spröde erwies, ihm auch die andern Eigenschaften, die ein universell für wissenschaftliche Zwecke brauchbarer Apparat zeigen soll, zu sichern. Ich meine die Sichtbarkeit des Bildes bis zum Augenblick der Exposition der Platte in identischer Größe und zwar seitenverkehrter, aber aufrechtstehender Abbildung.

Es hieße Allzubekanntes wiederholen, wollte ich hier noch besonders darauf hinweisen, daß es z. B. bei Aufnahmen von frei sich bewegenden Tieren, welcher Art sie auch angehören mögen, und gleichviel, ob es sich um Landtiere, um Bewohner der Lüfte, oder um Aufnahmen aus dem schwierigen Kapitel der Aquarien- und Unterwasser-Photographie handelt, erwünscht ist, denjenigen Kamera-Typ zu verwenden, der das Sucher-Problem in idealer, eben näher charakterisierter Weise gelöst hat, das heißt die Spiegel-Reflex-Kamera. Nur sie bietet Gewähr, daß man genau das auf die Platte bekommt, was man haben wollte, und genau in dem Abbildungsmaßstabe, den man

wünschte, und daß endlich das Resultat so wenig als möglich von der zufälligen Aufnahmebereitschaft abhängt — alles Bedingungen, deren Erfüllung von jedem Instrument zu verlangen ist, das für wissenschaftliche Arbeit universell Verwendung finden soll.

Denn gerade bei den Aufgaben der wissenschaftlichen Photographie ist es mindestens in hohem Maße erwünscht, daß wir in jedem Augenblick so sicher als irgend möglich gehen, da eine bestimmte Konstellation, ein bestimmtes Aufnahmeobjekt sich vielleicht überhaupt nie wieder, oder nie wieder so, wie wir es im Bilde festzuhalten wünschten, bietet. Es ist also klar und ich darf es jedenfalls beim Leser als bekannt voraussetzen, daß sich hier die Interessen, wie sie im allgemeinen der Amateur verfolgt, wie sie dem mehr sportlichen Betriebe der Lichtbildkunst entsprechen, scharf von denen unterscheiden, die den Zoologen, Ethnographen oder Mediziner bei der Verwendung der Photographie im Dienste seiner speziellen wissenschaftlichen Aufgaben leiten. Es gibt nicht viele Beziehungen, wo sich diese Differenz so deutlich ausdrückt, wie in den Anforderungen, die der Amateurphotograph auf der einen, der wissenschaftliche Photograph auf der anderen Seite, an den Sucher-Mechanismus stellen müssen. Dem einen genügt ein gewöhnlicher Sucher und eine gutgearbeitete Einstellskala, der andere kann unter keinen Umständen auf die Mattscheibe und bei Momentaufnahmen meist nicht auf die Mattscheibe einer Spiegel-Reflex-Kamera verzichten.

Freilich war bis zum Erscheinen der hier eingehender zu besprechenden Ernemann'schen neuen Klapp-Reflex-Kamera mit doppeltem Bodenauszug in vielen Fällen ein unangenehmer Verzicht nicht zu umgehen: nämlich der Verzicht darauf, den Abbildungsmaßstab innerhalb weiter Grenzen und in bequemer Weise variieren zu können. Diese Möglichkeit boten bisher Spiegel-Reflex-Kameras nur dann, wenn sie mit entsprechenden Vorbauten versehen wurden, oder wenn man Verzicht darauf leistete, daß das Objektivbrett jene unbedingte Stabilität besaß, die wieder gerade für die Ausnützung unserer besten Anastigmate und Tele-Kombinationen Voraussetzung ist.

Denn tatsächlich ließen in dieser Beziehung unsere mit Auszug versehenen Reflex-Kameras sehr zu wünschen übrig, in solchem Maße, daß im Kamerabau altangesehene Firmen durch nichts zu bewegen waren, die Einstellung an ihren Apparaten anders, als durch die Schneckengangfassung des Objektives zu bewirken, was natürlich bedingte, daß eine Abbildung in nur geringer Reduktion des natürlichen Maßstabes oder gar in natürlicher Größe mit diesen Instrumenten nicht erhalten werden konnte.

Damit war die Verwendbarkeit des sonst für wissenschaftliche Zwecke so ausgezeichnet brauchbaren Kameratyps in sehr empfindlicher Weise eingeschränkt.

Diese Einschränkung der Verwendbarkeit der Reflexkameras war um so bedauerlicher, als ein ganz besonders ihnen eigener Vorzug, daß nämlich das Arbeiten mit vertikal nach oben oder nach unten (unter Verwendung von Neigern) gerichteter Kamera infolge ihrer Ausrüstung mit zwei Mattscheiben genau so bequem ist, wie bei der horizontalen Stellung (was bei keiner anderen Kamera der Fall ist), nun gerade bei Aufnahmen, die lange Balgenauszüge erfordern, nicht ausgenützt werden konnte. Dabei ist gerade bei Aufnahmen in schwacher Vergrößerung oder natürlicher Größe die Möglichkeit, auf zwei verschieden ausgebildeten Einstellscheiben (Mattscheibe und Stichkreuzscheibe) fast gleichzeitig auf dasselbe Objekt einstellen zu können, von praktisch ganz außerordentlichem Werte.

Was der allgemeinen Verwendung von Spiegel-Reflex-Kameras für die wissenschaftlichen Zwecke des Biologen, Arztes usw. bisher also im wesentlichen im Wege stand und die Bevorzugung des Typs der Reisekameras und sogen. Universalkameras erklärt, das war der den erstgenannten, bei Erfüllung der Forderung höchster Stabilität mangelnde ansehnliche Balgenauszug und die wesentlich kompendiösere Form der letzteren Reise- und Universal-Kameras, etwa 9×12 oder 13×18 Modelle sind z. B. an sich für mikrophotographische Arbeiten ebensogut verwendbar, wie die speziellen sogen. mikrophotographischen Kameras, besonders, seitdem uns das Geigersche Universal-Tisch-Stativ in die Lage setzt, an Stelle mehr oder minder mangelhafter Improvisationen über eine vollwertige und äußerst vielseitige Apparatur zur Verwendung einer beliebigen Kamera für diese Zwecke zu verfügen.

Denn Reise- und Universal-Kameras der gedachten Formate haben immerhin Balgenauszüge von 34 (z. B. Universal-Palmos 9×12) bis 40 cm, das ist also etwas mehr, als ihn die kleinen mikrophotographischen Vertikal-Kameras, und soviel oder fast soviel, als die mikrophotographischen Vertikal-Horizontal-Kameras Auszugslänge zu besitzen pflegen.

Mit einer derartigen Auszugslänge können auch unter Benutzung der gebräuchlichen Brennweiten (15 bis 18 cm) Aufnahmen in natürlicher Größe gemacht und, wenn aus ansehnlicher Entfernung ein Objekt größer abgebildet werden soll, als die Brennweite des verwandten Dublets es erlaubt, die Hinterlinse dieses Objektivs oder ent-

sprechend langbrennweitige Instrumente benutzt werden, die auch dann erforderlich sind, wenn die Perspektive des Photogrammes möglichst der des natürlichen Sehens entsprechen oder die Verkürzung in der Tiefe vielleicht noch weiter abgeschwächt werden soll.

Ferner beherrschen wir bei einer Balgenlänge von 35 cm, wie sie die bisher vorwiegend benutzten gewöhnlichen und mikrophotographischen Kameras durchschnittlich aufweisen, das so eminent wichtige Gebiet der Aufnahmen in Lupenvergrößerung mit kurzbrennweitigen Anastigmaten (Mikro-Leukaren, Mikro-Summaren, Mikro-Planaren usw.) in einer für die meisten wissenschaftlichen Zwecke vollkommen ausreichenden Weise.

Und bei den eigentlichen mikrophotographischen Arbeiten mit dem Mikroskop gelangen wir unter Verwendung von Immersionsobjektiven und mittleren Kompensationsokularen zu mehrtausendfacher Vergrößerung, die häufig notwendig ist, um auch bei der Reproduktion der Photogramme das Detail zur Geltung kommen zu lassen, d. h. um das Auflösungsvermögen der Objektive mit höchster Apertur auch hierfür ausnützen zu können. Mit solcher Universalität konnten die bisher gebauten Spiegel-Reflex-Kameras nicht konkurrieren.

So bevorzugte man für die Arbeiten im Laboratorium die universelleren Apparate und — verzichtete dann nur zu häufig, aus unfreiwilliger Sparsamkeit oder aus mangelndem Verständnis, bei der photographischen Ausrüstung der Laboratorien auf die Verwendung der Spiegel-Reflex-Kameras auch da, wo sie zweifellos mindestens für einen Teil der Arbeiten die gegebenen Werkzeuge gewesen wären.

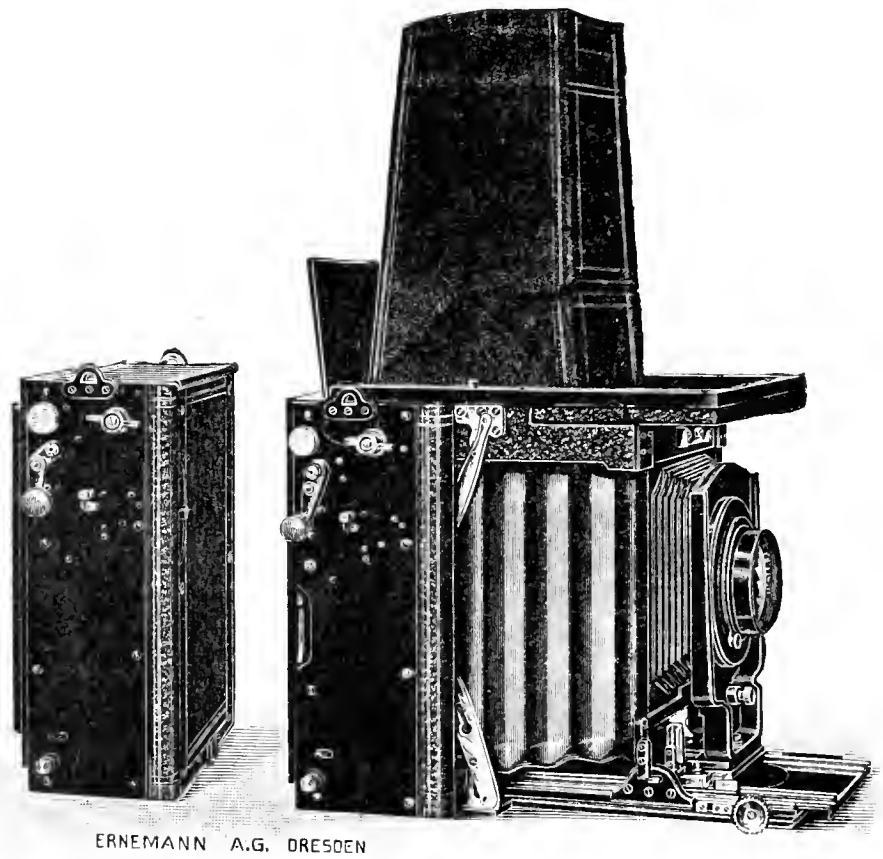
Und darin wurde man noch bestärkt durch den Fehler der Schwerfälligkeit, der den allein für solide-konstruierbar angesehenen auszugslosen, d. h. annähernd würfelförmig gebauten Reflexkameras tatsächlich anhaftete.

Erst die neue Ernemannsche Klapp-Reflex-Kamera[1] hat in dieser Beziehung Wandel geschaffen, denn sie besitzt die gleiche Auszugslänge und die Stabilität der Objektivstandarte, wie sie die besten Reise- und sogen. Universal-Kameras aufweisen, sie ist ebenso kompendiös, wie jeder, für wissenschaftliche Arbeiten genügend stabil gebaute Universalapparat, aber ihm weit an Aufnahmebereitschaft überlegen, — in dem Maße überlegen, daß sie, wie ich nach über einjähriger intensiver Verwendung bei meinen entomologischen Studien

[1]) Vgl. auch die erste Anzeige in Eders Jahrb. f. Photogr., Bd. 26, 1912, p. 305.

mit aller Bestimmtheit behaupten darf, hinter keiner einfachen (d. h. auszugslosen) Klappkamera zurücktsteht.

Ich möchte den Leser im folgenden näher mit den Leistungen der neuen „Klapp-Reflex“, deren Bau unsere Textfiguren 1 *a, b* und *c* genügend veranschaulichen dürften, bekannt machen.



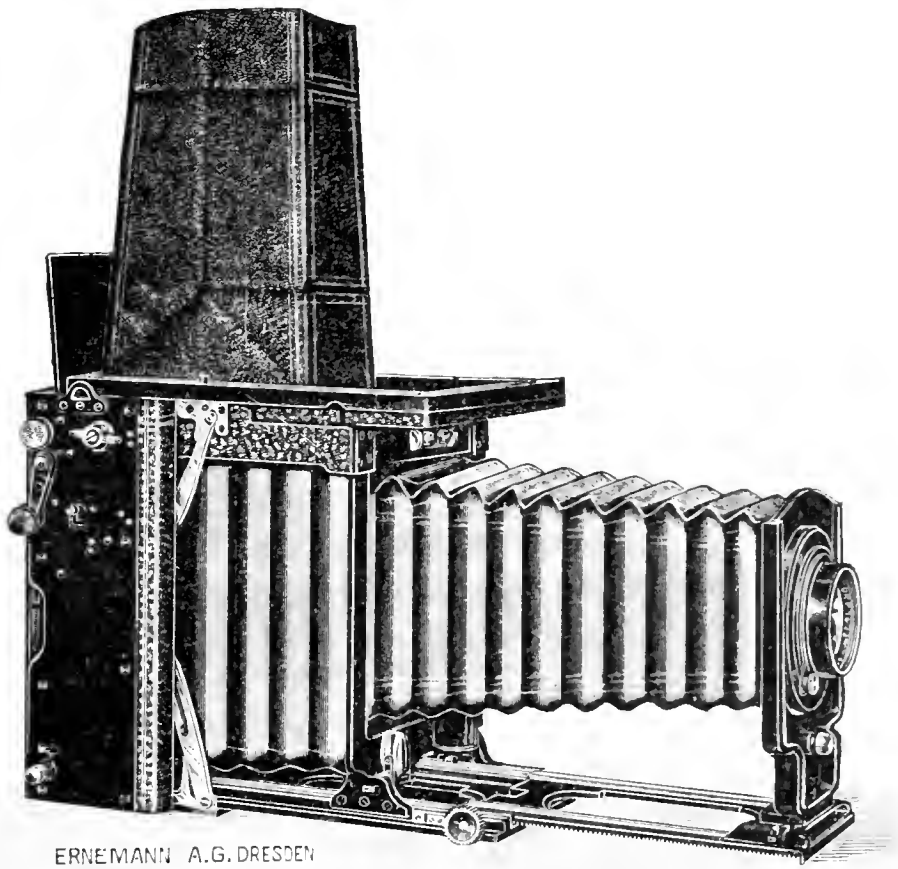
1 a. 1 b.

Ernemanns Klapp-Reflex-Kamera.

a. Zusammengelegt.
b. Aufnahmebereit für Objekte in größerer Entfernung.

Den Bau der „Klapp-Reflex“ anlangend, die selbstverständlich in allen Teilen beste Präzisionsarbeit darstellt, möchte ich nur bemerken, daß sie im zusammengelegten Zustande nicht größer, als jede andere 9×12 Schlitzverschluß-Klappkamera von quadratischer Bauart und mit verstellbarem Laufboden ist, und daß sie in praxi ebenso schnell, wie eine solche, aufnahmebereit gemacht wird. Trägt man das Instrument am Halsriemen, selbstverständlich zusammengelegt, aber mit geöffneter Kassette, so bewirkt der Vorsprung, den die prinzipiell bessere

im Spiegelmechanismus gegebene Sucher-Einrichtung[1] gewährt, daß man mit der neuen „Klapp-Reflex“ ebensoschnell „zu Schuß“ kommt, als ein mit einer gewöhnlichem Klappkamera (mit unveränderlichem Balgen) ausgerüsteter Photograph. Das habe ich mehrfach festgestellt und erscheint mir für die Praxis der Tierphotographie sehr wichtig.



1c.

Ernemanns Klapp-Reflex-Kamera.
c. Maximaler Balgenauszug (37 cm).

Der in die Kamera eingebaute Schlitzverschluß ist für Zeit- und Moment-Aufnahmen bis $^1/_{2500}$ Sekunde eingerichtet und arbeitet äußerst geräuschlos und erschütterungsfrei und kommt (wenn man nicht etwa absichtlich ihn sinn- und anweisungswidrig benutzt) nie in Unordnung. Das kann man bekanntlich nicht von jedem Schlitzverschluß nach $1^1/_2$jährigem intensivem Gebrauch sagen. Spannung

[1]) Der Lichtschutz richtet sich automatisch auf!

und Schlitzbreite sind von außen verstell- und ablesbar. Wichtig ist auch, daß dieser Schlitzverschluß infolge seiner zwangläufigen Kuppelung mit dem Spiegel genau die gleiche Sicherheit gegen unbeabsichtigtes Exponieren der Platte bietet, wie die Verschlüsse mit gedecktem Aufzug. Der hintere Mattscheibenrahmen ist drehbar für Hoch- und Queraufnahmen, und zwar ist sehr verständigerweise mit dieser Drehung die Bildbegrenzung auf der oberen Mattscheibe, die durch einen sehr sinnreichen, einfachen Mechanismus gesondert betätigt wird, nicht fest verkuppelt[1].

Das Aufnahmebereich, die „Darstellungsbreite" der neuen Klapp-Reflex-Kamera kann ich folgendermaßen umgrenzen:

I. Nah-Aufnahmen.

a. Eigentliche Mikro-Aufnahmen.

Die Balgenlänge von 370 mm und die Präzision, mit der beide Mattscheiben fokussiert sind, lassen noch die Verwendung stärkster Immersionssysteme und Kompensationsokulare zu. Man erhält dann z. B. mit einem 2 mm Apochromaten und Komp. Okular 12 bei maximal ausgezogenem Balgen 3000fache Vergrößerung. Man bedarf aber natürlich durchaus nicht dieses stärksten für mikrophotographische Arbeiten noch in Betracht kommenden Kompensationsokulares (Komp. Ok. No. 18 kann wenigstens nur sehr selten mit Vorteil benutzt werden), um eine für die Darstellung subtilster Strukturen (auch in der Reproduktion der Originalphotographie) völlig ausreichende Vergrößerung zu erhalten. Das zeigt folgende Zusammenstellung, die sich auf die Objektive und Okulare eines Winkelschen Mikroskopes bezieht. Bei einem Balgenauszug der „Klapp-Reflex" von 370 mm erhält man unter Verwendung von

Objektiv	Komp. Ok.	eine Vergrößerung
Fluorit 14 mm	No. 6	$\frac{380}{1}$
„ 4·5 „	„ 6	$\frac{840}{1}$
Apochromat 2 „ (Öl-Immersion)	„ 6	$\frac{1800}{1}$

Ich benutze für die Aufnahme von Mikrophotogrammen mittels verschiedener Reise- und Universal-Kameras und der „Klapp-Reflex" seit

[1]) Solche Kuppelungen kommen erfahrungsgemäß auf Reisen sehr leicht in Unordnung!

zwei Jahren ausschließlich eine Neukonstruktion des Herrn G. Geiger-München (die ich später an dieser Stelle beschreiben werde), sein für alle im Laboratorium des wissenschaftlich arbeitenden Mediziners und Biologen vorkommenden makro- und mikrophotographischen Arbeiten gleich ausgezeichnet geeignetes und eine wirkliche ideale Universalität aufweisendes Universal-Tisch-Stativ (Fig. 2*a* zeigt die Apparatur in der Zusammenstellung für makroskopische Aufnahmen).

Bei den stärksten Vergrößerungen hat man sich natürlich künstlicher Lichtquellen zu bedienen. Ich verwende seit Jahren die Geiger-schen Ewox-Miniatur-Scheinwerfer, die besten selbstregulierenden und die wichtige Fixpunkteigenschaft in unübertroffener Weise realisierenden Bogenlampen, die heute existieren und auch deshalb eine große Verbreitung nicht nur in öffentlichen, sondern auch in privaten Laboratorien erlangt haben, weil sie ohne weiteres an jede Schwachstrom-Lichtleitung anschaltbar sind. Auf Figur 2*b* ist das neuste, mit nur $2^1/_2$ Amp. brennende Modell zu sehen, das für mikrophotographische Zwecke ganz besonders geeignet ist (vgl. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **29**, p. 328).

Was mit der neuen „Klapp-Reflex" mikrophotographisch geleistet werden kann, dürfte unsere Tafelfigur zur Genüge illustrieren.

b. Aufnahmen in schwacher Vergrößerung (Lupenvergrößerung) mit anastigmatisch korrigierten mikrophotographischen Objektiven.

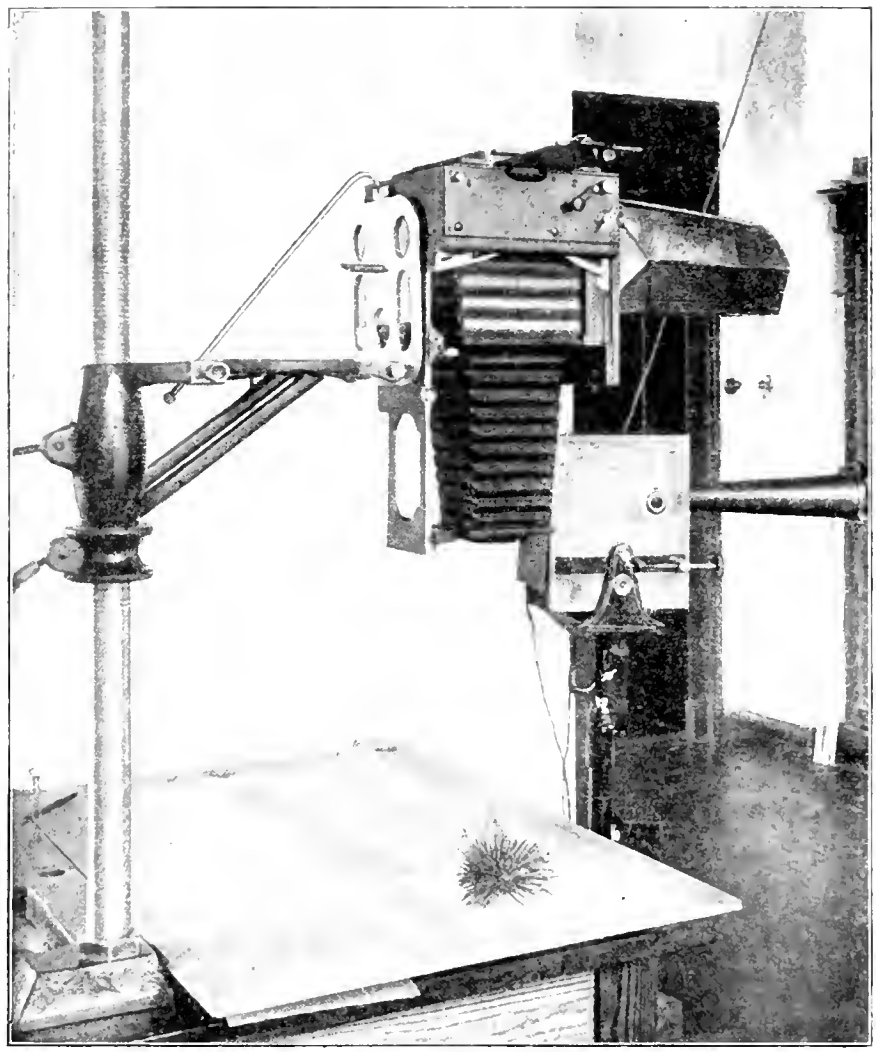
In Anbetracht der beträchtlichen Balgenlänge kommt man mit Objektiven von 40 und 60 mm Brennweite (ich benutzte zwei Busch'sche Doppel-Lenkar-Anastigmaten F/6·8 von 40 und 60 mm Brennweite) völlig aus. Man erzielt dann $3^1/_2$- bis 8fache, beziehungsweise 2- bis 5fache Vergrößerung. Und zwar schon dann, wenn man die betreffenden Objektive mittels einfacher Zwischenringe, wie ich es tat, adaptiert. Befestigt man sie in konischen Stutzen, die an ihrem weiteren Ende das Gewinde des Normalobjektivs tragen, so kann, da die Standarte ungewöhnlich kräftig gebaut ist, die Vergrößerung bis auf eine 12fache (wenn die Stutzenlänge 16 cm beträgt) gesteigert werden.

Für ganz schwache, bis $1^1/_2$fache Vergrößerung verwandte ich, ebenfalls mittels Zwischenringes, ein vorzügliches Leitz'sches Summar von 150 mm Äquiv.-Brennweite und einem Öffnungsverhältnis von F/5.

II. Aufnahmen aus geringen und mittleren Entfernungen.

Das Normalobjektiv der Klapp-Reflex-Kamera, ein Ernemann'scher Doppelanastigmat von F/4·5 relativer Öffnung, hat 180 mm Brenn-

weite. Er ist in versenkter Fassung montiert und gibt daher bei maximalem Balgenauszug noch Abbildungen in $^1/_1$ nat. Größe. Dieses Objektiv umfaßt also alle Objekt-Entfernungen von 2×180 mm $= 360$ mm, das ist etwa $^1/_3$ m bis ∞. Für erheblich entfernte Objekte

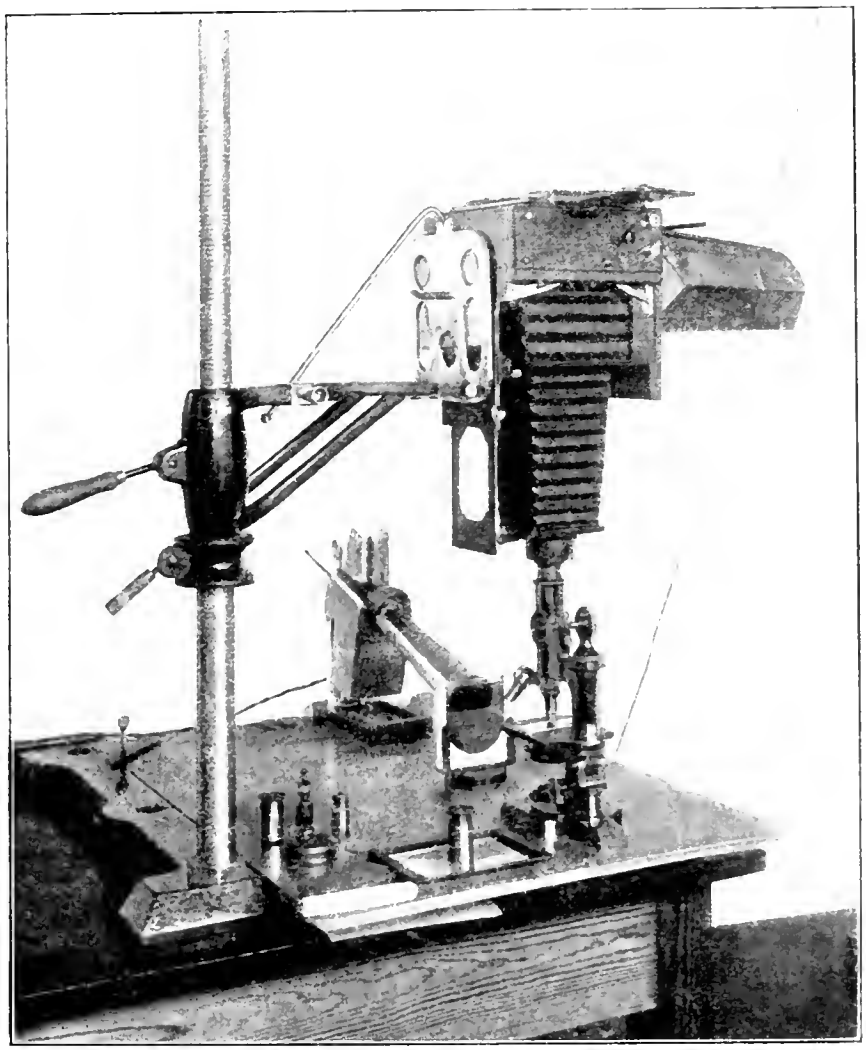


2a.

Klapp-Reflex-Kamera am Geigerschen Universal-Tisch-Stativ. Verwendung der Kamera mit vollem Balgenauszug für Aufnahmen von Objekten in nat. Größe mittels des Normalobjektives von 180 mm Brennweite.

wird man es gebrauchen, wenn diese nicht besonders groß abgebildet werden sollen, dagegen ein größeres Gesichtsfeld gefaßt werden muß. Hervorgehoben zu werden verdient seine ganz ausgezeichnete Korrektion auch für Abbildungen in $^1/_1$ nat. Größe, die durchaus nicht allen Anastigmaten, die für universelle Verwendung berechnet sind, eigen ist.

In diesem Zusammenhange dürften einige Worte über die Brennweite und Lichtstärke der Objektive, die als „Normalobjektive" an der „Klapp-Reflex" Verwendung zu finden pflegen, am Platze sein. Die wissenschaftliche Makrophotographie berührt sich in einem wesentlich



2 b.

Klapp-Reflex-Kamera am Geigerschen Universal-Tisch-Stativ. Verwendung der Kamera für Mikrophotographie in Verbindung mit Winkelschen Apochromaten und Kompensationsokularen und einer Geigerschen Ewon-Mikroskopierlampe.

beim Typ der Spiegel-Reflex-Kamera berücksichtigten Gesichtspunkte mit der allgemeinen „bildmäßigen" Photographie: sie verlangt relativ große Brennweiten, unter Umständen erhebliche Lichtstärke und dementsprechend natürlich eine Kamera, die in weiten Grenzen variable Geschwindigkeit des Verschlusses, langen Auszug des Balgens und

möglichst unmittelbare Aufnahmebereitschaft nach der Einstellung des Objektes bietet. Hierbei verdient Beachtung der Umstand, daß eigentliche Weitwinkelaufnahmen so gut wie gar nicht in Frage kommen.

Große Brennweite ist besonders deshalb erforderlich, damit eine möglichst natürliche Perspektive auch bei Abbildungen in natürlicher Größe oder geringer Reduktion erzielt werden kann. Es müssen aber ferner Objektive mit großer relativer Öffnung (die nur an sehr stabil gebauten Kameras Sinn haben und ausgenutzt werden können) verwendet werden. Denn vor allem bei Aufnahmen von einzelnen Tieren oder Pflanzen in freier Natur vermag man das unter Umständen störende Detail des Vorder- und Hintergrundes durch entsprechende Begrenzung der Tiefenschärfe (bei langer Brennweite besonders wirkungsvoll durchführbar) ganz oder fast ganz verschwinden zu lassen, wenn man sehr große Blenden, F/4·5 bis F/6·5, anwendet.

Erst in zweiter Linie kommt — bei den meisten Aufnahmen der wissenschaftlichen Photographie wenigstens — die Möglichkeit, durch Ausnutzung der größten relativen Öffnung noch unter ungünstigen Lichtverhältnissen mit sehr kurzer Belichtungszeit auszukommen.

Die Brennweite der an der neuen „Klapp-Reflex“ als „Normalobjektive“ zur Verwendung gelangenden Ernemann-Doppelanastigmate und Zeiss-Tessare beträgt dem oben Ausgeführten gemäß 180 mm, die relative Öffnung F/4·5. Auf die Eigenschaften des Negativmaterials muß demgemäß Rücksicht genommen werden, wenn man den Wunsch hat, die volle Öffnung dieser Optik auszunützen. Benutzt man (z. B. auf Studienreisen) die aus Bequemlichkeitsgründen sonst mit vollem Recht zu empfehlenden Packfilms, so ist es zu bedenken, daß man es hier nie mit einer so planen Schicht zu tun hat, wie sie die „gute, alte“ Glasplatte trägt. Nur bei Verwendung von Glasplatten kann die auf der Mattscheibe eingestellte Bildebene auch auf dem Negativ am schärfsten abgebildet werden. Bei Verwendung von Films wird sie nur dann „auch“ befriedigend abgebildet, wenn man die Öffnung des Objektives auf durchschnittlich wenigstens F/6·5 reduziert.

Im Hinblick auf die soeben charakterisierte Kategorie von Aufnahmen, die in das Arbeitsbereich der „Klapp-Reflex“ fallen, mag noch ein anderer Punkt der „Reflex-Kamera-Frage“ berührt werden. Die Verschiebbarkeit des Objektivbrettes genügt völlig — desgleichen auch der Bildwinkel des Ernemann-Doppelanastigmaten F/4·5 180 mm —, um die Differenz zwischen dem natürlichen Augenpunkt und dem, der aus der tieferen Haltung der Spiegel-Reflex-Kamera an sich resultieren würde, auszugleichen.

Auch in dieser Beziehung ist die neue Klapp-Reflex-Kamera ein ideales Universalinstrument, das allen Anforderungen entspricht, die, z. B. bei Geländeaufnahmen, der photographierende Wissenschaftler zu stellen pflegt.

Bei einer großen Zahl von Aufnahmen für wissenschaftliche Zwecke, z. B. von am Boden lebenden Pflanzen und Tieren, kommt die Horizontierungsfrage natürlich gar nicht in Betracht. Anderseits spielt gelegentlich (z. B. bei Aufnahme von Baumwipfeln) die Verschiebbarkeit des Objektivbrettchens eine wichtige Rolle, wenn man ein Neigen der ganzen Kamera aus, dem Leser wohlbekannten, perspektivischen Gründen, möglichst vermeiden will.

III. Fernaufnahmen mit Objektiven von langer Brennweite.

Daß für eigentliche Fernaufnahmen noch sehr langbrennweitige Objektive an der neuen „Klapp-Reflex" Verwendung finden können, ergibt sich aus deren Auszugslänge und dem über die Stabilität des Instrumentes Gesagten ohne weiteres. Bemerkenswert ist aber, daß die „Klapp-Reflex" in hervorragender Weise die Ausnutzung der wichtigsten Teleobjektive, über die wir heute zu wissenschaftlichen Aufnahmezwecken verfügen, der äußerst lichtstarken und dabei vorzüglich korrigierten Buschschen Bis-Telare, gestattet. Da diese Objektive nur etwa den halben Kamera-Auszug erfordern, wie gewöhnliche Objektive von gleicher Brennweite, so könnte der Leser das Eingehen auf die Anwendung der „Klapp-Reflex" mit derartigen Teleobjektiven für überflüssig halten. Allein es handelt sich hier, das heißt besonders bei biologischen Aufnahmeobjekten, noch um etwas anderes, nämlich um die Möglichkeit, mittels der genannten Objektive Vorgänge an sehr kleinen Objekten aus einer die Beobachtung des Vorganges noch nicht störenden Nähe, also aus genügender Entfernung, noch ziemlich groß abzubilden.

So gibt das von mir an der Ernemannschen „Klapp-Reflex" benutzte Buschsche Bis-Telar, F/7, 400 mm Äquiv. Brennweite, bei maximaler Auszugslänge (370 mm) aus einer Entfernung (der Frontlinse von Aufnahmeobjekt) von $1\,^1/_2$ m[1] eine Abbildung des Aufnahmeobjektes in $^1/_{10}$ nat. Größe. Aus einer Entfernung von $1\,^1/_2$ m lassen sich zum Beispiel noch sehr unruhige Falter, die bei größerer Annäherung unweigerlich aufgescheucht werden würden, mit allen charakteristischen Details ihrer Zeichnung oder Stellung photographieren.

---

[1]) Genau 1·54 m.

Sehr wichtig wird natürlich die Verwendbarkeit derartiger lichtstarker Fernobjektiven an der „Klapp-Reflex", wenn Fraßbilder, wie sie Baumwipfel bieten (und die oft bei bewegter Luft aufgenommen werden müssen, wo die gewöhnlichen Telekombinationen natürlich zu lichtschwach sind), photographisch mit genügender Deutlichkeit festgehalten werden sollen.

Der Leser wird dem bisher Ausgeführten entnommen haben, daß ich zu der Überzeugung gelangt bin, in der Ernemannschen „Klapp-Reflex" eine Universal-Kamera für wissenschaftliche photographische Arbeiten allerart gefunden zu haben. Um die Kamera als solche zu qualifizieren, dazu gehört aber noch etwas: möglichste Kompendiösität und Reduzierung des Gewichtes, selbstverständlich niemals auf Kosten der Stabilität und der Griffbequemlichkeit des Apparates in seinen arbeitenden Teilen.

Das Gewicht könnte gleichgültig sein, wenn die Kamera nur im Laboratorium benutzt werden sollte. Aber damit kann sich der photographierende Biologe, z. B., natürlich nicht begnügen.

Das von mir benutzte Instrument wiegt mit Optik (Normalobjektiv: Ernemann-Doppelanastigmat F/4·5 180 mm) und gefüllter Packfilm-Jalousiekassette, also aufnahmebereit für 12 Aufnahmen im Format 9×12 gerade $3^1/_2$ kg. Das ist ein akzeptables Gewicht, nicht nur für eine Spiegel-Reflex-Kamera, deren Gewicht von den Fabrikanten sonst nicht gern mit fetten Lettern bekannt gegeben zu werden pflegt, sondern überhaupt für eine zu wissenschaftlichen Arbeiten im Freien geeignete Kamera, die, wie selbstverständlich, mit anastigmatischer, lichtstarker, also entsprechend schwerer Optik und Schlitzverschluß vor der Platte ausgerüstet sein muß. Schon gewöhnliche auszuglose Klappkameras und erst recht Universalkameras mit sogen. doppeltem Auszug wiegen bei entsprechender Ausrüstung $1^1/_2$ bis 2 kg. Wer, wie ich es bei meinen forstentomologischen Exkursionen oft genug getan habe, täglich viele Stunden seine photographische Ausrüstung am Schulterriemen schleppen muß, der wird mir recht geben, wenn ich sage, daß d i e s e $3^1/_2$ kg ohne Beschwerde solange getragen werden können, mit denen man für a l l e Aufnahmeobjekte v o l l e n d e t ausgerüstet ist, während die Gewichtsersparnis von 1 oder $1^1/_2$ kg, die die gewöhnlichen Apparate bieten, praktisch nicht ausgenutzt werden kann, weil man mit einem einzigen dieser Instrumente eben nicht universell ausgerüstet ist.

Die Spiegel-Reflex-Kameras älteren Typs (nicht zusammenklappbar, also von Würfelformat) sind, wenn sie noch die Verwendung von

Fernobjektiven gestatten, ganz wesentlich schwerer als die „Klapp-Reflex“ und obendrein sehr viel unbequemer zu tragen, eben wegen ihrer Würfelform, die einen sehr lästig werdenden seitlichen Zug bedingt, gleichviel, ob man den Apparat tornisterartig auf dem Rücken, oder am Schulterriemen an der Seite trägt.

Damit komme ich zu den Ausmessungen, die die „Klapp-Reflex“ im zusammengelegten Zustande aufweist. Hier ist der Vergleich mit einer guten, gewöhnlichen Universalkamera für das gleiche Format, etwa die bekannte 9×12 Universal-Palmos-Kamera lehrreich.

Bei der Universal-Palmos betragen in cm: die Auszugslänge 34, die Maße der zusammengelegten Kamera 7×16×16, bei der Ernemann-„Klapp-Reflex“: die Auszugslänge 37 cm, die Maße der zusammengelegten Kamera 8×18·5×19·5.

Zum Schlusse noch einige wenige, das praktische Arbeiten mit der „Klapp-Reflex“ betreffende Bemerkungen.

Zum Messen der Vergrößerung wird zweckmäßig die untere(-hintere) Mattscheibe nach Abnehmen der zugehörigen kleinen Lichtschutzkappe benutzt.

Bei Zeitaufnahmen von mittlerer Dauer schaltet man, — wie man es auch bei anderen Verschlüssen zu tun pflegt, um sich gegen ein Verwackeln der Bilder zu schützen, — den Spiegel zweckmäßig vor der Exposition aus. Dagegen kann man diese ruhig mit dem völlig erschütterungsfrei arbeitenden Rouleau-Schlitzverschluß bewirken.

Das Ausschalten des Spiegels erfolgt am einfachsten so, daß man den Hebel, der den Verschluß auslöst, selbstverständlich nach Einstellung des Dornes auf „Zeit“, langsam herunterdrückt (nicht durchdrückt) und in dem Augenblick losläßt, sobald der Spiegel hochgeht. Bei nochmaligem Herunterdrücken des Hebels öffnet sich der Verschluß und eine abermalige Betätigung schließt ihn.

Beabsichtigt man mit der hinteren Mattscheibe einzustellen, so zieht man das Rouleau einfach soweit auf[1], daß sein auf 12 cm Breite gestellter Schlitz die Mattscheibe freigibt. Drückt man jetzt auf den Auslösehebel, so schnellt der Spiegel nach oben und es kann nunmehr, wie mit jeder gewöhnlichen Kamera, auf der hinteren Mattscheibe eingestellt werden.

[1]) Nachdem der Spiegel in Aktionsstellung gebracht wurde! Anders kann der Verschluß sehr zweckmäßigerweise nämlich überhaupt nicht betätigt werden, so daß eine Belichtung der Platte „aus Versehen“ nie möglich ist!

Ist dies geschehen, so drückt man die Spiegelkurbel bis dicht vor ihre Einschnappstellung. Jetzt kann man den Verschluß spannen (das prismatische Schnepperköpfchen, das noch ein Stückchen vor dem Anschlagschräubchen für die Spiegelkurbel sichtbar ist, wird dann von der Spiegelkurbel gerade soweit herabgedrückt, daß die Kuppelung von Spiegel und Verschluß gelöst wird). Nachdem dies geschehen, läßt man den Spiegel durch Loslassen der Kurbel wieder in die Endstellung, in der er sich außer dem Bereich des Strahlenganges befindet, zurückklappen.

Der Spiegel ist also jetzt vollkommen ausgeschaltet und man kann nun die Zeitaufnahme genau wie mit jeder gewöhnlichen, mit Rouleauschlitzverschluß ausgestatteten Kamera machen. Wie schon ausgeführt wurde, öffnet ein Druck auf den Auslösehebel den Verschluß, ein zweiter schließt ihn.

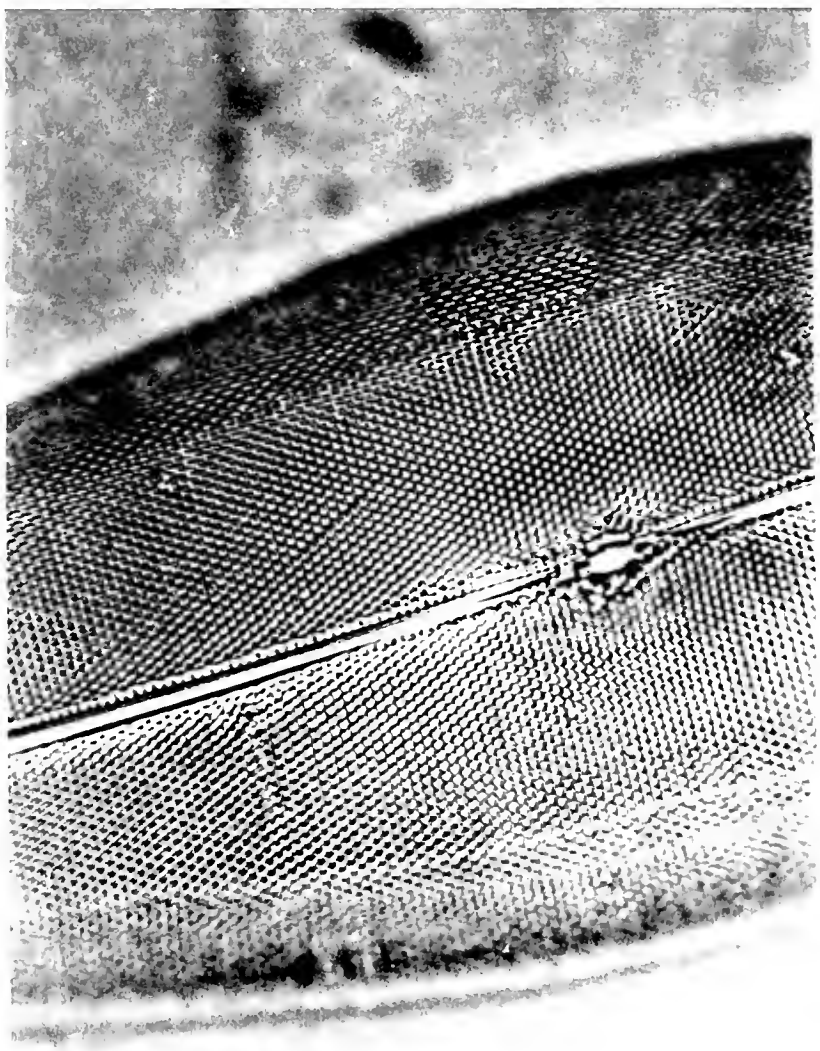
Der Verschluß kann selbstredend ebenfalls völlig bei der Exposition ausgeschaltet und diese lediglich mit einem Objektivdeckel ausgeführt werden. Steht der Spiegel schon in Aktionsstellung (ist die Kurbel also schon heruntergedrückt), so braucht man nur den Rouleau-Verschluß zu spannen (selbstverständlich bei einer Schlitzweite von 12 cm) und durch Niederdrücken des Auslösehebels den Spiegel in die Höhe schnellen und gleichzeitig den Verschluß sich öffnen zu lassen. Jetzt kann man eventuell natürlich noch auf der hinteren Visierscheibe (z. B. mit der Einstellupe auf einer eingesetzten Strichkreuzscheibe) einstellen.

Ich habe noch mit einigen Worten auf die rationelle Ausnutzung des Rouleau-Verschlusses einzugehen, dessen praktische Bedeutung für die mikrophotographischen Arbeiten mir bisher noch nicht genügend gewürdigt zu sein scheint.

Ich habe jedenfalls sehr lebhaft beim Arbeiten mit der „Klapp-Reflex“ die Vorteile empfunden, die ein guter vor der Platte arbeitender Rouleauverschluß bei mikrophotographischen Aufnahmen schwieriger Art bietet.

Nicht umsonst hat die auf dem Gebiete des mikrophotographischen Apparate-Baues führende Firma, Carl Zeiss-Jena, den größeren Modellen ihrer mikrophotographischen Kameras die „Schiebekassette für Expositionsskalen“ beigegeben. Wie bekannt, exponiert man, um die beste Expositionszeit für die Darstellung feiner Struktur- und Tinktions-Differenzen zu finden, mit Hilfe derartiger Kassetten nacheinander schmale Streifen ein und derselben Platte verschieden lange.

An der entwickelten Platte läßt sich dann leicht beurteilen, welche Exposition, welche Filter, Blendenöffnungen usw. das beste



Wolff phot.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig Lichtdruck von Sinsel & Co. in Leipzig-Oetzsch

Resultat ergeben, und danach der richtige Modus procedendi für die definitive Aufnahme bestimmen.

Bei der Ernemannschen Spiegel-Reflex-Kamera wird nun dieser Vorteil, den zwar diverse andere — jedoch eben leider für mikrophotographische Zwecke wenig oder gar nicht geeignete — Kameratypen auch boten, zum ersten Male auch den vorgedachten Arbeiten dienstbar gemacht.

Der Rouleau-Schlitzverschluß, der vor der Platte abläuft, gestattet nämlich viel bequemer und ohne daß es einer besonderen Kassette bedürfte (die immerhin die ganze Apparatur nicht unwesentlich verteuert: 40 M. für 21 × 21), nacheinander beliebig viele und beliebig breite Streifen der Platte verschieden lange zu exponieren, natürlich auch, wenn das erwünschter erscheint, bei jeder folgenden Exposition das vorher exponierte streifenförmige Feld der Platte wieder mit zu exponieren.

Was also bei den gewöhnlichen mikrophotographischen Kameras nur durch besondere Expositionsskalen-Kassetten ermöglicht wird, leistet bei der Spiegel-Reflex-Kamera die einfache Betätigung des Schlitzverschlusses.

Erklärung der Tafel (Tab. VIII).

Pleurosigma angulatum. Vergrößerung $^{1800}/_{1}$. Aufgenommen mit der Klapp-Reflex-Kamera. Apparatur ganz wie die in Figur 2 abgebildete. Beleuchtung mit Ewon-Mikroskopierlampe. Es war lediglich mittels des Spiegels, also auf der oberen Mattscheibe, eingestellt worden.

[Eingegangen am 11. Juni 1914.]

Über neue Prinzipien der Mikroprojektion.

Von

Dr. E. Wychgram

in Kiel.

Hierzu zwei Textabbildungen und eine Tafel (Tab. IX).

In den letzten Jahren sind auf dem Gebiete der optischen Abbildung Ideen fruchtbar geworden, welche zwar schon früher vereinzelt vom formal-mathematischen Standpunkt diskutiert wurden, deren Verwirklichung und Verwertung aber erst der überlegenen Technik des Zeiss-Werkes vorbehalten blieb. Es handelt sich um die aplanatische Abbildung durch einfache Linsen, deren eine Fläche von der Kugelgestalt und den von sphärischen Flächen abgeleiteten torischen nicht unwesentlich abweicht, und welche als asphärische bezeichnet werden.

Da es sich außer um die Erfüllung der Sinusbedingung in der Hauptsache um Behebung der durch die Randpartien der Linsen bewirkten sphärischen Aberration handelt, so muß die Deformierung der betreffenden Fläche derart erfolgen, daß die durch sphärische Flächen bedingte Steigerung des Einfallswinkels nach dem Rande hin kontinuierlich ausgeglichen wird, was technisch einer peripheriewärts steigenden Auftragung von Material gleichkommt. Dies ist natürlich nicht wörtlich ausführbar, sondern bezeichnet nur den Endeffekt. In der Praxis wird die Ausgangsform vom Zentrum aus abpoliert, und zwar nach der Peripherie zu in sich verminderndem Maße. Dies geschieht von Hand. Die Ausgangsform wird durch Senkung des vorbehandelten Glasstückes in eine Stützform gewonnen. Dieser komplizierte Entwicklungsgang bedingt die höheren Preise dieser Erzeugnisse.

Die Wirkung dieser Linsen ist allerdings erstaunlich, was durch die beiden Figuren 1 und 2 zu zeigen versucht werden soll. Man sieht, daß den gewöhnlichen Linsen in der Ebene, wo das vom Zentrum entworfene Bild liegt, eine starke Streuung, und dort, wo das Energiemaximum auftritt, ein durchaus unscharfes Bild anhaftet. Die asphärische Linse hingegen vereinigt das Energiemaximum mit dem Bildoptimum in dieselbe Ebene.

Was nun die Anwendung anlangt, so liegt die Hauptbedeutung der neuen Erfindung augenblicklich in einer wesentlich verbesserten

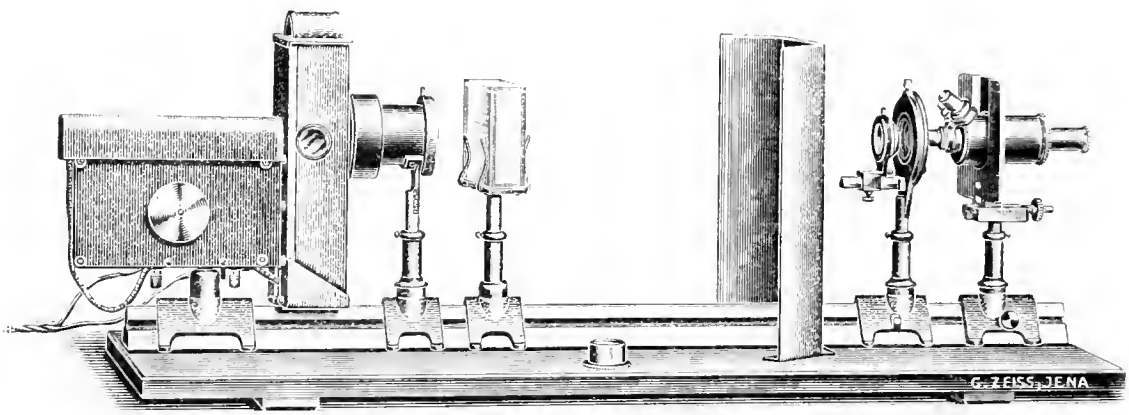
Energieausnutzung der Lichtquellen, was der Projektion, besonders der mikroskopischen, zugute kommt, und anderseits ist durch sie die reflex- und schleierfreie Ophthalmoskopie nach Gullstrand erst ermöglicht worden. Auf letzterem Gebiete ist das rationelle Arbeiten ohne diese Linsen allerdings so gut wie unmöglich, während ja die Mikroprojektion auch früher schon, allerdings mit erheblichen Beschwerden, zu betreiben war.

Im folgenden soll auf einen durch Einführung aplanatischer Linsen erreichten Fortschritt ausführlicher hingewiesen werden, als ich dies in meinen Berichten „Aus optischen und mechanischen Werkstätten" in dieser Zeitschrift bisher tun konnte.

Es handelt sich hier um einen neuen kleinen und erstaunlich leistungsfähigen Apparat für Mikroprojektion, dessen sämtliche Teile in höchst kompendiöser Weise auf einer optischen Bank von etwa 70 cm bis 1 m Länge untergebracht sind. Die optische Bank selber ist auf ein solides Grundbrett von entsprechenden handlichen Dimensionen aufgeschraubt, so daß der ganze Apparat leicht transportabel und vor allem in sehr einfacher Weise aufzustellen und zu betreiben ist.

Die Seele des Apparates ist die neue Bogenlampe in Verbindung mit dem aplanatischen Kollektor. Die beste Charakteristik dieser Neuerungen gibt die Einleitung der Druckschrift „Mikro 321" des Zeiss-Werkes, welches im folgenden hier zitiert sein mag. „Die Erfahrungen, die wir bei der Herstellung nicht sphärischer Flächen sammeln konnten, haben uns in den Stand gesetzt, Linsen mit solchen Flächen zu einem Preis herzustellen, der ihren Gebrauch als Beleuchtungslinsen, zunächst bei Apparaten für Mikrophotographie und Mikroprojektion, möglich macht. Die Korrektion der sphärischen Aberration und die Erfüllung der Sinusbedingung ist infolge der Einführung einer solchen Fläche auch bei einer einfachen Linse für eine so große numerische Apertur möglich geworden, daß die Strahlung der Lichtquellen in viel höherem Maße ausgenutzt werden kann, als es früher der Fall war. Daraus ergab sich als Folge, daß man, ohne eine Einbuße an Helligkeit befürchten zu müssen, nun Lichtquellen von wesentlich — vier- bis sechsmal — kleinerer Ausdehnung benutzen kann. Bei der uns hier vor allem interessierenden intensivsten künstlichen Lichtquelle, dem Gleichstrombogenlicht, heißt dies, daß Lampen von dementsprechend geringerer Stromstärke ausreichen. Infolgedessen konnten die Abmessungen des ganzen Apparats wesentlich verkleinert werden, denn die Bogenlampe für 20 bis 30 Amp. mit ihrem Gehäuse bildete bisher den umfangreichsten Teil eines solchen Apparats."

In einer früheren Veröffentlichung hatte ich für Mikrophotographie und feinere Mikroprojektion den automatisch regulierenden Lampen den Vorzug gegeben. Diese Meinung möchte ich, nachdem ich die neue Handregulierlampe des Zeiss-Werkes sehr genau kennen gelernt und praktisch erprobt habe, doch erheblich modifizieren. Es muß betont werden, und diese Tatsache verdient die nachdrücklichste Kenntnisnahme der interessierten Kreise, daß durch die Lage des Kraters und die Wahl der Kohlendimensionen tatsächlich die Zentrierung konstant erhalten bleibt, und die Nachregulierung von Hand nur an Bequemlichkeit den automatischen Lampen nachsteht. Die optische Wirkung beider Lampen ist die gleiche, ja vom Standpunkte einer sehr



3.

peinlichen und gesteigerten Akkuratesse der Handhabung wäre sogar eine Bevorzugung der Handregulierlampen nicht ausgeschlossen. Das von dem aplanatischen Kollektor entworfene Kraterbild ist sehr regelmäßig kreisförmig, und da der ganze Querschnitt der oberen Kohle leuchtet, ist ein Wandern des Lichtpunktes ausgeschlossen. Die positive Kohle ist dementsprechend dünn, dünner als die negative, was wohl als Novum in der Bogenlichttechnik bezeichnet werden darf. Die Längenverhältnisse sind sehr genau berechnet und der gegenseitige Abbrand der Kohlen ist absolut gleichmäßig. Wer viel mit Bogenlicht gearbeitet hat, wird zu der Ansicht kommen, daß diese besprochenen Lampen augenblicklich für Mikrozwecke das Vollendetste darstellen, was die Technik zu bieten hat.

Nur dieses präzise Zusammenwirken der Lampe und des Kollektors ermöglicht die Annehmlichkeiten, alle Teile auf optischer Bank zu benutzen, und bei jeder erneuten Inbetriebnahme stets mit derselben

Zentrierung und Justierung arbeiten zu können, so daß zeitraubende und ärgerliche Einstellungen, wie sie bei weniger vollkommenen Apparaten stets vorkommen, und bei solchen mit getrennten Lampengehäusen sogar meist unvermeidlich sind, wegfallen. Zu bemerken ist noch, daß die Lampe bei richtiger Kohleneinstellung (die Kohlen können während des Brennens einzeln ohne Störung verstellt werden) gegen Stromschwankungen sehr unempfindlich ist.

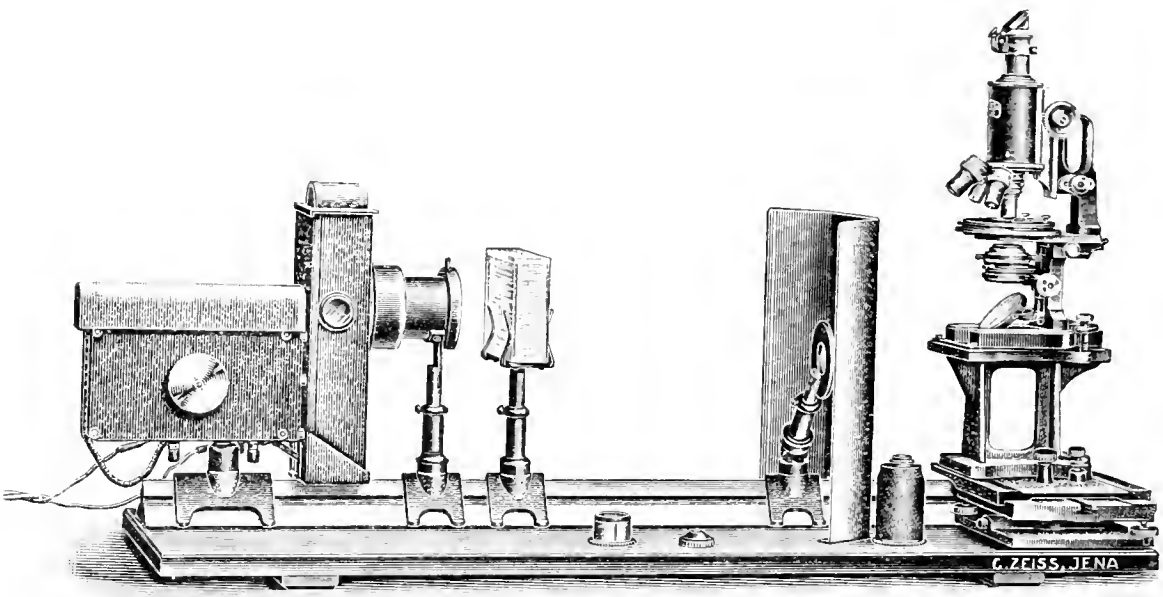
Bei der Gestaltung des Instrumentariums sind nun folgende Möglichkeiten vorgesehen: Projektion mit umgelegtem Mikroskop, mit vertikal stehendem Mikroskop und Projektion mit besonderen vereinfachten Einrichtungen, welch letztere aus zwei Teilen, dem Objekttisch mit Kondensor und dem vereinfachten Mikroskop („Projektionssystemträger" und Tubus) bestehen, und welche beide auf Reiter montiert, direkt auf die optische Bank zu setzen sind. Diese letztere Anordnung, welche wohl für die meisten Fälle, wo Trockensysteme überhaupt ausreichend sind, und Aperturen von etwa 0·6 bis 0·7 nicht überschritten werden, genügen wird, zeigt Figur 3.

Zu bemerken ist, daß das Köhlersche Beleuchtungsprinzip hier überall sehr klar und einfach durchgeführt ist. Man hat den aplanatischen Kollektor so dicht an das Lampengehäuse zu rücken oder das Mikroskop bei erreichtem guten Lichtabschluß so weit an das Ende der optischen Bank zu setzen, daß auf dessen Kondensor-Iris ein gutes, die Öffnung fast völlig erfüllendes Kraterbild entsteht. Dann genügt eine geringe Distanzänderung des Kondensors, um auch das notwendige Irisbild des Kollektors im Präparat zu erzeugen. Handelt es sich um schwache Vergrößerungen, so genügt bei vollem Abbeschen Beleuchtungsapparat (dreilinsigen Kondensoren) die maximale Öffnung der Kollektor-Iris nicht mehr, um das ganze Gesichtsfeld freizugeben. Man hat dann mit schwächeren Kondensoren von längeren Brennweiten zu arbeiten, was bei den neuen aplanatischen Kondensoren des Zeiss-Werkes durch Abnahme der Frontlinse oder der Duplexfront erreicht wird, wodurch die asphärische Einzellinse in Wirkung tritt. Diese Linse ist es auch, welche dem vereinfachten Mikroprojektionssystem (Fig. 3) beigegeben wird.

Da eine optimale Energieausnutzung stattfindet, so wird man erwarten dürfen, daß auch eine merkbare Wärmeentwicklung das Präparat gefährden kann. Wendet man das Köhlersche Beleuchtungsprinzip korrekt an, so ist eine Wärmegefahr nur bei den schwachen Objektiven mit größerem Sehfelde zu befürchten. Für diese Fälle hauptsächlich wird die sehr sauber gearbeitete Küvette mitgegeben,

welche man irgendwo auf der optischen Bank in den Strahlengang einschaltet, und welche auch so gedreht werden kann, daß die Strahlen den längsten Flächen parallel durchtreten können, wenn sie so nahe am Mikroskop steht, daß keine Bildfeldstörungen durch die Kanten auftreten. Die Füllung mit $^1/_2$prozentiger Kupfersulfatlösung wirkt außer der Wärmeabsorption auch insofern vorteilhaft, daß hierdurch ein leichter Gelbstich, welcher dem Bogenlicht im Vergleiche zum Tageslicht anhaftet, kompensiert wird.

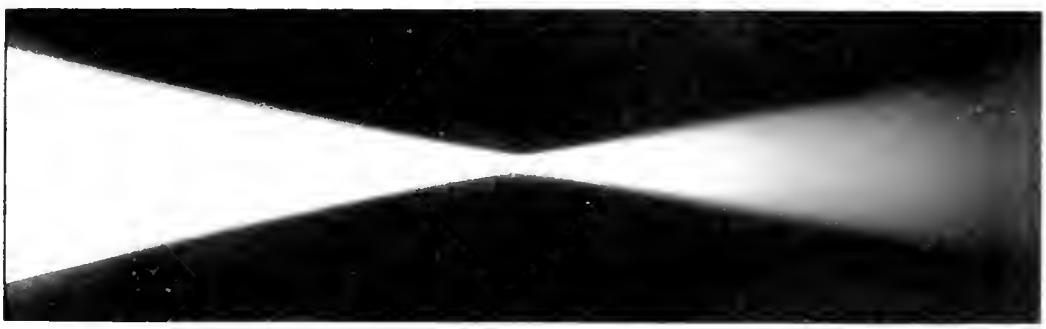
Auf dem Grundbrette der Figur 3 steht ein einfacher Blechschirm zur Abhaltung des Nebenlichtes. Hier ist zu sagen, daß der



4.

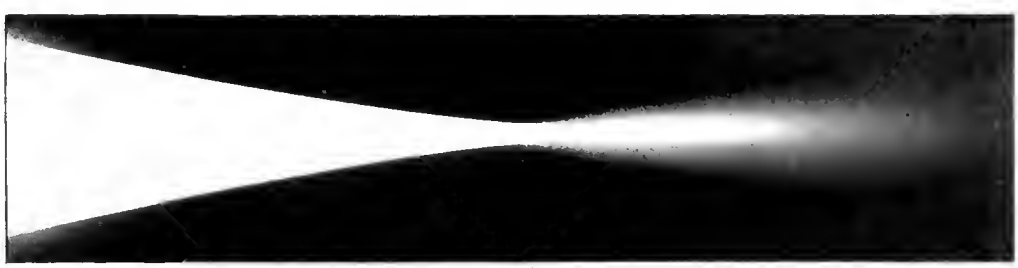
Lichtabschluß an der Lampe und die Fassung und das Gehäuse des Kollektors (die asphärische Linse aus besonders durchlässigem und exakt gekühltem Glase kommt sehr dicht an den Flammenbogen zu stehen) ausgezeichnet gearbeitet sind und bei einfachster Zusammensetzung und Gestaltung den besten mit dem verwandten Material überhaupt erreichbaren Effekt geben. Asbestdichtungen, die nach kurzer Zeit in eine mehlige, zerfallende Masse umgewandelt werden, sind gänzlich vermieden. Alle Verbindungen sind meist durch Verschraubungen mit Gegenmuttern und durch präzise Nietungen erreicht. Nebenlicht wird hauptsächlich durch sekundäre Reflexionen, so in der Küvette und im Kondensor, wenn seine Apertur zu groß eingestellt ist, erzeugt, und auch nur in unbedeutendem Maße. Der vereinfachte

a



1.

Figuren 1 und 2 stellen den Strahlengang einer aplanatischen (1) und einer gewöhnlichen bikonvexen (2) Linse von annähernd gleichem Öffnungsverhältnis dar, und zwar die Abbildung des Kraters der besprochenen Bogenlampe in fluoreszierender Flüssigkeit (in der zugehörigen Kühlküvette). *a* Ebene des Bildoptimums und Energiemaximums. *b* Ebene des Energiemaximums. *c* Ebene des Bildoptimums.



b c

2.

Wychgram phot. Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

Objekttisch ist drehbar, der Mikroskoptubus hat Mikrometertrieb für eine hinreichende Feinbewegung. Die grobe Einstellung geschieht durch Verschiebung auf der optischen Bank, und auch diese ist ausreichend, da Bank und Reiter von so überaus exakter Arbeit sind, daß bei einiger manueller Geschicklichkeit, die zu allen optischen Hantierungen gehört, eine recht präzise Einstellung leicht zu bewirken ist.

Für normale Mikroskope in der üblichen Dimensionierung (in erster Linie natürlich für solche aus der gleichen Provenienz), werden Untersätze geliefert, und zwar eine Fußplatte für das horizontal umgelegte Stativ, und zu dieser Fußplatte ein Aufsatz für vertikale Anwendung, welcher die Spiegelmitte in die optische Projektionsachse bringt. Hierzu ist natürlich ein theoretisch richtig gebauter Beleuchtungsapparat (Zeiss-Winkel) erforderlich, dessen Spiegel die Exkursionen des Kondensors beim Auf- und Abkurbeln nicht mitmacht. Kondensorverstellungen sind ja nötig, um das Irisbild des Kollektors in die Präparatenebene scharf einzustellen. Für das vertikale Mikroskop kommt schließlich noch ein totalreflektierendes rechtwinkliges Prisma als Okularaufsatz hinzu, welches den Strahlengang wieder horizontal macht (Fig. 4).

Sollen an den Mikroskopen schwache (mikrophotographische) Objektive benutzt werden, so ist die Zwischenschaltung einer einfachen Sammellinse auf Reiter, ausklappbar, erforderlich.

Das Nähere über die Handhabung und für die Auswahl findet man in der gut bearbeiteten Druckschrift „Mikro 321" des Zeiss-Werkes. Der Zweck dieser Zeilen ist nur die wissenschaftlich und unterrichtlich interessierten Kreise auf diese aussichtsreichen und von jedem Gesichtspunkt aus sehr beachtenswerten Neuerungen hinzuweisen, da ich die Beobachtung gemacht habe, daß diese Einrichtungen noch viel zu wenig bekannt sind, und daß bei Anschaffung von Mikro-Projektionseinrichtungen nicht selten eine gewisse Ratlosigkeit besteht, die dann häufig ungeeignete Wahl zur Folge hat.

Einer Mitteilung des Zeiss-Werkes zufolge, die mir nach Abschluß des obigen zuging, muß noch bemerkt werden, daß die Lampe für Mikroprojektion neuerdings nicht mehr auf Reiter, sondern auf Fußplatte geliefert wird, ähnlich wie die (selbstregulierende) Weule-Lampe. Diese Einrichtung ist in erster Linie getroffen worden, um die verschiedenen Lampen (Handregulierlampe, Weule-Lampe, Bogenlampe für das Lumineszenz-Mikroskop usw.) bequemer gegeneinander auswechseln zu können.

[Eingegangen am 9. Juni 1914.]

Zur histologischen Färbung.

Von

M. v. Iljinsky

in Ürdingen.

In meinem Vortrage auf der diesjährigen Hauptversammlung des Vereins Deutscher Chemiker in Bonn[1] habe ich gezeigt, daß die reine Faser imstande ist, aus wässerigen Suspensionen Küpenfarbstoffe in unreduziertem Zustande, Beizenfarbstoffe (besonders in Gegenwart von Beizstoffen), unter gewissen Umständen gierig und fast restlos in kurzer Zeit schon bei gewöhnlicher Temperatur an sich zu ziehen. Es entstehen dabei keine mechanischen, sondern wasserfeste Adsorptionsverbindungen. Diese fest-festen Adsorptionsfälle sind nicht nur für die Färbereipraxis von Wichtigkeit, sondern dürfen auch ein allgemein wissenschaftliches Interesse beanspruchen, indem sie bei der Erforschung der kolloidchemischen Adsorptionsvorgänge die Untersuchungen auf neue Bahnen zu lenken vermögen. Es hat sich z. B. schon jetzt als wahrscheinlich herausgestellt, daß das Gel der Faser befähigt ist, den in innige Berührung damit gebrachten groben Farbstoffsuspensionen einen hohen Grad von Dispersität zu verleihen, wodurch die Ablagerung der Adsorptionsverbindung auf der Faser in außerordentlicher Feinheit erfolgen kann.

Professor Johannes Müller, Düsseldorf, machte mich vor einiger Zeit darauf aufmerksam, daß die neue Adsorptionsmethode vielleicht bei histologischen Färbungen gute Dienste leisten kann und ich möchte mit diesen Zeilen die Anregung geben, solche Färbeversuche anzustellen. Obwohl ich mir das nähere kolloidchemische Studium der fest-festen Adsorptionsfälle vorbehalten möchte, mangelt es mir jedoch auf dem Gebiete der histologischen Färbung, vor allen Dingen im Bewerten der erhaltenen Resultate, gänzlich an Erfahrung. Ich würde mich daher nur freuen, falls diese Anregung bei den Morphologen Beachtung fände. Einige Anfragen in dieser Richtung sind an mich

[1] Labile Farbstoff-Faserbindungen und ihre Anwendung in der Färberei (Zeitschr. f. angew. Chemie Bd. 27. 1914, II. 1, p. 357; Chem. Zeitung 1914, p. 751).

bereits gerichtet worden, speziell in bezug auf die Wahl der Farbstoffe, Ausführungsform der Färbungen usw. Ich möchte daher an dieser Stelle auf die im allgemeinen einzuhaltenden Versuchsbedingungen kurz eingehen.

Im Falle von löslichen Farbstoffen muß beim Aufziehen des Farbstoffes auf ein Substrat die Kohäsion zwischen den gelösten Farbstoffteilchen und dem Lösungsmittel überwunden werden. Ist der Farbstoff dagegen nur suspendiert, so fällt diese dem Zustandekommen der Adsorption entgegenwirkende Kraft fort, die Bildung der Adsorptionsverbindung geht rascher und vollständiger vor sich. Schon nach einigen Minuten ist der Prozeß bei gewöhnlicher Temperatur beendet. Je nach der Natur des Farbstoffes wirken oft geringe Mengen Säure oder Alkali beschleunigend auf den Adsorptionsvorgang. Die erhaltenen Adsorptionsfärbungen sind irreversibel gegen Wasser, dagegen reversibel gegen Lösungen der Kolloidstoffe, wie Gummiarabikum usw. Zusätze der Kolloidstoffe zu den Suspensionen verhindern daher mehr oder weniger die Bildung der Adsorptionsverbindungen. Je konzentrierter die Suspension, desto schneller und vollständiger erfolgt die Adsorption. Bewegung begünstigt die Farbstoffaufnahme. Verschiedene Fasern verhalten sich verschieden. Seide hat die größte Affinität zu den suspendierten Farbstoffen, dann folgen Wolle, Baumwolle, Kunstseide. Im Falle von Seide kann man schon bei einer Verdünnung von z. B. 1:100 (auf das Gewicht der Seide) eine vollständige Adsorption der suspendierten Farbstoffe erzielen. Baumwolle erfordert zu dem Zwecke dagegen eine Konzentration von 1:5 (und darunter). Deshalb ist wohl mit gewisser Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß bei histologischen Färbungen der Farbstoff elektiv adsorbiert wird, so daß genügende Differenzierungen zu erzielen sein würden. Bei der Kürze der Reaktionsdauer und dem Wegfallen des Erhitzens kann die Methode eventuell für vitale Färbungen Bedeutung erlangen. Auch können auf diese Weise die entstellenden Quellungen der Objekte vermieden werden. Bei der Wahl des Verteilungsmittels ist man durchaus nicht auf das Wasser allein angewiesen. Will man in Alkohol arbeiten, so braucht man nur alkoholunlösliche Farbstoffe zu wählen. Übrigens ist man für den Zweck der histologischen Färbung überhaupt nicht auf die Farbstoffe angewiesen, es können hier wahrscheinlich mehr oder weniger alle in einem indifferenten Mittel fein verteilte, feste Körper, wie Metallsalze, Metall-

oxyde, kolloidale Metalle (bei Abwesenheit eines Kolloidstoffes), Kohle usw. zur Anwendung gelangen. Der Gehalt der Gewebteile selbst an Stärke dürfte meiner Erfahrung nach ebenfalls bei dem Verlauf der Adsorption nicht gleichgültig sein, so daß schon infolgedessen differenzierte Färbungen zu erwarten sind. Ob bei Anwendung von Küpenfarbstoffen eine nachträgliche Verküpung notwendig ist, scheint fraglich, da die labilen Adsorptionsfärbungen schon an sich stark gefärbt sind. Ich bin mir bewußt, daß bei der Ausarbeitung der Methode noch viele Schwierigkeiten zu überwinden sein werden, doch es ist nicht ausgeschlossen, daß dadurch unsere Strukturkenntnisse der organischen Gewebe manche Bereicherung erfahren werden.

[Eingegangen am 9. Juli 1914.]

Eine einfache Wässerungsvorrichtung.

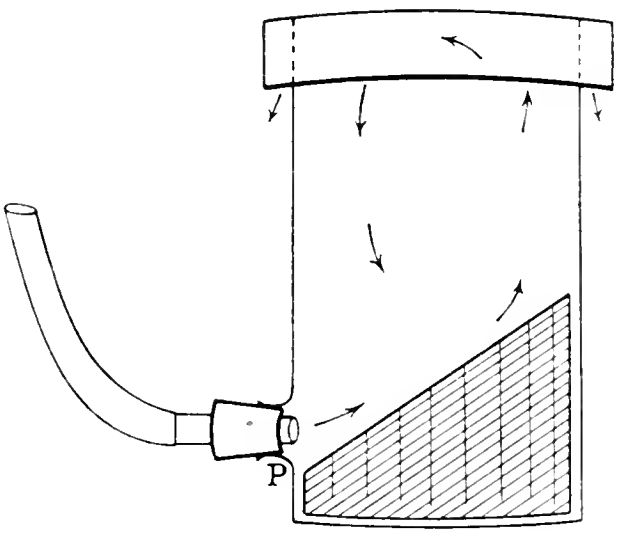
Von

Dr. Fritz Breuning,

Assistenten an der Univ.-Kinderpoliklinik, München (dir. Prof. C. Seitz).

Hierzu eine Textabbildung.

Eine praktisch gut brauchbare, zuverlässige Wässerungsvorrichtung für anatomische Objekte fehlt in manchen kleineren Laboratorien. Mir hat sich folgende sehr einfache Anordnung trefflich bewährt: An ein



kleines Batterieglas (Durchmesser 8·5 cm, Höhe 10·5 cm) läßt man unten nahe dem Boden eine seitliche Tubusöffnung anschmelzen und führt durch diese mit Gummistopfen abgedichtet ein mittelweites kurzes Glasrohr. Durch Gummischlauch wird dieses mit der Wasserleitung passend verbunden. Sodann gießt man sich, indem man das Glas entsprechend geneigt hält, aus hartem Paraffin einen Block, der die unteren Partien des Glases ausfüllt und dessen tiefster Punkt P dicht unterhalb der Einflußöffnung liegt. Die Oberfläche dieses Blocks bildet dann bei Horizontalstellung des Glases eine schiefe Ebene von ungefähr 45^0 Neigung. Damit der Block von dem einströmenden Wasser nicht

gehoben wird, ist es nötig, ihn entsprechend zu beschweren. Man wirft zu diesem Zwecke nach oberflächlicher Erstarrung des Paraffins mehrere größere an der Flamme stark erhitzte Bleistücke auf die Oberfläche. Das Blei schmilzt sich einen Weg in die Mitte des Paraffins und reicht, wenn genügend reichlich, vollkommen aus, bei der späteren Wässerung den Block fixiert zu halten. Nach vollkommenem Erstarren des Paraffins wird der Block aus dem Glase herausgenommen und die schiefe Ebene mit dem Messer entsprechend geglättet. Als Bedeckung des kleinen Apparates dient der lose aufgelegte Deckel einer Petrischale.

Das Wasser wird nun in kontinuierlichem Strahl von unten auf die schiefe Ebene geleitet, steigt hier empor, findet an der bedeckenden Petrischale Widerstand und wendet sich daher wieder nach abwärts gegen die Einflußöffnung zu. Der Überschuß fließt ohne weiteres zwischen dem oberen Rand des Glases und der bedeckenden Schale ab. Auf diese Weise gelingt es bei richtiger Regulierung der Wasserzufuhr einen dauernden zirkulären Wasserstrom zu unterhalten. Zur Wässerung eingebrachte Objekte werden mit dem Wasserstrom dauernd zirkulär und sehr schonend bewegt: schwerere Stücke fallen immer wieder auf die schiefe Ebene herab und werden so immer von neuem dem unten zuströmenden frischen Wasser entgegengeführt. Bei richtiger Wahl der Größenverhältnisse und der Stärke des Wasserstrahls ist ein längeres Verweilen des einzelnen Stückes an einer „toten" Stelle mit Sicherheit zu vermeiden.

[Eingegangen am 20. Mai 1914.]

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Prof. W. Kükenthal.]

Ein Hilfsapparat für die Herstellung lückenloser Schnittserien, speziell für Rekonstruktionen.

Von

Hans Honigmann.

Hierzu drei Textabbildungen.

Bei der Herstellung von Paraffinschnittserien durch größere Objekte von etwa 2 qcm Schnittfläche und darüber tritt fast unvermeidlich während des Schneidens selber ein störender Übelstand auf: Die Schnitte werden wellig und faltig, so daß man sie nicht ohne weiteres auf den Objektträger übertragen kann, sondern sie erst auf irgendeine Weise strecken und glätten muß. Die Behandlung mit einem feuchten Pinsel oder mit einem entsprechenden Apparate (etwa dem Bornschen Schnittstrecker, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **10**, 1893, p. 157) verhindert nämlich zwar das Aufrollen der Schnitte, ist aber meist, bei großen Schnitten wohl stets gänzlich außerstande, dem genannten Übelstande abzuhelfen.

Ist es nun durchaus notwendig, glatte, gestreckte Schnitte zu erhalten, etwa für die Zwecke der zeichnerischen oder plastischen Rekonstruktion, wo auf die Erhaltung der natürlichen Abstände im mikroskopischen Bilde der größte Wert gelegt werden muß, so bleibt wohl als einzige sicher zum Ziele führende Methode die Streckung auf warmem Wasser übrig, wie sie etwa Lee und Mayer in ihren Grundzügen der mikroskopischen Technik (1910, 4. Auflage, § 152) angeben.

Diese Methode besteht bekanntlich darin, daß man die Schnitte direkt vom Mikrotommesser vermittels eines feuchten Pinsels in eine flache Schale mit warmem Wasser bringt, wo sie sich bei geeigneter Temperatur (etwa 45° C) sofort ausgezeichnet strecken. Kommt

es dabei auf die Reihenfolge der Schnitte nicht an, so nimmt man große Schalen mit viel Wasser, das sich wenigstens eine kurze Zeit lang genügend warm hält und legt möglichst viele Schnitte auf die Oberfläche.

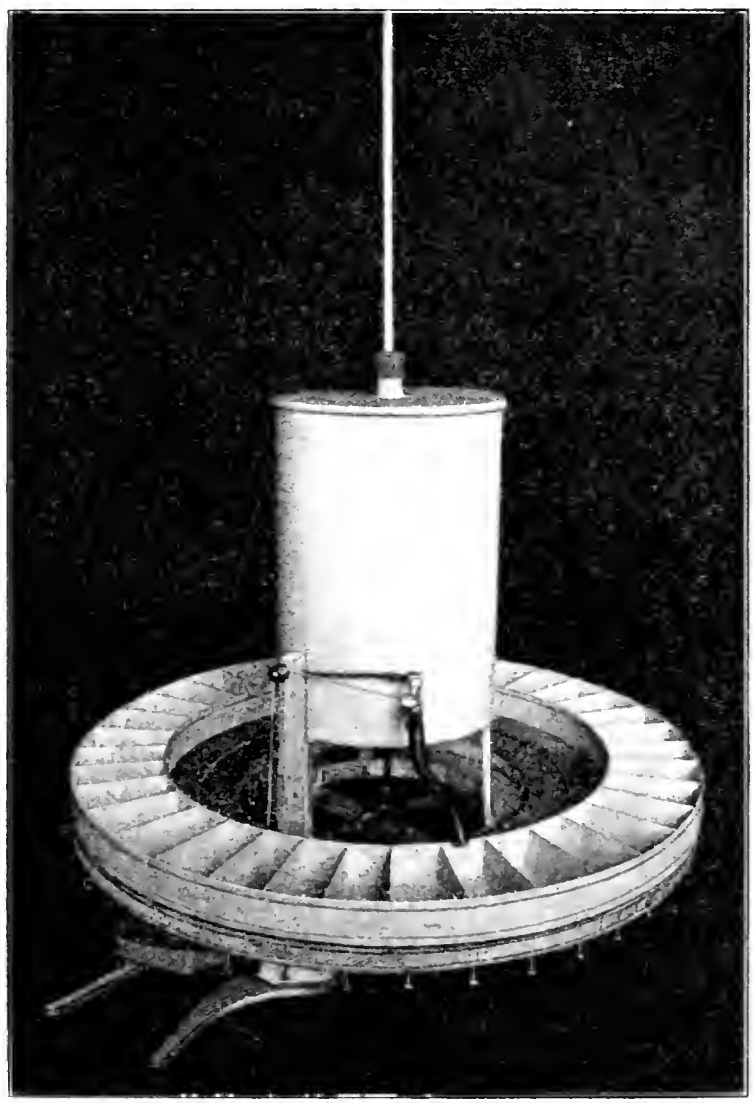
Schon hier ist man unangenehmerweise auf die Verwendung mehrerer Schalen angewiesen, da das nach einiger Zeit auf etwa 25 bis 30° C abgekühlte Wasser einerseits zwar die zur Streckung der Schnitte erforderliche Temperatur nicht mehr besitzt, anderseits aber immer noch nicht kalt genug ist, um dem Paraffin diejenige Festigkeit zu verleihen, die es ermöglicht, den Schnitt sicher und gefahrlos von der Wasseroberfläche abzuheben. Die dazu erforderliche Steifheit erlangt das Paraffin nämlich erst bei einer Wasserwärme von etwa 15 bis 18° C.

Anders liegen die Dinge nun, wenn außer der Qualität auch die Reihenfolge der einzelnen Schnitte eine wichtige Rolle spielt. Die genaue Fixierung der Schnittfolge ist nun aber nicht nur bei Rekonstruktionsverfahren der verschiedensten Art ganz unerläßlich, sondern auch beim einfachen Studium irgendwelcher Organe, des Nervenverlaufs usw. auf Schnittserien meist erforderlich.

Hier können wir nun das alte Schnittstreckverfahren nicht ohne weiteres anwenden, da es unmöglich ist, etwa in eine große Schale mehrere Schnitte in bestimmter Reihenfolge unterzubringen — sie schwimmen rettungslos durcheinander. Man hat sich in den meisten Fällen dann wohl so geholfen, daß man jetzt eine möglichst große Anzahl kleiner Schalen nahm und nun je einen Schnitt in einer Schale unterbrachte. Doch die Nachteile dieses Verfahrens liegen klar zutage: entweder füllte man mehrere Schalen zugleich mit warmem Wasser, wobei man sicher sein konnte, daß nach Benutzung weniger Schalen das Wasser der nächsten schon zu kühl sein würde, oder man füllte jede Schale erst vor dem Gebrauch.

Ganz abgesehen von dem Zeitverlust, der dadurch entsteht, daß man in diesem Falle nach der Anfertigung jedes einzelnen Schnittes aufstehen muß, um eine neue Schale zu füllen und den Schnitt hineinzulegen, abgesehen außerdem von der doch nicht ganz fernliegenden Möglichkeit, daß bei diesem Verfahren doch einmal die Reihenfolge der Schalen nicht innegehalten oder später vertauscht wird, so erschien mir ein weiterer Faktor Grund genug, den Versuch einer Modifikation des Verfahrens vorzunehmen: der Umstand nämlich, daß bei derartig komplizierten Nebenmanipulationen das ruhige Arbeiten des am Mikrotom Sitzenden unbedingt beeinträchtigt wird.

Der kleine Apparat, den ich mir zur Vermeidung der genannten Mißstände gebaut habe, besteht im wesentlichen aus einem drehbaren Ringe oder Kranze kleiner Blechbehälter und einem feststehenden, auf eine konstante Temperatur heizbaren Wasserbehälter. Die eigent-



1.

liche Drehvorrichtung besteht aus Holz. Auf einem feststehenden Holzkreise *a* von etwa 16 cm innerem und 42 cm äußerem Durchmesser ist ein schmälerer Holzring *b* von etwas größerem Außendurchmesser konzentrisch verschiebbar, dessen Lage zu *a* durch einen dritten Holzring *c* fixiert wird, der auf *a* angeschraubt ist und dessen Außendurchmesser dem Innendurchmesser von *b* fast gleichkommt (Fig. 2).

Ein an a befestigter Hebel h_1 dreht nun bei jedem Anschlag an den festen Stab h_2 den Kreisring b um $360^0 : 36 = 10^0$ (Fig. 3), indem er jedesmal einen von 36 regelmäßig angeordneten Stiften oder Nägeln (n) ergreift, die in b von unten her eingesetzt sind (Fig. 1 u. 2) und kehrt dann von einer Feder F gezogen in seine Ruhelage zurück.

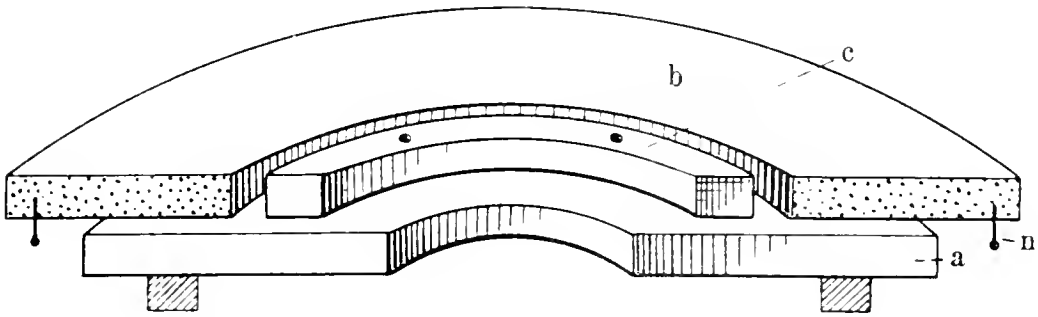
Auf dem Holzringe a (der übrigens jederzeit abgenommen werden kann) befindet sich nun auch leicht abnehmbar das vorhin schon erwähnte ringförmige Blechgefäß, das durch 36 radial angeordnete Blechstreifen in eine gleiche Anzahl ungefähr rechteckiger Kästen oder Fächer geteilt wird, wie dies auf Figur 1 deutlich zu sehen ist.

Der zylindrische Wasserbehälter ruht auf drei Füßen, die auf a innerhalb von c angeschraubt sind; etwa 2 cm über dem Boden besitzt er einen Zapfhahn. Dieser ist durch Schnurverbindungen und Rollen mit dem Hebel h_1 so gekuppelt, daß er während des Anschlags von h_1 an h_2 geöffnet ist, während er sich wieder schließt (durch Gummizug oder Feder), wenn h_1 wieder in seine Ruhelage zurückkehrt. Ist die durch den Hebelanschlag bewirkte Schnurverschiebung ungenügend, d. h. zu kurz, so schaltet man einen ungleicharmigen Hebel als Übersetzung ein, wie dies auf Figur 3 angedeutet ist. Der Wasserbehälter selbst wird oben durch einen abnehmbaren Deckel geschlossen, der in der Mitte ein Ansatzrohr zur Anbringung eines Thermometers in einem durchbohrten Korken enthält (Fig. 1).

Schließlich ist noch als Heizquelle unter dem Wasserbehälter ein Mikrobunsenbrenner angebracht, dessen Flammenhöhe durch Drehen des Brennerrohres aufs einfachste reguliert werden kann. —

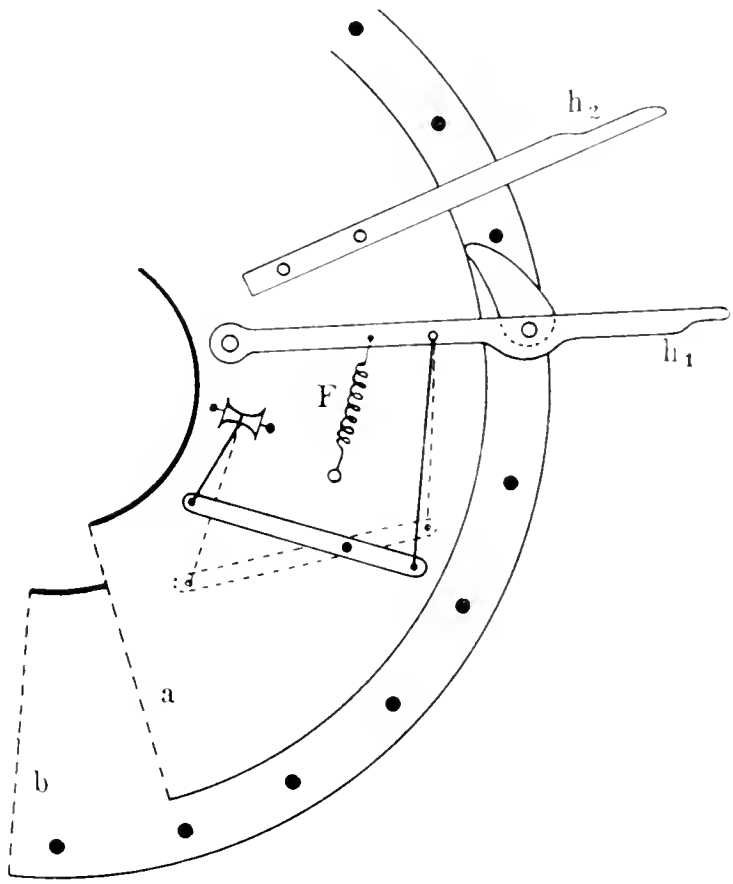
Die Benutzung des Apparates gestaltet sich folgendermaßen: Man füllt den Kessel mit Wasser und heizt ihn mit großer Flamme auf die gewünschte Temperatur an. Dann reduziert man die Flamme auf ein Minimum, das gerade zur Konstanthaltung der Temperatur genügt und kann nun mit dem Mikrotomieren beginnen. Am bequemsten ist es wohl, wenn man beim Arbeiten das Mikrotom rechts und den Streckapparat links vor sich stehen hat. Man nimmt dann den Schnitt mit der rechten Hand mit einem feuchten Pinsel vom Mikrotommesser, während man mit der linken Hand den Hebel h_1 gegen den festen Stab h_2 drückt, wodurch erstens der Holzring b mit dem Blechkranze um 10^0 gedreht wird und zweitens das nunmehr unter dem Hahn befindliche Fach sich automatisch mit Wasser von der gewünschten Temperatur füllt. Das Wasser läuft so lange, bis man

den Hebel h_1 losläßt, worauf er in seine Ruhelage zurückkehrt, ein Vorgang, der im ganzen etwa 2 bis 3 Sekunden in Anspruch nimmt.



2.

Schematischer Querschnitt durch die drei Holzringe.



3.

Ansicht von unten.

Nunmehr legt man den Schnitt in das gefüllte Fach, schneidet wieder, drückt wieder 2 bis 3 Sekunden den Hebel h_1 an h_2, wodurch abermals ein neues Fach gefüllt wird, das wiederum einen Schnitt erhält.

Ist nun der ganze Kranz gefüllt, so hat man 36 Schnitte in schönster Ordnung untergebracht, die man jetzt wieder einzeln auf den Objektträger bringt. Vorteilhafter ist es übrigens noch, gleich immer zwei Schnitte in ein Fach zu bringen — wie der Versuch zeigte, kommt es durch die hier nur tangentiale Stoßrichtung zu keiner Verschiebung —, und man erhält somit gleich 72 Schnitte auf einmal. Man stellt jetzt den Wasserhahn ab, indem man ganz einfach die den Hahn öffnende Schnur von einer Rolle abnimmt, setzt den Blechkranz wieder in Bewegung (jetzt aber natürlich ohne daß Wasser zufließt) und entnimmt die in dem mittlerweile abgekühlten Wasser ganz hart gewordenen, aber nunmehr durchaus glatten Schnitte mit dem Pinsel wieder in genau der gleichen Reihenfolge, in der man sie eingelegt hat. Sind endlich alle Fächer wieder leer, so hebt man den Blechring ab und gießt das kalte Wasser weg.

Handelt es sich etwa darum, außer gröberer Gewebsverteilung für Rekonstruktionszwecke auch noch feinere histologische Details einer Schnittserie zu erhalten, so wird man vorteilhaft bei einer Schnittstärke von etwa 30 μ jeden zehnten oder zwölften Schnitt in drei Schnitte von je 10 μ zerlegen, die man dann noch besonders färben kann. Die 12 als Einheit ist deshalb geeigneter als die sonst meist angegebenen 10, weil man bei der Rekonstruktion dann nicht nur die Möglichkeit hat, jeden einzelnen oder jeden zweiten Schnitt zu wählen, sondern außerdem noch jeden dritten und vierten Schnitt nehmen kann, ohne mit den dünneren Schnitten zu kollidieren, die doch leichter verletzt werden und die Lageverhältnisse des Gesamtschnittes nicht so exakt wiedergeben.

Auch in diesem Falle kann man unseren kleinen Apparat mit Vorteil anwenden. Man markiert sich dann z. B. jedes siebente Fach, etwa mit Buntstift, und legt in die ersten fünf Fächer je zwei, ins sechste Fach einen Schnitt, während das markierte siebente Fach die zwei besten der drei dünneren Paraffinschnitte erhält. Auf diese Weise erreicht man das Gewünschte ganz mechanisch und kann seine Aufmerksamkeit durchaus auf das Schneiden selbst konzentrieren.

Die Herstellungskosten des Apparates sind relativ gering. Die Holzringe ließ ich fertig schneiden, und zwar *a* aus gewöhnlichem weichem Holz, *b* (und *c*, beide natürlich aus einem Stück) aus sogenanntem abgesperrten Holz, das ist solches, bei dem zwei bis drei dünnere Schichten mit der Maschine so aufeinander geleimt sind, daß ihre Faserrichtungen senkrecht aufeinanderstehen. Auf diese Weise wird erstens eben das „Sperren", das „Werfen" des Holzes verhütet

und zweitens bricht der Ring nicht an den Stellen, wo die Fasern parallel zum Kreisdurchmesser verlaufen, was sonst leicht geschehen würde.

Der Blechkranz besteht des leichteren Lötens wegen aus Weißblech, das einen Ölfarbeanstrich erhalten hat; der Wasserbehälter ist aus Zinkblech angefertigt.

Der gesamte Apparat kostet etwa 20 M., und zwar:

Das Blechmaterial und die Klempnerarbeit	13·00 M.
Die geschnittenen Holzringe	5·60 „
Messingzapfhahn	0·75 „
Mikrobrenner	1·75 „

hierbei ist freilich nur der Arbeitslohn des Klempners berücksichtigt, da ich alles andere selbst anfertigte und zusammensetzte — eine Arbeit, die im ganzen etwa 2 bis 3 Stunden in Anspruch nahm.

Der Apparat ließe sich natürlich noch solider ausführen, indem man Holz durch Metall, Gummi durch Stahlfedern ersetzte — doch glaube ich, daß die eben beschriebene immerhin recht stabile Ausführung ihrer Billigkeit wegen den Vorzug verdient.

Zum Schluß sei noch kurz auf die Vorteile aufmerksam gemacht, die der Apparat bietet:

1) Sicheres Strecken der Schnitte, da stets Wasser von richtiger Temperatur ausfließt; kein Zerfließen durch zu heißes, kein ungenügendes Strecken durch zu kaltes Wasser.
2) Kein Irrtum in der Schnittfolge.
3) Bequemes Arbeiten ohne größere Emotionen, da das zu füllende Fach sich stets automatisch immer gerade vor dem Arbeitenden präsentiert.
4) Zeitersparnis.

Der Zeitgewinn war übrigens größer, als ich vermutet hatte. Das Schneiden und Strecken einer Runde = 72 Schnitten dauerte etwa $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde; eine Serie von 1000 Schnitten erfordert also einen Zeitaufwand von 8 bis 10 Stunden. Ein Objekt von dieser Größe, das schon vorher im ganzen gefärbt war, kann also in 2 bis 3 Tagen durchaus fertig verarbeitet werden.

Herr Universitätsmechaniker Otto Sass (Breslau 9, Physikalisches Institut) hat sich bereit erklärt, die Anfertigung des Apparates zu übernehmen.

[Eingegangen am 20. Juni 1914.]

[Aus dem Histologisch-Embryologischen Institut München.
Direktor: Prof. Dr. Mollier.]

Ein Wässerungsapparat.

Von

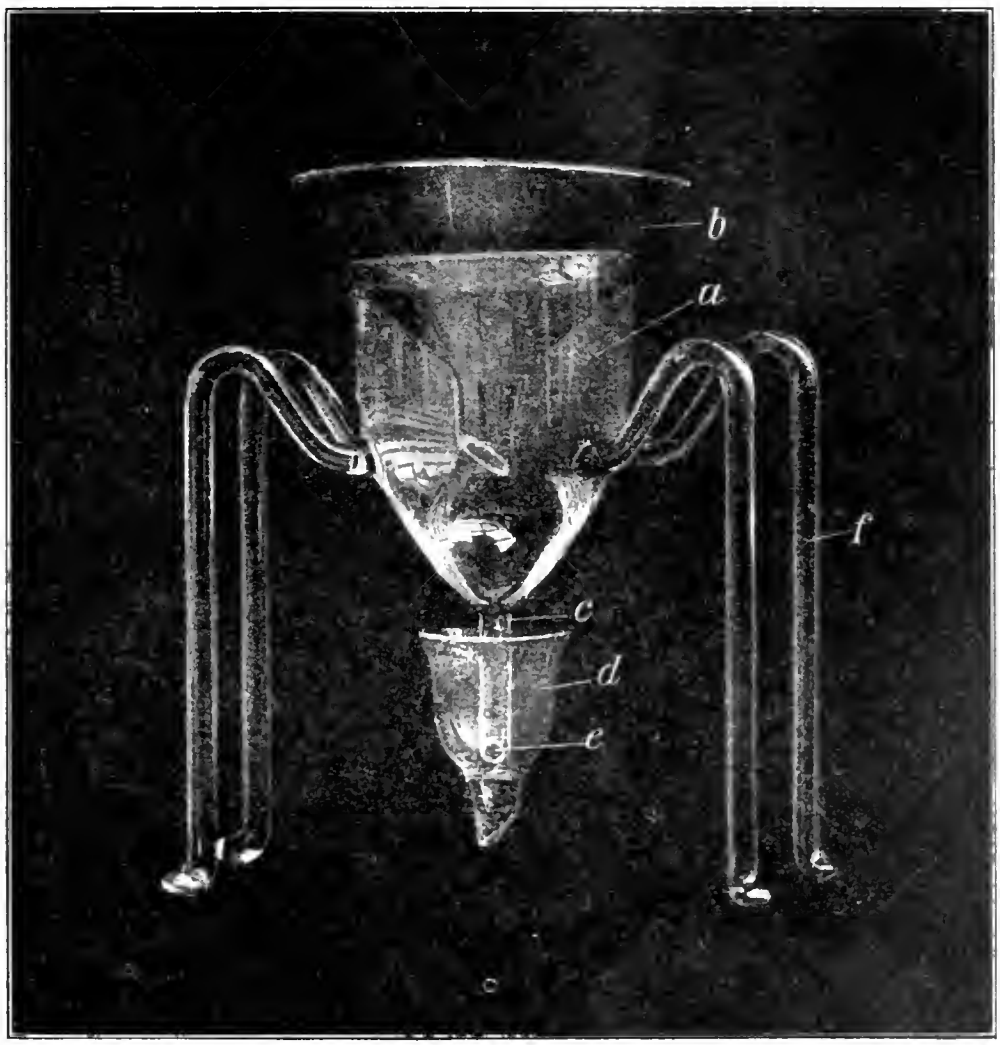
Dr. B. Romeis.

Hierzu drei Textabbildungen.

Der neue Wässerungsapparat (Fig. 1) besteht aus einem eiförmig geblasenen Glasgefäß (*a*) mit weiter, abgesprengter Öffnung. Auf dieselbe wird ein nicht zu steiler, ziemlich breit ausladender Trichter (*b*) mit kurzer abgeschrägter Trichterröhre aufgesetzt. Die Berührungsfläche zwischen Gefäßrand und Trichter darf nicht vollkommen kongruent sein, vielmehr müssen hier einige ganz feine Spalten vorhanden sein, was beim Blasen des Apparates an und für sich schon eintritt. Am unteren Pole des Wassergefäßes ist an einer kurzen, durchgehenden Glasröhre (*c*) ein kleiner Auffangetrichter (*d*) angesetzt. An der Berührungsstelle von Glasröhre und Trichter ist die Röhre durchlocht (*e*). An zwei gegenüberliegenden Seiten des Wassergefäßes sind je zwei Glasstäbe (*f*) als Stelzen angeschmolzen: sie verlaufen zuerst etwas nach aufwärts, um dann senkrecht nach abwärts umzubiegen. Sie gestatten sowohl das Aufstellen wie das Aufhängen des Apparates. Letzteres erfolgt in der Weise, daß das Gefäß in eine entsprechend weite Aluminiumgabel eingehängt wird, die mittels Doppelmuffe an einer senkrecht laufenden Stange verschiebbar ist. Die Zinkenenden der Gabel sind etwas aufgebogen, um ein Abgleiten des Apparates zu verhüten.

Die Bedienung des Apparates ist äußerst einfach. Die fixierten Präparate werden in das Glasgefäß geschüttet, der Trichter aufgesetzt und das Ganze unter einen Wasserhahn gestellt oder gehängt. Dann läßt man Wasser zulaufen. Wenn das Gefäß gefüllt ist, so läuft das Wasser durch die feinen Spalten zwischen Trichter und Gefäßrand an der Außenwand des Gefäßes ab und sammelt sich in

dem kleinen Auffangetrichter *d*, aus dem es durch die in der Glasröhre befindliche Öffnung nach unten abfließt. Durch Regulierung des Wasserstromes hat man es in der Hand, die Objekte stärker oder schwächer umherwirbeln zu lassen.

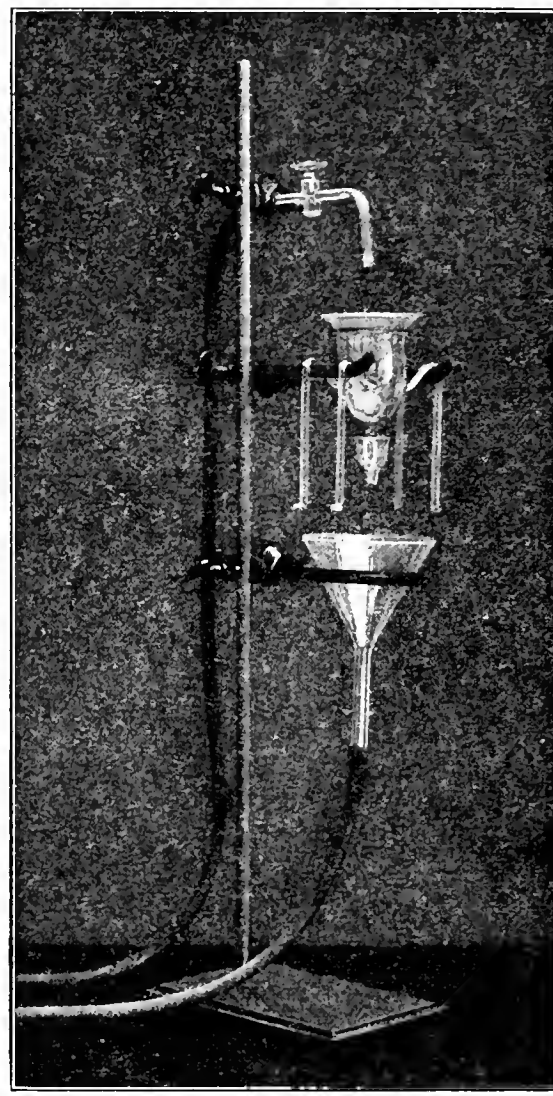


1.

Beim Gebrauch stellt man den Apparat entweder in ein Wasserbecken oder man wählt besser die in Figur 2 abgebildete Anordnung, die man auf jedem Laboratoriumstisch aufstellen kann. Natürlich lassen sich beliebig viele derartiger Wässerungsgefäße untereinanderhängen, so daß man von einem Wasserhahn aus eine größere Zahl von Apparaten bedienen kann.

Noch praktischer ist die in Figur 3 dargestellte Anordnung. Hier ist ein $80 \times 45 \times 1{\cdot}0$ cm messendes Wandbrett mit verzinktem

Blech beschlagen, das unten zu einer 45×20 messenden Rinne (*h*) aufgebogen und verlötet ist. In der Mitte zieht eine senkrechte, oben rechtwinklig abgebogene Aluminiumstange (*i*), die an der oberen und unteren Kante des Brettes festgeschraubt ist. An dieser Stange

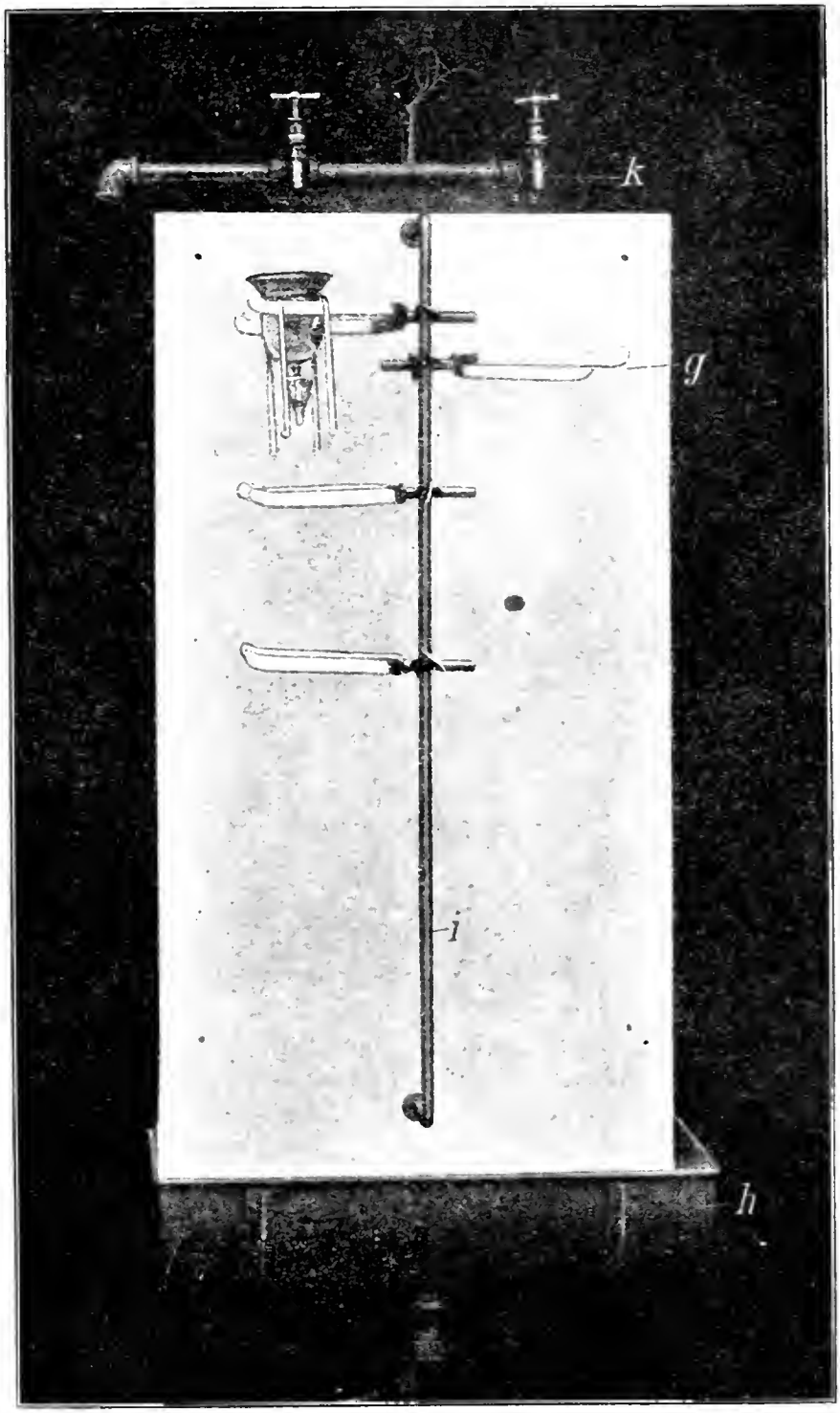


2.

werden dann nach rechts und links hin die Aufhängegabeln (*g*) mit Muffen festgeklemmt. Der Wasserzulauf erfolgt von zwei kleinen Maschinenhähnen (*k*) aus, die mit der Wasserleitung in Verbindung stehen.

Die Vorteile des Apparates bestehen in dem geringen Zeitverlust, den seine Beschickung erfordert; ferner sind die zu wässernden Objekte mit einer stets wechselnden Wasserschicht in Berührung; sie

können mehr oder weniger stark bewegt werden. Der Apparat kann



3.

überall leicht angebracht werden und endlich können von einer Wasserstelle aus eine größere Zahl von Präparaten getrennt gewässert werden.

Der Apparat wird von der Firma Lautenschläger, München, hergestellt und zu folgenden Preisen geliefert: Glasgefäß mit Trichter: 4 M. (bei 5 Stück 3·50 M.), Aluminiumgabel 75 Pf.

[Eingegangen am 23. Juni 1914.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Mayer, P., Einführung in die Mikroskopie. Berlin (J. Springer) 1914. 205 pp. 28 Textfigg. geb. 4·80 M.

Das Buch ist bestimmt für „Personen, die sich durch eigene Erfahrung einen Einblick in die Welt des Kleinen verschaffen wollen, aber dabei ganz auf sich angewiesen sind und keinerlei praktische Unterweisung erhalten können" wie Lehrer, Schüler höherer Lehranstalten, Ärzte oder Apotheker. Hierdurch ist der Charakter des Buches bereits gekennzeichnet. Es gibt nicht bloß die Prinzipien der mikroskopischen Technik an, sondern geht in ausführlicher und leichtverständlicher Darstellung auf die zahlreichen kleinen Handgriffe ein, die erlernt sein müssen, wenn die „Tücke des Objekts" überwunden und die Freude an der mikroskopischen Arbeit zu einer dauernden gemacht werden soll. Ref. kennt keinen Leitfaden der mikroskopischen Technik, der in höherem Maße als dieser geeignet wäre, die praktische Unterweisung in einem Laboratorium zu ersetzen.

Das erste Kapitel des Buches leitet zur Handhabung des Mikroskops an, ohne auf theoretische Fragen einzugehen. Die drei folgenden Abschnitte geben Anweisung zur Herstellung von Präparaten aus Objekten, die nicht geschnitten zu werden brauchen. Als erste Übungsobjekte treten auf: Zeitungspapier, Stärkekörner, Kaffeesatz, Zitronenschalen, Milch, Haare, Wolle, Leinen- und Kapokfasern, Spinnenfäden, Speichel mit Epithelzellen, Brennhaare der Brennessel und Kristalle von Kochsalz und Kalziumkarbonat. Diese Zusammenstellung zeigt, daß die Objekte nicht um ihrer selbst willen, sondern nur mit Rücksicht auf den Gang der technischen Belehrung ausgewählt sind. Das gilt auch für die in den späteren Abschnitten benutzten Objekte; sie sind, wie die oben erwähnten, dem Tier- und Pflanzenreich entnommen und alle leicht erhältlich. Der fünfte Abschnitt macht mit den wichtigsten

Fixiermitteln und ihrer Anwendung bekannt: die beiden folgenden besprechen das Schneiden aus freier Hand und mit dem Mikrotom und das Färben der Objekte. Bei der Besprechung der Mikrotomtechnik wird mit Recht eines der kleineren Instrumente, das Jungesche Studentenmikrotom, zugrunde gelegt. Das achte Kapitel unterrichtet über Schleifen, Entkalken, Bleichen und Mazerieren, das neunte über Beobachtung von lebenden Wesen, das zehnte über Zeichnen und Messen der Objekte. Die folgenden, letzten Abschnitte bringen Verzeichnisse der Farbstoffe und Reagentien, der Geräte und des Materials an Tieren und Pflanzen; sie sind recht ausführlich gehalten und enthalten noch manche Ergänzungen zum Text des Buches.

Wer die jahrzehntelange erfolgreiche Arbeit des Verf. an der Vervollkommnung der mikrotechnischen Methoden kennt, bedarf der Versicherung nicht, daß die Angaben des Buches durchaus zuverlässig sind, und daß Verf. die zweckmäßigsten Methoden in dem Werkchen zu vereinigen gewußt hat. Dem Anfänger, der sich mit seiner Hilfe in die mikroskopische Technik einarbeitet, muß bald das Gefühl völliger Sicherheit bei seiner Tätigkeit entstehen. Das Büchlein kann ihm rückhaltlos empfohlen werden. — Bei einer neuen Auflage des Buches wird es gut sein, Ausdrücke wie: „Es gibt . . . zu kaufen“, oder „die ganzen Operationen“ (statt: alle Operationen) zu vermeiden, den Gebrauch der Wörter „gar, just, arg“, die heute etwas veraltet klingen, einzuschränken. Das Wort „Auflicht“ ist unglücklich gebildet. Diese und einige andere „Schönheitsfehler“ lassen sich ja leicht abstellen.

Hans Schneider (Bonn).

Donau, J., Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie unter besonderer Berücksichtigung der quantitativen Gewichtsanalyse. Handbuch der mikroskopischen Technik, IX. Teil. 70 pp. m. 35 Abb. Stuttgart (Franckhsche Verlagshandlung) 1913. Geh. 2 M.; geb. 2·80 M.

Das Werk gibt eine Zusammenstellung der Arbeitsmethoden der Mikrochemie und wird vor allem dem Anfänger im Laboratorium wichtige Dienste leisten. Die Vorzüge und Nachteile der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der Grundstoffe geringer Substanzmengen werden hervorgehoben. Wichtig sind auch die Angaben über quantitative Bestimmungen, wo der Verf. meist aus seiner eigenen, reichen Erfahrung geschöpft hat. Eine Zusammenstellung der einschlägigen Literatur am Schlusse gereicht dem Werke zum weiteren Vorteil.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Kull, H., Eine Modifikation der Altmannschen Methode zum Färben der Chondriosomen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1913, No. 5, 6, p. 153—157).

Von den zur Chondriosomenfärbung benutzten Methoden ist die Altmannsche besonders einfach, doch sind die Resultate gewöhnlich nicht so schön wie z. B. bei der von Benda mit Kristallviolett. Diese ist aber sehr kompliziert, dauert lange und ist in ihren Resultaten unsicher. Verf. teilt daher eine neue Modifikation der Altmannschen Methode mit, welche in ihren Resultaten die Bendasche Methode übertrifft und dabei schnell und sicher ist. Fixierung in der ursprünglich von Kopsch zur Behandlung des Zentralnervensystems angegebenen Mischung von doppelchromsaurem Kalium und Formol (3·5prozentige Kaliumbichromatlösung 80 cc und 10prozentiges Formol 20 cc). Die Stücke verbleiben in der Mischung 24 Stunden und kommen dann zum Chromieren für 3 bis 4 Tage in die Lösung von doppelchromsaurem Kalium ohne Formol. Nach dem Chromieren Auswaschen in fließendem Wasser und Einbetten. Die Färbung gelingt nicht nur bei Paraffinschnitten, sondern auch bei Celloïdinschnitten, welche nach der Methode von Rubaschkin (Anat. Anzeiger Bd. **31**, 1907) aufgeklebt und vom Celloïdin befreit worden sind. Bei der Fixierung nach Kopsch bzw. nach Regaud erhält man besonders in den Epithelzellen sehr schöne Strukturen. Das Bindegewebe ist oft nicht so gut fixiert, bei sehr zarten Objekten und namentlich bei jungen Embryonen finden sich gelegentlich Schrumpfungen. Die Schuld scheint hierbei an der Paraffineinbettung zu liegen, da die Schrumpfungen bei der Celloïdineinbettung weniger stark sind. Dieser Übelstand tritt nicht hervor, wenn man mit Osmiummischungen fixiert. Von den vielen derartigen Mischungen scheint sich zur Fixierung der Chondriosomen am besten zu eignen das von Champy (Arch. d'Anat. Micr. t. **13**, 1911—1912): die möglichst kleinen Stücke kommen für 24 Stunden in ein Gemisch aus Chromsäurelösung, einprozentig 7 Teile, Kaliumbichromatlösung, 3prozentig 7 Teile, Osmiumsäurelösung, 2prozentig 4 Teile, dann Abwaschen in destilliertem Wasser, Einlegen in ein Gemisch von Acidum aceticum pyroligenosum rectificatum 1 Teil und Chromsäure, 1prozentige Lösung 2 Teile. Hierin verbleiben sie 24 Stunden, werden eine halbe Stunde mit destilliertem Wasser ausgewaschen und zum Nachchromieren auf 3 Tage in eine 3prozentige Lösung von doppelchromsaurem Kalium gelegt. Dann Auswaschen in fließendem Wasser und Einbetten. Bei sehr kleinen Stücken erreicht man eine recht gute, gleichmäßige Fixierung, die Schnitte lassen sich gut färben. — Das Prinzip der Modifikation des Verf. besteht hauptsächlich in der Differenzierung. Er vermeidet hierbei die Pikrinsäure und überträgt

die Rolle dieser gefährlichen Säure verteilt auf zwei andere Farben, die bedeutend milder und gleichmäßiger wirken, es sind dies das Thionin (oder auch Toluidinblau) und die Aurantia. Das Thionin wirkt vielseitig: das Säurefuchsin in den Chondriosomen erhält eine intensive bläulichrote Farbe; in Präparaten, die nach Korsch fixiert sind, färben sich die Kerne und der Schleim und drittens wird das Differenzieren wesentlich erleichtert. Man differenziert mit einer 0·5prozentigen Lösung von Aurantia in Alkohol von 70°, Kontrolle mit dem Mikroskope. Die verschiedenen Gewebe des Schnittes differenzieren sich gleichmäßig, so daß die Chondriosomen überall sehr scharf hervortreten. Das Plasma erhält einen blaßgelben Ton. Wünscht man eine stärkere Plasmafärbung, so muß man zuerst in alkoholischer Aurantialösung differenzieren und dann eine mehr wässerige Lösung verwenden. Am bequemsten geschieht das auf die Art, daß man der differenzierenden Flüssigkeit auf dem Objektträger einige Tropfen destillierten Wassers zufügt und das so entstandene Gemisch 5 bis 10 Sekunden einwirken läßt. Dieses Verfahren ist besonders für das Pankreas sehr nützlich, da sich bei dieser Behandlung die Zymogenkörner gelb färben, während sie bei gewöhnlicher Differenzierung blaßrot bleiben. Gang der Färbung: 1) Färben unter Erhitzen bis zur Dampfbildung mit dem Altmannschen Säurefuchsin (20 g Säurefuchsin von Grübler werden gelöst in 100 cc Anilinwasser). 2) Abkühlen und Abwaschen der Farbe mit destilliertem Wasser. 3) Färben mit einer gesättigten wässerigen Thioninlösung 1 bis 2 Minuten (man löst 0·5 g Thionin in 100 cc destillierten Wassers; der Niederschlag schadet nichts, so daß die Farbe unfiltriert benutzt werden kann), oder in einer 0·5prozentigen wässerigen Toluidinblaulösung. 4) Abspülen mit destilliertem Wasser. 5) Differenzieren mit einer 0·5prozentigen Lösung von Aurantia in Alkohol von 70° (20 bis 40 Sekunden). Kontrolle mit dem Mikroskope. 6) Entwässern in Alkohol von 96°. 7) Absoluter Alkohol. 8) Xylol. 9) Balsam. — Mitunter will beim Differenzieren die blaue Farbe nicht weichen. In solchen Fällen muß man nicht zu lange mit Thionin färben, oder beim Differenzieren erst kurz Aurantia anwenden, dann mit Alkohol von 96° bearbeiten und dann wieder Aurantia einwirken lassen. Sollte die Färbung aus irgendeinem Grunde nicht gelingen, so färbt man von neuem in Säurefuchsin und macht die ganze Prozedur wieder durch. Die ganze Färbung dauert nicht mehr als 10 Minuten. — Um eine bessere Haltbarkeit der Präparate zu erlangen, benutzt Verf. glasharten Balsam (von Merck), der in reinstem Benzol gelöst wird. Dieser wirkt weit besser als der Grüblersche neutrale Balsam. — Die Präparate lassen feinere Details erkennen, als es bisher möglich war. Die Chondriosomen sind intensiv bläulichrot gefärbt und lassen sich schon mit Trockensystemen deutlich unterscheiden. Die Dotterkörnchen sind blaßrot und daher schon durch die Färbung von den Chondriosomen deutlich zu unterscheiden. *Schiefferdecker* (*Bonn*).

Klein, St., Eine einfache Methode der panoptischen Blut- und Gewebsfärbung mit „Polychrom" (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**, 1913, No. 46, p. 2254—2255).

Die beträchtliche Zahl verschiedener Farblösungen und Färbemethoden für Blut und blutbereitende Organe spricht schon dafür, daß keine von ihnen genügt. Verf. hat nun eine Farblösung hergestellt, die den Anforderungen genügt. Er hat jetzt zwei Jahre mit derselben praktisch gearbeitet und sie noch verbessert. Methode: 2 Teile einer 0·25prozentigen Lösung von Methylenblaueosin in Methylalkohol werden mit einem Teile ebenfalls 0·25prozentiger methylalkoholischer Lösung von polychromem Methylenblaueosin gemischt und filtriert. Die fertige Lösung ist unter der Bezeichnung „Polychrom nach Dr. St. Klein" bei Grübler (Leipzig) erhältlich. Die Färbung geschieht auf folgende Weise: I. Blutausstrich. 1) Auf die mit Blut beschickte Oberfläche des Deckgläschens (18 : 18 mm), das sich am ganz flachen Boden einer kleinen Petri-Schale (Durchmesser 6 bis 8 cm, Höhe 1 bis 2 cm) befindet, werden vorsichtig (nicht über den Rand) aus einer feinen Pipette 10 Tropfen der Polychromlösung aufgegossen. Nach 10 Minuten, während welcher die Schale unbedeckt bleibt, werden in diese 10 cc destillierten Wassers eingegossen und gut mit der Farblösung gemischt, bis eine ganz klare, violette Lösung entsteht. Es kommt vor (besonders im Sommer), daß die Polychromlösung schon vor den bestimmten 10 Minuten an den Rändern anzutrocknen beginnt: in solchem Falle muß das Wasser schon früher zugegossen werden. Nach 10 Minuten wird das Deckgläschen aus der Schale herausgenommen, ohne Abspülen vorsichtig mit Löschpapier getrocknet und in Kanadabalsam (neutral für Romanowski-Lösung) montiert. 2) Abgekürzte Methode. Zu den bei 1) genannten 10 Tropfen der Polychromlösung werden schon nach 3 Minuten aus einer zweiten Pipette 10 Tropfen destillierten Wassers (vorsichtig, nicht über den Rand) zugegossen (die Mischung vollzieht sich von selbst), nach weiteren 3 Minuten 10 cc destillierten Wassers zugegossen und durchgemischt. Nach 5 Minuten wird das Deckglas aus der violetten Lösung herausgenommen, abgetrocknet und montiert. Beide Methoden ergeben ganz gleiche Resultate. Die Färbung erinnert ganz an die mit der Giemsa- und der Pappenheim-Methode erhaltene. Die Kernstruktur (besonders der Monocyten) ist viel deutlicher, außerdem werden das blaue Parachromatin und die Nukleolen der Myeloplasten sehr schön mitgefärbt. Ein großer Vorzug der Methode besteht weiter in der guten Darstellbarkeit sämtlicher Granulationen und besonders der reifen Neutrophilen (durch die abgekürzte Methode), wie sonst nach keiner Methode. Auch bei dieser Methode ist für peinlichste Reinlichkeit aller zur Färbung benutzen Gerätschaften zu sorgen, besonders aber ist auf die gute Beschaffenheit des destillierten Wassers zu achten.

das, mit der Farblösung gemischt, immer durchsichtig, ohne Farbniederschläge und violett bleiben muß, sonst entspricht die Färbung höchstens der einer gewöhnlichen MAY-GRÜNWALD-Lösung oder bleibt auch ganz aus. Wird das Blut auf größere Deckgläser ausgestrichen, dann müssen entsprechend mehr Farblösung und Wasser benutzt werden. Daher ist auch das Ausstreichen auf Objektträgern unpraktisch und teuer. — II. Gewebsschnitte. Der auf einem Objektträger aufgeklebte und mit Fließpapier abgetupfte Schnitt wird reichlich — mindestens 50 Tropfen (für Deckgläser genügen 15 Tropfen) — mit Polychromlösung übergossen, nach 5 Minuten werden dazu 5 (eventuell 2 Tropfen) destillierten Wassers zugegossen und durch leichtes Blasen für eine gleichmäßige Verteilung der Lösung gesorgt. Nach 5 Minuten wird die Farblösung durch eine kräftige Handbewegung abgegossen, das Präparat für 3 Minuten in destilliertem Wasser differenziert, dann mit Fließpapier abgetupft, in absolutem Alkohol rasch entwässert (es kann hier statt Alkohol auch die Aceton-Xylolreihe folgen); dann Xylol, Balsam. — Das auf diese Weise gefärbte Präparat ist violettblau, die Kerne kräftig blauviolett, ihre Struktur sehr deutlich, sämtliche Granulationen treten tadellos hervor, das Hämoglobin tritt deutlich rosa hervor, Bindegewebe auch rosa. Diese Farbwirkung ist von der Art der Fixierung (Formol, Formol-MÜLLER usw.) unabhängig. *Schiefferdecker (Bonn).*

Givler, J. P., A Safety Razor modified for cutting Hand-sections (Bot. Gaz. vol. **55**, 1913, p. 399).

Die Safety Razors genügen im allgemeinen nicht den Ansprüchen, die an ein für Freihandschnitte bestimmtes Messer gestellt werden müssen. Verf. fand jedoch die Marke „Durham-Duplex" nach leichter Modifikation geeignet, das gewöhnliche Rasiermesser zu ersetzen. Die Messerklinge ist bei dieser Marke dicker und länger als bei anderen Konstruktionen, und infolge der Ähnlichkeit mit den gewöhnlichen Messern treten keine Schwierigkeiten im Gebrauch auf. Die getroffenen Veränderungen bestehen hauptsächlich in teilweiser Entfernung des oberen und unteren Schutzblattes, wie man aus der beigegebenen Abbildung des näheren ersieht. *Hans Schneider (Bonn).*

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Brammertz, W., Morphologie des Glykogens während Eibildung und Embryonalentwicklung von Wirbellosen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 389—412 m. 1 Tfl.).

Als Untersuchsmaterial dienten Ovarien, Eier und Embryonen verschiedener Formen aus verschiedenen Klassen der Wirbellosen. Als Fixierungsmittel wurde fast ausschließlich Carnoysche Flüssigkeit verwendet. Eingebettet wurde in Paraffin und zum Aufkleben der Schnitte meist Glyzerin-Eiweiß benutzt. Die entparaffinierten Schnitte wurden dann mit einer dünen Celloïdinschicht überzogen, um eine Kernfärbung mit Delafields Hämatoxylin oder Ehrlichs Alaun-Hämatoxylin zu ermöglichen. Nach Entfernung der Celloïdinschicht erfolgte schließlich Glykogenfärbung meist nach Best und Einschluß in Xylol. Für spezielle Zwecke wurde noch Eisenhämatoxylin nach Heidenhain angewandt. *E. Schoebel (Neapel).*

Weißenberg, R., Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien Glugea anomala Moniez und Hertwigi Weissenberg (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 2, p. 81—163 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.).

Von der Anfertigung von Ausstrichpräparaten wurde bald zugunsten der Schnittmethode verzichtet, denn die Reihenfolge der Entwicklungsstadien in den Cysten kann nur richtig beurteilt werden, wenn der topographische Zusammenhang gewahrt bleibt. Die noch nicht von einer Sporenhülle umgebenen Entwicklungsstadien der Parasiten erwiesen sich als ungemein schwierig gut zu fixieren. Nur Flemmingsche Flüssigkeit gab hier gute Resultate. Die beschalten Formen und großen Kerne ließen sich dagegen auch mit 10prozentigem Formol befriedigend fixieren. Präparate, die mit Alkohol-Eisessig (absoluter Alkohol 95 Teile, Eisessig 5 Teile) und Sublimat-Alkohol-Eisessig (konzentrierte Sublimatlösung 22 Teile, absoluter Alkohol 10 Teile, Eisessig 1 Teil) fixiert wurden, entfernen sich zweifellos mehr von den natürlichen Verhältnissen, doch haben diese Fixierungen den großen Vorzug, gute Giemsa- und Bionda-Färbung zu ermöglichen. Für den Nachweis des Kernes leistete letztere besonders gute Dienste. Nach Formolfixierung bewährte sich Delafields Hämatoxylin. Die Flemming-Präparate wurden meist mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, zuweilen auch mit Safranin-Lichtgrün gefärbt. *E. Schoebel (Neapel).*

Gerwerzhagen, A., Beiträge zur Kenntnis der Bryozoen. 1. Das Nervensystem von Cristatella mucedo Cuv. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 309—345 m. 3 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Untersuchung wurde mit der vitalen Methylenblaumethode ausgeführt. Es empfiehlt sich, für die Färbung recht lebenskräftige Kolonien mit möglichst großen Einzeltieren auszusuchen, dieselben in mit Aquarienwasser gefüllte Petrischalen zu bringen und dann erst

das Methylenblau in Substanz zuzusetzen, bis das Wasser eine ziemlich kräftige blaue Farbe angenommen hat. Je nach der Stärke der Lösung tritt die Färbung früher oder später ein. Noch ehe der Höhepunkt der Färbung erreicht ist — den richtigen Augenblick muß man durch Erfahrung kennen lernen — müssen die Tiere betäubt werden, um die sonst unfehlbar eintretende Zusammenziehung zu verhindern. Am besten verwendet man dazu Kokaïn, das man in fester Form der Farblösung zusetzt. Nach erfolgter Betäubung spült man kurz in Wasser ab und schreitet zu der Fixierung der Farbe. Da die Tiere in zu starker Methylenblaulösung bald absterben, anderseits aber eine starke Lösung wegen der schneller, oft schon nach einer halben Stunde erfolgenden Färbung bequemer ist, kann man sich so helfen, daß man die Kolonien, ehe die Tiere absterben, aus der starken in eine schwache Lösung bringt. In dieser erholen sie sich rasch, und die Färbung tritt meist sehr schnell und schön ein. Auf diese Weise läßt sich die Innervierung der Tentakelkrone vollständig darstellen. Später als diese Färbung erfolgt die der übrigen Teile des Nervensystems, und zwar meist so, daß sich zunächst die Längsstämme der Tentakelscheide und das dazwischenliegende Ganglienzellnetz, dann die Darmnerven und schließlich erst das Ganglienzellnetz der Koloniewand färben. Bei Injektion der Farblösung in die Leibeshöhle tritt sehr bald Färbung des kolonialen Nervensystems ein. Wirkt dann auch noch Methylenblau von außen ein, so erhält man bisweilen eine ziemlich vollständige Darstellung des gesamten Nervensystems. Um das Nervennetz des Darmes recht deutlich zu erhalten, läßt man die Tiere vorteilhaft einen Tag hungern. Was die Fixierung der Färbung betrifft, so geben Ammoniumpikrat und Ammoniummolybdat erst bei Zusatz von etwas Osmiumsäure gute Resultate. Es ist aber zu beachten, daß man nicht zu viel davon zusetze, da sonst zu starke Bräunung eintritt, welche die Untersuchung erschwert. *E. Schoebel (Neapel).*

Meves, F., Über das Verhalten des plastomatischen Bestandteiles des Sperminms bei der Befruchtung des Eies von Phallusia mamillata (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 2, p. 215—260 m. 7 Figg. u. 4 Tfln.).

Da Phallusia mamillata hermaphroditisch ist, kann man von demselben Tier durch Anstechen der Ausführungsgänge der Geschlechtsdrüsen mit einer Nadel zugleich reifen Samen und Eier gewinnen, jedoch wurden bei solcher Selbstbefruchtung keine Resultate erzielt. Von dem Moment der Befruchtung an bis zum Eintritt der ersten Furchung verflossen im Minimum etwa $1^1/_4$ Stunde. Zur Fixierung wurde die Altmannsche Methode benutzt. Die Eier wurden also verschieden lange Zeit nach der Befruchtung auf 24 Stunden in das

Altmannsche Gemisch (gleiche Teile von 2prozentiger Osmiumsäure und 5prozentiger Kaliumbichromatlösung) eingelegt und dann, nach gründlichem Auswaschen mit destilliertem Wasser, in allmählich steigendem Alkohol bis zu 80prozentigem übertragen, in welchem sie bis zur Verarbeitung verblieben. Die Einbettung geschah durch Xylol in Paraffin unter Benutzung von Gelatinehülsen mit rechteckigem Querschnitt. Die 4 bis 5 μ dicken Schnitte wurden dann zunächst der Vorbehandlung nach Rubaschkin unterworfen und schließlich mit Säurefuchsin-Pikrinsäure nach Altmann gefärbt.

E. Schoebel (Neapel).

Gelei, J., Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**. 1913, p. 51—150 m. 2 Tfln.).

Die herauspräparierten Ovarien wurden, entsprechend den verschiedenen Zwecken, mit den verschiedensten Fixierungsflüssigkeiten behandelt, da ein für alle Zwecke gleich gutes Reagens kaum existieren dürfte. Sehr gute Resultate wurden mit dem auf 40 bis 50° C erwärmten Zenkerschen Gemisch bei einer Einwirkungsdauer von $^1/_4$ bis 1 Stunde erzielt, ferner mit schwacher Flemmingscher Lösung (1 Tag) und mit einem Gemisch „aus $^1/_2$ Prozent Osmium und 2 Prozent Kaliumbichromicum" (1 bis 3 Tage). Am besten erhalten warme Flüssigkeiten die Form der Zellen und Kerne. Das Protoplasma wird am besten mit Zenkerscher Lösung und mit Osmiumsäuregemischen, die Kerngrundsubstanz mit Flemmings Flüssigkeit, mit Osmiumsäure-Kaliumbichromat und mit warmer Zenkerscher Lösung fixiert. Außerdem kamen zur Verwendung: konzentrierte Sublimatlösung, Sublimat-Eisessig, ein Formol- (6 Prozent) Salpetersäure- (3 Prozent) Sublimat- (7 Prozent) Gemisch, Osmiumsäure- ($^1/_2$ Prozent) Sublimat (5 Prozent), dann $^1/_2$- bis 1prozentige Osmiumsäure und die Hermannsche Flüssigkeit. Zur gleichzeitigen Fixierung von Fett und Glykogen wurde eine mit Spuren von Jodnatrium versetzte Mischung von absolutem Alkohol und 1- bis 2prozentiger Osmiumsäurelösung bei einer Temperatur von 0° C mit Erfolg, d. h. ohne störende Reduktion der Osmiumsäure durch Alkohol zu erhalten, benutzt. Auf diese Weise fixiertes Material, das in 50- bis 55prozentigem Alkohol im Eisschrank ausgewaschen ist, erlaubt eine sehr elektive Glykogenfärbung nach Best, bei allerdings fünf- bis zehnmal so langer Färbungsdauer als Best angibt. Außerdem wurde als Fett und Glykogen fixierendes Mittel ein Gemisch aus gleichen Teilen absolutem Alkohol und einer Osmium-Kaliumbichromatmischung (1:2 bis 4 Prozent) ebenfalls bei 0° C verwendet. Diese Flüssigkeit hat den großen Vorteil, daß man nachher die Schultzesche Osmium-Hämatoxylinfärbung im Stück ausführen kann, und die Schnitte nur noch eine Glykogenfärbung benötigen. Was die Färbeverfahren be-

trifft, so waren dieselben äußerst zahlreich. Im Stück wurde mit Boraxkarmin (1 bis 3 Tage), mit Hämateïn I A (12 bis 24 Stunden) und mit Schultzes Osmiumhämatoxylin tingiert. Zur Untersuchung des Kernchromatins kamen außerdem zur Verwendung: Heidenhains Eisenhämatoxylin, Delafields und Ehrlichs Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün (mit Boraxkarmin), Bleu de Lyon (mit Boraxkarmin), Lichtgrün (mit Safranin), Flemmings Dreifachfärbung, Ehrlich-Biondis Triacidgemisch und Bendas Mitochondrienfärbung: zur Untersuchung der Nukleolen: Boraxkarmin-Methylgrün, Boraxkarmin-Bleu de Lyon, das Zimmermannsche Fuchsin-Jodgrün, Safranin-Lichtgrün, Triacid, Safranin-Gentianaviolett und Eisenhämatoxylin; für die Kernmembran: Triacid, Eisenhämatoxylin und Schultzes Osmium-Hämatoxylin; für die Chromidien: Apáthys Hämateïn I A, Delafields Hämatoxylin, Osmiumhämatoxylin, Triacid, Bendas Mitochondrienfärbung, Safranin, Thionin, Toluidinblau; für das Centriolum und die Strahlung: Eisenhämatoxylin, Triacid, Flemmings Dreifach-, Hicksons Brasilin-Eisen-, Bendas Mitochondrienfärbung; für die Randkörperchen der Eizellen: Boraxkarmin-Bleu de Lyon, Hämateïn I A, Safranin, Flemmings Dreifachfärbung; für den Glykogennachweis: Jodreaktion, Gallustinte nach P. Mayer und Bests Karmin. — Die Einbettung erfolgte in Paraffin und hauptsächlich in Paraffin-Celloïdin nach Apáthy. — Neben den Schnittpräparaten wurden aber auch mit Erfolg Zupfpräparate hergestellt. Da die Gewebe des Dendrocoelum sehr klebrig sind, lassen sich die auf dem Deckglas zerzupften Ovarien mit beliebigen Fixierungsmitteln behandeln. Verf. wandte gewöhnlich 40 bis 50° C warme Zenkersche Flüssigkeit an, in der die Objekte 10 bis 60 Sekunden blieben, um dann noch einige Minuten in kalte Flüssigkeit eingelegt zu werden. Das Zerzupfen und Überführen in die Fixierungsflüssigkeit muß möglichst schnell geschehen, damit keine Schädigung durch Eintrocknen eintritt. Bei feuchter Luft kann man überschüssige Flüssigkeit vor dem Zerzupfen mit Fließpapier absaugen, nicht aber bei trockner Luft. Zupfpräparate fand Verf. zur Bestimmung der normalen und reduzierten Chromosomenzahl unentbehrlich.

E. Schoebel (Neapel).

Lang, P., Experimentelle und histologische Studien an Turbellarien 2. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 82, Abt. 1, 1913, p. 339—364 m. 2 Figg. u. 1 Tfl.).

Sämtliche Experimente und Untersuchungen wurden an Planaria polychroa Schmidt ausgeführt. Zur Fixierung diente meist konzentrierte Sublimat-Kochsalzlösung, die auf 50 bis 60° C erwärmt war. Daneben gab auch die Flemmingsche Flüssigkeit sehr gute Resultate, deshalb wurde beim Studium der Amitosen diese Fixierung stets zur Kontrolle auch angewandt. Die Färbung erfolgte mit Hämalaun-Kongorot, alkoholischem Hämatoxylin und Heidenhains Hämatoxylin.

E. Schoebel (Neapel).

Ortner-Schönbach, P., Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 413—449 m. 2 Tfln.).

Sämtliche zur Untersuchung disponiblen Parasiten wurden lebend den betreffenden Eingeweideteilen entnommen und sofort fixiert. Als Fixationsmittel wurde ausschließlich Carnoysche Flüssigkeit verwendet. Die Einbettung in Paraffin erwies sich auch als durchaus einwandfrei. Da beim Aufkleben der Schnitte immer noch am ehesten Gefahr vorhanden ist, daß Glykogen in Lösung geht, wurde ausschließlich die Glyzerin-Eiweißmethode benutzt. Zur färberischen Darstellung des Glykogens wurde vor allem das Best'sche Karmin verwandt und später auch die von P. Mayer angegebene Gallustinte, die aber bei geringen Glykogenmengen weniger geeignet ist, als erstere. Zur Kernfärbung diente Delafields Hämatoxylin, womit 1 bis $1^1/_2$ Minute gefärbt wurde. Anfangs wurde mit 50prozentigem Alkohol ausgewaschen, wobei aber die Kerne meist nicht so distinkt blau werden, daß sie einen ganz scharfen Kontrast zur Glykogenfärbung abgeben würden und wie man ihn beim Auswaschen mit Brunnenwasser erhält. Da letztere Prozedur ohne Gefahr für das Glykogen nach Überziehen der Schnitte mit einer dünnen Celloïdinschicht möglich ist, wurde schließlich in dieser Weise verfahren und ein recht befriedigendes Resultat damit erzielt. Zur Feststellung feinerer histologischer Details und zum Vergleich wurde auch Eisenhämatoxylin-Eosin-Färbung angewendet. *E. Schoebel (Neapel).*

Mayer, L., Die intrazellulären Fibrillen in den Epithelzellen von Oligochäten und Polychäten und das Skelett der Muskelzellen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 450—475 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.).

Zur Fixierung wurden die verschiedensten Flüssigkeiten verwandt, von welchen sich das Sublimat-Alkohol-Gemisch nach Apáthy (3 bis 4 g Sublimat, 1 g Kochsalz, 100 cc 50prozentiger Alkohol), eine konzentrierte Lösung von Sublimat in Seewasser, besonders aber Bendas Modifikation des starken Flemmingschen Gemisches am besten bewährten. Von einfacheren Färbungen wurden die mit Boraxkarmin, Eisenhämatoxylin und Delafields Hämatoxylin angewandt. Apáthys Goldmethode fiel nicht befriedigend aus; dafür lieferte die allerdings etwas launische Bendasche Mitochondrienfärbung so klare Bilder, daß sie später ausschließlich zur Verwendung kam. Zur Schnittmethode gesellten sich gelegentlich Lebendbeobachtungen der Epithelien und Anfertigung von Mazerationspräparaten. *E. Schoebel (Neapel).*

Quack, M., Über den feineren Bau der Mitteldarmzellen einiger Nematoden (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 1—59 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.).

Die ihrem Wirte entnommenen Tiere wurden lebend der Länge nach aufgeschnitten, der Darm herausgenommen, quer zerschnitten und in die Fixierungsflüssigkeit getan. Nur wenn es sich um Feststellungen von Beziehungen zwischen Darm und den übrigen Organen handelte, wurden die ganzen Würmer quer in Stücke zerlegt, die klein genug waren, um von der Fixierungsflüssigkeit rasch durchdrungen zu werden. Als solche kamen hauptsächlich das Carnoysche und Flemmingsche Gemisch zur Verwendung, womit die günstigsten Resultate zu erzielen waren. Die möglichst dünnen Paraffinschnitte wurden vorwiegend mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt, kombiniert mit Säurefuchsin, Safranin, Safranin-Lichtgrün oder Eosin-Lichtgrün. Bei der letzteren Farbenkombination ist es schwierig, das richtige Verhältnis zwischen grün und rot zu treffen. Nach Guieysses Angaben wurden die Schnitte zuerst 24 Stunden in ziemlich konzentrierter Eosinlösung tingiert, dann der Eisenhämatoxylinfärbung unterworfen und dann vom 70prozentigen Alkohol aus 2 bis 3 Minuten mit einer alkoholischen Lichtgrünlösung behandelt. Recht gute Resultate gab noch die Mallorysche Bindegewebsfärbung. Zum Nachweis des Glykogens diente hauptsächlich das Kalikarmin nach Best. *E. Schoebel (Neapel).*

Casper, A., Die Körperdecke und die Drüsen von Dytiscus marginalis L. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 387—508 m. 44 Figg.).

Fixiert wurde mit Zenkerscher Lösung, Sublimat-Alkohol-Eisessig und mit Flemmingschem Gemisch. Bei der Größe der Objekte war es notwendig, daß die älteren Larven, sowie Puppen und Käfer vor der Fixierung zerschnitten wurden. Die im Prothorax gelegenen Komplexdrüsen wurden mit einigen wenigen Schnitten möglichst rasch aus dem Käfer herauspräpariert und für sich in die Fixierungsflüssigkeit gebracht. Die in üblicher Weise hergestellten Paraffinschnitte wurden meist mit Delafields Hämatoxylin kombiniert mit Eosin und Hämatoxylin nach Heidenhain kombiniert mit Safranin gefärbt.
E. Schoebel (Neapel).

Jordan, K. H. Ch., Zur Morphologie und Biologie der myrmecophilen Gattungen Lomechusa und Atemeles und einiger verwandter Formen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 346—386 m. 20 Figg.).

Die Fixierung des Materials geschah nach Betäubung mit Äther etwa 10 Stunden lang in Formol-Alkohol-Eisessig (15 Teile 96prozentiger Alkohol, 6 Teile Formol, 2 Teile Eisessig und 30 Teile Wasser). Nach der Fixierung kamen die Objekte 14 Tage in Seifenspiritus zur Erweichung des Chitins und wurden dann in Celloïdin-

Paraffin eingebettet. Zur Färbung der Schnitte diente hauptsächlich Hämalaun. *E. Schoebel (Neapel).*

Armbruster, L., Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden [Osmia cornuta Latr.]. Beiträge zur Geschlechtsbestimmungsfrage und zum Reduktionsproblem (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 242—326 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Die Fixierung der Hoden erfolgte in erster Linie mit dem Hermannschen Gemisch nach den Angaben von Meves. Derart fixiertes Material gab sehr klare Bilder und weist offenbar keinerlei Schrumpfung auf. Ferner kamen zur Verwendung das Flemmingsche Gemisch nach Meves und Sublimat-Eisessig nach Gilson-Petrunkewitsch. Warm angewandt dürfte Sublimat das am schnellsten wirkende Fixierungsmittel sein und deshalb besonderen Wert für das Studium gewisser rasch sich vollziehender Veränderungen an den Chromosomen haben. Die in Paraffin eingebetteten Objekte wurden in 5 bis 10 μ dicke Schnitte zerlegt und diese mit Glyzerineiweiß kombiniert mit Wasser aufgeklebt. An Färbungen wurden die verschiedensten und diese wiederum in den verschiedensten Kombinationen angewendet: als Kernfärbung insbesondere Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Hämatoxylin nach Delafield und Hämatein [?], als Plasmafarben Lichtgrün, Bordeauxrot, Eosin und Pikrokarmin.

E. Schoebel (Neapel).

Nachtsheim, H., Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene [Apis mellifera L.] (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 169—241 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.).

Das zur Gewinnung der Eier angewandte Verfahren war folgendes: Die Königin wurde auf eine der drei vordersten Waben gesetzt und ihr ein Zurückgehen auf die hinteren Waben durch Einhängen des Absperrgitters unmöglich gemacht. Hatte sie die drei vordersten Waben bestiftet, so wurde eine, am besten die mittlere, herausgenommen und an ihre Stelle eine leere, von den Arbeiterinnen zur Bestiftung bereits vorbereitete Wabe hineingehängt. Nach 2 Stunden wurde die Wabe nachgesehen. Fanden sich dann bereits Eier in ihr, so konnten sie höchstens 2 Stunden alt sein, aller Wahrscheinlichkeit nach aber waren sie viel jünger. Sehr häufig natürlich oder vielmehr meistens findet man nach 2 Stunden überhaupt noch keine Eier; es hängt das sehr von den Witterungsverhältnissen und den Zuständen im Stock ab, vor allem darf man das Volk nicht allzu häufig beunruhigen. Übrigens ist es viel schwerer, Drohneneier als Arbeiterinneneier in genügender Zahl zu erhalten. Die bis 2 Stunden alten Eier wurden entweder sofort fixiert oder in der Wabe hinter das Absperrgitter

gehängt, so das die Königin keine weiteren Eier hinzulegen konnte. Auf diese Weise gelang es, Eier jedes beliebigen Alters zu erhalten. Vermittels einer feinen, an der Spitze etwas umgebogenen Nadel konnten die Eier leicht aus den Zellen genommen werden. — Die zum Studium der Ovogenese und Spermatogenese nötigen Ovarien und Hoden wurden ebenfalls vom Verf. selbst konserviert. — Was die Fixierung betrifft, so wurde für die Eier fast ausschließlich das Gilsonsche Gemisch in der von Petrunkewitsch angegebenen Modifikation verwendet. Die Fixierungsdauer schwankte zwischen 6 und 24 Stunden. Für die Fixierung der Ovarien und Hoden wurde ebenfalls die Gilsonsche Flüssigkeit verwandt, daneben aber kamen mit ungefähr gleichem Erfolge noch die Gemische von Flemming, Hermann, Bouin und Zenker in Anwendung. Die Hoden-Ausstrichpräparate wurden teils mit heißem Zenkerschem Gemisch (etwa 50° C), teils mit Schaudinns Gemisch fixiert. — Das Einbetten der Eier ist zwar, wenn man Schrumpfungen vermeiden will, nicht leicht, gelang aber doch bei einiger Vorsicht mit Xylol als Intermedium ganz gut. Das Schneiden bietet im Vergleich mit anderen Insekteneiern nur geringe Schwierigkeiten. Die Färbung der Schnitte mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und nachfolgend mit Lichtgrün oder Eosin lieferte die schärfsten und kontrastreichsten Bilder. Daneben wurden zu Kontrollfärbungen noch benutzt: Boraxkarmin-Lichtgrün, Safranin-Lichtgrün, Indigokarmin-Pikrinsäure-Magentarot. *E. Schoebel (Neapel).*

Maziarski, St., Sur la persistance des résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogénèse de Vespa vulgaris L. (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 507—532 m. 1 Tfl.).

Die Ovarien wurden nach Öffnung des Abdomens des narkotisierten Tieres an Ort und Stelle fixiert und zwar mit den Flüssigkeiten von Bouin, Mann, Flemming und mit Sublimat-Eisessig. Die dann sorgfältig herauspräparierten Organe wurden ausgewaschen, entwässert und in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet. Für die Schnittfärbung eignete sich nach verschiedenen Versuchen am besten Heidenhains Eisenhämatoxylin kombiniert mit Eosin oder Lichtgrün. *E. Schoebel (Neapel).*

B. Wirbeltiere.

Schalk, A., Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von Petromyzon fluviatilis (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**. 1913. Abt. 1. p. 43—67 m. 34 Figg. u. 1 Tfl.).

Fixiert wurden die Tiere mit dem Gemisch von Brasil (Pikrinsäure 1 Teil, Essigsäure 15 Teile, Formol 60 Teile, 80prozentigem Alkohol 150 Teile). Brauchbare Schnittfähigkeit war nur zu erzielen, wenn der Aufenthalt im Thermostat auf eine halbe Stunde beschränkt wurde. Die Schnitte von jungen Tieren wurden mit Magnesiakarmin-Pikraminsäure-Chromotrop gefärbt, die von älteren mit Boraxkarmin-Bismarckbraun-Bleu de Lyon. *E. Schoebel (Neapel).*

Reis, V., u. **Reis, K.,** Der Apparat von Golgi-Kopsch und die intrazellulären Einschlußkörper. — Ein Beitrag zur Histologie der Bindehautepithelien und des trachomatösen Follikels (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **86**. 1913. H. 1. p. 122—135 m. 2 Tfln.).

Das Material wurde behandelt nach der Versilberungsmethode von Golgi und den Osmierungsmethoden von Kopsch und Sjövall. Sehr schöne Resultate ergab die von Weigl angegebene Modifikation der Kopschschen Methode mittels Fixierung des Materials in Sublimat-Osmiumsäure. Diese Färbungsmethoden besitzen eine besondere Eigentümlichkeit, daß nämlich, je nach der Zeit, die zur Konservierung und Färbung verwendet wurde, der Apparat in verschiedenen Schichten des untersuchten Gewebes schwarz gefärbt wird. Nach der Ansicht von Sjövall ist die Verschiedenheit der Färbung auf die primäre Wassereinwirkung zurückzuführen, da die den Apparat aufbauenden Myelinstoffe, um die Osmiumsäure reduzieren zu können, zuerst in Wasser aufquellen müssen. Am häufigsten traten Schwärzungen in der mittleren Schicht, in dem sogenannten subepithelialen Gewebe auf, was darauf zurückzuführen ist, daß die äußere epitheliale Schicht, die zuerst mit der Osmiumsäure in Berührung kam, vor der Quellung schon konserviert wurde, in den ganz tiefliegenden Schichten dagegen ist die Quellung des Apparates zu weit vorgeschritten, so daß er einer Zerstörung unterlag. Durch Modifikation der Zeit der Fixierung und Färbung gelang es, die Schwärzungen im Epithel, im subepithelialen Gewebe und im Inneren des trachomatösen Follikels, also in allen Schichten des untersuchten Gewebes zu erhalten. Bei Anwendung der erwähnten Färbungsmethoden konnten die Verff. den Golgischen Apparat in den Zellen der normalen wie auch der trachomatös veränderten Bindehaut stets feststellen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Péterfi, T., Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, 1913, Abt. 1, p. 1—42 m. 13 Figg. u. 3 Tfln.).

Verf. stellte sich die Aufgabe, die O. Schultzeschen Angaben über den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen mit spezifischen, elektiven Bindegewebs-Färbungen nachzuprüfen. Die Untersuchungen wurden an Amphibienlarven und an Muskeln von Fröschen und Mäusen ausgeführt. Zur Fixierung der ersteren diente 1·5prozentige Trichloressigsäure und Heidenhains Sublimat-Trichloressigsäuregemisch (Sublimat 9 g, Trichloressigsäure 2 g, Eisessig 1 cc, physiologische Kochsalzlösung 100 cc). Die Muskeln von Frosch und Maus wurden in dreifacher Weise untersucht: in frischem Zustande, an isolierten und gefärbten Präparaten und an fixiertem Schnittmaterial. Die Isolierung wurde einmal nach den Angaben Schultzes ausgeführt: kleine, 24 Stunden lang in Formol-Alkohol (1 Teil Formol, 2 Teile absoluter Alkohol) fixierte Muskel-Sehnenstücke wurden mit Chromhämatoxylin gefärbt, mit 70prozentigem Alkohol differenziert, 24 Stunden mit 1prozentigem Fuchsin S nachgefärbt, in absoluten Alkohol gebracht und in Xylol eingelegt, worin dann auch die Isolierung erfolgte. Anderes Material wurde im wesentlichen nach den Angaben Froriep's mit 2·5prozentigem salizylsaurem Alkohol isoliert. Die Muskeln verblieben 2 bis 4 Wochen in der isolierenden Flüssigkeit, wurden dann 24 Stunden in Leitungswasser gewaschen, 1 bis 2 Stunden in Wasser gekocht (Froriep kochte in 1prozentiger wässeriger Salizylsäurelösung, Ref.) und schließlich in 10prozentigen Alkohol eingelegt. Zur Färbung dienten in diesem Falle verdünnte Lösungen von Hämateïn und Fuchsin S. Die Isolierung erfolgte auch hier in Xylol, in das die Objekte durch Alkohol steigender Konzentration gebracht worden waren. Das Schnittmaterial wurde in folgender Weise behandelt: Von paarigen Muskeln wurde der der einen Seite nach Schultze, und zwar vorwiegend mit Formol-Alkohol (1 : 2) fixiert und in Paraffin oder Kollodium-Paraffin eingebettet, der der anderen Seite aber immer mit einem anderen Fixierungsmittel behandelt. Es kamen hierbei zur Verwendung: Konzentrierte Sublimatlösung, 10prozentiges Formol, Formol-Essigsäure (10prozentiges Formol und 5 Prozent Essigsäure), Zenkersche Flüssigkeit und Regaudsche Lösung. Die Fixierung erfolgte, je nachdem kontrahierte oder erschlaffte Muskeln untersucht werden sollten, unmittelbar nach der Tötung des Tieres oder erst $1^1/_2$ bis 3 Stunden später. Dieses Material wurde ebenfalls teils in Paraffin, teils in Kollodium-Paraffin, teils aber auch noch nach der Apáthyschen Methode (s. diese Zeitschr. Bd. **29**, p. 468) eingebettet. Die zur Färbung der Schnitte benutzten Methoden waren folgende: 1) Azokarmin-Mallorysche Färbung (Behandlung mit 0·2prozentigem wässerigem Azokarmin, destilliertem Wasser, 1prozentiger Phosphor-

molybdänsäure, Mallorys Gemisch, bestehend aus 1 Teil Anilinblau, 4 Teilen Orange G, 4 Teilen Oxalsäure und 200 Teilen Wasser, dann mit destilliertem Wasser, absolutem Alkohol und Xylol). 2) Brillantschwarz-Toluidinblaulösung-Safranin (Behandlung mit 1prozentiger Brillantschwarzlösung $^1/_2$ bis 1 Stunde, 1promilliger Toluidinblaulösung und 0·5 bis 1promilligem Phenosafranin, dann mit destilliertem Wasser, Alkohol und Xylol). 3) Thiazinbraun-Toluidinblau (Behandlung mit 1prozentiger Thiazinbraunlösung bei 38 bis 40° C $^1/_2$ bis 2 Stunden, destilliertem Wasser, 1promilliger Toluidinblaulösung, Methylalkohol, absolutem Alkohol, Xylol). 4) Hämatein-Pikronigrosin (Färbung der Kerne mit Apáthys Hämatein IA oder Delafields Hämatoxylin, dann färben 5 bis 10 Minuten in Pikronigrosin, bestehend aus 1 g Blauschwarz B, 400 cc gesättigter Pikrinsäurelösung, 80 cc Methylalkohol, 320 cc destilliertem Wasser, dann Behandlung mit Wasser, Alkohol, Xylol). 5) Eisenhämatoxylin-Thiazinrot (Behandlung mit 2·5prozentiger Eisensulfatlösung 24 Stunden, 0·5prozentiger Hämatoxylintinktur 24 Stunden, destilliertem Wasser, 2·5prozentiger Eisensulfatlösung, Leitungswasser, 0·5prozentiger wässeriger Thiazinrotlösung, destilliertem Wasser, Alkohol, Xylol). *E. Schoebel (Neapel).*

Krotkow, S. F., Zur Methodik der Blutkörperchenzählung (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **153**, 1913, H. 11, 12, p. 616—632 m. 1 Fig. im Text).

Verf. ist nach seinen Untersuchungen zu dem Ergebnisse gekommen, daß der Hauptmangel des Thoma-Zeiss'schen Apparates zur Zählung der roten Blutkörperchen in der Unvollkommenheit der Mischpipette liegt. Verf. hat daher eine neue Pipette konstruiert, welche angewendet wird zusammen mit einem Mischkölbchen; es wird von diesen Teilen eine genaue Beschreibung gegeben, derentwegen auf das Original verwiesen wird. Bei Anwendung dieser neuen Pipette zusammen mit dem Mischkölbchen ergibt die Thoma-Zeiss'sche Zählkammer sehr genaue Resultate. Die Zählung der roten Blutkörperchen ist unter diesen Umständen leicht und kann selbst von Anfängern mit großer Genauigkeit ausgeführt werden. Das Mischkölbchen, das nach dem Prinzipe des Pyknometers konstruiert ist, kürzt im Vergleiche zu der Methode von Bürker die für die Ausführung der Untersuchung erforderliche Zeit ab, ohne daß die Genauigkeit leidet. Das Mischkölbchen ist gut zu transportieren, und die Zählung der Blutkörperchen kann sowohl sofort als auch an einem der folgenden Tage vorgenommen werden. Zur Verdünnung der Blutkörperchen wählt der Verf. die folgende Flüssigkeit:

Natrium sulfuricum	8·0 g
Natrium chloratum	1·0 „
Sublimat	0·5 „
Glyzerin	30·0 „
Destilliertes Wasser	180·0 „

Diese Flüssigkeit ist eine Modifikation der Flüssigkeiten von Hayem und Toisson. Von der ersteren unterscheidet sie sich durch hohes spezifisches Gewicht (1015 : 1070), was bedingt ist durch den Glyzerinzusatz. Von der Toissonschen Flüssigkeit unterscheidet sie sich durch geringeres spezifisches Gewicht, durch das Fehlen von Methylviolett und durch das Vorhandensein von Sublimat, das zur Konservierung der Blutkörperchen nötig ist. Diese neue Flüssigkeit fixiert vortrefflich die Erythrocyten, ohne sie zu verändern, konserviert sie tagelang und macht das Zählnetz nicht unklar. Ihr spezifisches Gewicht ist etwas geringer als dasjenige der Erythrocyten (1090), was die Möglichkeit gewährt, sich zu bewegen, ohne von leichten Erschütterungen und Schwankungen der Flüssigkeit ganz abhängig zu sein. Die Zählung der roten Blutkörperchen nach der angegebenen Methode gibt eine Vorstellung von dem tatsächlichen Gehalte derselben im Blute. Für praktische Zwecke genügt es, zehn große Quadrate der Thoma-Zeissschen Kammer zu zählen, wobei sich ein wahrscheinlicher Fehler von nicht über 2 Prozent ergibt. Für wissenschaftliche Zwecke, wo die geringsten Schwankungen in der Anzahl der Erythrocyten verfolgt werden müssen, müssen 40 große Quadrate gezählt werden, wobei sich ein Wahrscheinlichkeitsfehler von weniger als ein Prozent ergibt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schilling, V., Technik des Blutausstriches und eine neue Differential-Zähltafel für Leukocyten (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**, 1913, No. 41, p. 1985—1987 m. 2 Figg.).

Aus den zahlreichen Versuchen haben sich drei Verfahren in der Praxis als die brauchbarsten ergeben: die Ehrlichsche Deckglasmethode, der „dicke Tropfen" von Ross, der eigentliche Objektträgerausstrich nach Jansco-Rosenberger. Verf. bespricht diese näher. Die Methode, die ohne technische Schwierigkeiten am einfachsten schöne, handliche und nach den ersten Übungen stets gelingende Präparate liefert, ist der Objektträgerausstrich, der daher in der ganzen Tropenpraxis fast ausnahmslos angewendet wird. Nach Erprobung der verschiedensten Ausbreitungsmethoden hat Verf. die gleich anzuführende als sicherste und für die Blutmorphologie vorteilhafteste gefunden. Verf. bemerkt dazu: wer noch nicht geübt ist, kann statt des dort angegebenen Deckglases als Ausbreiter auch einen Objektträger mit geschliffener Kante verwenden, dessen kurze Kante durch Abbrechen eines Keilstückes an einer Ecke auf die Breite eines Deckglases gebracht wurde. Ein so hergestellter, wirklich einwandfreier Ausstrich gestattet die Feststellung aller hämatologisch wichtigen Bestandteile in der denkbar besten Form für klinische Zwecke. Er ist handlich, denn er kann leicht auf Färbebrücken weiter behandelt werden, und er ist gut aufzubewahren, da er trocken ohne

Deckglas sich jahrelang hält. Bezüglich der Verteilung der Leukocyten besitzt aber ein solcher Ausstrich einige Fehler, die man genau kennen muß, um sie zu vermeiden. Alle größeren und leichteren Elemente haben das Bestreben, sich während des Ausstreichens in den Randzonen und am Ende anzusammeln. Je langsamer man verfährt, um so eher können die Zellelemente den physikalischen Störungen der vorher gleichmäßigen Mischung folgen. Es ergibt sich hieraus, daß man den Ausstrich gewohnheitsmäßig schnell und geschickt herstellen muß, und daß man ein unnötiges Verweilen des Blutstropfens auf dem Ohrläppchen, auf dem Objektträger oder nach Ansetzen des Ausstreichers sorgfältigst vermeiden muß. Vor allem soll der erste Tropfen, der aus der gutgereinigten Haut von selbst nach dem Einstiche hervorquillt, sofort gebraucht werden, sobald er die richtige Größe erreicht hat. Man vermeidet dadurch einen Überschuß von Blut beim Ausstreichen, der zu unsauberen Präparaten führt. Will man mehrere Ausstriche hintereinander herstellen, so soll man den Rest des früheren Tropfens mit trockener Watte scharf abwischen und dann den neuen Tropfen sofort wie den ersten wieder gebrauchen. Endlich darf man aus den angegebenen Gründen nur die Teile des Ausstriches benutzen, deren Leukocytenverhältnisse erfahrungsgemäß am wenigsten gestört sind. Aus dem Mittelteile des Ausstriches sind die größeren Elemente sehr stark herausgezogen, so daß die Zahl der Lymphocyten zu hoch ist, am Schlusse des Ausstriches liegen diese herausgezogenen Elemente und überhaupt zu viel Leukocyten, die außerdem leicht gequetscht sind. Man kann sich hier recht gut durch einen Überblick orientieren, was für ein Leukocytenbild überhaupt vorliegt, doch ergibt Auszählung meist Werte, die verschoben sind zugunsten der großen Mononukleären und Neutrophilen. Die beiden Randstreifen dagegen, über denen das Blut während des Ausstreichens mechanisch von selbst in einem fortwährenden Wirbel gehalten wird, enthalten die Blutelemente zwar auch etwas angereichert, aber in den richtigen Mischungsverhältnissen, wenn man nur die Vorsicht braucht, immer äußerste Randpartien und etwas nach innen gelegene Zonen gleichmäßig zu berücksichtigen. Das geschieht durch die „Mäanderführung". Natürlich müssen dazu alle Randpartien besonders gut erhalten sein, wie man es durch die Verwendung von Ausstreichern, die schmäler als der Objektträger sind, bei richtiger Blutmenge bald gewohnheitsmäßig erlernt. Verf. hat wiederholt sorgfältige Kontrolluntersuchungen ausgeführt und stets die Differentialprozentzahl gleich oder um ganz geringe Unterschiede schwankend gegenüber den viel schwierigeren Kammerfärbungen und Kammerzählungen oder den dicken Tropfen gefunden, soweit es Neutrophile betraf. Die großen Mononukleären waren aber sehr vielfach in den Kammerzählungen und dicken Tropfen falsch diagnostiziert worden. Myelocyten und alle schwierigeren pathologischen Formen sind überhaupt ganz allein im Ausstriche erkennbar. Die Auszählung der Leukocyten dauert

nach der Methode des Verf. bei Geübten je nach dem Zellreichtume nur 5 bis 10 Minuten. Methode: 1) Herstellung des Ausstriches: in die mit Äther gesäuberte Ohrläppchenkante wird ein kleiner Einstich gemacht und der von selbst vorquellende kleine Bluttropfen mit der Fläche eines herangeführten fettfreien Objektträgers abgenommen. Auf dem, zwischen linkem Daumen und Mittelfinger gehaltenen Objektträger liegt der Bluttropfen etwas nach rechts. Mit der rechten Hand wird ein großes Deckglas (21 : 26 mm) mit der schmalen Kante so aufgesetzt, daß es nach dem Tropfen zu einen Winkel von 45° mit dem Objektträger bildet, nun erst nach rechts an den Tropfen herangeführt, bis sich das Blut längs der Kante ausbreitet, und im ruhigem Zuge nach links zurückgeführt, wobei das Blut ohne Quetschung im Winkel folgt. Der fertige gute Ausstrich soll homogen und nicht gar zu dünn sein, rings nirgends bis zum Rande reichen (die ausstreichende Kante soll daher schmäler als der Objektträger sein) und mit feinen Zacken in sanfter Bogenlinie enden (richtige Winkelstellung und mittelschnelles Ausstreichen). Der Bluttropfen soll dabei fast restlos verbraucht sein. Der fertige Ausstrich muß 10 Minuten an der Luft trocknen. — 2) Fixierung und Färbung: a. Giemsa-Färbung: Fixierung in reinem Methylalkohol (3 Minuten) oder Alkoholäther zu gleichen Teilen (10 Minuten), Auflegen auf zwei Glasstäbe über Schale, Aufgießen frisch bereiteter Verdünnung von 10 Tropfen konzentrierter Giemsa-Lösung (Grübler, Leipzig) in 10 cc destillierten Wassers (eventuell Zusatz von 1 bis 2 Tropfen einer Lösung von doppelkohlensaurem Natron 1 : 100 auf 50 cc destillierten Wassers vorher). Färbedauer 20 Minuten. Abspülen mit scharfem Strahle, trocknen, Zedernholzöl, Immersion. — b. Pappenheims Modifikation: ohne Fixierung sogleich bedecken mit May-Grünwald-Lösung (Grübler) für 3 Minuten. Nachfüllen und Vermischen mit einigen Tropfen destillierten Wassers 1 Minute, Nachfärben mit verdünnter Giemsa-Lösung (wie oben) 15 Minuten. — c. Giemsas Schnellfärbung: ohne Fixierung in Petri-Schale, oder besser, Giemsas Farbtrog (Carl Zeiss, Jena, Geschäftsstelle: Hamburg, Rathausmarkt 8). Bedecken mit 16 Tropfen einer Mischung von gleichen Teilen von konzentrierter Giemsa-Lösung und Acetonum purissimum. Nach einer Minute Nachgießen von 8 cc leicht alkalischen destillierten Wassers (siehe oben), gut mischen. Färbedauer noch 5 bis 10 Minuten. — 3) Unterbrechung und Benutzung des Schemas: Die Verteilung der Leukocyten ist nicht ganz gleichmäßig, Mitte und Ausstrichende sind unbrauchbar. Deshalb zähle man an vier möglichst verschiedenen Randstellen je 25, oder besser 50 Leukocyten. Dabei gehe man mäanderförmig vom Rande (große Leukocyten) in das Präparat hinein (kleine Leukocyten) und etwas seitwärts wieder zurück. Jeder gesehene Leukocyt wird sofort in seiner Rubrik in das Schema durch einen Strich eingetragen (am schnellsten durch Diktat!). Wenn 10 Striche (alle 8 wagerechten

Rubriken zusammengerechnet) in die erste Kolumne (bis zu senkrechter Linie 10) eingetragen sind, geht man in die nächste (bis Linie 20) über und nach 10 Strichen wieder weiter, so daß man nach insgesamt 100 Strichen die Mitte 100, mit 200 das Ende des Schemas erreicht hat. Die senkrechten Kolumnen dienen also zur ständigen Abzählung der eingetragenen Leukocyten. Die wagerechten Reihen ergeben zusammengezählt (bei 100 direkt, bei 200 durch 2 dividiert) die Prozentzahl der Leukocyten in den 8 Zellklassen. Die Klassen 3 bis 6 der Neutrophilen lassen dabei eine vorhandene Arnethsche Verschiebung durch Auftreten von Verschiebungszellen (normal nur in Klasse V 4 Prozent) erkennen. Das Schema ermöglicht also in verhältnismäßig kurzer Zeit die bequeme und gleichmäßige Feststellung des Leukocytenbefundes für klinische Zwecke: die Zählung von 200 Zellen nach obiger Vorschrift ist stets ausreichend. Leukämie und besondere Blutbilder bedürfen weiterer Klassifizierung. Die übrigen Rubriken sind nach Wunsch auszufüllen und ergeben zusammen eine vollständige Blutuntersuchung. — Das Schema wird für Laboratorien und Kurse als Mattglasschreibtafel geliefert, die Bleistiftstriche lassen sich mit feuchtem Tuche oder Radiergummi entfernen. Für klinische Zwecke wird es in Blockform hergestellt, die ausgerissenen Blätter können abgerissen und der Krankengeschichte beigegeben werden (zu beziehen durch Carl Zeiss, Jena, Geschäftsstelle: Hamburg, Rathausmarkt 8). *Schiefferdecker (Bonn).*

Dunzelt, H., Die Differentialauszählung der weißen Blutkörperchen in der Zählkammer (München. med. Wochenschr. Jahrg. **60**, 1913, No. 47, p. 2616—2618).

Verf. veröffentlicht eine Methode, die er vielfach ausprobiert hat, seit einer Reihe von Monaten dauernd verwendet, und die eine sichere und nahezu vollkommene Differenzierung aller, auch der pathologischen weißen Blutkörperchen, neben Vermeidung sonstiger kleiner Nachteile ermöglicht. Zur Färbung wird eine Mischung aus den beiden folgenden Flüssigkeiten benutzt:

Stammlösung A:

Methylenblau (medicinale Höchst)		0·08 g
Destilliertes Wasser	ad	50·00 „

Stammlösung B:

Eosin extra 4 B Höchst, einprozentige wässerige Lösung		5·00 g
Aceton pur. medicinale		30·00 „
Destilliertes Wasser	ad	100·00 „

Beide Lösungen filtrieren. Von der Lösung A werden 20 cc mit 40 cc der Lösung B vermischt, gut durchgeschüttelt und nochmals filtriert; das Filtrat ist gebrauchsfertig; in dunkler Flasche und gut verschlossen aufbewahrt hält es sich einige Wochen lang. (Hat

man nur selten Gelegenheit, Blutuntersuchungen auszuführen, so hält man sich besser nur die Stammlösungen vorrätig, die Eosinlösung in dunkler Flasche! und erst vor dem Gebrauche mischt man dann die beiden Lösungen A : B im Verhältnisse von 1 : 2.) Die Färbung selbst wird in gewöhnlicher Weise vorgenommen, jedoch ist vor jedesmaligem Gebrauche die Farblösung kurz durchzuschütteln und dann in das Aufsaugegläschen zu filtrieren. Man tut dieses, um störende Niederschläge zu vermeiden. In die Leukocytenpipette saugt man dann zunächst Blut bis zur Marke 1 und zieht darauf die filtrierte Farblösung bis zur Marke II weiter, schüttelt 1 bis 2 Minuten lang die Pipette und füllt in der üblichen Weise die Zählkammer. Als solche eignen sich ganz besonders die großen Kammern, Verf. benutzt am liebsten, wie auch zu allen anderen Leukocytenzählungen, die Kammer nach Neubauer, die neun gut voneinander getrennte Quadrate von je einem qmm Flächeninhalt besitzt. Nach Verschluß der Kammer wartet man einige Minuten, bis die Blutkörperchen sich gesenkt haben, und zählt dann aus. Länger als ungefähr 30 Minuten darf man aber mit der Zählung nicht warten, da nach dieser Zeit aus unbekannten Gründen die roten Blutkörperchen wieder sichtbar werden und die Zählung erschweren. Von Linsen benutzt man das Objektiv 6 (Leitz), oder die D-Linse (Zeiss), als Okular No. 2 oder 4. Besteht keine Leukopenie, so genügt es, die Zahl der Blutkörperchen in fünf Quadraten zu bestimmen, man zählt auf diese Weise stets mindestens 300 Zellen aus, bei Leukopenie müssen natürlich entsprechend mehr Quadrate ausgezählt werden. Zur Kontrolle füllt man außerdem stets noch einmal die Kammer und zählt auch diese aus. Man erhält auf diese Weise gleichzeitig die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen, sowie die absolute Zahl der einzelnen Arten im Kubikmillimeter, aus diesen kann das prozentuale Verhältnis ermittelt werden. Die Methode ist demnach außerordentlich einfach, zu ihrem Gelingen ist es nur notwendig, daß die Farblösung in genauester Weise zusammengesetzt ist (daher sind am besten die Stammlösungen zu beziehen von Dr. Karl Hollborn, Grüblers Laboratorium, Leipzig, Kronprinzstraße 71), ferner daß sie vor dem Gebrauche durchgeschüttelt und filtriert wird, und daß Mischer, Zählkammer und Deckglas absolut sauber und frei von Staubfäserchen sind, da diese sonst mitgefärbt werden und das Bild sehr stören. Das Bild ist sehr klar: Erythrocyten nicht sichtbar, Verdünnungsflüssigkeit selbst ganz farblos, weiße Blutkörperchen scharf differenziert. Ist das Bild zunächst verschwommen, so muß stärker abgeblendet werden. Verf. geht dann genauer darauf ein, wie die einzelnen weißen Blutkörperchen bei dieser Färbung erscheinen, es wird dieserhalb auf das Original verwiesen. — Ebenso wie beim Blute ergibt die Methode auch sehr gute Resultate bei Auszählung der Zellelemente in Punktionsflüssigkeiten, nur ist es hier notwendig, die Punktionsflüssigkeit und die Farbflüssigkeit in der Pipette sehr viel länger zu mischen, um eine

genügende Färbung zu erhalten. — Daß die Kammerfärbung in allen den Fällen nicht ausreicht, wo die feinere Struktur der einzelnen Blutkörperchen von besonderem Interesse ist, ist selbstverständlich, hier kann sie das Ausstrichpräparat und dessen spezielle Färbungen, namentlich die nach Giemsa, nicht ersetzen. Sie ist aber sehr brauchbar und wegen der Schnelligkeit und der Genauigkeit in den Fällen von großem Vorteile, wo die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen und das Mischungsverhältnis ihrer einzelnen Arten eine diagnostische Bedeutung besitzt, wie z. B. bei Infektionskrankheiten, Konstitutionsanomalien und Erkrankungen der Lymphdrüsen.

Schiefferdecker (Bonn).

Biondi, G., La degenerazione Walleriana dei nervi periferici, particolarmente studiata dal lato istochimico ed il valore degli attuali metodi d'indagine per la dimostrazione istochimica di sostanze grasse e lipoidi (Folia Neuro-Biologica, vol. **7**, 1913, August, Sommer-Ergänzungsheft, p. 71—119 m. 3 Tfln.).

Verf. hat die folgenden Methoden verwendet: 1) Nach Fixierung in Alkohol und Einschluß in Paraffin Färbung nach Unna-Pappenheim, Giemsa mit Toluidinblau. 2) Bei Material, das in Formol fixiert und in Frostschnitte zerlegt ist, Färbung mit Sudan III (Lösung in 70prozentigem Alkohol) oder Scharlach R in alkalischer alkoholischer Lösung nach Herxheimer, mit der Methode von Lorrain Smith-Dietrich zur Demonstration der Lipoidsubstanzen (Bildung von Hämatoxylinlack), mit einer gesättigten Lösung von Nilblausulfat nach Lorrain Smith (Differenzierung in angesäuertem Wasser durch Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure zu einem Uhrschälchen nach Schmorl), mit der Methode von Fischler für die Fettsäuren mit Toluidinblau (Ludwigshafen). 3) Methode von Ciaccio für die Darstellung der Lipoidsubstanzen. Die Stücke wurden dabei 24 Stunden in der Fixierungsflüssigkeit (Formol-Kaliumbichromat-Essigsäure) gelassen. Die Chromierung dauerte nicht länger als 5 bis 6 Tage bei Zimmertemperatur. Diese kurze Chromierungszeit ist einerseits hinreichend, um die darzustellenden Lipoidsubstanzen bei dieser Methode unlöslich zu machen, anderseits wird durch sie vermieden oder auf ein Minimum reduziert der Nachteil, daß einige leicht oxydierbare Fette (Ölsäure) unlöslich gemacht werden. Färbung mit Sudan III oder mit Nilblau in üblicher Weise. 4) Marchi-Methode. Die Gewebsstücke wurden chromiert in Müllerscher Flüssigkeit 6 oder 7 Tage hindurch bei Zimmertemperatur und kamen dann für 2 bis 3 Tage in die Osmiumbichromatmischung. Frostschnitte, Aufheben in Gummi-Sirup von Apáthy. Mitunter wurde auch eine Kernfärbung mit dem Ehrlichschen Hämatoxylin ausgeführt. — 5) Osmiumsäure.

Die frischen Stücke kommen direkt in eine einprozentige Osmiumsäurelösung für 2 Tage. Kurzes Abwaschen in destilliertem Wasser, das öfter gewechselt wird. Frostschnitte, Gummisirup von Apáthy. — 6) Verf. hat es recht nützlich gefunden, mit Sudan III oder mit Scharlach R nach Herxheimer noch Schnitte zu färben, die schon gefärbt waren mit der Methode von Marchi, oder mit der von Fischler oder mit der von Smith-Dietrich. Der Vergleich solcher Präparate mit den anderen war sehr interessant und demonstrativ. — 7) Weiter wurde angewendet die Methode von Donaggio mit Hämatoxylin- Zinnammoniumchlorid an Schnitten von Stücken, die in Müller-scher Flüssigkeit fixiert und in Celloïdin eingebettet waren, weiter auch an Schnitten von Stücken, die fixiert und chromiert waren nach der Methode von Ciaccio und in Paraffin eingeschlossen waren. — 8) Endlich wurde eine Methode angewendet, welche Ciaccio dem Verf. mitteilte, und die noch nicht veröffentlicht ist, zur Darstellung der Fettsäuren und Seifen. Diese Methode ergab ausgezeichnete Resultate. — Weiter hat Verf. Frostschnitte von frischen Stücken im polarisierten Lichte beobachtet, um die Fette und Lipoide nachzuweisen. — Bei dem Vorgange der sekundären Degeneration zerfallen lipoide Substanzen, Verf. versuchte daher einzelne Gruppen von lipoiden Substanzen zu unterscheiden, um das Schicksal der einzelnen bei dem Degenerationsvorgange zu verfolgen. Es ergab sich dabei, daß die in der Technik schon existierenden Methoden (die Methode von Delafiandre, die Methode von Bing und Ellermann) unzureichend sind oder der Kritik nicht standhalten. Verf. suchte daher selbst nach einer neuen Methode und versuchte dabei, durch bestimmte Lösungsmittel (Alkohol, Aceton, Äther, Petroläther usw.) bestimmte Lipoidsubstanzen zu lösen. Eine Ursache der Irrtümer liegt hierbei darin, daß man angenommen hat, daß der Aufenthalt der Stücke in Formol die Löslichkeitsbedingungen der lipoiden Substanzen nicht ändere. Hierauf hat schon Ciaccio hingewiesen (Ciaccio, Les lipoides intracellulaires, Biologie médicale 1912). Verf. verwandte daher die folgende Methode: 1) Behandlung der Stücke mit dem Lösungsmittel, das versucht werden sollte, 2 oder mehrere Tage. Dasselbe muß in reichlicher Menge verwendet werden und oft gewechselt werden. 2) Ohne irgendein Auswaschen kamen die Stücke direkt zum Chromieren in eine gesättigte Lösung von Kaliumbichromat, dem die gleiche Menge Formol zugesetzt war, für 1 oder 2 Stunden bei 37° und dann in eine gesättigte Lösung von Kaliumbichromat, die einige Male gewechselt wurde, für 5 bis 7 Tage. Benutzt wurde eine gesättigte Lösung von Kaliumbichromat zusammen mit dem Formol bei 37°, um das Maximum der unlöslich machenden Wirkung zu haben, und um so weit wie möglich zu vermeiden, daß Lipoidsubstanzen in die Flüssigkeiten diffundieren. 3) Nach dieser Behandlung sind die in den angewendeten Lösungsmitteln unlöslichen Lipoidsubstanzen, auf welche das Bichromat eingewirkt hat, unlöslich

geworden in Xylol und anderen Lösungsmitteln und können daher nach gründlichem Auswaschen in fließendem Wasser in der üblichen Weise in Paraffin eingeschlossen werden. 4) Die auf dem Objektträger befestigten Schnitte können nach Entfernung des Paraffins usw. gefärbt werden mit Sudan III und mit der Methode von Weigert-Regaud. Die Färbung mit Sudan III wird gerade so ausgeführt wie bei der Methode von Ciaccio, doch ist es gut, die Schnitte etwas länger in der Farbe zu lassen. In jedem Falle müssen die Präparate sehr vorsichtig und schnell in Alkohol von 45° differenziert werden. Bei der Färbung nach Weigert-Regaud verbleiben die Schnitte 12 bis 24 Stunden bei 37° in einer gesättigten wässerigen Lösung von Kupferacetat, die mit der gleichen Menge von destilliertem Wasser verdünnt ist. Dann werden sie in reichlichem destilliertem Wasser wiederholt ausgewaschen und kommen dann für einige Stunden in eine Mischung von einer 10prozentigen alkoholischen Lösung von Hämatoxylin 1 Teil und destilliertem Wasser 10 Teilen. Nach dem Auswaschen differenziert man in der Weigertschen Borax-Blutlaugensalzmischung, die etwa mit der doppelten Menge von destilliertem Wasser verdünnt ist. Aufheben der Schnitte in Balsam. Die im ersten Falle orangerot und im zweiten Falle azurblau gefärbten Substanzen sind die in dem verwendeten Lösungsmittel unlöslichen Lipoide. Die Färbung mit Sudan III ist weit elektiver als die mit Hämatoxylin. Aber diese gibt eine intensivere Färbung, die sich weit mehr abhebt, und das ist kein geringer Vorteil, wenn man Substanzen von so geringer Mengen nachzuweisen hat. Man soll daher die Resultate dieser beiden Färbungen zur Kontrolle benutzen. Der Vergleich der mit dieser Methode erhaltenen Ergebnisse mit denen, die nach der Methode von Ciaccio erhalten sind, gibt eine Idee von der Menge und der Verteilung der löslichen Lipoidsubstanzen und der in dem angewandten Lösungsmittel unlöslichen. Meist wurde zur Lösung benutzt absoluter Alkohol bei Zimmertemperatur. In diesem ist von den Phosphiden löslich das Lecithin, aber nicht das Cephalin. Unlöslich ist das Protagon und das Cerebron. Bei Stücken, die schon mit Alkohol behandelt worden waren, wurde nachträglich auch noch Äther angewandt bei Stubentemperatur. In diesem ist Cephalin löslich, aber bei gewöhnlicher Temperatur nicht Protagon. Um vom histochemischen Standpunkte aus die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Darstellung der Fette und Lipoide würdigen zu können, muß man wissen, welche Substanzen oder Substanzgruppen mit einer jeden Methode deutlich gemacht werden können. Verf. geht nun auf diesen Punkt sehr genau ein. Diese an sich sehr interessanten ausführlichen Mitteilungen eignen sich aber nicht mehr zu einem kurzen Referate und es muß daher dieserhalb auf das Original verwiesen werden.

Schiefferdecker (Bonn).

Busacca, A., L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 327—339 m. 23 Figg.).

Zur Untersuchung diente ausschließlich Material von Testudo graeca, das nach der Methode von Regaud in der Modifikation von Luna fixiert war. Die Objekte kommen hierbei zunächst für 3 Tage in ein Gemisch von 3prozentiger Kaliumbichromatlösung 20 cc, Formol 4 cc, Essigsäure 1 bis 2 Tropfen, das am zweiten Tage zu erneuern ist, darauf folgt 10tägige Chromierung in alle 3 Tage zu wechselnder 3prozentiger Kaliumbichromatlösung, 24stündiges Auswaschen in fließendem Wasser und Einschluß in Paraffin auf die übliche Weise. Die nach Henneguy aufgeklebten Schnitte wurden dann nach der Entfernung des Paraffins 24 Stunden in einer 4prozentigen schwefelsauren Eisenoxyd-Ammoniaklösung bei einer Temperatur von 37° C gebeizt, 24 Stunden in einer Lösung von 1 Teil einer älteren gereiften 10prozentigen alkoholischen Hämatoxylintinktur und 9 Teilen destilliertem Wasser gefärbt, nach kurzem Abspülen in Wasser in einer 1prozentigen Lösung von schwefelsaurem Eisenoxyd-Ammoniak differenziert und nach 30 Minuten langem Auswaschen durch Alkohol und Xylol in Balsam eingeschlossen. Außerdem kam die Bendasche Mitochondrienfärbung zur Anwendung.

E. Schoebel (Neapel).

Stendell, W., Zur vergleichenden Anatomie und Histologie der Hypophysis cerebri (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 1, p. 289—337 m. 18 Figg. u. 3 Tfln.).

Zur Untersuchung kamen Vertreter aller Wirbeltierklassen. Fixiert wurde das Material, das teils herauspräpariert, teils im Knorpel oder entkalkten Schädel belassen wurde, in Carnoyschem Gemisch, Zenkerscher Flüssigkeit oder in einem Gemisch der letzteren mit Formol, außerdem stand Alkohol- und Formolmaterial zur Verfügung. Gefärbt wurde mit Hämatoxylin nach Delafield oder Hämalaun kombiniert mit van Giesonschem Gemisch oder Eosin, ferner mit der Weigertschen Methode, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Resorcin und Sudan III. Geschnitten wurde, wenn nicht gefrorenes frisches Material in Betracht kam, in Paraffin oder Celloïdin-Paraffin.

E. Schoebel (Neapel).

Heldt, Th. J., Möllgaards Reticulum (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, no. 4, p. 315—346 w. 2 pl.).

Die Untersuchungen wurden am Rückenmarke des Hundes ausgeführt, nur einmal an dem des Pferdes. Es wurden nur erwachsene Hunde von mittlerer Größe zwischen einem Jahre und 5 Jahren benutzt. Das Gewicht der verschiedenen Hunde schwankte natürlich

bedeutend. Durch die Art der Tötung sollte eine möglichst geringe Schädigung des Nervensystems herbeigeführt werden und gleichzeitig sollte man Gelegenheit haben, möglichst schnell ein Stück des möglichst frischen Rückenmarkes zur Herstellung von Präparaten zu verwenden. Durch einen besonders dazu hergestellten Apparat wurde daher das Tier dekapitiert, wobei Sorge getragen wurde, es vorher nicht aufzuregen. Die Dekapitierung geschah momentan und es wurde dabei der Rückenmarksabschnitt zwischen dem ersten und fünften Halswirbel mit dem Kopfe zusammen entfernt. Durch besonders darauf eingeübte Assistenten wurde dann sofort mit einem langen schmalen Messer ein Stück des Rückenmarkes innerhalb der Durascheide abgeschnitten und herausgeholt. Dieses Stück wurde dann sofort in der Gegend der Vorderhörner der Länge nach durchschnitten, und von der nun freiliegenden grauen Substanz des Vorderhornes wurden Ausstrichpräparate auf Deckgläsern gemacht, die in Schalen mit den Fixierungsflüssigkeiten gebracht wurden. Von dem Tode des Tieres bis zum Beginne der Einwirkung der Fixierungsflüssigkeiten brauchten nicht mehr als 25 Sekunden zu verstreichen. — Die Fixierung wurde mit oder ohne Gefrieren ausgeführt, d. h. in dem einen Falle wurde das Gefäß mit der Fixierungsflüssigkeit mit einer Gefriermischung umgeben, im anderen Falle nicht. Zur Fixierung der Nissl-Körper wurde im allgemeinen 96prozentiger Alkohol verwendet und, falls die Ausstriche gefroren waren, für die Neurofibrillen ebenfalls. Zur Fixierung der Neurofibrillen in nicht gefrorenen Ausstrichpräparaten wurde die von London (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 66, 1905) angegebene Flüssigkeit (absoluter Alkohol 24 Teile, Ammoniak 1 Teil) häufiger verwendet. Zum Vergleiche und zur Kontrolle der an den Nissl-Körpern erhaltenen Resultate wurden in einigen wenigen Fällen die Flüssigkeit von Ohlmacher und eine Formol-Sublimat-Mischung verwendet. Zum selben Zwecke wurde einige Male eine 12prozentige Formollösung für die Neurofibrillen benutzt. Die Zeit, während welcher die Präparate in den Fixierungsflüssigkeiten verblieben, schwankte in bezug auf die Nissl-Körper zwischen einer halben Stunde und 3 Tagen, und in bezug auf die Neurofibrillen zwischen 5 Stunden und 4 Tagen. — Die Fixierung durch Frieren wurde in folgender Weise ausgeführt: ein mittelgroßes, etwa $4^1/_2$ Liter fassendes Gefäß mit 95prozentigem Alkohol wurde in ein größeres gesetzt. In das kleinere Gefäß mit dem Alkohol wurden kleine Coplin-Gefäße mit 96prozentigem Alkohol gebracht, die 10 bis 12 Objektträger enthielten. Das größere wurde dann mit einer Mischung von Eis und Salz gefüllt, die sorgfältig um das kleinere Gefäß herumgepackt wurde. War die Temperatur des Alkohol auf — 8^0 C heruntergegangen, so wurde Kohlensäureschnee zu dem 95prozentigen Alkohol in dem kleineren Gefäße zugesetzt, bis die Temperatur auf 20 bis 50^0 C unter Null gebracht worden war. Zu diesem Zeitpunkte wurde der Hund sofort getötet und auf den kalten Objektträgern wurden Ausstriche

gemacht, welche sofort froren. Dann wurden sie schnell in die kalte Fixierungsflüssigkeit getaucht und verblieben darin verschieden lange, wie oben angegeben. Wurde die Zeit verlängert, so nahm natürlich das Ganze allmählich die Zimmertemperatur an. — In denjenigen Fällen, in denen Präparate zu verschieden langen Zeiten nach dem Tode angefertigt wurden, wurde das Rückenmarkstück stets in gewöhnlicher Weise bei Zimmertemperatur gehalten. Da die Mehrzahl dieser nach längerer Zeit angefertigten Präparate während der Wintermonate hergestellt wurden, so wird bemerkt, daß die Temperatur zwischen 5 und 23° C betrug. — Die Färbungsmethoden waren verhältnismäßig einfach. Zur Färbung der Nissl-Körper wurde die von Dolley (Journ. med. Research vol. **24**, 1911) angegebene Methode angewendet. Diese Methode ist in der Hauptsache die folgende: die in 96prozentigem Alkohol fixierten Ausstrichpräparate werden durch eine absteigende Alkoholreihe in destilliertes Wasser übergeführt, dann gefärbt mit warmer (etwa 40° C) Erythrosinlösung 3 Minuten lang und dann gut in Wasser ausgewaschen. Sie kommen dann in eine 1prozentige wässerige Lösung von Tolnidinblau für 5 bis 8 Minuten, werden wieder gut in Wasser ausgewasehen, dann in 95prozentigen Alkohol gebracht und differenziert, bis die Nissl-Körper und die Kernstrukturen klar hervortreten, in einer Mischung von 96prozentigem Alkohol 9 Teile und Anilinöl 1 Teil. Man unterbricht die Differenzierung, indem man den Objektträger in absoluten Alkohol bringt, von hier kommt er in Xylol und wird dann in Kanadabalsam oder Damarlack aufgehoben. — Zur Färbung der Neurofibrillen wurde die Methode von London in folgender Weise verwendet: nach der Fixierung werden die Ausstrichpräparate in eine 1·5prozentige wässerige Lösung von Silbernitrat gebracht und in dieser bei 37° C etwa 3 bis 7 Tage belassen, wenn sie nicht gefroren waren, und 1 bis 3 Wochen, wenn sie gefroren waren, dann werden sie behandelt mit einer Lösung von 2 g Pyrogallol und 2 cc Formol in 100 cc destillierten Wassers während 24 Stunden. Dann kommen die Ausstrichpräparate in eine einprozentige wässerige Lösung von Goldchlorid für 5 bis 10 Minuten, dann in eine 5prozentige wässerige Lösung von Natriumhyposulfit für 10 Minuten, und werden dann durch destilliertes Wasser und eine ansteigende Alkoholreihe in Xylol übertragen und in Kanadabalsam oder Damarlack aufgehoben. — Das Nervengewebe wurde fast ausnahmslos in dieser Weise behandelt. In ganz seltenen Fällen wurden die Ausstrichpräparate zur Darstellung der Nissl-Körper auch ohne jede vorherige Fixierung gefärbt und von den Neurofibrillen wurden einige Kontrollpräparate hergestellt mit der Modifikation der Bielschowsky-Methode nach Legendre (Anat. Anzeiger Bd. **29**, 1906). — Zur Kontrolle wurden dann weiter Ausstrichpräparate der Leber und des Pankreas mit der oben angegebenen Technik hergestellt, und

das Gefrieren von destilliertem Wasser und von Eiereiweiß wurde unter verschiedenen experimentellen Bedingungen sorgfältig studiert.
Schiefferdecker (Bonn).

Rados, A., Die Ausscheidung von intravenös injiziertem Karmin und Trypanblau im Auge (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **85**, 1913, H. 3, p. 381—392 m. 1 Tfl.).

Die Färbungen wurden durch intravenöse, intraperitoneale oder subkutane Einspritzungen oder durch Fütterung erzielt. Als brauchbarste Methode wurde die intravenöse Injektion von Lithionkarmin bei weißen Ratten und Kaninchen vorgenommen. In einer Reihe von Versuchen prüfte Verf. das Vorkommen der vital gefärbten Zellen unter normalen Verhältnissen, in einer zweiten Reihe das Vorhandensein derselben bei verschiedenen entzündlichen Prozessen des Auges. Neben dem Lithionkarmin wurden angewendet die Lösungen von Trypanblau und Pyrrholblau. Die Injektionen wurden zur Erzielung einer Hochfärbung in die Ohrvene gemacht und öfter wiederholt, die enukleierten Augen in 10prozentiger Formollösung fixiert, dann eingebettet teils in Paraffin, teils nach vorhergehender Alkoholhärtung in Celloïdin. Bei Anwendung von Karmin wurde zur Kontrastfärbung Hämalaun, bei Trypan- und Pyrrholblau Alaunkarmin benutzt. Da sich die Karminpräparate als viel zuverlässiger und haltbarer erwiesen, wurden sie im wesentlichen den Beschreibungen zugrunde gelegt.
Schiefferdecker (Bonn).

Kleczkowski, T., Untersuchung über die Entwicklung des Sehnerven (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **85**, 1913, H. 3, p. 538—566 m. 3 Tfln.).

Verwendet wurden hauptsächlich Schweineembryonen und eine geringe Anzahl menschlicher Embryonen. Die jüngsten Schweineembryonen waren 5 mm, die ältesten 20 cm lang. Das Material wurde fixiert entweder in einer gesättigten Sublimatlösung mit Zusatz von Essigsäure (zur Färbung nach Heidenhain) oder in 10prozentiger Formollösung (zur Färbung nach Benda); Einbettung in Paraffin. Die jüngsten Embryonen bis zu 2 cm Länge wurden im ganzen eingebettet, eventuell nur die Köpfe allein. Bei den älteren wurde der Augapfel mit dem Sehnerven herauspräpariert und ein kleines hinteres Segment mit dem Nerven zusammen eingebettet. Die jüngeren Embryonen wurden in Schnitte von 5 μ Dicke, die älteren in solche von 7·5 bis 10 μ Dicke zerlegt, und in lückenlosen Serien untersucht. Färbung mit dem Eisenhämatoxylin von Heidenhain und der Methode von Benda. Die letztere, sowie auch die sonstigen spezifischen Färbungsmethoden der Neuroglia können nur dann gute Resultate ergeben, wenn die Neuroglia bereits chemisch differenziert ist, d. h. erst bei älteren Embryonen, so beim Schweine erst bei

7 cm Länge. Bei jüngeren Embryonen, bei denen diese Differenzierung noch nicht erfolgt ist, ergab die Färbung nach Heidenhain die besten Bilder.

Schiefferdecker (Bonn).

Schnaudigel, O., Die vitale Färbung mit Trypanblau am Auge (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **86**, 1913, H. 1, p. 93—105 m. 1 Tfl.).

Verf. hat das Trypanblau ausschließlich bei Kaninchen verwendet. Man arbeite nur mit dem besten Präparate, das direkt von Cassella & Co. in Frankfurt a. M. bezogen werden kann, Trypanblau extra, da außerordentlich viel von der Güte und Reinheit des Farbstoffes abhängt. Die Wirkung ist die gleiche, ob der Farbstoff subcutan, intraperitoneal oder intravenös angewendet wird. Am bequemsten ist die intraperitoneale Verwendung. In der Schnelligkeit der Wirkung besteht natürlich ein großer Unterschied: die intravenöse Infusion in eine Ohr- oder Schenkelvene färbt das Tier gewissermaßen mit einem Schlage blau, was sich an albinotischen Kaninchen am deutlichsten zeigen läßt. Trypanblau färbt schneller als Pyrrholblau und Isaminblau, die nur subcutan verwendet werden können, ebenso ist auch die Ausscheidung des Trypanblaues eine stärkere. Man gibt 0·1 g pro kg Körpergewicht; man kommt aus mit einer Lösung von 0·2 : 20·0 für mittelgroße Kaninchen als Einzeldosis. Man löse 0·2 g in destilliertem Wasser auf und füge zu den 20·0 Wasser 0·1 bis 0·15 g Kochsalz hinzu, dann einmaliges Aufkochen. Kurz vor der Injektion koche man zum zweiten Male auf und injiziere lauwarm je nach der Wahl der Anwendungsmethode. Die Dosis wiederhole man jede Woche, im ganzen dreimal, wenn man ganz sicher gehen will, viermal. Nach der letzten Injektion warte man 2 Tage und töte dann das Tier. Noch lange Zeit später, länger als 8 Tage konnte Verf. nicht warten, bleibt das Blutserum über dem abzentrifugierten Blutkuchen tiefblau. Die Blutfärbung der Tiere hält nach der Mitteilung der Forscher viele Monate an. Die lebenswarmen Organstücke kommen in eine 20prozentige Formollösung, die die Färbung ausgezeichnet fixiert. Es tritt kein Trypanblau aus den Organen in die Fixierungsflüssigkeit über. Die Objekte bleiben 3 bis 4 Tage in der Formollösung und werden dann im Schnelleinbettungsverfahren zu Paraffin- oder Celloïdinblöcken verarbeitet. Die Celloïdineinbettung ist entschieden die bessere. Verf. bemerkt hierzu, daß der Gefrierschnitt für mikroskopische Untersuchungen am Auge nur in beschränktem Maße von Nutzen ist. Verf. hat Gefrierschnitte der Trypanblaupräparate mehrere Tage in absolutem Alkohol und Ätheralkohol gelassen, ohne eine nennenswerte Abschwächung der Färbung zu sehen, daraufhin hat er dann die Celloïdinmethode angewendet. Die beste Gegenfärbung ist die mit Kochenille, die Flüssigkeit muß jeweils nach Hoyer zubereitet werden und darf nicht älter sein als

1 Tag. Die Schnitte vertragen aber auch die Gegenfärbung mit Alaunkarmin und leichte Differenzierung mit verdünnter Salzsäure, Xylol, Kanadabalsam. — Zum Studium der Aderhaut und ihrer Organe schneide man die fixierten Augen in der horizontalen oder vertikalen Ebene durch, lege einen zweiten von vorne nach hinten gehenden Schnitt durch die Hälften, so daß man vier gleiche Viertel hat, fasse mit einer Fixierpinzette den Hornhautzipfel, mit einer zweiten den Iriszipfel am Pupillarrande und ziehe die ganze Uvea von der Sklera ab. Diese Uvea (dünne Schichten der äußersten Aderhaut bleiben im fixierten Auge an der Sklera hängen, aber das Corpus ciliare löst sich glatt ab) lege man 30 Minuten lang in öfter gewechselten absoluten Alkohol, dann in Zedernholzöl, und bringe sie schließlich, gut ausgebreitet, in Kanadabalsam unter das Deckglas, das man einige Tage beschwert. Die Corneoskleralhülle lege man 1 Tag zum Aufhellen in Zedernholzöl (dünn) und decke sie, mit den nötigen Einschnitten versehen, ebenfalls ein. *Schiefferdecker (Bonn).*

C. Mikroorganismen.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen und Enzymen. Unter Mitwirk. v. Fachgenossen bearbeitet. Jahrg. **20** (1909). Leipzig (S. Hirzel) 1912. VIII u. 659 pp. 26 M.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen und Enzymen. Unter Mitwirk. v. Fachgenossen bearbeitet. Jahrg. **21** (1910). Leipzig (S. Hirzel) 1913. VIII u. 712 pp. 27 M.

Die beiden Bände gleichen in der erprobten Stoffanordnung und der anerkannten Inhaltsfülle den früheren; wie diese berühren sie das Interessengebiet unserer Zeitschrift namentlich in den die Arbeitsverfahren behandelnden Kapiteln. Die wichtigsten der in ihnen genannten Arbeiten sind bereits an dieser Stelle besprochen worden; es sei aus dem Inhalt des **20.** Jahrgangs noch Kings Bakterienfärbung mit Methylenblau-Natriumbikarbonat und die von Sabrazès und Dupérié gefundene Spirochätenfärbung mit Karbolthionin-Pikrinsäure genannt. — Im **21.** Jahrgang kommt neben anderem Dodsons Methode, tiefliegende Agarkolonien in situ zu färben zur Sprache; Zikes kombiniert zur Geißelfärbung die Anwendung der Löffler-schen Beize mit dem Versilberungsverfahren. *Küster (Bonn).*

Kozewalow, S., Zur Technik der Färbung der Negri-schen Körperchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 7, p. 654—655).

Die Paraffinschnitte werden nach Behandlung mit Xylol und Alkohol getrocknet und mit Mansons Blau gefärbt. „2·0 cc Methylenblau und 5·0 cc Borax werden in 100 cc siedendem destilliertem Wasser gelöst.“ Beim Gebrauch werden einige Tropfen der Lösung in ein Reagensglas übertragen und mit destilliertem Wasser soweit verdünnt, „bis die Lösung in Reagensglasdicke durchsichtig wird“. Die Färbung dauert 1 Minute; abspülen mit Wasser, mit Fließpapier, später über dem Bunsenbrenner trocknen, entfärben mit Methylalkohol, bis der Grund des Schnittes farblos oder bläulich und der Zellenzug an der Peripherie des Querschnittes von dem Ammonshorn blau wird ($^1/_2$ Minute); abtrocknen mit Fließpapier, später über dem Bunsenbrenner. Der Grund des Schnittes ist farblos, die Nervenzellen sind blaß-bläulich, die Zellenkerne etwas stärker gefärbt. Die Negrischen Körperchen färben sich nicht, ihre Einschlüsse (Innenkörperchen) aber färben sich dunkelblau oder schwarz, wie die Nukleolen der Kerne.

Küster (Bonn).

D. Botanisches.

Kauffmann, H., Über den Entwicklungsgang von Cylindrocystis (Zeitschr. f. Bot. Bd. **6**, 1914, H. 9, p. 721—783 m. 1 Tfl. u. 4 Textfigg.).

Flocken des Materials werden auf den mit Eiweiß bestrichenen Objektträger gebracht und mit vom Rathscher Lösung oder mit 50prozentigem Alkohol fixiert. Beide Mittel härten die Kerne gut; auf die Chromatophoren wirkt das erste besser; die Anwendung von Alkohol empfiehlt sich aber deswegen mehr, weil er nach allmählicher Steigerung das als Klebemittel dienende Eiweiß gerinnen läßt und die sehr störende Ausspülung entbehrlich macht. Die Objekte wurden dann noch einige Stunden in absolutem Alkohol aufbewahrt und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Bei der Differenzierung entfärben sich Plasma und Chromatophoren früher als Pyrenoide und Kern; Nukleolen und Pyrenoide zeigten gleiche Färbbarkeit.

Küster (Bonn).

Kindler, Th., Gametophyt und Fruchtansatz bei Ficaria ranunculoides (Österr. bot. Zeitschr. Bd. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 73).

Fixiert wurden die losgelösten Fruchtknoten mit Eisessig-Alkohol; zum Färben dienten Delafields Hämatoxylin und Safranin-Lichtgrün nach Sieben; letzteres gab die besten Resultate.

Küster (Bonn).

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Wülfing, E. A., Fortschritte auf dem Gebiete der Instrumentenkunde (Fortschritte d. Mineralogie, Kristallographie und Petrographie. Herausgeg. im Auftrage der Mineralog. Gesellschaft von G. Linck. Bd. 3. p. 63—92). Jena (G. Fischer) 1913.

Seit einigen Jahren gibt die Deutsche Mineralogische Gesellschaft alljährlich einen Band „Fortschritte der Mineralogie usw." heraus, worin die Fortschritte auf den verschiedenen Gebieten der mineralogischen Wissenschaften behandelt werden. Im vorliegenden dritten Bande gibt Wülfing eine Übersicht über mineralogisch-petrographische Instrumente, die in den letzten 10 Jahren neu entstanden oder in ihrer Bedeutung erst richtig erkannt wurden. Vor allem sind prinzipiell neue Konstruktionen berücksichtigt und unter diesen besonders inländische Erzeugnisse. Verf. begrüßt es mit Genugtuung, daß sich auch auf diesem Gebiete ein lebhafter Fortschritt kundgibt, der durch die allmähliche Entwicklung der Mineralogie und Petrographie in der Richtung der exakten Wissenschaften um so deutlicher hervortritt. Der Arbeit voraus geht ein reichhaltiges Literaturverzeichnis, auf das bei der Aufzählung der einzelnen Instrumente stets hingewiesen wird; wer sich daher genauer über eine Neukonstruktion informieren will, hat sogleich ein Verzeichnis der einschlägigen Literatur zur Hand.

1. Goniometer und Goniometerattribute. Besondere Neukonstruktionen sind bei den einkreisigen Goniometern und Spektrometern nicht zu verzeichnen; nur einige Verbesserungen in der Konstruktion treten hier auf. Hierher gehört z. B. das von F. Paschen angegebene Präzisionsspektrometer. Durch Verbesserung der Fernrohr- und Kollimatorlinsen, sowie durch Anbringung von Irisblenden am Kollimator und Fernrohr ist das alte Websky-Fuesssche einkreisige Goniometer Modell II wesentlich verbessert worden. Die Firma R. Fuess hat nach Angaben von W. Voigt ein Präzisions-Polarisations-Spektrometer hergestellt, sowie ein großes Spektrometer, mittels dessen Messungen bis auf zwei Sekunden ausgeführt werden können. Ein Universalgoniometer ist von A. Hutchinson angegeben worden.

Am zweikreisigen Goniometer sind Verbesserungen von C. Klein, G. Wulff und V. M. Goldschmidt ausgeführt worden. G. F. Smith und E. v. Fedorow beschreiben ein dreikreisiges Goniometer nach dem Prinzip der Theodolithmethode. Für die Messung großer Kristalle hat V. Goldschmidt ein zweikreisiges Goniometer angegeben. Zur Messung kleiner Kristalle bedient sich de Souza Brandão eines Mikroskopgoniometers.

J. F. Eyckman und F. Rinne gaben Heizvorrichtungen für Spektrometer und Goniometer an; die Erwärmung erfolgt entweder durch

siedende Flüssigkeiten oder durch den elektrischen Strom. F. Rinne gibt auch einen Abkühlungsapparat mit fester Kohlensäure oder flüssiger Luft an.

2. Mikroskope und Mikroskopattribute. Fuess hat eine stereoskopische (binokulare) Lupe konstruiert, die wie eine Brille aufgesetzt werden kann.

Bei den Mikroskopen ist einmal die von M. Berger angegebene Änderung der Stative hervorzuheben; die grobe und feine Bewegung des Tubus ist von dem mit dem Fuß des Instrumentes starr verbundenen Handgriff unabhängig ausgebaut. Die Mikrometerbewegung des Tubus ist konstruktiv verbessert worden und bequemer zu handhaben. Durch einen in Tischhöhe von E. Krombholz angebrachten Spiegel wird die Einstellung des Mikroskops bei starken Objektiven erleichtert, indem das Auge den Abstand der Frontlinse vom Deckglas übersehen kann. — Nach den Angaben von W. W. Nikitin hat Fuess ein Mikroskop konstruiert, das speziell zum Gebrauch mit dem Fedorowschen Universaltisch dient. An einem neuen Modell ist auch die Drehung des ganzen Mikroskoptisches um eine horizontale Achse eingeführt. — Zum schnellen Auffinden bestimmter Stellen und zum methodischen Durchsuchen mikroskopischer Präparate dienen entweder eine auf dem Objekttisch eingeritzte Karierung oder Schiebelineale. — Auch die Vorrichtungen zum Wechsel der Beleuchtung haben manche Verbesserung erfahren. Zur Beobachtung im parallelen Lichte innerhalb eines engen Aperturbereiches werden Diaphragmen verwandt, die über dem Kondensor oder über dem Okular eingeschoben werden. Dem Wechsel der Kondensoren dient eine Revolvervorrichtung: bei Instrumenten von S. Winkel wird der zweite Kondensor in Gestalt einer Kappe über den schwachen Kondensor gestülpt. Einen dreifachen Kondensor besitzen Instrumente von W. und H. Seibert. Die obere Linse kann durch Umkippen ausgeschaltet werden. — Mikroskope mit gleichzeitig drehbaren Nikols haben durch die Arbeiten von E. Sommerfeldt, F. E. Wright, de Souza Brandão, C. Leiss wesentliche Vereinfachungen erfahren. — Was die Konstruktion der Objektive anbelangt, so hebt Verf. neben den Zeissschen Apochromaten die von R. Winkel konstruierten sogenannten Fluoritsysteme hervor; bei den letzteren sind, im Gegensatz zu den Apochromaten, die Bilder frei von Nebel, zeigen aber etwas farbige Ränder. Für die Messung der Apertur des Objektives sind die von F. E. Wright und W. Volkmann angegebenen Vorrichtungen zu erwähnen. — Um bei Beobachtung des Achsenbildes von der Beseitigung des Okulars absehen zu können, hat F. E. Wright einen Spiegelschieber konstruiert, durch den das Interferenzbild seitlich vom Okular beobachtet wird. Für die Ausmessung des Achsenbildes dient das von F. E. Wright angegebene Doppelschraubenmikrometerokular. — Zur Bestimmung der Doppelbrechung sind Okulare mit Quarzkeilkompensatoren von J. W. Evans, H. Siedentopf und F. E. Wright neu angegeben worden.

Sehr empfindliche Okulare zur Ermittlung sehr kleiner Gangunterschiede wurden von D. D. Brace und J. Königsberger konstruiert; als Kompensatormineral werden Glimmerblättchen verwandt. Von C. Leiss wurden Vorrichtungen zur Beobachtung der Airyschen Spiralen in einachsigen wie in zweiachsigen Kristallen, sowie zur Messung der Zirkularpolarisation angegeben. — Betreffs der von H. Siedentopf und R. Zsigmondy begründeten Ultramikroskopie ist Verf. der Ansicht, daß diese Wissenschaft bei dem Studium der Gele noch Bedeutung für die Mineralogie gewinnen wird. — Das metallographische Mikroskop ist durch Le Châtelier wesentlich verbessert worden; diese Apparate werden von der Firma P. F. Dujardin & Co. in Düsseldorf vertrieben. Auch die Firma E. Leitz baut solche Mikroskope. — Neue Heizmikroskope geben O. Lehmann, C. Doelter, F. Rinne, H. Boeke und F. Jentzsch an. — Gute photographische Stative für Mikroskopie konstruiert die Firma R. Winkel. — Die Konometer (Achsenwinkelapparate) sind mannigfach verbessert worden. Für das Wülfingsche Konometer hat F. Rinne einen Erhitzungsapparat angegeben. — Bei den Totalreflektometern ist die Verbesserung des Bertrandschen Handtotalreflektometers durch G. F. Herbert Smith zu erwähnen. — Als Photometer empfiehlt Verf. das von J. Königsberger in seiner Habilitationsschrift 1900 beschriebene Mikrophotometer zur Messung der Lichtabsorption in festen Körpern. —

Chromoskop wurde ein von L. Arons konstruierter Apparat benannt, der von der Firma Schmidt & Haensch in Berlin S. 42, Prinzessinnenstraße 16, vertrieben wird. Sieben parallel zur Basis geschliffene Quarzplatten von $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2, 4, 8 mm Dicke liegen zwischen zwei drehbaren Polarisatoren; durch Ein- und Ausschieben lassen sich diese Platten nach $^1/_4$ mm aufsteigend kombinieren; die Zahl der herzustellenden Farben ist außerordentlich groß, und jede Farbe ist eindeutig durch Quarzdicke und Polarisationswinkel bestimmt.

Lichtquellen. Von Mikroskopierlampen empfiehlt Verf. die von Tine Tames konstruierte, verbesserte Mikroskopierlampe mit kleiner elektrischer Glühbirne; das gelbliche Licht dieser Lampe wird durch Blaufilter dem Tageslicht ähnlich gemacht. F. E. Wright benutzt eine gleichfalls mit Blaufilter versehene Acetylenlampe. Empfehlenswert sind auch die Zeisssche Gasglühlampe No. 19910 mit Invertbrenner und die Nernst-Mikroskopierlampe No. 19950. — Zu Goniometerlampen sind Nernst- und Acetylenlampen montiert worden. Zur bequemeren Nonienablesung hat de Souza Brandão eine Gasglühlampe mit einem Fuß des Goniometers fest verbunden, wobei das ganze Goniometer auf drehbarem Untersatz steht. — Die zur Erzeugung monochromatischen Lichts hergestellten Strahlenfilter hält Verf. noch für verbesserungsfähig. Für die Benutzung monochromatischer Flammen hat Wright ein besonderes Verfahren für Lithion- und Thalliumlicht angegeben. — Von Quecksilberlampen verdienen

Erwähnung die zuerst von L. Arons konstruierten, die von E. Gumlich und H. Siedentopf verbessert wurden. Für Kollimatorbeleuchtung ist die von W. C. Heraeus in Hanau hergestellte Quecksilberlampe zu empfehlen. — Monochromatoren werden meist mit den von Abbé angegebenen Prismen mit konstanter Ablenkung versehen. Solche Prismen sind für Ablenkungen von 60° und 90° gebaut. —

Projektionsapparate, wie sie heute von den großen optischen Werkstätten gebaut werden, sind mannigfach verbessert worden.

Sklerometer. Von besonderem Interesse ist hier die Konstruktion von V. Pöschl, der das Seebeckscbe Sklerometer mit einem Mikroskop verbunden hat, um Breite und Tiefe der entstehenden Furchen genau messen zu können.

Schleifapparate. Zum Schleifen und Polieren orientierter Flächen sind Apparate von S. Wulff, O. Grosspietsch, Wülfing, Königsberger und Goldschmidt angegeben worden.

Die Arbeit führt dann noch auf: Neue Trennungsapparate, Elektromagnete, elektrische Öfen, Kristallzuchtapparate, Zeichenutensilien, Apparate zur Prüfung der Mineralien auf ihre Verwendbarkeit als Detektoren. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Linck, G., Grundriß der Kristallographie für Studierende und zum Selbstunterricht. 3., verbesserte Auflage. Jena (G. Fischer) 1913. 271 pp. Mit 3 farbigen Tfln. u. 631 Originalfigg. im Text.

Die vorliegende Auflage zeigt nur geringe Änderungen gegenüber der 1908 erschienenen zweiten Auflage, die sie auch an Umfang nur um wenige Seiten übertrifft. Neu hinzugekommen sind die Erwähnung der Komplikationsregel, die Erläuterung der Huygenssehen Konstruktion an der Hand einiger Figuren, der Abschnitt über Indexflächen einachsiger Kristalle und die Bestimmung des Charakters der Doppelbrechung mittels des Gipsblättchens mit Rot I. Ordnung; der Abschnitt über optisch anomale Kristalle hat eine Umarbeitung erfahren.

Die Brauchbarkeit des Werkes zum Selbststudium habe ich an mir selbst erfahren; während meiner Tätigkeit als Assistent des mineralogisch-petrographischen Instituts in Straßburg hatte ich öfters Gelegenheit, Studierende, die ich auf das Werk hingewiesen hatte, mit Befriedigung davon sprechen zu hören. Das Werk wird mit seiner gediegenen Ausstattung und seinen vorzüglichen, instruktiven Figuren der kristallographischen Wissenschaft noch viele Freunde werben. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Duparc, L., u. Monnier, A., Traité de technique minéralogique et pétrographique: Deuxième partie. Tome I: Les méthodes chimiques qualitatives. 372 pp. Av. 1 pl. et 111 figs. Leipzig (Veit & Co.) 1913. 15 M., geb. 18 M.

Eine Darstellung der Untersuchungsmethoden der Mineralien und Gesteine auf chemischem Wege wird, wenn sie erschöpfend sein soll, sehr umfangreich und ist keine leichte Aufgabe. Man muß sagen, daß die Autoren in dem vorliegenden Bande, der nur die qualitativen Untersuchungsmethoden behandelt, diese Aufgabe glücklich gelöst haben. Die wichtigsten Instrumente und ihre Handhabung, die verschiedenen Methoden zur Prüfung auf die Elemente sind hier klar auseinandergesetzt. Vor allem sind auch die Methoden der Vorprüfung, deren sichere Kenntnis oft viel Zeit und Mühe bei einer Untersuchung erspart, gut erläutert. Ein besonderes Kapitel ist der mikrochemischen Analyse gewidmet, das gute Abbildungen der Kristallformen von charakteristischen Niederschlägen der verschiedenen Elemente bringt. Zur raschen Bestimmung von Mineralien ist am Schlusse eine Tabelle analog den Kobell'schen Tabellen zur Mineralbestimmung eingerichtet.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Petrow, K., Messungen geringer Dispersionen der optischen Symmetrieachsen in monoklinen Kristallen (Neues Jahrb. f. Min. usw. 1914, 37. Beilageband. p. 457—494 m. 1 Tfl. u. 21 Textfigg.).

An einer Reihe monokliner Kristalle bestimmte Verf. die Dispersion der optischen Symmetrieachsen in der Symmetrieebene (010) durch Messung der Auslöschungsrichtungen im einfarbigen Licht nach der Halbschattenmethode. Zur Verwendung kamen folgende Apparate dabei: eine Kohlebogenlampe mit horizontaler positiver Kohle, ein Kondensor, der das Licht des positiven Kraters auf den Eintrittsspalt eines Monochromators konzentriert, ein großer Monochromator nach A. Hilger mit konstanter Ablenkung und einer Dispersion von etwa 3^0 und ein Halbschattenmikroskop: als Halbschattenplatte diente ein Doppelquarzkeil nach F. E. Wright. Im Mikroskop durchläuft das Licht nacheinander den Polarisator, den Doppelquarzkeil, das Präparat und den Analysator und gelangt dann in das Mikroskop. Neben planparallelen Platten wurden auch keilförmige Präparate verwandt, deren Keilwinkel höchstens 1^0 beträgt; die Keilkante muß senkrecht zur Trennungsfuge der Halbschattenvorrichtung stehen. Bei Präparaten aus Zwillingskristallen muß die Keilkante parallel der Zwillingsebene liegen.

Zu den Messungen wurden verwandt:

1) Planparallele Platten von Diopsid von Nordmarken, basaltische Hornblende von Böhmen, Euklas von Boa Vista, Sanidin von Ischia, Adular vom St. Gotthard, Colemanit von Kalifornien, Vivanit von Cornwall, Kobaltblüte von Schneeberg, Borax.

2) Keilförmige Präparate von Diopsid vom Zillertal.

3) Keilförmige Präparate von Triphan in einer Flüssigkeit.

Am größten ist die Dispersion im Borax, wo sie zwischen $\lambda = 439{\cdot}6$ und $614{\cdot}9\ \mu$ $3^0\,11{\cdot}7'$ beträgt; im Adular beträgt sie zwischen $\lambda = 422{\cdot}7$ und $652{\cdot}1\ \mu$ $1^0\,3{\cdot}3'$ und im Colemanit für den gleichen Bereich $1^0\,7{\cdot}5'$. In den anderen untersuchten Mineralien ist sie kleiner als 1^0, bei den Diopsiden von Nordmarken und vom Zillertal, sowie beim Vivanit sogar kleiner als $0{\cdot}5^0$.

Die gewonnenen Werte wurden graphisch dargestellt, wobei auf der Abszisse die Wellenlängen, auf der Ordinate die gemessenen Winkel φ aufgetragen wurden. Die erhaltenen Dispersionskurven waren steigend oder fallend. Aus der Gestalt der Dispersionskurven bei den farblosen und grünen Diopsiden ist auf einen starken Einfluß des die Farbe bedingenden Gehalts von Ferrosilikat zu schließen.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Wülfing, E. A., Über die Lichtbrechung des Kanadabalsams (Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse 1911, 20. Abhandlg., 26 pp. m. 3 Textfigg.).

Verf. hat zunächst die Lichtbrechung einer Reihe von Mineralien untersucht, die in ihren Brechungsverhältnissen dem Kanadabalsam nahe stehen. Dabei ergab sich, daß Chalcedon bei einigermaßen grobfaseriger Entwicklung so gut wie einachsig ist, mit den Brechungsexponenten $\alpha = \beta$ oder $\omega = 1{\cdot}530$, γ oder $\varepsilon = 1{\cdot}538$. Bei dem Hydrargyllit von Slatoust und Langesund sind α und β wesentlich höher als bisher angenommen wurde, mindestens $1{\cdot}57$. Für die meisten Cordierite ist $\alpha = 1{\cdot}534 \pm 0{\cdot}003$, $\beta = 1{\cdot}539 \pm 0{\cdot}003$, $\gamma = 1{\cdot}541 \pm 0{\cdot}003$. Beim Nephelin sind in der Lichtbrechung zwei Arten zu unterscheiden:

1) Nephelin vom Vesuv hat $\omega = 1{\cdot}5418$, $\varepsilon = 1{\cdot}5378$.

2) Eläolith von Hot Springs hat $\omega = 1{\cdot}5466$, $\varepsilon = 1{\cdot}5417$.

Bei den meisten Schliffen der Heidelberger Sammlung liegt die Lichtbrechung des Balsams zwischen $1{\cdot}533$ und $1{\cdot}541$, äußerst selten steigt sie bis $1{\cdot}544$ (ω — Quarz) oder sinkt bis $1{\cdot}533$; solche extremen Werte sind auf Fabrikationsfehler zurückzuführen. Bei mittleren Temperaturen wird der Brechungsexponent von trockenem Kanadabalsam im Durchschnitt um $0{\cdot}00033$ niedriger für 1^0 Temperatursteigerung. Mit der Zeit wird jeder Balsam an der Luft gelb, spröde und zeigt dann höhere Lichtbrechung; diese Veränderung an der Luft beschränkt sich aber auf die Oberfläche des Balsams. Daher altert Kanadabalsam, der durch ein Deckglas oder eine von ihm selbst gebildete Kruste geschützt ist, nur an der Oberfläche und den Rändern des Deckglases. Zur besseren Konservierung kann man die Deckglasränder noch mit einem Balsamwulst umgeben. Bei der Herstellung der Dünnschliffe können mit den meisten Kanadabalsamsorten, die im Handel vorkommen, die Grenzen der

Lichtbrechung von 1·533 bis 1·541 ohne Schwierigkeit innegehalten werden. *V. Dürrfeld (Brake i. O.).*

Wülfing, E. A., Über Projektion mikroskopischer Objekte insbesondere im polarisierten Licht (Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse 1911, 36. Abhandl., 39 pp. m. 1 Tfl. u. 10 Textfigg.).

Bei Mikroprojektionen im polarisierten Licht sind am zweckmäßigsten drei Beleuchtungslinsen zu verwenden, die Verf. als Kollimator, Kollektor und Kondensor unterscheidet. Kollimator und Kollektor erfüllen nur je eine Funktion: der Kollimator sammelt möglichst viel Licht von der Lampe, das der Kollektor dann durch den Polarisator sendet. Der Kondensor erfüllt eine doppelte Funktion, indem er einmal die Lichtstrahlen möglichst auf dem Objekt vereinigt und dann durch das Objektiv zur Wand hindurchsendet.

Die Bildhelligkeit bei Verwendung einer 30-Ampère-Lampe ist bei starker Vergrößerung nicht größer als bei einer 5-Ampère-Lampe; bei stärkerer Vergrößerung wird durch die Konzentration des Lichtes auf ein kleineres Objekt die Apertur der Strahlen so groß, daß sie von den Objektiven nicht mehr aufgenommen werden können. Als besten Kollimator für Mikroprojektion hat Verf. eine 1911 von Zeiss konstruierte, teilweise asphärisch begrenzte Linse gefunden. Die nach den Angaben des Verfassers von der Firma R. Winkel in Göttingen hergestellten Projektionsapparate erlauben Beobachtungen im parallelen und konvergenten Licht. Zur Beleuchtung sind zweckmäßig Gleichstromlampen zu verwenden, wobei die Achse der positiven Kohle in der Kollimatorachse liegen soll.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Donau, J., Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie unter besonderer Berücksichtigung der quantitativen Gewichtsanalyse. Handbuch der mikroskopischen Technik, IX. Teil. 70 pp. m. 35 Abbild. Stuttgart (Franckhsche Verlagshandlung) 1913. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 242.) Geh. 2 M., geb. 2·80 M.

Dopter, Ch., et Sacquépée, E., Précis de Bactériologie. 938 pp. 340 figg. Paris (Baillière) 1914. 18 frcs.

Duparc, L., u. Monnier, A., Traité de technique minéralogique et pétrographique: Deuxième partie. Tome I Les méthodes chimiques qualitative. 372 pp. Mit 1 Tfl. u. 111 Textfigg. Leipzig (Veit & Co.) 1913. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 276.) 15 M., geb. 18 M.

Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 4., neubearb. Aufl. XVIII, 808 pp. m. 75 Figg. 8°. Leipzig (W. Engelmann) 1914. geb. 20 M.

Jennings, H. S., Die niederen Organismen, ihre Reizphysiologie und Psychologie. Autorisierte deutsche Übersetzung von Prof. Dr. Ernst Mangold. Wohlfeile (Titel-) Ausgabe des Werkes: Das Verhalten der niederen Organismen unter natürlichen und experimentellen Bedingungen. X, 578 pp. m. 144 Figg. 8°. Leipzig (B. G. Teubner) [1910] 1914. 5 M., geb. 6 M.

Lesieur, Ch., et Favre, M., Précis de microscopie clinique. Paris (Doin) 1914. 800 pp. av. 305 figg. d. le texte et 24 pl. en couleur. 12 frcs.

Linck, G., Grundriß der Kristallographie für Studierende und zum Selbstunterricht. 3., verbesserte Auflage. Jena (G. Fischer) 1913. 271 pp. Mit 3 farbigen Tfln. u 631 Orginalfigg. im Text. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 276.)

Mayer, P., Einführung in die Mikroskopie. Berlin (J. Springer) 1914. 205 pp. 28 Textfigg. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 241.) geb. 4·80 M.

Mense, C., Handbuch der Tropenkrankheiten. 2. Aufl. Leipzig (J. A. Barth).
Bd. **1**, 1913, XVI u. 295 pp., 200 Abb. im Text, 10 schwarze u. 2 farb. Tfln. 16·20 M., geb. 18 M.
Bd. 2, 1914, XVI u. 747 pp., 126 Figg., 14 schwarze und 6 farbige Tfln. 40 M., geb. 42 M.
Bd. **3**, 1914, XVI u. 679 pp. m. 118 Abb. im Text u. 9 farb. Tfln. 35 M., geb. 37 M.

Neumann, R. O., u. **Mayer, M.,** Atlas und Lehrbuch wichtiger tierischer Parasiten und ihrer Überträger mit besonderer Berücksichtigung der Tropenpathologie. 580 pp. Text m. 1300 farb. Abb. auf 45 lithograph. Tfln. u. 237 schwarzen Textfigg. (Lehmanns medizinische Atlanten in 4°, Bd. **11**.) München (J. F. Lehmann) 1914. geb. 40 M.

Patton, W. S., a. **Cragg, F. W.,** A text book of medical entomology. London, Madras and Calcutta (Christian Lit. Soc. for India) 1913. XXXIV a. 764 pp. 1 L. 1 sh.

Prowazek, S. v., Handbuch der pathogenen Protozoen. Leipzig (J. A. Barth). Bd. **1**, 1912 (Lief. 1—4). VIII u. 514 pp. m. 6 farb. u. 7 schwarzen Tfln. u. 205 Figg. im Text. 28·60 M.; geb. 30 M.

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Ayres, S. H., a. **Johnson, W. T.,** Pasteurization in bottles and the process of bottling hot pasteurized milk (Journ. of Infect. Diseases vol. **14**. p. 217—241). March, 1914.

Craig, H. K., A new method of preparing museum specimens (Journ. Amer. med. assoc. vol. **62**, no. 16, p. 1241—1242).

Givler, J. P., A safety razor modified for cutting handsections (Bot. Gaz. vol. **55**, 1913, p. 399; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 246).

Klein, St., Eine einfache Methode der panoptischen Blut- und Gewebsfärbung mit „Polychrom" (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**. 1913, No. 46, p. 2254—2255; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 245).

Kull, H., Eine Modifikation der Altmannschen Methode zum Färben der Chondriosomen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1913, No. 5, 6, p. 153—157; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 243).

Lautenschläger, Zur Technik der intravenösen Goldinfusionen und Injektionen (Beitr. z. Klinik d. Tuberk. Bd. **30**, 1914, H. 2, p. 355—359 m. 3 Figg.).

Liebmann, E., Über eine neue Kombination der Schnelleinbettung in Paraffin mit Stückdurchfärbung (Zentralbl. f. allg. Pathol. Bd. **25**, No. 4, p. 150—151).

Marks, L. H., Zur experimentellen Technik. In: Paul Ehrlich, Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens. Jena (Fischer) 1914. p. 159—161.

Thilenius, J. de, Eine unzerbrechliche Injektionskanüle (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 25, p. 1273 m. 1 Fig.).

Weber, A., Inclusion mixte à la gélatine et à la paraffine (Bibliogr. anat. t. **24**, fasc. 3, p. 146—148).

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Armbruster, L., Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden [Osmia cornuta Latr.]. Beiträge zur Geschlechtsbestimmungsfrage und zum Reduktionsproblem (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913. p. 242—326 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 253).

Brammertz, W., Morphologie des Glykogens während Eibildung und Embryonalentwicklung von Wirbellosen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 389—412 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 246).

Casper, A., Die Körperdecke und die Drüsen von Dytiscus marginalis L. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 387—508 m. 44 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 252).

Gelei, J., Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 51—150 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 249).

Gerwerzhagen, A., Beiträge zur Kenntnis der Bryozoen. 1. Das Nervensystem von Cristatella mucedo Cuv. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 309—345 m. 3 Figg. u. 3 Tfln.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 247).

Jordan, K. H. Ch., Zur Morphologie und Biologie der myrmecophilen Gattungen Lomechusa und Atemeles und einiger verwandter Formen (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. **107**, 1913, p. 346—386 m. 20 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 252).

Lang, P., Experimentelle und histologische Studien an Turbellarien 2. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 1, p. 339—364 m. 2 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 250).

Mayer, L., Die intrazellulären Fibrillen in den Epithelzellen von Oligochäten und Polychäten und das Skelett der Muskelzellen (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 450—475 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 251).

Maziarski, St., Sur la persistance des résidus fusoriaux pendant les nombreuses générations cellulaires au cours de l'ovogénèse de Vespa vulgaris L. (Arch. f. Zellforsch. Bd. **10**, 1913, p. 507—532 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 254).

Meves, F., Über das Verhalten des plastomatischen Bestandteiles des Spermiums bei der Befruchtung des Eies von Phallusia mamillata (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 2, p. 215—260 m. 7 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 248).

Nachtsheim, H., Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene [Apis mellifera L.] (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 169—241 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 253).

Ortner-Schönbach, P., Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 413—449 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 251).

Quack, M., Über den feineren Bau der Mitteldarmzellen einiger Nematoden (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 1—59 m. 8 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 251).

Weißenberg, G., Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien Glugea anomala Moniez und Hertwigi Weissenberg (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 2, p. 81—163 m. 6 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 247).

b. Wirbeltiere.

Biondi, G., La degenerazione Walleriana dei nervi periferici, particolarmente studiata dal lato istochimico ed il valore degli attuali metodi d'indagine per la dimostrazione istochimica di sostanze grasse e lipoidi (Folia Neuro-Biologica, vol. 7, 1913, August. Sommer-Ergänzungsheft. p. 71—119 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 263).

Busacca, A., L'apparato mitocondriale nelle cellule nervose adulte (Arch. f. Zellforsch. Bd. **11**, 1913, p. 327—339 m. 23 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 266).

Dunzelt, H., Die Differentialauszählung der weißen Blutkörperchen in der Zählkammer (München. med. Wochenschr. Jahrg. **60**, 1913, No. 47, p. 2616—2618; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 261).

Heldt, Th. J., Möllgaard's Reticulum (Journ. Compar. Neurol. vol. **23**, 1913, no. 4, p. 315—346 w. 2 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 266).

Kleczkowski, T., Untersuchung über die Entwicklung des Sehnerven (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **85**, 1913, H. 3, p. 538—566 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 269).

Kreibich, K., Kultur erwachsener Haut auf festem Nährboden (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Orig. Bd. **120**, H. 1, p. 168—176).

Krotkow, S. F., Zur Methodik der Blutkörperchenzählung (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. **153**, 1913, H. 11, 12, p. 616—632 m. 1 Fig. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 257).

Legendre, R., Dispositif pour l'examen microscopique des nerfs vivants ayant leurs connexions anatomiques intactes et leur fonctionnement normal (Comp. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 10, p. 432—434).

Meßner, E., Weitere Mitteilungen über die Färbung der Nisslschen Schollen mit Pikrokarmin (Journ. f. Psychol. u. Neurol. Bd. **20**, 1913, H. 5, 6, p. 256).

Péterfi, T., Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**, 1913, Abt. 1, p. 1—42 m. 13 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 256).

Rados, A., Die Ausscheidung von intravenös injiziertem Karmin und Trypanblau im Auge (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **85**, 1913, H. 3, p. 381—392 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 269).

Reis, V., u. **Reis, K.**, Der Apparat von Golgi-Kopsch und die intrazellulären Einschlußkörper. — Ein Beitrag zur Histologie der Bindehautepithelien und des trachomatösen Follikels (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **86**. 1913, H. 1, p. 122—135 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**. 1914, p. 255).

Röthig, P., Über eine Nachfärbung bei Weigert-Pal-Präparaten (Neurol. Zentralbl. Jahrg. **33**. 1914, No. 4, p. 219—220).

Rosenow, E. C., Eine einfache Methode für das Anfertigen von Gewebskulturen (Zentralbl. f Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914. H. 3, 4, p. 366—368 m. 1 Fig.).

Schalk, A., Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von Petromyzon fluviatilis (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **83**. 1913, Abt. 1, p. 43—67 m. 34 Figg. u. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 255).

Schilling, V., Technik des Blutausstriches und eine neue Differential-Zähltafel für Leukocyten (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**, 1913, No. 41. p. 1985—1987 m. 2 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 258).

Schmaudigel, O., Die vitale Färbung mit Trypanblau am Auge (Arch. f. Ophthalmol. Bd. **86**, 1913, H. 1, p. 93—105 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 270).

Sheldon, R. Ed., Paraffine-Weigert method for the staining of nervous tissue, with some new modifications (Folia neuro-biol. vol. **8**, 1914, no. 1, p. 1—28).

Smyth, H. F., The cultivation of tissue cells in vitro and its practical application (Journ. Amer. med. assoc. vol. **62**, no. 18, p. 1377—1381).

Stendell, W., Zur vergleichenden Anatomie und Histologie der Hypophysis cerebri (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. **82**, 1913, Abt. 1, p. 289—337 m. 18 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 266).

Walter, F. K., Eine neue elektive Nervenfärbung (Sitzungsber. u. Abh. d. nat. Ges. Rostock N. F. Bd. **5**, 1913, p. 1—2).

Zilkens, K., Eine verbesserte Entkalkungsflüssigkeit für mikroskopische Untersuchungen (Zentralbl. f. allgem. Pathol. Bd. **25**, No. 2, p. 61—62).

c. Mikroorganismen.

Arnheim, G., Spirochätenuntersuchungen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. **76**, 1914, p. 407).

Barber, M. A., Cockroaches and ants as carriers of the vibrios of asiatic cholera (Philipp. Journ. of. Sci. vol. 9, 1914, sect. B, no. 1, p. 1).

Besredka, A., et **Jupille, F.**, Le bouillon à l'oeuf (Ann. Inst. Pasteur t. 27. 1913, p. 1009).

Besredka, A., et **Jupille, F.**, La gélose à l'oeuf (Ann. Inst. Pasteur t. **28**. 1914, no. 6, p. 576).

Bierast, W., Über elektive Beeinflussung des Bacterium coli im Bakteriengemisch und ihre praktische Bedeutung für den Nachweis des Typhus- und Paratyphuskeimes (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 3, 4, p. 348—354).

Biot, R., Modifications de la technique de la réaction de fixation dans la tuberculose (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 9, p. 380—382).

Brault, J., Note sur les cultures de Madurella mycetomi (Bull. soc. pathol. exot. vol. **6**, 1913, no. 6, p. 407—409).

Büsing, Ed., Über den Zusatz von Rindergalle zum LÖFFLER'schen Diphtherienährboden (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 9, p. 486—487).

Cãrpano, M., Über einige in papillomatösen Neubildungen bei Pferden aufgefundene Spirochäten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 7, p. 584—591 m. 1 Tfl. u. 18 Textfigg.).

Duval, Ch., Pertinent remarks upon the cultivation of the leprosy bacillus (Trans. 17. intern. Congress of med. London, 1913, sect. 4, bacteriol. a. immunity, part. 2, p. 103—109).

Frei, W., Die Züchtung menschenpathogener Mikroorganismen nichtbakterieller Natur (Die Naturwissenschaften 1914, H. 8, p. 175—177).

Fügner, Ig., Über den modifizierten DIEUDONNÉ'schen Choleranährboden von HOFFER und HOVORKA (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 3. 4, p. 354—365).

Gair, G., Note on a method of differentiating tubercle bacilli from the more common acid-fast forms (The veter. record 1914, 21 febr.).

Giemsa, G., Zur Schnellfärbung (ROMANOWSKY-Färbung) von Trockenausstrichen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 7. p. 493—496 m. 2 Figg.).

Goodrich, G. W., Comparison of the plating and microscopic methods in the bacteriological examination of milk (Journ. of infect. dis. vol. **14**. 1914, no. 3, p. 512—519).

Hagemeister, W., Über die Züchtung pathogener Trypanosomen auf künstlichen Nährböden (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. **37**. 1914, H. 2. p. 227—256).

Hanau, A., Über neuere Diphtheriennährböden. Diss. med. Straßburg 1914. 8°.

Henningfeld, Fr., Über die Isolierung einzelner Trypanosomen (Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 3, p. 228—240).

Heurlin, M. af, Eine einfache Methode, die echten Diphtheriebazillen von Pseudodiphtheriebazillen kulturell zu unterscheiden (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914. No. 14, p. 702—703).

Holmes, J. D. E., A note on the M'FADYEAN staining reaction for anthrax bacilli (Agricult. research. inst. Pusa. Bull. no. 36, Calcutta 1913, 3 pp.).

Huntoon, F. M., A simple and reliable method of staining spores (Journ. Amer. med. Assoc. vol. **62**, 1914, no. 18, p. 1397).

Kellerman, K. F., Testing cultures of nodule-forming bacteria (Bureau of Plant Industry Circular 120: 3—5, fig. 1. April 5, 1913).

Kellerman, K. F., The use of congo red in culture media (Bureau of Plant Industry Circular 130: 15—17. June 21, 1913).

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen und Enzymen. Unter Mitwirk. v. Fachgenossen bearbeitet. Jahrg. 20 (1909). Leipzig (S. Hirzel) 1912. VIII u. 659 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 271.) 26 M.

Koch, A., Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen und Enzymen. Unter Mitwirk. v. Fachgenossen bearbeitet. Jahrg. 21 (1910). Leipzig (S. Hirzel) 1913. VIII u. 712 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 271.) 27 M.

Konrich, Eine neue Untersuchungsmethode für anaërobe Stichkulturen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 1, 2, p. 191—192, m. 1 Fig.).

Kozewalow, S., Zur Technik der Färbung der Negrischen Körperchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 7. p. 654—655: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 271).

Krumwiede, Ch., a. **Pratt, J. S.**, Further observations on the growth of bacteria on media containing various anilin dyes, with special reference to an enrichment method for typhoid and paratyphoid bacilli (Journ. of exper. med. vol. 19, 1914, no. 5, p. 501—512).

Ludwig, M., Über das Verhalten der Bakterien und Nährböden mit Metalloidverbindungen. Diss. med. Rostock 1913. 8°.

Lumière, A., et **Chevrotier, J.**, Quelques considérations nouvelles à propos des cultures de gonocoques (Compt. rend. Acad. Sc. t. **158**, 1914, no. 18, p. 1287—1288).

Martini, E., Über die Entwicklung von Malariaparasiten im Bassschen Nährboden (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 3, 4, p. 250—254, 2 Tfln. u. 1 Fig.).

Meillère, G., Coloration du microbe de la tuberculose (Journ. de pharm. et chimie [7] t. 9, 1914, p. 23—24; vgl. Bull. Inst. Pasteur, t. 12, 1914, no. 11, p. 495).

Miller, T. G., The cultivation of the Plasmodium falciparum in vitro (Journ. Amer. med. assoc. vol. **62**, 1914, no. 20, p. 1549).

Nocht, B., Bemerkung zu der Arbeit von Ziemann: Weiteres über die Züchtung der Malariaparasiten und der Piroplasmen in vitro [dies Arch. Bd. **18**, H. 3] (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. **18**, 1914, H. 5, p. 166—167).

Noguchi, Die Züchtung der Spirochaete pallida (Arch. f. Dermatol. Bd. **119**, 1914, Tl. 1 [11. Kongr. Wien 1913], p. 181—189).

Noguchi, H., On the application of certain cultivation methods to the study of infections diseases (Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, no. 11, p. 509—511).

Pereira da Silva, Notes sur le Kala-azar (Arquivos do inst. bacteriol. Camara Pestana t. **4**, 1914, fasc. 2, p. 147).

Pflanz, Die Reinzüchtung des Erregers der Syphilis (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 26, p. 1329—1330).

Pitschugin, P. J., Kultivierungsversuche mit Plasmodium vivax nach der Methode von Bass (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 6, p. 373—384).

Proca, Danila et **Stroe**, Sur les spirochètes „intermédiaires" des lésions syphilitiques (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, p. 318).

Reichstein, St., Über den Nachweis der Streptokokken im strömenden Blute (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 3, p. 209—223).

Rochaix, A., Présence des sucres (lactose, glycose etc.) dans les bouillons au neutralrot destinés à la recherche rapide du colibacille dans les eaux de boisson (Rev. d'hyg. et de police sanit. t. **36**, 1914, no. 2, p. 143—149).

Rothert, Über den Einfluß der Aussaatstärke auf das Resultat bei Bakterienzählungen mittels Plattenkulturen (Zeitschr. f. Gärungsphysiologie. Bd. **4**. 1914, H. 1, p. 1—10).

Schulze, Eine Nachprüfung des von CONRADI angegebenen Öltupferverfahrens zum Nachweis von Diphtheriebazillen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 2, p. 148—159).

Seibold, E., Vergleichende Wachstumsprüfungen auf Fleischextraktnährböden und den Nährböden nach PFEILER und LENTZ (Deutsche tierärztliche Wochenschr. Jahrg. **21**, 1913, No. 43, p. 685).

Seliber, G., La culture des microbes dans les solutions de caséine (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **76**, 1914, no. 14, p. 639—641).

Sowade, Über die Kultur der Spirochaete pallida (Arch. f. Dermatol. Bd. **119**. 1914, Tl. 1 [11. Kongr. Wien 1913], p. 189—200).

Thalhimer, W., A new hemaglobin agar medium for the cultivation of Bac. influenzae (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 1, 2, p. 189—191).

Trillat, A., et **Fouassier, M.**, Entrainement et séparation de microbes en suspension dans l'eau sous l'influence d'un courant d'air (Compt. Rend. Acad. Sc. t. **158**, 1914, no. 7, p. 518—521).

Twort, F. W., a. **Ingram, G. L. Y.**, Further experiments on the cultivation of JOHNE's bacillus (The veterinary news 1914; vgl. Bull. Inst. PASTEUR t. **12**, 1914, no. 9, p. 389).

Ward, A. R., a. **Wood, Fr. W.**, Simultaneous method of inoculating cattle and carabaos with serum from animal that have been recently immunized (Philipp Journ. of Sci., vol. 9, 1914, Sect. B. no. 1. p. 123).

Wolbach a. **Binger**, The cultivation of a free-living filterable spirochete [Spirochaeta elusa, new species]. A preliminary note. — Notes on a filterable spirochete from fresh water [Spirochaeta biflexa, new species] (Journ. of med. research. vol. **30**, 1914, fasc. 1, p. 9—22, 23—25 w. 5 pl.).

Ziemann, H., Weiteres über die Züchtung der Malariaparasiten und der Piroplasmen [Piroplasma canis] in vitro (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. **18**, 1914, H. 3, p. 77—93).

Ziemann, H., Nachtrag zu „Weiteres über die Züchtung der Malariaparasiten und der Piroplasmen usw." in Heft 3, 1914 dies. Arch. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. **18**, 1914, N. 4, p. 132).

d. Botanisches.

Combes, R., Le processus de formation des pigments anthocyaniques (Rev. gén. de bot. t. 25bis, 1914, p. 91).

Guilliermond, A., Recherches cytologiques sur la formation des pigments anthocyaniques. Nouvelle contribution à l'étude des mitochondries. (Rev. gén. de bot. t. 25bis, 1914, p. 295).

Kauffmann, H., Über den Entwicklungsgang von Cylindrocystis (Zeitschr. f. Bot. Bd. 6, 1914, H. 9, p. 721—783 m. 1 Tfl. u. 4 Textfigg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 272).

Kindler, Th., Gametophyt und Fruchtansatz bei Ficaria ranunculoides (Österr. bot. Zeitschr. Bd. **64**, 1914, No. 3, 4, p. 73; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1913, p. 272).

Maige, A., Formation des chromosomes hétérotypiques chez l'Asphodelus microcarpus (Rev. gén. de bot. t. 25bis, 1914, p. 495).

---

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Duparc, L., u. Monnier, A., Traité de technique minéralogique et pétrographique: Deuxième partie. Tome 1: Les méthodes chimiques qualitatives. 372 pp. Av. 1 pl. et 111 figs. Leipzig (Veit & Co.) 1913. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 276.) 15 M., geb. 18 M.

Linck, G., Grundriß der Kristallographie für Studierende und zum Selbstunterricht. 3., verbesserte Auflage. Jena (G. Fischer) 1913. 271 pp. Mit 3 farbigen Tfln. u. 631 Originalfigg. im Text. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 276.)

Petrow, K., Messungen geringer Dispersionen der optischen Symmetrieachsen in monoklinen Kristallen (Neues Jahrb. f. Min. usw. 1914, 37. Beilageband. p. 457—494 m. 1 Tfl. u. 21 Textfigg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 277).

Wülfing, E. A., Fortschritte auf dem Gebiete der Instrumentenkunde (Fortschritte d. Mineralogie, Kristallographie und Petrographie. Herausgeg. im Auftrage der Mineralog. Gesellschaft von G. Linck. Bd. **3**. p. 63—92. Jena (G. Fischer) 1913. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 273.)

Wülfing, E. A., Über Projektion mikroskopischer Objekte insbesondere im polarisierten Licht (Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse 1911, 36. Abhandl., 39 pp. m. 1 Tfl. u. 10 Textfigg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 279).

Wülfing, E. A., Über die Lichtbrechung des Kanadabalsams (Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse 1911, 20. Abhandlg. 26 pp. m. 3 Textfigg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 278).

Band 31. Heft 3.

Eine gute Doppelfärbung für gewöhnliche und saure Kerne.

Von

P. G. Unna.

Hierzu eine farbige Tafel (Tab. X).

Die Lehre von den Sauerstoffforten der Gewebe hat neuerdings das Wesen der schon seit 1895 bekannten sauren Kerne[1] aufgeklärt und damit diesem bisher sehr stiefmütterlich behandelten Bestandteile sämtlicher Gewebe das allgemeine Interesse der Anatomen, Embryologen, Physiologen und Pathologen für die Zukunft gesichert. Solange der Satz galt, daß die wichtigste und fast allein in Betracht kommende Funktion der Kerne in der Bildung von Mitosen und Tochterkernen und damit in der Anregung zur Zellneubildung bestände, konnten die „sauren Kerne" allenfalls als ein Kuriosum gelten, dessen Kenntnis das Vorrecht der Dermatologen bildete. Denn innerhalb dieses physiologischen Kernschemas fanden sie keinen rechten Platz, da sie von vornherein als sterile Kerne erkannt waren und ihr Studium daher kein Interesse zu bieten schien.

[1]) Unna, Zur Kenntnis der Kerne (Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 20. 1895, p. 604). Sodann: Saure Kerne (Deutsche Med.-Zeitg. No. 42, 1895). Die Darstellung der sauren Kerne in normalem und pathologischem Gewebe (Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 41, 1905, p. 353). Hensel, Über saure Kerne in der normalen Haut (Monatsh. f. prakt. Derm. Bd. 41, 1905, p. 531). Unna und Wolf, Die sauren Kerne (Berl. klin. Wochenschr. No. 20, 1913).

Das ist nun anders geworden. Wir wissen, daß die Kerne noch eine andere Funktion besitzen, nämlich mittels ihres Nukleïngehaltes die Aktivierung des durch das Protoplasma an sie herantretenden molekularen Sauerstoffs zu besorgen und daß im Innern des Kernes wiederum dem Kernkörperchen die Aufgabe zufällt, vermöge seines Gehaltes an dem sauren Globulin, den gewonnenen Sauerstoff lose zu speichern und ihn dadurch dem Kern zu erhalten, während die sonstigen basischen Bestandteile des Kerns und seiner Umgebung nur reduzieren und allen freien Sauerstoff verbrauchen, indem sie ihn fest an sich binden.

Außer dem Globulin, welches dem Kernkörperchen allein eigentümlich ist, enthält dasselbe noch die drei anderen Eiweiße, die zusammen die Masse des übrigen Kernes ausmachen, nämlich erstens echtes Nukleïn, das hauptsächlich in der Randpartie des Nukleolus angehäuft ist, zweitens eine basische, reduzierende, oxyphile Eiweißsubstanz, die sich mit der sauren Beizenfarbe: Hämateïn + Alaun kräftig färbt und in 25prozentiger Salzsäure leicht löslich ist und endlich die letzte Eiweißgrundlage des Kernkörperchens, ebenfalls ein basisches Eiweiß, das sich aber mit Hämateïn + Alaun nicht anders färbt als mit einfachen sauren Farben und in 25prozentiger Salzsäure kalt unlöslich ist.

Alle diese vier Eiweiße des Kernkörperchens, zwei saure und zwei basische, sind nun in den sauren Kernen durch den ganzen Kern verteilt, während die gewöhnlichen Kerne, die das Zellteilungsgeschäft besorgen, wenn man von ihrem Kernkörperchen absieht, nur drei Eiweiße besitzen, nämlich außer den beiden basischen noch Nukleïn, aber kein Globulin. Man kann daher die sauren Kerne recht wohl mit den Kernkörperchen der übrigen Kerne vergleichen und sie als besonders große Nukleoli auffassen, da sie mit diesen chemisch und biologisch übereinstimmen. Sie entstehen aus den gewöhnlichen Kernen dann, wenn bei diesen die Grundsubstanz des gesamten Kerns (statt der des Kernkörperchens allein) Globulin speichert und damit der ganze Kern zur losen Speicherung von Sauerstoff befähigt wird.

Vermöge dieser jetzt gewonnenen Einsicht in die verschiedene Zusammensetzung und damit in die verschiedenen Funktionen der gewöhnlichen und sauren Kerne, können wir es einem Gewebsschnitte, der sachgemäß auf „saure Kerne“ gefärbt ist, sofort ansehen, wie viele Kerne dem Teilungsgeschäft entzogen und für die Sauerstoffspeicherung reserviert sind oder, anders ausgedrückt, wie viele Kerne als Hilfsmittel für die Erneuerung des Gewebes und wie viele als solche nur für den momentanen Bestand desselben funktionieren.

Ich brauche nicht näher auseinanderzusetzen, wie wertvoll demgemäß bei jeder histologischen, embryologischen, physiologischen und pathologischen Untersuchung die zahlenmäßige Aufnahme oder wenigstens die vergleichende Schätzung des Bestandes an normalen und „sauren Kernen" ist. Je mehr Kerne wir in „saure" verwandelt finden, um so notwendiger muß für das betreffende Gewebe die Speicherung an lose gebundenem Sauerstoff sein und um so mehr tritt vor dieser die Sorge für zukünftige Zellneubildung einstweilen zurück.

Um nur ein Beispiel anzuführen, so hat Herr Dr. Silberstein[1] im vorigen Jahre in meinem Laboratorium gefunden, daß bei Karzinomen der vegetierenden Form, in deren breiten Epithelbalken zentral zuweilen massige Degenerationen stattfinden, die Kerne der peripheren, erhalten bleibenden Epithelien den Charakter von sauren Kernen annehmen, so daß ihre Gesamtheit einen Sauerstoffwall um das degenerierende Zentrum bildet.

Es ist aus diesen Gründen auf eine Färbemethode Wert zu legen, welche in einfacher Weise beide Kernarten nebeneinander und in gleicher Güte darstellt und uns dadurch der Mühe überhebt, aus dem Vergleich verschiedener Schnitte nacheinander uns über den Gehalt an beiden zu orientieren. Dazu kommt noch, daß bekanntlich die quantitative Schätzung von spezifisch gefärbten mikroskopischen Elementen insofern stets zu einer Täuschung führt, als die weniger stark hervortretenden Elemente der Umgebung weit in der Minderzahl zu sein scheinen. Ein prägnantes Beispiel dafür bietet der Schnitt durch einen Lepraknoten. Färbt man denselben auf Leprabazillen, so scheint es, als ob neben den Tausenden von Bazillen überhaupt nur noch sehr wenig anderes Gewebe vorhanden sein könne; färbt man danach aber einen Nebenschnitt in gewöhnlicher Weise mit Hämateïn oder Methylenblau, so ist das Bild so lückenlos vollständig, daß man nicht begreift, wo die Tausende von Bazillen daneben Platz gefunden hatten. Diese naturnotwendige optische Täuschung umgeht man im allgemeinen durch Anwendung von Doppelfärbungen, hier durch eine Doppelfärbung, welche beide Kernformen gleich stark, aber verschieden gefärbt zeigt.

In gewissem Grade waren hierfür schon die ersten Darstellungsmethoden der sauren Kerne geeignet, da die dazu meistgebrauchte Tanninbeize sie häufig in metachromatischer Färbung zeigte, so violett

[1]) Silberstein, F., „Beiträge zur Einteilung und Histologie der Hautkarzinome" erscheint demnächst in der Wiener klin. Wochenschrift.

bei Färbung mit polychromer Methylenblaulösung, rot bei Gentianafärbung. Aber diese Kontrastfärbung war nicht scharf und sicher genug, so daß bald das Bedürfnis nach geeigneteren Doppelfärbungen auftrat und so gab ich denn 1905 zwei Doppelfärbungen an, die Hämateïn + Alaun-Karbolfuchsin-Tannin-Methode und die Eosin-Karbol + Methylgrün + Pyronin-Methode (a. a. O. p. 361 u. 363). Beide bewährten sich in der Folge aber nur bei solchen pathologischen Geweben (Condyl. acum., Tuberkulose, Lepra), bei denen ohnehin die sauren Kerne durch ihre Größe und Massenhaftigkeit hervortreten. Die erstgenannte Methode zeigte wohl blauviolette normale Kerne neben roten sauren; aber gut eigentlich nur beim spitzen Kondylom, während sonst das Karbolfuchsin auch die normalen Kerne leicht rot überfärbte. Die zweite Methode beruhte auf der Präokkupation der basischen Grundlage der sauren Kerne durch Eosin und bewährte sich bei Tuberkulose und Lepra, war aber, da die Tanninbeize fehlte, sehr wenig haltbar. In den folgenden Jahren ging ich deshalb dazu über, die auch sonst[1] mit Vorteil verwendete Hämateïn + Alaun-Safranin-Tannin-Methode ganz allgemein zur Darstellung der sauren Kerne zu verwenden, da dieselbe haltbare Präparate liefert und Safranin die normalen Kerne nicht so leicht überfärbt wie Karbolfuchsin. Aber auch diese Doppelfärbung, die in geschickten Händen nie versagt, befriedigte mich noch nicht ganz, da die Zeitdauer für die einzelnen Abschnitte der Färbung bei verschiedenem (normalem, embryonalem, pathologischem) Material zu wechselnd und nicht auf eine einfache Formel zu bringen war. Schließlich gelang es durch einen einfachen Zusatz von Pikrinsäure zur Tanninlösung, alle Schwierigkeiten mit einem Male zu beheben. Da Pikrinsäure sich ebenso wie die Gerbsäure mit dem Globulin der sauren Kerne verbindet und daher an Alkoholschnitten ebenso wie Gerbsäure eine Tripelverbindung mit der basischen Farbe und dem Globulin eingeht, so bedeutet die Beize mit dem Tannin-Pikrin-Gemisch eine noch schärfere Hervorhebung der sauren Kerne als mittels Tannin allein. Außerdem hat der Zusatz der gelben Pikrinsäure den weiteren Vorteil, daß alles Safraninrote in einem gelblichen Scharlachrot erscheint, welches gegen das Violett des Hämateïns besser kontrastiert als das Purpurrot des bloß von Tannin gebeizten Safranins.

Im folgenden gebe ich die am meisten bewährte Formel:

1) Die Alkohol-Celloïdin-Schnitte kommen 5 Minuten in die

[1] Zur Darstellung verschiedener Hyaline.

Böhmersche Mischung von Hämateïnlösung und Alaun und werden

2) so lange in Leitungswasser gespült (etwa 10 Minuten), bis sie rein blau erscheinen. Dann sind alle Kerne blau gefärbt.
3) In einer einprozentigen Safraninlösung (Marke O Grübler) werden sodann in etwa 20 Minuten alle Kerne rot umgefärbt.
4) Abspülung in Leitungswasser.
5) Differenzierung in einer Mischung von Tannin (25 Prozent und Pikrinsäure (ein pro Mille) 2 bis 5 Minuten je nach der geringeren und größeren Dicke des Schnittes.
6) Eine 10 Minuten lange Abspülung in Wasser, wobei Safranin, Tannin und Pikrinsäure nur in den Kernkörperchen und sauren Kernen haften bleiben, während sie aus dem übrigen Gewebe herausgespült werden, vollendet die Differentialfärbung.

An solchen Schnitten sind gewöhnliche Kerne blauviolett, Mitosen und Keratohyalin dunkelblauviolett, die Kernkörperchen und sauren Kerne dagegen in scharfem Kontrast gelbrot bis braunrot. Wo Fibrin, glatte Muskeln und Keratin auf den Schnitten vorhanden sind, halten auch diese das Safranin fest und erscheinen gewöhnlich in einer etwas röteren Nuance, tomatenrot bis scharlachrot. Eine kurze Erläuterung der Farbentafel wird die Besonderheiten der sauren Kerne am besten veranschaulichen.

Figur 1 zeigt einen kleinen Ausschnitt der gewucherten Oberhaut aus einem Syphilide. Unten im Bilde ragt eine hellgefärbte, wenig Bindegewebskerne und Leukozyten enthaltende Papille zwischen zwei gewucherte Leisten der Stachelschicht nach oben. In diesen sind die meisten Epithelkerne blauviolett und mit einem oder zwei gelbroten Kernkörperchen versehen. Neben diesen normalen Epithelkernen sind über die ganze Ebene der Stachelschicht unregelmäßig verstreut gelbrote, saure Kerne. Sie finden sich schon mit den gleichen Charakteren unten in der Keimschicht nahe der Bindegewebsgrenze wie oben nahe der Verhornungsgrenze und man bemerkt deutlich, daß hier innerhalb der Körnerschicht, wo die Kerne sonst kleiner werden und einschrumpfen, die roten sauren Kerne ihre Größe und Gestalt bewahren. Sie zeichnen sich mithin durch eine besondere Stabilität aus und nehmen nicht an der bekannten Kernatrophie teil, die zu völligem Schwunde der Kerne in der Hornschicht führt. Zu den wesentlichen Eigenschaften der sauren Kerne gehört noch das Kernkörperchen, welches ebenso gefärbt wie der ganze Kern, sich durch ein besonders tiefes Braunrot auszeichnet.

Figur 2 gibt noch einmal bei stärkerer Vergrößerung die Verhornungsgrenze der Stachelschicht aus einem spitzen Kondylom. Sowohl am unteren Rande der Figur (Stachelschicht) wie nahe der Hornschicht in der hier sehr breiten Körnerschicht sind einzelne braunrote, saure Kerne eingestreut. Man bemerkt außerdem, daß einzelne saure Kerne sogar in die Hornschicht ohne erhebliche Größenabnahme eingehen.

Figur 3 gibt einen Abschnitt der Stachelschicht desselben Kondyloms von der Bindegewebsgrenze wieder. In dieser sehr kernreichen Keimschicht des Epithels finden sich viele saure Kerne unregelmäßig eingestreut, einzelne auch im benachbarten Bindegewebe. Die drei Mitosen (*m*) aber, in der Phase der Tochtersterne befindlich, sind dunkelviolett gefärbt und zeigen ein helles Protoplasma. Keine von ihnen hat die tinktoriellen Eigenschaften der sauren Kerne. Der Satz, daß Mitosen sich nur in normalen Kernen bilden, gilt allgemein. In den 19 Jahren, daß ich die sauren Kerne studiere, ist mir noch kein Bild von einer Mitose in saurer, globulinhaltiger Kerngrundsubstanz aufgestoßen.

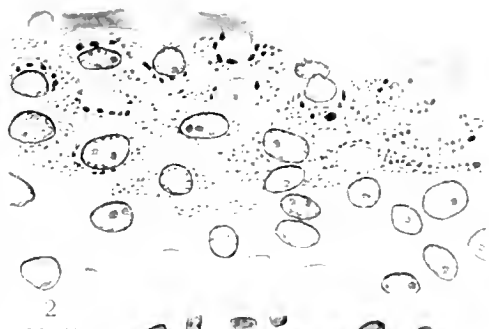
Figur 4, aus demselben Syphilid wie Figur 1, zeigt die infiltrierte, kernreiche Umgebung einer Blutkapillare. Man sieht, daß innerhalb dieses Zelleninfiltrates viele saure Kerne verteilt sind, daß aber die größten und durch ihre längsovale Gestalt auffallendsten dem Endothel der Kapillare angehören.

Figur 5. Die gleiche Beobachtung macht man an dem Durchschnitt einer Talgdrüse aus demselben Syphilid. Links und unten in der Figur sieht man die großen, ovalen, sauren Kerne von Endothelien kleiner Blutkapillaren. Außerdem aber bemerkt man, daß eine größere Anzahl von Talgdrüsenzellen statt der normalen hellvioletten Kerne mit roten Kernkörperchen dunkelrot gefärbte saure Kerne besitzen. Diese sauren Kerne erhalten sich auch bei der Umwandlung der Talgdrüsenzellen zu Talgzellen. Sie machen nicht den normalen Kernschwund der letzteren zu kleinen pyknotischen Kernresten mit.

Figur 6 zeigt Querschnitte von Knäueldrüsen desselben Gewebes mit stark zellig infiltrierter Umgebung. Die Knäuel zeichnen sich hier wie auch sonst durch ihren Reichtum an sauren Kernen aus.

Figur 7 aus einem Schnitt von Rinderaktinomykose gibt einige hyalin degenerierte Plasmazellen wieder. In diesem Falle zeichnen sich die Hyalinkugeln durch ihre Größe aus, indem sie meistens den ganzen Innenraum der Plasmazelle einnehmen. Eine Zelle (*h*) enthält mehrere kleine Hyalinkugeln. Die Brombeerformen,

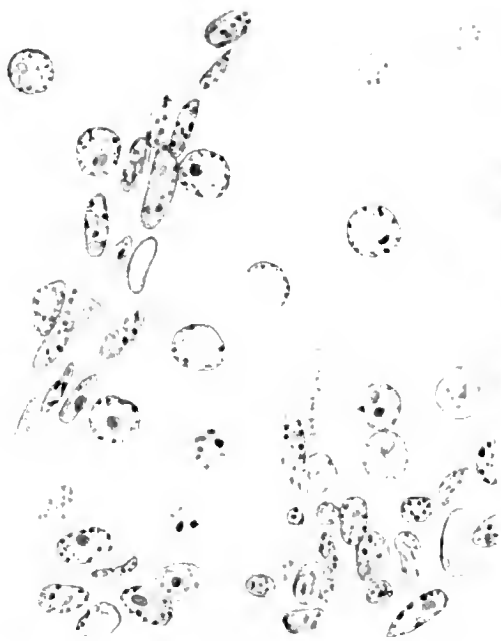
1 450/1



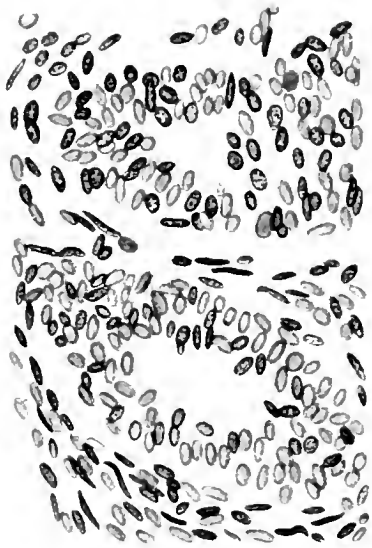
2
800/1

3
450/1

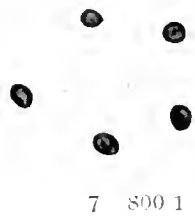
4
450/1



5 800/1



6 450/1



7 800/1

8 200/1

Unna. Saure Kerne.

H. Sikora pinx. Verlag von S. Hirzel in Leipzig.

Druck von H. F. Jütte in Leipzig

welche beim Rhinosklerom stets reichlich vorkommen und bei denen die ganzen Plasmazellen von kleinen Kugeln erfüllt sind, fehlen hier. Die Kerne bleiben bei dieser hyalinen Metamorphose des Granoplasmas stets pyknotisch erhalten. Das Bild zeigt, daß auch das Hyalin der Bindegewebszellen bei der Doppelfärbung für saure Kerne das Safraninrot festhält.

Figur 8, aus dem Syphilid, von dem auch die Figuren 1, 4 u. 5 stammen. Die glatten Muskelfasern der Haut sind auf diesem Bilde rot gefärbt. Sie haben also ebenfalls Neigung, bei dieser Doppelfärbung in scharfer Kontrastfarbe zum Kollagen das Safranin zu fixieren. Vergleicht man ihre Färbung mit den sauren Kernen der benachbarten Infiltrationsherde, so erscheinen sie etwas heller und reiner rot, weniger braunrot als jene.

[Eingegangen am 1. Juli 1914.]

Brief an den Herausgeber.

Von

P. G. Unna.

Hochgeehrter Herr Professor!

Sie machten mir brieflich die Mitteilung, daß ich vielleicht eine Erwiderung auf die Arbeit von Hans Schneider über die Sauerstoff- und Reduktionsorte[1] für nötig halten würde. Dieser Meinung bin ich in der Tat. Die Arbeit von Schneider enthält viele interessante Details, die mir als Nichtbotaniker neu waren. Nur hat es mich befremdet, daß Schneider mit meinen Methoden gearbeitet zu haben glaubt, wie es nach dem Titel zu urteilen den Anschein hat, während er sich einer grundsätzlich anderen Methode bediente. Es ist daher auch nicht zu verwundern, daß er zu anderen Resultaten kam als M. Schmidt, welcher sich genau an meine Vorschriften band. Wer meine Arbeiten über die Rongalitweiß-Methode kennt, weiß, daß es mein stetes Bemühen war, eine Methode der Leukomethylenblaufärbung herauszuarbeiten, welche im Gegensatz zur gewöhnlichen Methylenblaufärbung nur die Sauerstofforte und nicht auch alle Säureorte des Gewebes bläut. Das ist mir mit Hilfe einer Reihe durchaus notwendiger Kautelen vollständig gelungen. Ein jeder, der sich auch nur über eine dieser Kautelen hinwegsetzt, färbt nicht mit Leukomethylenblau, sondern mit Methylenblau.

Die selbstverständlichste Kautele ist das rasche und gründliche Auswaschen der Objekte nach der Färbung und die Beobachtung des ausgewaschenen Objektes nach dem Auswaschen teils mit, teils ohne Luftzutritt. Schneider aber sagt: „Bei pflanzlichen Objekten tritt meist sofort beim Einbringen in Rongalitweiß Bläuung ein, wodurch sich die Behandlung mit Leitungswasser erübrigt.“ Schneider also färbt grundsätzlich mit Methylenblau, das sich

[1]) Schneider, H., Über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktionsorten und ihre Anwendung auf pflanzliche Objekte. — Benzidin als Reagens auf Verholzung (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik Bd. 31, 1914, H. 1, p. 51).

um das pflanzliche Objekt bildet und nicht, wie ich, mit Leukomethylenblau; er weist keine Sauerstofforte nach, sondern Säureorte. Er färbt auch nicht im Schälchen, wo man den technischen Fehler, daß sich das Objekt sofort durch anhängenden Sauerstoff blau färbt, durch Hin- und Herbewegen wieder aufheben kann, sondern im Tropfen, wo dieses nicht möglich ist.

Daß Schneider trotzdem der Meinung ist, mit meinen Methoden zu arbeiten, läßt mich vermuten, daß er nur meine „Biochemie der Haut" (Jena 1913) zu Gesicht bekommen hat, welche er zitiert. In dieser Arbeit war natürlich kein Platz, die Methodik der Sauerstofforte ausführlich zu erörtern. Hätte er die zum Teil dort auch zitierten Arbeiten gelesen, aus denen die Methodik der Rongalitweißfärbung und ihre Entwicklung klar hervorgeht[1], so wäre er wohl zu einer technisch einwandfreien Methode gelangt und hätte weniger bunte, aber besser für die Lehre von den Sauerstofforten der Pflanze verwertbare Befunde gewonnen.

Ebenso wie mit der Methode ist es mit der Anschauung, die ich mir von den Sauerstoff- und Reduktionsorten gebildet haben soll. Hätte Schneider meine erste Arbeit über den Gegenstand in Waldeyers Archiv 1911 gelesen, so hätte er wohl kaum den Satz drucken lassen (p. 52): „Das Plasma hat sich gefärbt. Dieses widerspricht den Ergebnissen, die Unna bei seinen Objekten erzielt hat." Denn in dieser Arbeit ist an vielen Orten von Protoplasmabläuung

[1]) Ich nenne als die für die Methode hauptsächlich in Betracht kommenden:

1) Unna, Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 78, 1911, Festschr. Waldeyer).

2) Unna u. Golodetz, Zur Chemie der Haut. IX. Die Verteilung des Sauerstoffs und der Sauerstoffermente in der Haut (Derm. Wochenschr. 1912. No. 1 u. 2).

3) Unna, Die Darstellung der Sauerstofforte im tierischen Gewebe (Med. Klin. 1912, No. 23).

4) Unna, Tatsachen über die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 13).

5) Unna, Chemiker und Biologe (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 17).

6) Unna, Zur Chemie der Zelle. I. Granoplasma. II. Kernkörperchen. III. Die sauren Kerne (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 18—20).

Und die neueren Arbeiten:

7) Unna, Chemie der Zelle (Akadem. Vortr. gehalten 1913, Festschr. Eppendorfer Krankenhaus). Hamburg u. Leipzig (Leop. Voß) 1914.

8) Unna, Die Sauerstofforte und Reduktionsorte. Eine histochemische Studie (Arch. f. mikrosk. Anat. 1914).

die Rede (p. 12 u. s. f.). Und hätte Schneider einen Blick in meinen Berliner Vortrag (1913) geworfen, wo ich ausführlich über die Nichtgefärbtheit der Kerne der Plasmazellen und Ganglien rede, so hätte er wohl kaum geglaubt, daß die Nichtfärbbarkeit gewisser Pflanzenzellen gegen meine Lehre von den Sauerstofforten im Kerne spricht (p. 52). Daß „auch das Plasma oxydierende Eigenschaften hat" (p. 54) und daß der Kern auch reduzieren kann (p. 55), entspricht ja vollständig meiner Anschauung.

Daß Schneider diese lediglich kontradiktorischen Behauptungen als wirkliche Widersprüche empfindet, kommt wohl daher, daß er nach alter Weise „Protoplasma" und „Kern" als histologische und chemische Einheiten behandelt und offenbar nicht weiß oder wenigstens nicht berücksichtigt, daß es mir gelungen ist, in dem tierischen „Protoplasma" einen rein reduzierenden Teil (Spongioplasma) von einer sauerstoffspeichernden Substanz (Granoplasma) durch einfache Mittel (warmes Wasser, Kochsalz, 5 Prozent HCl) zu trennen[1]. Die Sauerstofflehre des Protoplasmas läßt sich eben nicht mehr für sich behandeln und von der Eiweißlehre desselben trennen; ein Fortschritt ist nur möglich durch genauere Kenntnis und gleichzeitige Untersuchung beider.

Soll ich Ihnen auch noch etwas über das Kapitel: „Abschluß des Luftsauerstoffs durch Auflegen von Deckgläsern" sagen? Nun, es war nach meiner Meinung nicht nötig, im Jahre 1914 Methoden zum Luftabschluß zu publizieren, die Schneider selbst „primitiv" findet, wenn schon 1911 und 1912 bessere und 1913 ganz einwandfreie von mir publiziert waren. Die Pyrogallolversuche mit nachträglichem Zutritt von Sauerstoff hätte Schneider schon in meiner ersten Arbeit in Waldeyers Archiv besprochen finden können (p. 36 und 37). Allerdings habe ich mich dadurch nicht, wie Schneider, zu der Behauptung hinreißen lassen: „Entweder gibt es also keinen freien Sauerstoff in den pflanzlichen Zellen (Kerne) oder er ist wenigstens zum Gelingen der ‚Rongalitbläuung' ganz unnötig und trägt kaum etwas zu ihr bei." Ich habe vielmehr daraus und aus anderen Beobachtungen den Schluß gezogen, daß es zwei verschiedene Arten von Sauerstofforten, primäre (Kern-Nuklein) und sekundäre (Granoplasma, Knorpelgrundsubstanz usw.) gibt.

Ganz unverständlich aber ist mir der Schluß, den Schneider

[1]) Aus dem Kern sogar zwei sauerstoffspeichernde Eiweißstoffe (Nuklein und Globulin) neben zwei lediglich reduzierenden.

aus seinem Luftauspumpungs-Versuch zieht. Er bringt die Schnitte ausgepumpter Objekte in Rongalitweiß und erwartet dann eventuell Bläuung derselben. Das ist doch selbstverständlich nicht möglich. Solange die Schnitte im Rongalitweiß liegen, kann der in den Kernen aufgenommene Leukofarbstoff sich nicht färben: dazu muß eben mit abgekochtem Wasser abgespült werden.

Das Kapitel über die Peroxydase und ihr Verhältnis zur Rongalitweißbläuung ist für mich nicht diskutabel, solange die letztere nicht mit einwandfreier Methode wiederholt wird. Die Peroxydasereaktion der Zellwände und Gefäßbündel haben Golodetz und ich ebenfalls gefunden (in Schnitten von Meerrettich, Bohnen, Erbsen, Kartoffeln und Radieschen[1]). Ich habe aber nie behauptet, wie Schneider meint, daß der durch Peroxydase abgeschiedene freie Sauerstoff zur Bläuung der Objekte durch Rongalitweiß erforderlich sei (p. 66). Im Granoplasma der Plasmazellen z. B., das kräftig gebläut wird, ist wohl sicher keine Peroxydase vorhanden.

Wenn schließlich Schneider den Satz aufstellt: „Die Bläuung des Reagens wird durch Luftsauerstoff bewirkt" (p. 69), so hat er für seine Methode wohl recht. Seine Methode ist aber nicht die „Unnasche Methode".

[1]) Derm. Wochenschr. Bd. 54. 1912, p. 9.

Hamburg, Ende Juli 1914.

[Eingegangen am 26. August 1914.]

Die Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte der Gewebe.

Eine Antwort an F. W. Oelze.

Von

L. Golodetz.

Im Archiv für mikroskopische Anatomie Bd. **84**, Abt. 1, 1914 und in der Zeitschrift für wiss. Mikroskopie 1914, p. 43 sind Arbeiten von Oelze erschienen, die eine Kritik der von Unna in die Histochemie eingeführten Methoden zur färberischen Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte in Geweben und Zellen enthalten. Als Mitarbeiter Unnas auf dem Gebiete dieser Untersuchungen sei es auch mir gestattet, auf die von Oelze erhobenen Einwände zu erwidern. Als Vorbemerkung möchte ich vorausschicken, daß, wie aus Oelzes 1914 erschienenen Arbeiten zu ersehen ist, er die neueren Abhandlungen Unnas aus den Jahren 1911 bis 1913, die den weiteren Ausbau der fraglichen Methoden betreffen, nicht berücksichtigt hat. Gerade in diesen Abhandlungen hat Unna eine Reihe von Einwänden, die ihm gemacht worden sind oder hätten gemacht werden können, in eingehendster Weise erörtert und viele fragliche Punkte zum Teil durch neue Versuche aufgeklärt (siehe besonders: „Chemiker und Biologe“ usw.)[1].

[1]) Außer dieser Arbeit sind noch zu vergleichen:

1) Unna, Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 78, 1911, Festschr. Waldeyer).

2) Unna u. Golodetz, Zur Chemie der Haut. IX. Die Verteilung des Sauerstoffs und der Sauerstoffermente in der Haut (Derm. Wochenschr. 1912, No. 1 u. 2).

3) Unna, Die Darstellung der Sauerstofforte im tierischen Gewebe (Med. Klin. 1912, No. 23).

4) Unna, Tatsachen über die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 13).

5) Unna, Chemiker und Biologe (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 17).

6) Unna, Zur Chemie der Zelle. I. Granoplasma. II. Kernkörperchen. III. Die sauren Kerne (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 18 bis 20).

7) Unna, Chemie der Zelle (Akademische Ferienkurse 1913, Festschr. Eppendorf). Hamburg u. Leipzig (Leop. Voß) 1914.

8) Unna, Die Sauerstofforte und Reduktionsorte. Eine histochemische Studie (Arch. f. mikrosk. Anat. 1914).

Hätte Oelze diese Arbeiten gekannt, so wären ihm manche Bemerkungen und Bedenken erspart geblieben.

Die Einwendungen Oelzes gegen die Bedeutung und Tragweite der Reduktionsfärbungen gipfeln in dem Punkt, daß man es hier nicht „mit einer ausschließlichen Protoplasmafärbung, sondern wenigstens stellenweise mit einer Protoplasma- und Kernfärbung zu tun hat“[1]. Dieser Punkt, der wichtigste in der ganzen Frage, muß klargestellt werden.

Unna hat gezeigt, daß wenn man irgendein Gewebe nach einer der drei Reduktionsmethoden behandelt, ein Bild erhalten wird, auf dem die Kerne als helle Stellen erscheinen, d. h. die Kerne werden bedeutend weniger gefärbt als die Umgebung und heben sich deswegen scharf umschrieben ab. Diese Erscheinung tritt ausnahmslos an allen Präparaten auf und kann doch nur so gedeutet werden, daß die Kerne im Vergleich zum Protoplasma bedeutend schlechter reduzieren. Wenn die Kerne auch nicht als weiße Scheiben auf dunklem Hintergrund erscheinen, wie Oelze es verlangt, so bilden sie doch auch als gelbliche Scheiben einen starken Kontrast gegen das sie umgebende Protoplasma, und dieser Umstand muß für jeden Histologen von prinzipieller Bedeutung sein, da bekanntlich alle unsere histologischen Befunde auf tinktoriellen Kontrasten beruhen. Herr Oelze versteift sich nun auf dieses schwache Gelb der Kerne. Er sagt: „Aus Figur 5 dieser Tafel“ (gemeint ist die das fragliche Bild darstellende Tafel in der Unnaschen Arbeit) „ist nun mit großer Klarheit und völliger Sicherheit zu entnehmen, daß die Kerne schön gelb gefärbt sind. Da nun alles, was sich im Manganbild gelb färbt, nach Unna als Reduktionsort angesprochen werden muß, so folgt hier aus Unnas eigener Figur mit zwingender Logik, daß die Kerne Reduktionsorte sind.“ Und weiter: „Es könnte vielleicht der Einwand erhoben werden, daß die Kerne doch ungefärbt seien und nur durch das über und unter ihnen liegende Protoplasma, welches ja gefärbt ist, gleichfalls gefärbt erschienen. Dieser Einwand ist aber nicht stichhaltig.“ So Oelze. In der Tat ist aber dieser Einwand sehr stichhaltig und wir hatten uns im Anfange die gelbliche Farbe der Kerne gerade auf diese Weise erklärt. Erst später, als Unna fand, daß bei Vernichtung der Sauerstofforte durch Salzsäure in den Kernen immer noch etwas reduzierendes Eiweiß durch Kaliumpermanganat nachzuweisen ist, da erschien die obige Erklärung nicht mehr

[1] Oelze (Archiv), p. 97.

nötig. Die gelbliche Farbe der Kerne bei Behandlung mit Kaliumpermanganat ist also einfach der Ausdruck der an Masse geringen, reduzierenden Eiweißgrundlage der Kerne, die gerade Unna in seinen Vorlesungen über die Chemie der Zelle nachgewiesen hat[1].

Besondere Bedenken bringt Oelze der Anwendung von $KMnO_4$ als Methode zum Nachweis von Reduktion entgegen. Er wundert sich und bezweifelt es, daß ein so „außerordentlich energisches Oxydationsmittel, wie $KMnO_4$, das auf viele organische Stoffe nicht nur oxydierend, sondern geradezu zerstörend einwirkt", als mikroskopisches Reagens zum Nachweis von Reduktion im Gewebe dienen könnte. Eine solche „brutale Oxydation" müßte vieles als Reduktionsort kennzeichnen, „was mit dem Verlaufe der normalen Reduktion gar nichts zu tun hat".

Daß $KMnO_4$ ein starkes Oxydationsmittel ist, steht fest: dies hindert aber nicht, daß $KMnO_4$ in der Kälte und in 1prozentiger Lösung die im allgemeinen schwer oxydablen Eiweißstoffe des Gewebes so milde und so langsam oxydiert, daß ein reines, abgestuftes Bild zustande kommt. Das mikroskopische Bild kann nicht anders gedeutet werden, als daß die am meisten braun gefärbten Orte am meisten MnO_2[2] angesammelt, d. h. am stärksten reduziert hatten. Das Gewebe selbst ist durchaus nicht zerstört, vielmehr bleiben die Schnitte in bester Weise erhalten. Welche chemischen Stoffe innerhalb der Gewebselemente die Reduktion von $KMnO_4$ bedingen, ist von Unna bisher nicht erörtert worden, ist auch sicherlich schwer zu ermitteln und bleibt sich für die Topographie der Reduktion in den Geweben gleich, da es doch lediglich darauf ankommt festzustellen, welche „Orte" überhaupt reduzieren und in welchem Maße sie dies tun. Wie wenig eine Zerstörung des Gewebes vor sich geht, zeigt die Tatsache, daß ein mit $KMnO_4$ angefärbter Schnitt durch Behandeln mit SO_2 sofort wieder sein normales Aussehen erlangt und in gewöhnlicher Weise mit sauren und basischen Farbstoffen kräftig gefärbt werden kann.

Auch an der Eisen-Cyan-Methode (Mischung von Eisenchlorid und Ferricyankalium) hat Oelze verschiedenes auszusetzen: vor allen Dingen stellt er als besondere Schwäche den Einfluß von Basen und Säuren auf die nach dieser Methode erzeugten Reduktionsbilder hin.

[1]) Unna, Festschr. Eppendorf. Hamburg u. Leipzig (Leop. Voß).

[2]) Übrigens irrt sich Oelze, wenn er meint, daß die Reduktion von $KMnO_4$ zu Bildung von „Manganoxyd" (Mn_2O_3) führt. In der Tat bildet sich hierbei Mangansuperoxyd (MnO_2).

Dieser Einfluß besteht in der Tat, betrifft aber nur die protoplasmatischen Gewebe (Hornschicht contra basale Hornschicht), tangiert also nicht die Kerne. Bei den Kernen findet unter keinen Umständen durch Säure- oder Alkali-Zusatz zum Reagens eine Inversion der Färbung statt, vielmehr bleiben sie stets als helle, d. h. als nicht oder genauer gesagt: als relativ „sehr wenig reduzierende Orte" sichtbar.

Der Einfluß von Säure auf die Eisen-Cyan-Methode ist für Unna ein Beweis dafür, daß neben der Reduktionskraft auch die Alkaleszenz und die Azidität der Gewebe eine ganz wesentliche Rolle spielen. Oelze aber versucht, aus einzelnen Bemerkungen Unnas, die darauf abzielen, die Effekte der Reduktionsmethoden mit Vorsicht zu beurteilen und so Fehlschlüsse zu vermeiden, die Behauptung abzuleiten, daß Unna selbst die „Bedenklichkeit" der Eisen-Cyan- und der Nitrochrysophan-Methode zugibt. Auf bestimmte Verhältnisse bei Anwendung einer Methode Rücksicht nehmen, heißt doch nicht, daß die Methode unbrauchbar ist. Für uns war es bei Feststellung der relativ geringen Reduktionskraft der Kerne von entscheidender Bedeutung, daß wir außer der Kalipermanganat-Methode noch zwei andere sichere Reduktionsmethoden für diese Behauptung heranziehen konnten.

In seiner Kritik über die RW-Methoden geht Oelze wiederum von ganz extremen Voraussetzungen aus und versucht nun nachzuprüfen, ob die Protoplasmafärbung in den Rongalitweiß-Schnitten den Wert Null und die Kernfärbung den maximalen Wert besitzt. Eigentümlicherweise benutzt er zu seinen Färbungen nicht das stets empfohlene RW I, sondern RW II, welches Unna selbst seinerzeit als nicht so universal für Sauerstofforte bezeichnet hatte. Oelze kommt zu dem Schluß, daß die Rongalitschnitte keine exklusive Kernfärbung zeigen, daß die Muskulatur tief gefärbt ist, und daß das Protoplasma fast immer mit Rongalitweiß gefärbt ist. — Allerdings gibt Oelze zu, daß „sehr häufig die Kerne stärker als das Plasma gefärbt sind, es handelt sich jedoch um graduelle Unterschiede". Hier verkennt Oelze wieder den Umstand, daß es in der Histologie alles auf Kontrasten beruht, und daß gerade sehr viel auf graduelle Unterschiede ankommt.

Gegen die RW-Färbung als Methode bringt Oelze den Einwand vor, daß auch der nicht aktivierte molekulare Sauerstoff die Bläuung der Leukobase bewirkt: „Sperrt man die Schnitte von dem freien Sauerstoff ab, etwa durch Einschluß in luftfreies Wasser, so zeigt

sich nicht die Spur einer Bläuung." Es ist nicht ohne weiteres ersichtlich, ob diese Bemerkung Oelzes auf eigene Versuche gegründet, oder eine Wiedergabe der betreffenden Unnaschen Untersuchungen ist. Im ersteren Falle würden seine Feststellungen von den Unnaschen abweichen, im zweiten würde eine ungenaue Wiedergabe derselben vorliegen. Denn nach Unna[1] ergibt der Versuch mit sauerstofffreiem Wasser keineswegs eine Nichtbläuung. Vielmehr beschreibt Unna das Resultat dieser Versuche folgendermaßen: „Alle sekundären Orte (Plasmazellen usw.) sind prachtvoll geblänt: die primären (Kerne) meistens stark, manchmal sehr schwach."

Oelze sagt: „Für die Unnasche Methode ist es im Prinzip ganz gleichgültig, was für einen Farbstoff ich wähle; jeder Farbstoff, der irgendwie zu einer Leukobase reduziert wird, muß bei seiner Regeneration die O-Orte im Sinne Unnas anzeigen. Gelingt es uns einen typischen Plasmafarbstoff in eine labile Leukobase zu überführen, so werden in dem Schnitte bei eintretender Regeneration des Farbstoffs voraussichtlich die O-Orte das Protoplasma sein."

In der Tat hat Unna nach dieser Richtung hin längst vor Oelze sehr viele praktische Versuche angestellt und eine Reihe anderweitiger Farbstoffe zum Vergleich mit RW herangezogen[2]. Es hat sich gezeigt, daß von 21 sauren Farbstoffen nur 5 sich mit Rongalit überhaupt reduzieren lassen und unter diesen waren nur 2 (Säuregrün und Oreeïn) reversibel, d. h. in die ursprünglichen Farbkörper zurückzuverwandeln. Schnitte, welche in diesen beiden Leukofarben verweilt haben, färben sich nach dem Abspülen grün resp. oreeïnrot, und zwar ohne Kernfärbung. Die Färbung ist diffus, aber doch mit bestimmten Kontrasten versehen. Beispielsweise in der Niere färben sich die gewundenen Harnkanälchen stärker als die geraden und die Glomeruli, gerade umgekehrt wie bei der RW-Methode. Man hat aber kein Recht, diese beiden Färbungen mit sauren Leukofarben auf besondere O-Orte des Gewebes zurückzuführen. Im Gegenteil, dieselben Orte, die hier so reagieren, lassen bei den Reduktionsfärbungen einen hervorragenden Grad von Reduktionsvermögen erkennen. Auch färben sich die Schnitte auch dann, wenn man sie nach der Behandlung mit den Leukofarben in sauerstofffreiem Wasser von Rongalit befreit. — Diese Tendenz, sich unter allen

[1] Unna, Chemiker und Biologe (Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 18—20.

[2] Unna, Die Darstellung der Sauerstofforte im tierischen Gewebe (Med. Klinik 1912, No. 23).

Umständen, ausgenommen bei Gegenwart von Rongalit, zu reoxydieren, macht diese Farbstoffe für das Studium feiner Differenzen des Sauerstoffgehalts und der O-Orte überhaupt unbrauchbar. Unna hat auch für diese Neigung der sauren Leukofarben eine plausible Erklärung gegeben. Sie wandeln sich nämlich deswegen mit solcher Energie in die entsprechenden oxydierten Farbkörper um, weil sie an die basischen Eiweiße des Gewebes gebunden sind. Dieser Grund, welcher die Ermittlung von Sauerstofforten durch saure Farben unmöglich macht, fällt bei den basischen Leukofarben (Rongalitweiß) fort, da diese sich an die sauren Eiweiße des Gewebes binden.

Oelze bestreitet ferner, daß die Färbung mit RW eine reine Kernfärbung ergebe, und meint, es resultiere eine Kern- und Protoplasmafärbung. Obwohl die Kernfärbung bei RW-Färbung eine nahezu exklusive ist, hat Unna nie von einer ausschließlichen Kernfärbung gesprochen. Im Gegenteil, er betonte von vornherein ausdrücklich, daß vielfach auch das Protoplasma durch Gehalt an Sauerstoff (Unnas sekundäre O-Orte) gefärbt werden kann[1].

Aber auch von der Muskelsubstanz, die im allgemeinen auf RW nicht reagiert, gibt Unna an, daß sie mitunter etwas gefärbt wird[2] und daß die mimischen Muskeln sogar stets eine ziemlich gute Sauerstoffreaktion mit RW zeigen.

Weiterhin bestreitet Oelze die Angabe Unnas, wonach „die Schnitte im RW ungefärbt bleiben" und macht auf eine Erscheinung aufmerksam, die er für neu hält und die er „primäre Sauerstofffärbung" nennt. Die Erscheinung äußert sich darin, daß beim Eintauchen der Schnitte in RW „die Schnitte in der typischen Farbe des Farbstoffes gefärbt werden". Hier liegt eine etwas naive Auffassung vor. Selbstverständlich war es Unna sehr genau bekannt, daß beim Eintauchen der Schnitte mitunter eine vorübergehende Bläuung auftritt, und zwar bei mangelhafter Berührung der luftführenden Schnitte mit der reduzierenden Lösung. Gerade um rasch eine innige und gleichmäßige Berührung zwischen Schnitten und Lösung herbeizuführen, wurden diese im Schälchen hin- und herbewegt, bis die Bläuung wieder verschwand. Auf diese vorübergehende, zuerst auftretende Färbung bereits etwas zu geben, wäre verfehlt, da sie gar keine Rücksicht auf den dem Schnitte zufällig anhaftenden Sauerstoff

[1]) Unna, Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. 78, 1911. Festschr. Waldeyer. Sonderdruck p. 12, 14, 23, 25, 27, 30, 31 ff.).

[2]) Ebenda p. 12, 19, 29.

nimmt und daher in ihren Resultaten schwankend und unsicher ist, abgesehen von ihrer für ruhige Beobachtung allzu kurzen Dauer.

Oelze sagt schließlich: „Ich halte die ganze RW-Färbung für eine einfache Färbung durch Methylenblau bzw. Blau 1900." Das ist es gerade, was wir energisch bestreiten müssen. Wohl ist das Endresultat der RW-Behandlung eine Methylenblaufärbung, aber diese ist nicht direkt durch Methylenblau erzeugt, sondern ist eine Methylenweißfärbung, die erst durch den O der Gewebe zu einer Methylenblaufärbung wird. Die Frage ist ja nur die, welche Faktoren es sind, die die Oxydation des Leukofarbstoffs im Gewebe bewirken, und in diese Verhältnisse hat Oelze nicht hineingeleuchtet und nichts zu dem, was die Untersuchungen Unnas und seiner Mitarbeiter erforscht haben, hinzugefügt.

[Eingegangen am 26. August 1914.]

Die Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte der Gewebe[1].

Eine Antwort an L. Golodetz.

Von

F. W. Oelze.

In einer Arbeit in dieser Zeitschrift versuchte Golodetz meine Feststellungen gegen die Unnaschen Methoden der färberischen Darstellung der Reduktions- und Oxydationsorte in Geweben und Zellen zu entkräften. Ich halte die Unnaschen Methoden für haltlos auf Grund meiner experimentellen Befunde, auf Grund von Experimenten, die jeder leicht nachprüfen kann. Herr Golodetz scheint es nicht für nötig gehalten zu haben, meine Experimente zu wiederholen. Dagegen hält er es für gut, von „einer etwas naiven Auffassung" meinerseits zu reden. Ich verzichte darauf, Herrn Golodetz in diesem Tone zu entgegnen. Auch habe ich, im Dienste fürs Vaterland stehend, weder Lust noch Zeit mich in eine Polemik mit Herrn Golodetz einzulassen. Ich will nur einige Tatsachen hervorheben.

1) Nach Unnas eigenen Bildern sind die Kerne Reduktionsorte.

2) An mehreren hundert Präparaten habe ich niemals bei Kaliumpermangatfärbung ungefärbte Kerne sehen können. Ich fordere Golodetz auf, ein Präparat mit ungefärbten Kernen durch Mikrophotographie den interessierten Forschern zugänglich zu machen.

3) Die Behauptung, ich hätte nur RW_1 und nicht RW_2 zu meinen Färbungen benutzt, ist aus der Luft gegriffen.

---

[1]) Anmerkung des Herausgebers. Um schon im vorliegenden Heft die Diskussion über den Wert der Unnaschen Methoden zum Abschluß bringen zu können, habe ich die Herren Dr. F. W. Oelze und Dr. H. Schneider gebeten, sich — falls nötig — schon jetzt mit einem Schlußworte zu der Sache zu äußern. Herr Dr. H. Schneider ist durch den Dienst im Heere bisher verhindert gewesen, seine Erwiderung fertigzustellen, so daß die Veröffentlichung der von ihm in Aussicht gestellten Äußerung erst in einem der nächsten Hefte erfolgen kann. K.

4) Die von mir als primäre Sauerstoffärbung gekennzeichnete Erscheinung der Anfärbung von Gefrierschnitten im Rongalitweiß soll nach Golodetz-Unna „selbstverständlich bekannt" gewesen sein. Merkwürdigerweise befindet sich aber in keiner der zahlreichen Schriften von Unna, Unna jun., Golodetz, Leistikow u. a. auch nur eine Andeutung hierüber. Allerdings paßt diese Erscheinung auch nicht in den Rahmen der Unnaschen Theorie. Sollte die „naive Auffassung", die mir Herr Lazar Golodetz vorwirft, etwa darin bestehen, daß ich diese „Theorie" für völlig haltlos halte? Den Nachweis dafür habe ich auf experimentellem Wege geführt. Auf diesen Hauptpunkt meiner Arbeiten geht Golodetz mit keinem Worte ein! Nach der Unnaschen Methode behandelt geben Stoffe, die auch der Naive nicht im Verdacht haben wird, oxydative Fermente zu beherbergen, wie Papier, Celloïdin, Seide, chemischreine Zellulose, kurz alle Materialien, die einen Farbstoff (oder dessen Leukobase) aufnehmen können, eine prachtvolle Blaufärbung, womit sie sich als Sauerstofforte I. Ranges darstellen. Hierdurch ist Unnas Methodik nach meiner Auffassung ein für allemal und unwiderleglich ad absurdum geführt. Warum verschweigt Lazar Golodetz in einer Entgegnung diesen Hauptteil meiner Arbeit?

5) Wenn Lazar Golodetz die primäre Sauerstoffärbung für unwesentlich hält, weil sie zu kurze Zeit dauere, so liegt das an seiner ungeschickten Arbeitsweise. Ich habe gezeigt, daß man diese wichtige Färbung leicht länger erhalten kann. Sie auf zufällig vorhandenen Sauerstoff zurückzuführen ist nur für jemanden möglich, der nie solche Präparate serienweise hergestellt hat. Die Färbung zeichnet sich bei allen Präparaten durch besondere Konstanz aus, allerdings stehen die Resultate in krassem Widerspruch zu den Ansichten Unnas.

6) Daß aus den Arbeiten Unnas hervorgehen solle, daß der Muskel ein Sauerstoffort sei, ist mir unerklärlich. Unna beschreibt ausdrücklich und an vielen Stellen, daß der Muskel ein Reduktionsort sei. Nach der Unnaschen Theorie ist dies auch nötig. Nur an einer Stelle wird ganz nebenher erwähnt, daß die mimische Muskulatur leichte Blaufärbung zeige. Demgegenüber habe ich festgestellt, daß die mimische Muskulatur in allerstärkstem Maße gefärbt wird, und daß jeder Muskel, mag er von einem Säuger oder Kruster sein, stark gefärbt wird, diesen Befund habe ich durch die meiner ausführlichen Arbeit (Arch. f. mikr. Anat. 1914) beigegebenen Mikrophotographien erhärtet.

Soweit meine Tatsachen. Ich habe mit der Methode Unnas zunächst an Aktinien gearbeitet. Die Resultate waren so seltsam, daß ich veranlaßt wurde, die Methode selbst kritisch zu bearbeiten. Auf experimentellem Wege stellte ich ihre Haltlosigkeit fest. Um ein weiteres Umsichgreifen dieser Methode, die überall gefördert wurde, in den akademischen Unterricht bereits eingedrungen war, und die bereits eine völlig wertlose Doktorarbeit gezeitigt hatte, zu verhüten, habe ich meine Untersuchungen in rücksichtsvollster Form veröffentlicht. Dafür werde ich nun in persönlicher Weise angegriffen. Warum geht Herr Lazar Goldetz mit keinem Worte auf den experimentellen Hauptteil meiner Arbeiten ein? Warum verschweigt Herr Lazar Goldetz meine vielfältigen Befunde, die Unnas „Theorie" entkräften?

In einem muß ich Lazar Goldetz recht geben. Zu dem was Unna und seine Mitarbeiter theoretisiert haben, habe ich nichts hinzugefügt. Es wäre allerdings leicht gewesen, an der Hand meiner Befunde bei Aktinien einige Dutzend neuer Theorien Unnascher Art aufzustellen. Aber meine Experimente redeten eine andere Sprache. Daß sie Unnas Auffassung umstoßen, ist eine Tatsache, die außerhalb aller persönlichen Empfindungen stehen sollte.

Die Antwort von Lazar Goldetz auf meine Arbeit ist gar keine Antwort; sie nimmt zum Hauptteile meiner Arbeit gar keine Stellung. Ich erkenne nur eine Antwort an, die meine experimentellen Befunde auf experimentellem Wege entkräftet. Bloße Redensarten, unter Verschweigung meiner Experimente, mit persönlichen Angriffen halte ich für überflüssig.

[Eingegangen am 22. Januar 1915.]

Beiträge zur klinisch-morphologischen Hämatotechnik[1].

Von

G. C. van Walsem

in Meerenberg, Holland.

Hierzu acht Textabbildungen und eine Tafel (Tab. XI).

In jüngster Zeit eingehender mit klinisch-morphologischer Blutuntersuchung beschäftigt, bin ich wiederholt auf Einzelheiten in der Technik gestoßen, welche mir gewisse Lücken in der schulmäßigen Praxis aufzudecken schienen. Eine weitere Prüfung ergab, daß tatsächlich vom Standpunkt der Tagespraxis aus betrachtet, nicht unwichtige Punkte noch einer Vervollkommnung fähig sind. Im nachstehenden möge über daher einige Erfahrungen und Versuche, welche vielleicht geeignet erscheinen können, die schwebenden Fragen ihrer Lösung entgegenzuführen und namentlich auch den Anfängern nützlich sein dürften, berichtet werden.

Der Stand dessen, was aus der umfangreichen Literatur zur täglichen Verwendung sozusagen abfiltriert ist, läßt sich am besten aus den gebräuchlichen Lehr- und Handbüchern ersehen. Dem großen Aufschwung der ganzen Hämatologie entsprechend kann auf eine stattliche Reihe einschlägiger, teilweise von den namhaftesten Forschern zusammengesetzter Werke hingewiesen werden. Namentlich seien hier angeführt Pappenheim, Naegeli, Prieux, Grawitz, von Domarus, von Müllern, Schleip, Müller, sowie die Bücher über klinische Untersuchungsmethoden im allgemeinen, und auf diese sei durchlaufend hingewiesen. Einiges von dem hier zu Beschreibenden möge in irgend-

[1]) Alles hier zu Beschreibende hatte ich die Freude meinem Freunde M. C. Dekhuyzen, z. Z. Vertreter der Physiologie und Histologie an der Staats-Tierarznei-Schule in Utrecht, dessen Namen mit der Blutplättchenforschung für immer verknüpft ist, vorzuführen. Angesichts unsrer jetzt schon im vierten Dezennium stehenden Freundschaft möchte ich ihm diesen Aufsatz zugeeignet wissen.

einem Zeitschriftartikel oder, wie ich für einzelnes erfahren habe, in dem wohlbestellten Sarg einer — übrigens verdienstvollen — Doktordissertation versteckt liegen. Es sei dem wie ihm wolle, dies lasse indessen das Bestreben hiermit die Einführung in die Tagespraxis in seiner systematischen Verknüpfung zu fördern zu versuchen für mich, der ich es wieder auffinden mußte, berechtigt sein.

Eine klinisch-hämatologische Untersuchung im gewöhnlichen Sinne des Wortes stellt sich aus der Hämoglobinbestimmung, aus der Zählung der roten Blutkörperchen, aus der der weißen Blutkörperchen (in ihrer Gesamtheit sowie nach den verschiedenen Arten getrennt), ausnahmsweise auch aus der der Blutplättchen, sowie aus einer genaueren Feststellung möglicher Veränderungen in Form, Größe und Zusammensetzung der genannten Zellarten, beziehungsweise ihrer Kerne zusammen. Die Prüfung auf Parasiten läßt sich teilweise ohne weiteres damit verbinden, ist aber hier nicht explizite ins Auge gefaßt. Alles andere, namentlich die Prüfung physikalischer, chemischer oder anderweitiger biologischer Eigenschaften betreffend bleibt hier vollends außer Betracht.

I. Blutentnahme.

Sowohl was die Wahl der Stelle, die für die Blutentnahme die geeignetste wäre, als was das dabei zu verwendende Instrumentarium betrifft, gehen die Meinungen der Autoren weit auseinander. Was als Instrument der eine stark lobt, bezeichnet ein anderer geradezu als „barbarisch", und die Stelle, die von einer Seite bevorzugt wird, wird von anderer Seite kurzerhand ausdrücklich widerraten. Diese Differenzen, sie mögen teilweise auf Temperamentsurteile zurückgeführt oder aus der Macht einer liebgewonnenen Gewohnheit erklärt werden, zum größten Teil lassen sie sich aus einer nicht völlig genügenden Berücksichtigung der Verschiedenheiten der Umstände, unter welcher die Blutentnahme stattfindet, zurückführen. Fingerbeere und Ohrläppchen machen einander Konkurrenz. Auf der Debetseite der ersteren stehen angeblich die größere Schmerzhaftigkeit, die Störung in dem Gebrauch der Hand und die größere Gefahr einer späteren Infektion, namentlich bei schwieligeren Händen, wo ein tieferer Einschnitt gemacht werden muß, während auf der Kreditseite die bedeutend größere Handlichkeit steht. Auch über den besten Grad der Tiefe und Größe des Einschnitts und über die Zulässigkeit der Beförderung des Blutaustritts durch Stauung bestehen weit ausein-

andergehende Meinungsunterschiede. Einigermaßen triftige Gründe für tiefe Einschnitte habe ich nirgendwo auffinden können. Eine leichte Stauung, wie sie durch ein Herabhängen der Hand oder durch eine schwache Ligatur hervorgehen wird, wird von ersten Autoritäten nicht beanstandet, und ich könnte weder aus direkten Erfahrungen noch aus anderen Überlegungen etwas austindig machen, welches diesem widerspräche. Ein Kneten oder eine Massage nach abwärts bleibt selbstverständlich wegen der Beimischung von Gewebssaft und Lymphe außer Betracht. Die Befürchtung, daß man durch Druck eine Deformierung der Erythrozyten herbeiführen würde, scheint mir freilich ein bißchen phantastisch. Man muß im allgemeinen an der Forderung festhalten, braucht aber anderseits darüber nicht hinauszugehen, daß der Tropfen sofort in der gewünschten Größe hervortritt. Zweitens muß man bestrebt sein, die Wunde nicht größer zu machen, als unbedingt notwendig ist. Ein sehr wichtiger Unterschied erwächst dabei aus dem Umstande, ob man in einem gegebenen Fall sich mit einer einmaligen, beziehungsweise selten zu wiederholenden Entnahme begnügen darf, oder ob man dieselbe wiederholt und in kurzen Intervallen, vielleicht in systematisch wiederkehrender Weise vornehmen muß. In dem ersteren Fall fällt es nicht so sehr ins Gewicht, daß man eine etwas größere Verwundung macht, in dem zweiten Fall jedoch muß dies, wenn irgendwie umgänglich, vermieden werden. Mag deshalb die größere Verwundung in gewissen Umständen zulässig, in einzelnen Fällen, etwa bei schweren Anämien, sogar notwendig erscheinen, im allgemeinen halte ich sie für unnötig, unter gewissen Umständen ist sie zu verpönen. Namentlich wer an der eigenen Hand viele Hunderte von Punktionen vorgenommen hat, wird dies zu schätzen wissen. Beschränkt man sich prinzipiell möglichst auf kleine Wunden, so werden alle gegen die Bevorzugung der Fingerbeere angeführten Beschwerden hinfällig.

Die Vorteile derjenigen Instrumente, die zu einer gewissen Höhe automatisch wirken und eine zuvor genau bestimmbare Größe und Tiefe der Verwundung zu bestimmen ermöglichen (Francke, Ries), sind meiner Ansicht nach so auf der Hand liegend, daß, die Ausschaltung einiger Nachteile vorausgesetzt, ihre Empfehlung unbedingt berechtigt ist. Namentlich wo es, wie bei der Anfertigung von Blutpräparaten, oft vor allem auch auf schnelles Handeln ankommt, ist es ein großer Vorteil sich von allen irgendwie umgänglichen Anstrengungen der Aufmerksamkeit befreit zu wissen. Der Riessche Apparat, dem einige auswechselbare, lanzettförmige Nadeln bei-

gegeben sind, hat dem Franckeschen Schnepper gegenüber den Vorteil, daß die Nadeln leichter desinfiziert werden können und die Verwundungen kleiner sind. Ich habe mir die Sache dadurch noch einfacher und besser gestaltet, daß ich in dem Stiel des Messerchens des Franckeschen Schneppers eine Lichtung habe anfertigen lassen, worein ich die Spitzen gewöhnlicher Nähnadeln (eine etwas starke Nummer, etwa die englische No. 4), die ich je nach Bedarf in der Größe von ungefähr 2 cm mit den Fingern abbreche, stecke (Fig. 1). Mit einem kleinen Tropfen Paraffin werden sie in der Lichtung, die natürlich eine entsprechende Größe hat, leicht fixiert. Vor dem Gebrauch jedesmal in die Flamme. Allgemein wird angegeben die Fingerbeere mit Äther abzureiben und diese Entfettung und Trocknung wird zugleich als eine genügende Desinfektion betrachtet. Infektionen sollen bei weiterer kunstgerechter Behandlung der kleinen Wunde nicht vorkommen, sind jedenfalls nicht bekannt geworden, was für leichtere Grade auch sehr begreiflich sein würde. Als auf ein für den vorliegenden Zweck außerordentlich geeignetes Desinfiziens weise ich auf den Thymolspiritus (Thymol 5, Alkohol, 96prozentig, 100) hin, welcher zuerst von König und Hoffmann (v. Brunssche Beitr. z. Klin. Chir., Bd. **76**, H. 2, Zentralbl. f. Chir., 1910, No. 24), nachher von Koehler, Monrardo u. a. für die Desinfektion, namentlich des Operationsfeldes empfohlen worden ist. Man reibt als erste Handlung die Fingerbeere mit Thymolspiritus tüchtig ab und läßt, während man, soviel nötig, seine anderen Sachen ordnet, einwirken und eintrocknen, und übergießt unmittelbar vor dem Einstich die Finger von oben herab mit Äther, wodurch überflüssiges Thymol fortgespült wird und die Fingerbeere zugleich vollkommen getrocknet wird. Durch eine gleichfalls unmittelbar vor dem Einstich anzubringende leichte elastische Schnürung bewirke man keine stärkere Stauung als durch ein Herabhängen der Hand hervorgerufen wird. Eine weitere Behandlung der Wunde ist völlig unnötig: diese schließt sich sofort und vollständig. Allerdings kann man nochmals mit Thymolspiritus befeuchten. Bei zahllosen an mir selbst vorgenommenen Einstichen habe ich nie, auch nicht die allergeringste Spur einer Infektion bemerken können. Für ganz besondere pathologische Fälle (Hämophilie usw.) mag das oben Gesagte vielleicht in vollem Umfang nicht zutreffen. Man wird dann natürlich pro re nata kunstgerecht handeln müssen.

1. ($^1_1$ Gr.)

II. Hämoglobinbestimmung.

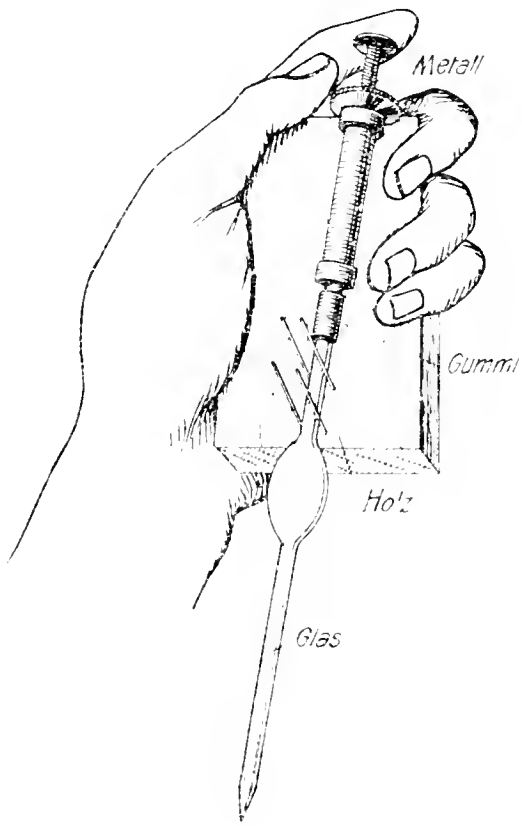
Diese fällt eigentlich nicht innerhalb des Rahmens des Titels dieses Aufsatzes. Da sie jedoch regelmäßig mit der praktischen morphologischen Blutuntersuchung verbunden wird, gestatte ich mir hier ein paar dieselbe betreffende Bemerkungen einzuschalten. Der von Sahli angegebene Apparat ist jetzt wohl der gebräuchlichste. Pappenheim bezeichnet indessen, und zwar mit vollem Recht, das beigegebene Tropfglas als „äußerst unpraktisch"; ich glaube jedoch, daß die von ihm angegebene Lösung zur Abhilfe keine besonders glückliche ist. Pappenheim schreibt: „Man verschaffe sich statt dessen ein mit Gummihütchen versehenes Tropfglas (Augenglas), das im Lumen so dünn ist, daß es in das Probierröhrchen bequem einführbar ist, wobei man immer mit einem dünnen Glasstäbchen (zugeschmolzene Kapillare) umrührt." Statt dessen habe ich mir eine kleine Pipette anfertigen lassen, deren Form und Dimensionen aus der beigegebenen Abbildung ersichtlich sind (Fig. 2). Diese „Rührpipette" dient als Pipette und als Rührstab und läßt zuerst die Säure (der Inhalt des unteren Teils bis zum untern Rande des Korkes entspricht der Menge $^1/_{10}$-n-Salzsäure, welche zur Hämatinsalzbildung nötig ist) und dann nach Bedarf das Wasser zufließen, was zu der Handlichkeit sehr wesentlich beiträgt. Das untere Ende der Pipette reicht gerade bis zum Boden des Gläschens, in welchem die Blutverdünnung vorgenommen wird, während anderseits mittels des Korkrings vorgebeugt wird, daß der Boden verletzt wird.

2.
($^1/_2$ Gr.)

Zweitens möchte ich hier erwähnen, obgleich es wohl ausschließlich historisches Interesse haben dürfte, daß ich bei dem älteren Gowersschen Hämatometer gut ausgekommen bin mit der Verwendung einer $^1/_{1000}$prozentigen Lösung von Anilingelb statt des Wassers, wodurch eine für mein Auge fast vollkommene Farbähnlichkeit mit der Vergleichsflüssigkeit erreicht wurde.

Endlich möchte ich an dieser Stelle die von vielen Seiten, jedoch nicht allgemein anerkannte Notwendigkeit des Gebrauchs eines Präzisionssaugapparates statt des Mundes betonen. Hier sind namentlich der Wieckesche Sauger, der Apparat von Galli, die May-Hirschfeldsche Pipette und die Pappenheimsche Kappe zu erwähnen. Dem ersteren wird die Umständlichkeit der Handhabung, der Pipette die

Schwierigkeit der Reinigung nachgesagt, allen gemeinsam scheint mir aber der Nachteil, daß sie nicht mit einer Hand bedient werden können. In Anschluß hieran möchte ich deshalb eine Vorrichtung beschreiben (Fig. 3), die sich leicht improvisieren läßt und die den ebengenannten Nachteil vermissen läßt. Ich bin von einer gewöhnlichen, mit einer Stellschraube versehenen Pravazschen Spritze ausgegangen. An der Stellschraube ist ein größeres kreisrundes Plättchen



3. ($^1/_2$ Gr.)

mit gezahntem Rand angelötet. Die Spritze ist auf ein Holzbrettchen befestigt. An dem unteren Ende befindet sich ein Gummiröhrchen, an welches die Pipetten angeschoben werden. Das Brettchen wird in der linken Hand derart gefaßt, daß die Beere des Zeigefingers auf den Stempel drückend ruht, während die Beere des Daumens an den gezahnten Rand anstößt und durch Drehung der Schraube in minutiösester Weise die Bewegung der Blutsäule in dem Kapillarrohr veranlaßt. Bei der gewöhnlichen Arbeit im Laboratorium empfiehlt es sich allerdings, speziell auch bei der Blutentnahme aus der eigenen Hand, die Spritze in einem gewöhnlichen Bürettengestell aufgehängt zu verwenden. Man muß darauf achten, daß beim Anfang

der Operation der Sauger in der Spritze sich in einem möglichst tiefen Stand befindet. Hierdurch wird bezweckt eine möglichst geringe Luftmenge zwischen dem Sauger und dem aufzusaugenden Blut zu haben, da diese Luft als elastisches Schaltkissen der direkten Abhängigkeit der Bewegung der Blutsäule von der des Saugers Eintrag tut. Diese Störung wird, wo sie auf die in der Pipette befindliche Luft zurückzuführen ist, auch bei dem glücklichst konstruierten Präzisionssaugapparat sich bemerklich machen. Bei dem Gebrauch der Mischpipette für die Erythrozytenzählung hat die Störung wegen der Größe der Ampulle wirklich praktische Bedeutung bekommen. Ich werde hierauf sub VI zurückzukommen haben. Ich füge hier noch bei, daß beim Einschieben der Pipette in das Probierröhrchen die Spitze derselben am besten bis zu dem Strich 5 reicht. Wenn die Pipette ausgedrückt wird, fällt das Blut in der $^1/_{10}$-n-Salzsäure herunter und man kann durch Einsaugen der Säure das Röhrchen in bequemster Weise reinigen.

III. Nativpräparat.

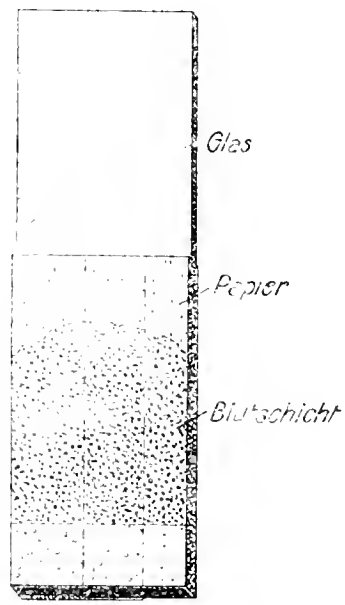
Die Anfertigung eines guten Nativpräparats scheint mir doch nicht so ganz einfach als es in einigen Lehrbüchern hingestellt wird, jedenfalls nicht wenn man an der Forderung festhält, daß man in jedem Präparat viele Gesichtsfelder haben muß, wo jede Veränderung und Deformierung, wenigstens an den Erythrozyten, ausgeschlossen ist. Ideal wäre es, wenn dieselbe Forderung auch für die Plättchen erfüllbar wäre, aber darauf müssen wir, wenigstens vorläufig, verzichten.

Der Rat, um die Größe des zu untersuchenden Tropfens je nach der Größe des Deckgläschens zu wählen, oder um mehrere Präparate anzufertigen und dabei sowohl einen größeren, als einen kleineren Tropfen zu verwenden (in dicken Präparaten bleiben dann die Blutkörperchen in Geldrollen „erhalten", in dünneren scheinen sie isoliert!), ist mir teilweise unverständlich, teilweise scheint er mir unrichtig.

In einem, obiger Forderung genügenden Gesichtsfeld müssen alle Erythrozyten isoliert sein, sie müssen sedimentiert sein, sie müssen, soweit nicht pathologische Difformitäten vorliegen, alle regelmäßige Scheibenform zeigen, als Wahrzeichen einer vorgebogenen Veränderung, mag weder eine Geldrolle noch ein Stechapfel sichtbar sein, die Erythrozyten müssen bewegbar sein und dürfen ihre Plastizität nicht eingebüßt haben, wobei auch die Plättchen zu einem großen Teil isoliert geblieben sind. Ein mächtiges Mittel zur Erreichung dieses Zweckes ist

die Anwendung der Kälte. Der Einfluß der Kälte ist schon von alters her bekannt und z. B. schon von Hayem in ausgiebiger Weise verwendet worden. Die Anwendung der Abkühlung hat aber, soviel ich weiß, in der täglichen Praxis kein Bürgerrecht erlangt. Ich meine, sehr zu Unrecht. Die Ursache dieser Tatsache scheint mir damit zusammenzuhängen, daß an die Forderung, daß eine derartige Anwendung der Kälte in sehr bequemer und sicherer Weise ausführbar sein muß, zu wenig gedacht zu sein scheint. Nicht nur für die Anfertigung eines Nativpräparats, sondern gleichfalls für die Herstellung einer guten Verteilung der Blutkörperchen als Vorbereitung für die Anfertigung eines Trockenpräparats hat die Abkühlung Bedeutung. Ich will darum das von mir befolgte Verfahren beschreiben. Vor allem bin ich dabei bestrebt gewesen, den Anforderungen, daß das Verfahren einfach, sicher und überall leicht realisierbar sein muß, zu genügen. Ich kann dies aber nicht tun ohne vorauszugreifen auf einen sub IV ausführlicher zu erörternden Punkt, nämlich auf die ausschließliche Verwendung von Objektträgern auch für Trockenpräparate. Die leichte und sichere Ausführbarkeit der Abkühlung der Objektträger sei an dieser Stelle als erster Grund dieser Bevorzugung betont. Die zu verwendenden Objektträger müssen selbstverständlich rein sein. Die Reinheit der Gläser wird in der hämatologischen Technik immer stark hervorgehoben. Ausdrücke wie „spiegelblank, tadellos“ usw. sind gang und gäbe und die peinlichsten Vorsichtsmaßnahmen (z. B. doppeltes Tuch beim endgültigen Trocknen, damit am Ende keine Hautausdünstung die Tadellosigkeit noch in Frage stelle usw.), werden als unbedingt notwendig hingestellt. Zu dem reichlich dotierten Kapitel der Reinheit der Deckgläser und Objektträger möchte ich bemerken, daß man hierbei vor allem einen Unterschied zu machen hat zwischen der „hausmütterlichen“ und einer „histologischen“ Reinheit. Die Prüfung der ersteren sei durch die Frage der Anwendbarkeit obiger Epitheta vorgenommen, letztere betrachte ich als erreicht, wenn, bei Ausschluß jeder chemischen Einwirkung auf das Präparat, das trockene Glas bei Benetzung mit destilliertem Wasser dies sich sofort bei Zimmertemperatur über alle seine Teile in dünnster Schicht ausbreiten läßt. Es läßt sich dies dadurch erreichen, daß die zuerst hausmütterlich gereinigten Gläser in Königswasser (rohe Salzsäure 3, rohe Salpetersäure 1) gekocht werden, dann mit Leitungswasser so lange gespült werden, daß jede saure Reaktion geschwunden ist, dann individuell in destilliertes Wasser überführt werden, dann wieder individuell in Alkohol, 96 Prozent, um

in Alkohol, 96 Prozent, und Äther zu gleichen Teilen bis zum Gebrauch aufbewahrt zu werden und vor deren Gebrauch mit einem reinen, altleinenen Tuch getrocknet zu werden. Alle weiteren Subtilitäten halte ich für überflüssig. Einen so gereinigten Objektträger behandle ich weiter folgendermaßen. Nehmen wir an, daß die Etikette sich an der rechten Seite befindet und etwa ein Drittel (ich verwende das sogen. englische Format, 26×76 mm) der Oberfläche bedeckt. Auf ein rechtwinkliges Stück Filtrierpapier, von welchen Stücken ich mir zuvor einen Vorrat zurechtgeschnitten habe und welche eine Größe von 6·5×5 cm haben, wird der Objektträger



4. (5/11 Gr.)

derart aufgelegt, daß die obere Fläche auf das Papier zu liegen kommt und dies etwa 1 cm weiter nach links reicht (s. Fig. 4; die in dieser Figur angegebene „Blutschicht" bezieht sich auf die in IV. angegebene Verteilung). Das Papier wird jetzt straff gespannt über der unteren (jetzt nach oben gewendeten) Fläche des Glases zugefaltet und die übereinandergeschlagenen Teile werden mittels eines Gummistreifens verklebt. Das Papier wird jetzt an der oberen und an der unteren Seite mit der Chloräthylspritze in einer Distanz von etwa $^1/_4$ m tüchtig befeuchtet (etwa 5 Sekunden). Jetzt legt man das in gleicher Weise gebrauchsfertig gemachte, dünne Deckgläschen auf das Papier, damit auch dies die niedrigere Temperatur annehme. Wenn das Papier, was nach einigen Sekunden der Fall ist, trocken ist, ist der Objektträger gebrauchsfähig. Die Umwicklung mit Papier

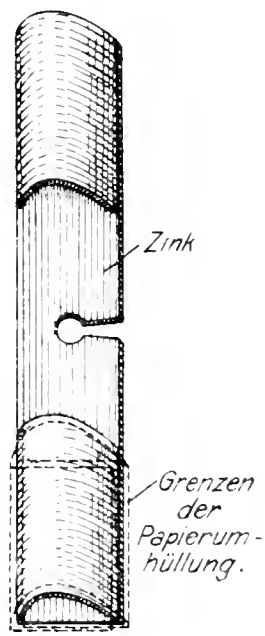
hat den Zweck, eine regelmäßige Verteilung des Chloräthyls sowie dessen gleichmäßige Verdampfung zu fördern. Zieht man jetzt die Papierhülle von dem Objektträger ab, so schlägt dieser sofort feucht an und der Anschlag gefriert gleich. Bald, eventuell nach leichtem Anblasen (nicht Anhauchen) sofort, taut das Glas wieder auf. Jetzt wird die obere Fläche des Objektträgers und das Deckgläschen mit einem reinen Tüchlein schnell abgewischt. Dann ist der geeignete Augenblick da, um das Blut aufzunehmen. Der Tropfen, der die Größe eines Kopfes einer kleinen Stecknadel haben mag (er kann kaum zu klein sein), wird in der Mitte des nicht mit der Etikette bedeckten Teils des Objektträgers aufgenommen und nach wenigen Sekunden mit dem Deckglase (21 × 21 mm) langsam bedeckt. Ohne jeden Schaden kann man jetzt in der Mitte mittels einer Messerspitze einen gelinden Druck ausüben. Man hat dann im Zentrum viele Gesichtsfelder (bei Zeiss DD, Kompensationsokular 8), wo die Blutkörperchen derart verteilt sind, daß die Verteilung den oben aufgestellten Forderungen entspricht.

IV. Verteilung des Blutes auf dem Objektträger.

Für die Bildung einer dünnen Blutschicht machen jetzt hauptsächlich zwei Verfahren einander Konkurrenz, nämlich die Deckglasmethode (Ehrlich), wobei zwischen zwei Deckgläsern eine dünne Schicht gebildet wird und die beiden Gläser dann voneinander gezogen werden, und die Objektträgermethode (Jansco, Rosenberger), wobei das Blutröpfchen auf den Objektträger gebracht wird und von diesem Punkt aus mittels eines in einem Winkel von 45° von dem Tropfen ab geneigten (Deck- oder Objekt-) Glases nachgeschleppt wird. Die Verteilung mittels eines Stabes (Sternberg) oder durch Kapillar-Aufsaugung (Braddon) hat sich, soviel ich weiß, nicht einbürgern können, und soweit meine Erfahrung reicht, zu Recht. Die Wertschätzung beider Methoden in den verschiedenen Lehrbüchern ist nichts weniger als eine einheitliche. Hier werden sie als gleichberechtigt vorgestellt, dort wird erklärt, daß die Objektträgermethode „keinen Zweck" hat, an einer dritten Stelle wird wiederum der letztgenannten Methode allein Erwähnung getan. Sachlich wird für die Deckglasmethode angeführt, daß sich hiermit leichter eine gehörig dünne Schicht bilden läßt und daß die nötige Menge der verschiedenen zu verwendenden Flüssigkeiten eine geringere ist. Dagegen „erfordert die Herstellung von Deckglaspräparaten eine minutiöse und

diffizile Technik und ist auch kostspieliger", letzteres wohl, weil „bei aller Vorsicht und Sorgfalt gewöhnlich einige Ausstriche nicht gelingen", warum auch der Rat erteilt wird, jedenfalls eine größere Zahl anzufertigen. Für die Objektträger wird der Vorzug der größeren Hantierbarkeit und die geringere Zerbrechlichkeit geltend gemacht. Wie ich schon sub III angab, sind die Vorteile der Objektträgermethode meiner Ansicht nach so sinnfällig, daß diese unbedingt zur ausschließlichen Anwendung empfohlen werden darf, zumal alle für die Deckgläser angeführten Vorteile, wie ich zu zeigen hoffe, auch für die Objektträger gewonnen werden können. Zuerst soll anerkannt werden, daß das Gelingen eines guten Ausstriches, wobei in größerer Ausdehnung eine dünne Schicht mit vollständiger Isolation der Körperchen und mit vollkommenem Ausschluß jeder Difformierung wenigstens der Erythrozyten, die, in dieser Hinsicht als Probierstein verwendet, weder Konglutination noch Stechapfelbildung, geschweige Zusammensinterung zeigen dürfen, nicht so leicht zu erhalten ist. Abgesehen von der Geschicklichkeit des Operateurs, die, auch im günstigsten Falle, immerhin noch zeitlichen Schwankungen unterliegt, kommen dabei die Blutmenge, die speziellen Eigenschaften des individuellen Blutes und endlich die Temperatur in Betracht. Was letztere betrifft, so habe ich auf deren Bedeutung schon sub III hingewiesen. Eine besondere Berücksichtigung derselben hat mir gestattet, mich immer mehr unabhängig zu machen von allen anderen oben genannten Faktoren. Die individuelle Geschicklichkeit wird fast ganz beiseite geschoben, die Blutmenge bekommt größere Spielweite, gleichfalls werden die individuellen Eigentümlichkeiten des Blutes, soweit sie für die Schichtbildung von Bedeutung sind, hinabgesetzt. Da bei diesem Verfahren die Zentrifuge eine Hauptrolle spielt, möchte ich sie als „Zentrifugiermethode" der Deckgläsermethode und der Objektträgermethode an die Seite stellen. Der Objektträger wird präpariert, wie bei der Anfertigung des Nativpräparates beschrieben worden ist. Der Bluttropfen mag etwas größer sein als für das Nativpräparat angegeben ist. Das Tröpfchen wird von dem Objektträger aufgenommen an einem Punkt gelegen in der Längsachse, etwa wo letzteres (von dem oberen Rande wo die Etikette liegt, ab gerechnet) und viertes Fünftel aneinander stoßen. Vom diesem Punkt als Zentrum aus wird das Blut mit der dünnen Spitze eines Glasstabes schnell verteilt, wobei schließlich der untere Rand und die unteren Teile der Seitenränder erreicht werden. Der untere Teil der Oberfläche des Objektträgers ist dann mit allerdings sehr unregelmäßigen

kleinen Blutflecken, die jedoch wieder möglichst regelmäßig verteilt sein müssen, bedeckt. Dann wird sofort das Glas oder, wenn man zwei Gläser präpariert hat, beide Gläser in den 19 cm langen hierneben abgebildeten Behälter (Fig. 5) geschoben und die Zentrifugierung vorgenommen. Der Behälter besteht aus einem Zinkstreifen, worauf an beiden Seiten Räume sich befinden, welche die Objektträger (Blutseite nach oben, Etikette nach innen) passend aufnehmen können, und welcher in der Mitte einen Ausschnitt besitzt, wodurch ein sofortiges Anschieben an die Drehachse der Zentrifuge ermöglicht ist. Ich habe an der gewöhnlichen kleinen Handzentrifuge für zwei



5. ($^3/_{10}$ Gr.)

Röhrchen die obere Schraube durch eine Flügelschraube ersetzt, während etwa 1 cm unterhalb des oberen Endes ein mit der Achse fest verbundenes Flügelchen zur Fixierung der Achse beim Andrehen der oberen Schraube sich befindet. Da ich auch das Gestell, welches die Röhrchen trägt, mit einem ähnlichen Ausschnitt wie der des Behälters versehen habe, kann der Auswechsel jedenfalls sofort vorgenommen werden. Durch Andrehung der Flügelschraube wird die Befestigung eine absolut sichere. Was die Kraft, womit die Zentrifugierung stattfinden soll, betrifft, sei bemerkt, daß diese verhältnismäßig gering sein muß. Die Zahl der Kurbeldrehungen, welche sich in meinem Apparat zu der Zahl der Achsendrehungen verhält wie 1 : 19, muß zwischen 1 und 2 per Sekunde liegen. Ich mache noch

darauf aufmerksam, daß die für die Objektträger bestimmten Räume an der Außenseite mit Filtrierpapier bekleidet sind und vor dem Einschieben der Objektträger auch einmal mit Chloräthyl bespritzt werden können. Dies wird aber nur bei höherer Außentemperatur angezeigt sein. Diese Papierumhüllung ist in der Figur an der einen Seite mittels der punktierten Linien angedeutet. Nach fünfzig oder sechzig Kurbeldrehungen ist das Präparat ganz trocken und fertig. Ich setze dabei im allgemeinen eine mittlere Temperatur des Arbeitsraumes voraus, aber von den hierbei praktisch vorkommenden Schwankungen ist man unabhängig. Bei einem den obigen Regeln entsprechend angefertigten Präparat staunt man über die Regelmäßigkeit, womit über eine größere Fläche die Blutkörperchen verteilt sind und eine Ordnung zeigen, welche die friderizianischen Grenadiere im Sarge neidisch machen könnte. Nicht aber nur die regelmäßige Verteilung, sondern auch der völlige Ausschluß jeder Difformierung ist auffallend. Bei dem im gewissen Sinne immerhin einigermaßen gewaltsamen Akt des Zentrifugierens mußte man eher auf das Gegenteil gefaßt sein. Niemals habe ich auf die Zentrifugierung zurückführbare Deformierungen (etwa Kernverschiebungen, Formunregelmäßigkeiten oder ähnliches; was Weidenreich gegen die Deckglasmethode anführt — mißglückt leicht: zerdrückte Zellen sind ein häufiger Befund — trifft hier nicht zu) auffinden können. Auch eine Unregelmäßigkeit in der Verteilung der verschiedenen Leukozytenarten, wie sie Schilling-Torgau (Deutsche med. Wochenschr., 1913, p. 1985) für Ausstrichpräparate beschreibt, findet hierbei nicht statt. An den vier Ecken eines 21×21 mm großen Deckglases fand ich keine auf mehr als zufällige Abweichungen zurückführbaren Unterschiede.

Auch bei der Anfertigung eines Ausstriches in der üblichen Weise hat die Abkühlung des Objektträgers ihre Berechtigung. Solange dieser noch sehr kalt ist, nimmt er sehr wenig Blut an. Zieht man anfangs sehr langsam das obere Glas weg, dann bemerkt man an einem bestimmten Punkt, daß das Glas das Blut in der gewünschten Dicke annimmt. In diesem Augenblick setzt man den Ausstrich in schnellerem Tempo fort.

V. Fixierung.

Es ist üblich die Veränderung, welche in dem Trockenpräparat verursacht wird durch die Einwirkung von bestimmten Substanzen, entweder der Färbung vorangehend, zuweilen mit der Einwirkung des

Farbstoffes zeitlich verbunden, als Fixierung zu bezeichnen. Wie außerordentlich schwankend und unsicher nun der Begriff der Fixierung im allgemeinen sein möge[1], so scheinen doch im vorliegenden Fall, wo diese Einwirkung nicht lebende, sondern tote und dazu ausgetrocknete Substanz betrifft, die Bedenken gegen die Anwendung des Wortes ganz besonders berechtigt. Gerade hier scheint mir der Begriff der Fixierung fließend in den der Beizung überzugehen. Faßt man letztere so auf, daß dabei ins Auge gefaßt wird, daß die Präparierung der Gewebe für die Färbung und deren Kraft und Dauerhaftigkeit sowie des in Wirkungtretens gewisser erwünschter Wahlverwandtschaften[2] günstig beeinflußt werden soll, so liegt auf der Hand, daß man eben hier die sogenannte Fixation mit der Färbung in mehr direkte Verbindung setzen muß. Es ist nicht undenkbar, daß ein bestimmtes Reagens für alle Färbungen die günstigsten Resultate gibt, a priori ist dies aber nicht nur nicht notwendig, sondern sogar recht unwahrscheinlich. Beim Blute sind die Verhältnisse aber deshalb ganz besondere, weil man hier prinzipiell, worauf sub VI näher einzugehen ist, der Panopsis zustrebt. Solange hierbei tatsächlich verwirklicht wird, daß sie alles gibt, was alle Spezialfärbungen leisten, hat man bei der Wertschätzung eines Fixiermittels — ich will das nun einmal eingebürgerte Wort weiter anwenden — ausschließlich seine Wirkung den Effekten der panoptischen Färbung gegenüber zu berücksichtigen. Lassen wir die Fixation des Blutes im feuchten Zustande durch Flüssigkeiten oder Dämpfe beiseite, so sind auch an dem Trockenpräparat wohl alle geläufigen Mittel (Osmiumsäure, Äthylalkohol, Methylalkohol, Äther, Azeton, Formol, Luzidol, Jod, Xylol [bei 140° C], Sublimat u. a., sowie Kombinationen derselben), teilweise in Dampfform erprobt worden. Im besonderen

[1]) Man vergleiche hierzu: Schultze, O., Über die Anwendung der Osmiumsäure und eine neue Osmium-Hämatoxylinmethode (diese Zeitschr. Bd. 27, p. 465). Während Tellyesniczky in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik (Bd. 2, p. 469—472) sagt, es müsse sich bei der Fixierung in erster Reihe um die Fällung der Eiweißstoffe handeln, meint Schultze: „Es ist fast selbstverständlich, daß man zur Konservierung lebender Substanz solche Mittel zu wählen hat, welche keine oder möglichst wenig Fällungen innerhalb der Zell- und Kernsubstanz erzeugen.“ Auch die Meinung Szécsis (Luzidol, ein neues Fixiermittel, Deutsche med. Wochenschr. 1913, p. 1584), es handle sich bei den Fixierungen im wesentlichen um eine Oxydation, möchte ich nicht unterschreiben.

[2]) So ist die Wirkung des Alkohols, bei dessen Anwendung nach anderen Fixiermitteln, recht kompliziert und hat man dabei wenigstens fünf Faktoren (Wasserentziehung, Koagulation, Lösung, Fixierung, Beizung) zu unterscheiden.

ist als physisches Agens die Hitze zu erwähnen. Aus diesem Kampfe scheint der Methylalkohol siegreich hervorzugehen. Bedauerlicherweise hat zu dieser Bevorzugung zu viel der Umstand beigetragen, daß hierbei, weil die Lösung einiger Farbstoffe in dem Fixiermittel geschehen konnte, die Kombination der beiden Prozesse uno acto stattfand. Dieser Vorteil ist aber einer besseren Fixierung gegenüber verschwindend klein und allzusehr auf die Bedürfnisse des Praktikers zugeschnitten. Bei der panoptischen Färbung reduziert sich meiner Meinung nach der genannte Vorteil ganz zu nichts und muß daher außer Betracht bleiben. Unter Voraussetzung der oben aufgestellten Forderung bin ich bei einem bestimmten Osmiumsäure-Sublimatgemisch stehen geblieben. In einer 6prozentigen Kochsalzlösung wird Sublimat bis zur Sättigung gelöst. Ungefähr 35 g Sublimat löst sich in 100 cc der Flüssigkeit, was der Bildung einer Verbindung $HgCl^2 \cdot NaCl$ entspricht. Zu je 1 cc dieser Lösung wird ein Tropfen einer 2prozentigen Lösung von Osmiumsäure zugesetzt. Dieses Quantum genügt für einen Objektträger. Die Dauer der Fixierung ist 30 Sekunden. Nach gründlicher Abspülung mit destilliertem Wasser wird die Färbung sofort vorgenommen.

Über die Frist, welche zwischen dem Trockenwerden und der Fixierung verlaufen muß, bzw. verlaufen darf, liegen nur wenige bestimmte Angaben vor. Grawitz gibt an: für Jenner-Färbung sehr kurze Zeit, für Triazidfärbung 24 Stunden, für Giemsa-Färbung 5 bis 10 Minuten, Pappenheim, daß die Präparate bis zu 4 Wochen trocken aufbewahrt werden können. Es scheint hierbei eine große Spielweite zu bestehen. Obige Fixierung muß 30 bis 45 Minuten nach der Zentrifugierung vorgenommen werden.

VI. Färbung.

Die umfangreiche Literatur über die Färbung von Bluttrockenpräparaten spiegelt das Bestreben ab, eine reichere Ernte färberischer Ergebnisse zu sammeln als das altherkömmliche Eosin-Hämatoxylinpräparat zu geben vermag. Dieses Bestreben hat sehr reiche Früchte gezeitigt und im Grunde das alte Präparat auch wohl überflüssig gemacht. Wenn es noch einigermaßen den Kopf über Wasser hält, so verdankt es dies seiner immerhin auffallenden Schärfe und der Sicherheit, womit auch bei nicht tadellosem Verfahren immer noch etwas Redliches herauskommt. Unter den angegebenen Formeln sind viele gute und hierbei zeigt sich ein gewisser Gegensatz mit

vielen Färbemethoden jüngeren Datums, wobei man nicht selten auf kaum duldbare Subtilitäten stößt. Hauptsächlich der Vollständigkeit wegen sei hier mitgeteilt, daß ich ausschließlich die seinerzeit von Ehrlich angegebene Formel (Hämatoxylin 2 cm, Eisessig 10 cc, Glyzerin 100 cc, Alkohol absol. 100 cc, Wasser 100 cc, Kalialaun im Überschuß) gebrauche. Diese Mischung hat den Nachteil, daß sie langsam reift (braucht dazu wenigstens 3 Monate) und daß sie nach längerer Zeit (etwa nach einem Jahre) anfängt dickflüssig zu werden und verdirbt. Ich versuche dem durch Zufügung eines Stückchens Thymol bei dem Ingebrauchnehmen vorzubeugen. Die oben beschriebene Fixierung eignet sich auch vorzüglich für das Eosin-Hämatoxylinpräparat. Eine lange Einwirkung (2 bis 6 Stunden) der Hämatoxylinlösung ist erwünscht. Nachdem der anhängende Farbstoff erst durch Leitungswasser fortgespült worden ist und dies durch destilliertes Wasser ersetzt worden ist, wird nachgefärbt in einer 1prozentigen Lösung von Eosin-Extra BA. und zwar 1 Minute lang. Gegenüber der Fixierung in Methylalkohol möchte ich die sehr deutliche Färbung der Blutplättchen hervorheben.

Die Bestrebungen der letzten posthämatoxylinischen Jahre knüpfen sich hauptsächlich an das Triazid und an das Methylenblau, dieses letztere sowohl für sich gebraucht als in Verbindung mit Eosin oder mit Eosin und Methylenazur. In diesem Verbande sind die Namen zu erwähnen von Ehrlich, Jenner, Romanowsky, Pappenheim, Giemsa, Ziemann, Shelton, Michaelis, Wolff, Reuter, Leishman, Laveran, Assmann, Nocht, Ruge, Maurer, Raadt, Marino, Wright, Hastings, Willebrandt, Lenzmann, Japha, Savini, Bitterfeld, Freifeld, Klein u. a. Andere gelegentlich empfohlene Farbstoffe (Dahlia, Chinablau, Toluidinblau, Pyronin-Methylgrün) sind für allgemeine Zwecke nicht in Gebrauch gekommen. Es wäre eine mühselige Aufgabe, die ganze Entwicklungslinie historisch zu verfolgen. Sie liegt den meisten noch wohl in der Erinnerung und ist schon anderswo gelöst worden. Es scheint mir hier wirklich mit vollem Recht erlaubt von einer Entwicklungslinie zu reden — wobei man allerdings das Triazid als eine Seitenlinie zu betrachten hat —, da alle Bestrebungen mir in der von Pappenheim angegebenen panoptischen Färbung zu gipfeln scheinen. Ich halte das Wort „panoptisch“ indessen für nicht unzweideutig und den Begriff dessen, was es umfaßt, je nach dem Stande der Technik für verschieden. Von verschiedenen Autoren wird es denn auch für Verschiedenes gebraucht. Das *παν* deutet für mich nur eine Richtung an im Sinne eines *ὡς δυνατον πλειστα* und diese

differenziert, mehr eine Bestrebung als eine Erreichung. Man muß sich dabei immerhin bewußt bleiben, daß die Panopsis gerade für klinische Zwecke Bedeutung hat, wo es sich weniger um Ermittelung von speziellen Strukturen als um die Vornahme mikromorphischer Reaktionen handelt. Die Gefahr, daß man bei der Panopsis, sei dabei auch die höchste Differenzierung erreicht, am Ende durch eine gegenseitige Verschleierung der Elemente, der Sicherheit und Schnelligkeit der Schlußfolgerung schaden kann, liegt gerade beim Blute verhältnismäßig fern, und dieser Punkt ist wohl jetzt noch nicht erreicht. Für Spezialuntersuchungen (etwa für Centrosome, Altmann-Schridde'sche Granula usw.) mögen Spezialfärbungen ihr Recht behalten, soviel ich indessen sehen kann, wird das wenigstens bei der jetzigen Ausbildung der Technik nur in recht beschränktem Maße der Fall sein. Sehe ich weiter richtig, dann liegt augenblicklich für praktische Zwecke mehr die Aufgabe vor zu versuchen Unsicherheit und Kapriziösität auszuschalten als die Zahl der jetzt differenzierbaren Teile zu vergrößern. Diese Unsicherheit allein aus der Unfähigkeit des Untersuchers herzuleiten scheint mir, wie das Studium der Literatur ergibt, ungerecht. Hat man doch einerseits die Ursachen des Nichtgelingens in der Nichtbeachtung von allerlei Subtilitäten gesucht (Tadellose Filter! Verschiedene Alkaleszenzgrade des Blutes! Virginale Geräte! Täglich frisch selbstdestilliertes Wasser! Jenaer Glas! Cave Laboratoriumdämpfe! Färbereaktion ist nicht so einfach als eine chemische Reaktion! usw.), anderseits steht fest, daß man bei den üblichen Farbstoffen mit sehr komplizierten und labilen chemischen Körpern zu tun hat und auch von den besten Autoren auf das Unkonstante und Unregelmäßige der Resultate hingewiesen wird. In gleichem Sinne lautet eine Äußerung Pappenheims in Rücksicht auf seine eigene, panoptische Methode: „Sollte das Präparat durch irgendwelche Imponderabilien in den Kernen oder den Erythrozyten zu blau überfärbt sein, indem die Kerne strukturlos, die roten Blutkörperchen zu blaugrau, also basisch statt rosa erscheinen, so empfiehlt sich kurzes Einlegen des vorher völlig getrockneten Präparats in absolutem Alkohol". Es gibt aber noch eine zweite Schwäche in der Pappenheim'schen panoptischen Färbung, nämlich die auch von ihm selbst angegebene Undeutlichkeit und Schwäche, womit die neutrophilen Körner gefärbt werden. Beiden Schwächen abzuhelfen bin ich bestrebt gewesen.

Nachdem das Präparat in der angegebenen Weise fixiert (gebeizt) ist, kommt es, nach gründlicher Abspülung in destilliertem Wasser,

1 Minute in Kal. carbonic. $^0/_{00}$, wiederum Abspülen in destilliertem Wasser, 2 Stunden in

Destilliertes Wasser	$^1/_2$ cc
May-Grünwald	10 Tropfen

und dann eine halbe Stunde in

Destilliertes Wasser	$^1/_2$ cc
Giemsa	2 Tropfen

ersteres nach je einer halben Stunde, letzteres nach einer Viertelstunde zu erneuern.

Gegen die Anwendung von Objektträgern ist u. a. als Beschwerde angeführt worden, daß man mit Deckgläsern mehr ökonomisch arbeitet, speziell daß man nur geringere Quanta der immerhin kost-

6. $^2/_3$ Gr.

spieligen Farbstoffe zu verwenden braucht. Dieser Vorwurf ist berechtigt, kann aber leicht gegenstandslos gemacht werden, wenn man sich einer geeigneten Farbzelle bedient. Als solche empfehle ich die hier abgebildete (Fig. 6), wobei das Präparat an der oberen Fläche der zu Präzipitatbildung geneigten Flüssigkeiten sich befindet. Durch Paraffinränder (2. bzw. 1 und 0·5 mm dick) an den kurzen Seiten des als Unterlage dienenden Objektträgers läßt sich dies in einfachster Weise improvisieren.

Für die Hämatoxylinlösung und für das Eosin verzichte ich hierauf und verwende dabei mit Glasstöpsel versehene zylindrische Gefäße, in welche die Objektgläser auch bei Verschluß stehend passen. Um einem hinderlichen Ausgleiten der Gläser vorzubeugen, habe ich auf dem Boden eine Schicht Emailschrot in der Höhe von $^3/_4$ cm angebracht. Die Gläser sind dadurch in jeder Stellung sofort automatisch fixiert. Die Flüssigkeiten, welche die Gefäße bis zu einer Höhe von 3·5 cm ausfüllen müssen, sind praktisch fast unbeschränkt gebrauchsfähig.

VII. Zählung.

Die Vorschriften der Lehrbücher spiegeln wohl die Einigkeit wider, zu welcher man im allgemeinen hierbei gelangt ist, teilweise

findet man aber auch Angaben, die einander ziemlich schroff widersprechen. Was letzteres betrifft, weise ich beispielsweise darauf hin, daß über die Berechtigung, um bei einer Kammerfüllung rote und weiße Körperchen zugleich zu zählen, sehr verschieden geurteilt wird; daß über die Möglichkeit, die verschiedenen Leukozytenarten in der Kammer zu bestimmen, die Meinungen weit auseinandergehen; daß der eine beim Gebrauch der Zählkammer der Gebrauchsanweisung entsprechend eindringlich dagegen warnt, daß keine Flüssigkeit eindringen soll zwischen das Deckglas und die äußere aufgekittete Platte, was indessen ein anderer geradezu als einen Vorteil bezeichnet. Die Angaben über den bei der Leukozytenzählung nötigen Essigsäuregehalt laufen um das siebzehnfache auseinander und die Bedeutung dickerer Deckgläser wird sehr verschieden geschätzt. Einig scheint man im allgemeinen darüber zu sein, daß die Zählkammer die meisten Garantien bietet für Sicherheit der Resultate und daß der Gebrauch der Mischpipette[1] dabei sich unbedingt empfiehlt, so daß weder der Planzählobjektträger Geislers noch die von Bücker befürwortete Trennung der Pipetten, noch Ellermans und Erlandsens Methode sich allgemein haben einbürgern können. Zweitens besteht wohl darüber Einigkeit, daß eine Differentialzählung der Leukozyten in der Kammer doch nicht statthaft ist, mit Ausnahme der Feststellung der Zahl der Eosinophilen nach Zollikofer, Zappert oder Dunger. Mit der Methode, die Schüffner (München. med. Wochenschr., 1911, p. 1451) angegeben hat, habe ich nicht auskommen können.

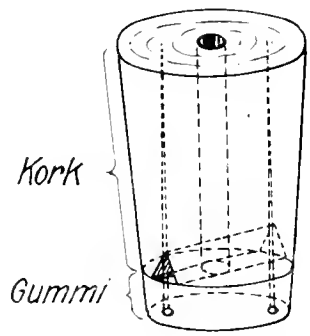
Im folgenden beschreibe ich zwei Methoden: mit der ersteren ist es möglich, die Erythrozyten, Leukozyten und Blutplättchen zu zählen, mit der letzteren zudem die Differentialzählung der Leukozyten. Ich möchte diese letztere daher als panarithmische Methode bezeichnen. Bevor ich zu deren Beschreibung übergehe ist es angebracht, hier zwei Bemerkungen einzuschalten. Erstens sei auf die merkwürdige Tatsache hingewiesen, daß die Blutplättchen in den letzten Jahren, im letzten Dezennium kann man sagen, für das allgemeine Interesse in den Hintergrund getreten sind. Es hat kurz zuvor eine Zeit gegeben, wo sowohl klinischerseits die Zählung (ich erinnere an

[1]) Diese muß selbstverständlich gut gereinigt sein. Zu diesem Zweck empfiehlt sich das Antiformin und zu dem endgültigen Trocknen, wodurch der Gebrauch des Äthers fast überflüssig wird, die Behandlung in der Zentrifuge. Die ganze Prozedur der Reinigung stellt sich dann folgendermaßen zusammen: Entleeren — Aufsaugen von Antiformin — Entleerung — Füllen mit destilliertem Wasser, Entleeren, Alkohol, Äther — Zentrifugieren.

die Arbeiten, im Anschluß an Hayem, von Laker, Muir, Cadet, Prus, Pisini, Fusari, Salvioli, Eberth und Schimmelbusch, Afanassiew, van Emden, Sacerdotti, Brodie und Russel u. a.), als seitens der histologischen Forschung (man denke an die epochemachenden Arbeiten von Deetjen, Dekhuyzen, Kopsch u. a.) den Plättchen das gebührende Interesse entgegengebracht wurde. Die erwähnte Tatsache spiegelt sich wieder deutlich in dem Inhalt der Lehr- und Handbücher in diesem Punkt ab. Zuweilen gar nicht erwähnt, werden sie überall in der Beschreibung stiefmütterlich behandelt; bei einer Zählmethode, die etwa die Hälfte der Mittelzahlen der Spezialarbeiten ergibt, legt man sich nieder; die Abbildungen sind mangelhaft, einander widersprechend und haben einen sehr gelegentlichen Charakter; Widersprüche zwischen Textangaben und Abbildung lassen sich nachweisen; bei der Beschreibung der Zählungsmethoden wurden die hierbei obwaltenden Schwierigkeiten meiner Ansicht nach nicht genügend berücksichtigt. Mit meiner zweiten Bemerkung möchte ich auf eine Besonderheit der hier zu beschreibenden Methoden hinweisen, nämlich auf das Sukzessive in der Einwirkung der bei der Mischung in Verwendung kommenden Flüssigkeiten. Dies ist um so nötiger, als man in unserer Zeit gerade der Färbung von Trockenpräparaten, kombiniert mit deren Fixierung, das Wort redet, ich denke, wie ich oben auseinandergesetzt habe, mehr von dem Uno-acto-Sirenensang betört als das Verfahren nach dem inneren Wert schätzend, während eben hier für die Kammerfärbung in einer entgegengesetzten Richtung abgelenkt wird. Ich möchte deshalb hier sagen, daß ich diesen „Schritt rückwärts" vollbewußt mache und sogar meine, daß mit dem Betreten dieses Weges bei einer eventuellen weiteren Ausbildung vielleicht nicht unbedeutende Früchte gezeitigt werden können.

Bevor ich genauere Angaben über die in Verwendung kommenden Flüssigkeiten mache, ist es hier an der Stelle zurückzukommen auf eine sub II gemachte Bemerkung, nämlich daß auch bei einem möglichst gut konstruierten Präzisionssauger das in der Ampulle der Chromozytenmischpipette befindliche Luftkissen als elastische Schaltmasse der genauen Regulierung der Blutsäule in dem kapillaren Teil der Pipette Abbruch tut. Ich habe mir hierin damit geholfen, daß ich, sobald das Blut die Marke 10 erreicht hat, mit dem Finger (mit dem verwundeten Finger selbst, wenn ich das eigene Blut untersuche) die untere Öffnung abschließe, mit Verdünnungsflüssigkeit eventuell das überschüssige Blut fortspüle (was bei der Kleinheit der Wunde, wobei keine Nachblutung auftritt, möglich ist) und den Finger mit der

Pipette in ein größeres Gefäß mit Verdünnungsflüssigkeit einführe. Schraubt man jetzt die Stellschraube etwas an und wird der Finger dann fortgezogen, so fließt Flüssigkeit in die Pipette hinein. Während der Mischung schließe ich die untere Öffnung der Pipette mit einem Kork ab, dessen Form aus der beigegebenen Figur 7 ersichtlich ist[1]. Die Rinne an der Unterseite des Korks hat den Zweck zu sorgen, daß beim Anschieben keine Luft in die Pipette eingepreßt wird. Ist eine Mischung beendet, so dreht man die Schraube eine wenig an, um den durch das Anschieben der Pipette in den oberen Teil der Ampulle entstandenen positiven Druck in einen negativen zu verwandeln, taucht das untere Ende der Pipette mit dem Kork in die nächste Flüssigkeit, löst den Kork ein wenig und saugt soviel Flüssigkeit nach als angegeben ist. Dann wird der Kork wieder angeschoben.



7. ($^1/_1$ Gr.)

Die Mischung wird bei beiden Methoden in drei Akten getrennt vorgenommen: die Vorverdünnung, die Fixierung und die Färbung. Bei der ersteren verwende ich für die drei Flüssigkeiten die nämliche Grundflüssigkeit, die bei der Vorverdünnung ohne weiteren Zusatz, bei der Fixierung und der Färbung mit entsprechenden Zusätzen verwendet wird. Die Grundflüssigkeit hat die Zusammensetzung:

Ammon. oxal. $(C_2[NH_4]_2O_4 \cdot H_2O)$	2
Glaubersalz[2] $(Na_2SO_4 \cdot 10\,H_2O)$	2·1
Destilliertes Wasser	100

[1]) An der unteren Fläche des Korks ist mittels zwei oder vier Stecknadeln eine Gummischeibe befestigt, an deren obere Fläche die Spitze des kapillaren Teils der Pipette anstößt, wodurch diese unten abgeschlossen wird. An der Außenfläche der Pipette ist eine Marke angebracht, bis zu welcher der Kork angeschoben werden muß, damit ein sicherer Verschluß erreicht wird.

[2]) Die Angabe „Natr. sulf." ist eine recht unsichere. Merck verzeichnet ein Natr. sulf. puriss. eryst., dem Glaubersalz der Arzneibücher entsprechend, mit obiger Formel: ein Natr. sulf. puriss. siccum mit der

Die Vorverdünnung dauert 5 Minuten und wird durch ein Drehen der fast horizontal gehaltenen Pipette zustande gebracht. Die Mischpipette ist dabei zu einem Drittel zuvor von oben gefüllt[1] worden

---

Formel $Na_2SO_4 \cdot H_2O$, ebenfalls in den meisten Arzneibüchern aufgenommen, und endlich ein Natr. sulf. puriss. anhydr. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß wenn diese weitgehenden Unterschiede nicht berücksichtigt werden, die Zahl der in einem bestimmten Volum sich vorfindenden Salzmoleküle eine stark auseinander laufende ist. Die Hayemsche Flüssigkeit kann so recht verschieden ausschauen. Bei der Feststellung des hier angegebenen Verhältnisses ist dies in Betracht gezogen worden.

[1]) Damit das Blut einerseits nur mit Flüssigkeit, nicht direkt mit der Glaswand der Pipette in Berührung kommt, um jeder Möglichkeit des Anklebens der Blutplättchen vorzubeugen, anderseits eine sofortige Verdünnung zu fördern, ohne indessen der Genauigkeit des Grades der stattfindenden Verdünnung zu schaden, verfahre ich folgendermaßen. An den in dem Bürettengestell in vertikaler Richtung sich befindenden Sauger wird die Pipette umgekehrt (Spitze nach oben) befestigt und jetzt mit der Verdünnungsflüssigkeit vollgesaugt bis zu der Stelle, wo der kapillare Teil der Pipette anfängt. Durch Andrücken des Saugers wird die Ampulle und zur Hälfte der oberhalb der Ampulle sich befindende Teil der Pipette (jetzt nach unten gewendet) entleert. Nimmt man jetzt das nach unten gewendete Ende der Pipette aus der Flüssigkeit und saugt man den Rest in die Ampulle, so ist diese etwa bis zu einem Drittel gefüllt und die Innenwand ist allseitig benetzt. Die einzusaugende, von einer, gleich zu beschreibenden kleinen Säule Benetzungsflüssigkeit bedeckte Blutsäule fließt dann nachher sofort in die Verdünnungsflüssigkeit und, da die Innenwand benetzt ist, geht die Vermischung schnell und regelmäßig vonstatten. Die Schwierigkeit, welche erwächst aus der Forderung einerseits, das Blut nicht mit Glas in Berührung zu bringen, dennoch den Verdünnungsgrad vollkommen genau bestimmen zu können, hebe ich in folgender Weise. Die jetzt etwa bis zu einem Drittel mit der Verdünnungsflüssigkeit gefüllte Pipette löse ich von dem Sauger, fasse sie fast horizontal, die Pipettenspitze immer etwas höher haltend, und schiebe jetzt das obere Ende der Pipette sozusagen in der normalen Weise an den Saugapparat an. In der beschriebenen, also etwas subhorizontalen Lage wird die Pipette mittels eines aus einem Zinkreifen angefertigten Hakens an dem Saugapparat fixiert. Benetzt man jetzt vorsichtig die Öffnung der Spitze mit einer gefärbten Flüssigkeit, deren Farbstoff bei der ganzen weiteren Prozedur indifferent ist, so läßt sich leicht die Pipette, z. B. bis zum Strich 1 mit Flüssigkeit bei Benetzung mit einem feuchten Glasstabe anfüllen. Saugt man jetzt Blut nach, so schiebt dies die kleine Flüssigkeitssäule vor sich her, etwa bis zu dem Strich 10. Das Blut kommt in dieser Weise nur mit schon benetzten Wänden in Berührung. Als „Benetzungsflüssigkeit" verwende ich bei der erst beschriebenen Zählungsmethode eine $^1/_4$prozentige Lösung von Chromotrop 6B in Grundflüssigkeit, bei der panarithmischen Zählung eine $^1/_4$prozentige Lösung von Chromotrop 6B in der Vorverdünnungsflüssigkeit. Daß bei der Berechnung eine entsprechende Korrektion stattfinden muß, ist selbstredend.

und muß durch sofortiges an die Blutsäule anschließendes Nachsaugen bis zu drei Fünftel nachgefüllt werden. Die Fixierflüssigkeit, die jedesmal frisch zu bereiten ist, besteht aus:

Grundflüssigkeit	7
Osmiumsäure 1%	1
Alkohol 96%	2

Die Fixierung dauert 1 Minute. Die Mischpipette wird dabei zu vier Fünfteln gefüllt. Für die Färbung verwende ich:

Grundflüssigkeit	19
Alkohol 96%	1

Hierin wird Methylviolett bis zur Sättigung gelöst. Nach Filtrierung kann die Flüssigkeit in einer dunklen Flasche aufbewahrt werden. Die Ampulle wird mit der Farbflüssigkeit weiter ausgefüllt. Die Färbung ist nach 5 Minuten fertig. Für die Mischung bei der Fixation, sowie bei der Färbung gilt übrigens das bei der Verdünnung Angegebene. Die Chromozyten haben die normale Form behalten, die diffus gefärbten Leukozyten sind für eine Gesamtzählung sehr kenntlich, die Plättchen sind mit vollkommener Sicherheit zu erkennen und eine Verwechslung mit Niederschlägen (etwa Kalziumoxalatkristallen) ist vollständig ausgeschlossen, wenn man, was bei der vollständigen Isolierung leicht ist, auf die Größe achtet, auf den Rand, der meist mit feinen Zähnchen (Fibrin?) besetzt ist, sowie auf eine eigentümliche Veränderung in den Licht- und Färbeverhältnissen bei Drehungen der Mikrometerschraube. Es ist notwendig bei der Zählung, welche immerhin nur nach der Sedimentierung vorgenommen wird, die dünneren Deckgläser (in dem Apparat von Zeiss die von 0·18 mm) zu verwenden. Als optische Zusammenstellung ist nötigenfalls verwendbar: Zeiss Objektiv DD, Kompensationsokular 8, oder ähnliches Gleichwertiges; die Ölimmersion ist im Grunde aber die allein zulässige.

Für die Zählung der Erythrozyten und Blutplättchen mit Differentialzählung der Leukozyten (panarithmische Zählung) kommt folgendes in Betracht:

Verdünnungsflüssigkeit:	Ammon. oxal. 4%	4	ccm
	Glucose 5%	1	„
	Natron (NaOH) 1‰	7	„
Fixierflüssigkeit:	Ammon. oxal. 4%	4	ccm
	Glucose 5%	1	ccm
	Natron (NaOH) ½‰	7	ccm
	Osmiumsäure 1%	1	ccm
Farbflüssigkeit:	Ammon. oxal. 4%	4	ccm
	Glucose 5%	1	ccm
	Destill. Wasser	7	ccm
	Azur II	30	mg

Mit der Verdünnungsflüssigkeit, die 3 Minuten einwirkt, muß ein Teil (etwa $^1/_3$) der Pipette zuvor von oben gefüllt werden und durch sofortiges an die Blutsäule anschließendes Nachsaugen bis zu $^3/_5$ nachgefüllt werden. Das einströmende Blut fließt dann gleich in die Flüssigkeit und dies ist für die Isolierung der Plättchen wichtig. Mit der Fixierflüssigkeit, die auch 3 Minuten einwirkt, muß zu $^4/_5$, mit der Farbflüssigkeit, welche 5 Minuten einwirkt, bis zur vollständigen Füllung der Ampulle nachgefüllt werden. Bei der ersten und bei der zweiten Füllung hat man darauf zu achten, daß die Flüssigkeit nicht die obere Öffnung der Ampulle berührt.

Es wird dem Einsichtigen ohne weiteres klar sein, daß die Formulierung obiger Rezepte[1] nicht ohne sehr zahlreiche Versuche möglich war. Nicht nur das Erreichen der gewünschten färberischen Resultate verursachte die Schwierigkeit, sondern auch das Vorbeugen störender Prozesse (Konglutination von Erythrozyten oder Plättchen, Chromozytolyse oder Chromozytorhexis, störende Präzipitatbildung usw. machte die Aufgabe zu keiner besonders leichten. Die Methode muß daher verhältnismäßig subtil sein, erheischt vor allem ein genaues Innehalten der angegebenen Zahlverhältnisse, ist dabei aber sicher. Die (Reaktions-) Bilder sind scharf und lassen Zweifel ausgeschlossen sein. Für die Plättchen wird durch Beachtung folgender Merkmale und deren allfälliges kombiniertes Zutreffen vollkommene Sicherheit gewährt. 1) Was die Größe betrifft, so beachte man, daß subnormale Exemplare immerhin selten sind. Es gibt daneben Makrothrombozyten, die, was ihre Größe betrifft, mit Mikroerythrozyten zusammenfallen können, diesen gegenüber aber durch die mehr oder weniger unregelmäßige Kontur und durch die mehr trübe Beschaffenheit zu erkennen sind. 2) Ganz runde Formen sind selten, Ei- und Ellipsenformen sind vorherrschend, öfters mit mehr oder weniger unregelmäßigen Konturen mit scharfen Spitzen (anhängende Fibrinfädchen?). 3) Die Farbe ist bei richtiger Einstellung des Objektivs leuchtend violettrot, bzw. mattblaugrau, dabei einigermaßen opak. Bei Höhenveränderungen des Objektivs tritt nie ein absolutes Dunkles und nie ein absolutes Helles ein, wie das etwa bei den im Präparat befindlichen kristallinischen Niederschlägen der Fall ist.

---

[1]) Ohne Zweifel läßt sich bei Verwendung der hier genannten Substanzen in einer anderen Zusammensetzung die Kernfärbung der Leukozyten bei erhaltenen Chromozyten in weit einfacher Weise erreichen, wenn man die Plättchen unberücksichtigt lassen darf. Meine diesbezüglichen Versuche sind jedoch noch nicht zu einem definitiven Abschluß gelangt.

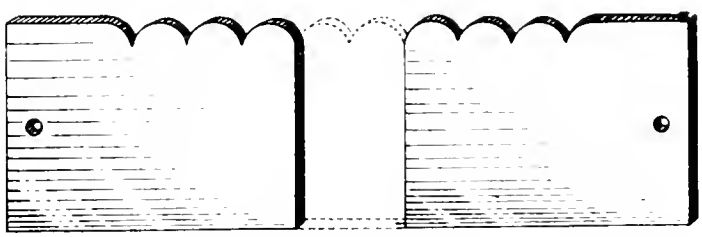
Der üble Ruf, worin die Plättchen durch die ihnen nachgesagte große Vulnerabilität stehen, scheint mir nach den Erfahrungen mit den obigen Methoden nicht verdient, im Gegenteil scheinen sie in vielen Hinsichten recht resistent zu sein. Der hohe Grad der Konglutinabilität mag die Vergänglichkeit vorgetäuscht haben.

Ehe die Flüssigkeit auf die Zählkammer gebracht wird, muß diese „histologisch rein" sein. Auch den Zählkammerobjektträger sowie das Deckglas reinige ich mit (kaltem) Königswasser, spüle tüchtig ab, reinige nach mit Äther-Alkohol. Bei schnellem und richtigem Handeln braucht man nicht zu fürchten, daß der Apparat zu Schaden kommt. Es mag vorteilhafter sein, den Tropfen (in der richtigen Größe!) nicht auf den Objektträger, sondern auf das Deckglas zu bringen und dies durch eine schnelle Schwenkung, wobei der Tropfen an seiner Stelle beharrt, umzudrehen. Das Anlegen braucht nicht übereilt zu geschehen, eine gleichmäßige Befeuchtung der Oberfläche des Objektträgers kann erreicht werden und einem Überfließen der nur teilweise sich ausfüllensollenden Rinne kann vorgebeugt werden. Eine unregelmäßige Verteilung der korpuskulären Elemente ist dabei nicht zu befürchten.

Schließlich möchte ich noch hier meine Erfahrungen über die zweckmäßigste Art der Registrierung[1] der Zählungsergebnisse mitteilen. Die Schwierigkeit, die Zählungstätigkeit durch die Tätigkeit des Aufschreibens jedesmal unterbrechen zu müssen, ist öfters gefühlt worden. Zu diesem Punkte möchte ich folgendes bemerken. Von vornherein ist mir klar gewesen, daß man bei dem Registrieren möglichst wenig in der Notwendigkeit sein muß, das mikroskopische Gesichtsfeld mit dem Auge zu verlassen. Die Registrierung oder Notierung muß sozusagen „blind" geschehen. Für die Registrierung empfiehlt sich ganz besonders die Schreibmaschine. Es ist sehr

[1]) Mit der Ausfüllung von Zähltafeln wird die hier genannte Schwierigkeit nicht gehoben. Die Verwendung einer zweiten Person zum Aufschreiben oder spezieller Registrierapparate wird wohl in der Minderheit der Fälle Anwendung finden können. In „Nederl. Tijdschr. v. Geneesk" rät Nieuwenhuyse (1913, p. 572) den Gebrauch eines deutlich tickenden Bandmaßes an, wo jeder Schlag einem weißen Blutkörperchen entspricht. Alle Arten von Leukozyten, mit Ausnahme der Neutrophilen, werden durch besondere Striche auf Papier notiert. Siegenbeek van Heukelom (ib., p. 1463) verwendet, weil er die eine Hand für den Objekttisch, die andere für die Mikrometerschraube braucht, eigene Registrierapparate, die mit dem Fuß bedient werden, wobei man am Ende für jede Leukozytenart einen besonderen Apparat, der auf dem Fußboden aufgestellt ist, haben muß.

einfach, jeden der Buchstaben der unteren Reihe des Klaviers für ein bestimmtes korpuskuläres Element zu bestimmen und auch ohne das Auge von dem mikroskopischen Gesichtsfeld abzulenken jedesmal die richtige Taste anzuschlagen. Nachher kann man jeden der entsprechenden Buchstaben ganz ruhig und direkt auszählen. Dabei ist selbstverständlich vorausgesetzt, daß die rechte Hand frei ist. Dies kann tatsächlich der Fall sein, wenn man, wie ich an meinem beweglichen Objekttisch, wenigstens für die Bewegung in querer Richtung, an der linken Seite auch eine Schraube hat. Der Daumen der linken Hand ruht an der Mikrometerschraube und bewegt diese nach Bedarf, während der kleine Finger an der Schraube für die Querbewegung des Objekttisches sich befindet und diese Schraube nach Bedarf dreht. Bei der angegebenen Vergrößerung kann ich bequem 100 kleine Quadrate der Zeiss'schen Kammer auszählen.



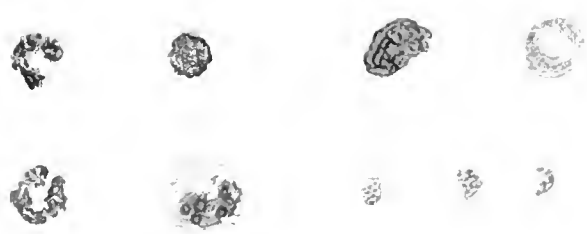
8. ($^2/_3$ Gr.)

ohne mit der die sagittale Bewegung besorgenden Schraube arbeiten zu müssen. Während dieser Zeit bleibt also die Hand für die Registrierung frei. Trotz der vielen Vorteile betrachte ich dennoch die Verwendung der Schreibmaschine als zu kompliziert und möchte ich auf eine außerordentlich einfache Vorrichtung, die ich mir angefertigt habe und die ich besonders empfehlen kann, hinweisen. Das in der Figur 8 abgebildete „Zähllineal" besteht aus einem Messingstreifen ($23 \times 3 \times 0{\cdot}3$ cm; Gewicht 160 g). Es befinden sich in der Längsachse in einer Entfernung von 20·7 cm zwei Löcher, durch welche ein Reißbrettnagel in den Tisch eingesteckt werden kann, wobei das Lineal etwa 10 cm rechts und etwas vor dem Mikroskop liegt. An der rechten Seite hat das Lineal in regelmäßigen Entfernungen 25 Einkerbungen (4 mm tief, gegenseitige Entfernung 7·5 mm). Unter dem Lineal befindet sich das Papier ($3{\cdot}92 \times 20{\cdot}6$ cm), also mit der kurzen Dimension zwischen die Nagelspitzen passend und dabei zwischen diesen gerade noch beweglich, anderseits durch das Gewicht des Lineals genügend fixiert, so daß bei dem Schreiben keine Verschiebungen

stattfinden. Man fängt damit an, daß man rechts von dem rechten Rande des Lineals ungefähr 6 cm frei hat, um darauf die erste Reihe der 25 Notizen zu machen und dann damit das Papier eine Linealbreite (die zuvor achtmal mit Bleistiftstrichen auf dem Papier notiert ist) weiter nach rechts zu ziehen, sobald man eine Reihe voll hat. Der Bleistift (eine harte Marke, etwa H. H. H., mit guter Spitze) wird in die obige Einkerbung eingesetzt, von hier aus schreibt man alle eventuellen Ziffern (deren Bedeutung in der Reihenfolge man natürlich zuvor für sich festgestellt haben muß) in der Richtung nach rechts nebeneinander und führt schließlich die Spitze des Bleistifts den nämlichen Weg entlang in die Einkerbung zurück. Dann führt man die Bleistiftspitze, immer gegen die rechte Seite des Lineals drückend, nach unten, bis sie in die zweite Einkerbung einschnappt. Dann wiederholt sich das Spiel. Es ist überraschend, welche regelmäßigen Reihen man bei geschlossenen Augen erhält, z. B. wenn man jedesmal acht Ziffern notiert (etwa vier für vier Neutrophilenarten wie Schilling-Torgau [l. c.] für die Arneth-Methode angibt, und weiter vier für Lymphozyten, Monozyten, Eosinophilen und Mastzellen). Sobald die Bleistiftspitze die letzte Einkerbung sozusagen ausgenutzt hat, zeigt sie automatisch an, daß eine Verschiebung des Papiers nötig ist. Wenn man die 400 Quadrate ausgezählt hat, ist das Papier voll.

VIII. Zeichnen.

Die zeichnerische und farbige, wissenschaftlich und praktisch vollkommen genügende Wiedergabe blutfärberischer Ergebnisse durch den Mikroskopiker selbst ist eine so einfache Sache, daß sie in allen vorliegenden Fällen, die irgendein besonderes Interesse beanspruchen, ausgeführt werden sollte, und die Bildung eines Albums innerhalb des Bereiches eines jeden, auch des sonst in der Kunst des Zeichnens gar nicht Ausgebildeten, fällt. Wenn man sich über gewisse Punkte vereinbart, was auf Grund des Auf-der-Hand-Liegens der betreffenden Vorschläge keine Schwierigkeit machen dürfte, kann man leicht zu einer von allen zu befolgenden Normal-Methode kommen. Nichts zwingt so zu einer wirklich objektiven Analyse — die Ehrlichkeit, Unpräokkupiertheit und Phantasiefreiheit des Untersuchers vorausgesetzt — als die zeichnerische und beim Blute selbstverständlich auch farbige Wiedergabe des Bildes. Zu einer Normal-Methode gehört in erster Linie eine Normal-Vergrößerung. Ich möchte diese



auf 1000 vorschlagen. Daß man bei allem diesem allein mit der Immersionslinse auskommt, steht ja doch ohnehin außer Frage. Der Normalerythrozyt zu 7·5 μ sei weiter „das Maß aller Dinge“. Im Verhältnis zu dieser Einheit kann man leicht und sicher ohne weitere Hilfsmittel (Zeichenapparate, Okular- und Objektivmikrometer) alle vorkommenden Bilder durch Abschätzung, höchstens von einem Millimetermaß unterstützt, praktisch vollkommen genügend genau wieder geben. Die Aureole irgendeiner „objektiven“ Methode ist nicht nur entbehrlich, sondern mit Rücksicht auf die Verallgemeinerung des Verfahrens eher schädlich.

Wichtig ist ferner, daß man die Farbflüssigkeiten fertig vor sich stehen hat. Die Rezepte müssen vorsätzlich aus den in allen Laboratorien vorfindlichen Farbstoffen zusammengesetzt werden. Nachdem mittels eines harten Bleistiftes alle Umrisse sehr dünn angegeben sind und auch eventuell diffuse Mattierungen (Opazitäten) angebracht sind, werden erst die mehr diffusen Färbungen (etwa ein ganzer Erythrozytenleib) vorgenommen und dann alle mehr lokalen Färbungen (Striche, Punktierungen usw.) hinzugefügt. Für diffusere Färbung empfiehlt sich ganz besonders der Gebrauch einer Glasfeder, die bis zu einem gewissen Grade die Weichheit der Pinsel mit der Schärfe der Stahlfeder verbindet.

[Eingegangen am 30. November 1914.]

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität in Graz.]

Über die Fluoreszenz der Chlorophyllkomponenten.

Von

Dr. A. Wilschke.

I. Historisches.

Bei den zahlreichen Untersuchungen über die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Chlorophyllfarbstoffe ist von den meisten Beobachtern auch der Fluoreszenz Aufmerksamkeit geschenkt worden, ohne daß jedoch mehr als die Farbe des Fluoreszenzlichtes angegeben wurde.

Die Fluoreszenz von alkoholischen Blattauszügen wurde 1834 durch Sir David Brewster (1, p. 563) entdeckt und unter dem Namen „innere Dispersion" beschrieben. Stockes (30, p. 480), der sich späterhin mit diesem Phänomen befaßte, wies die Chlorophyllfluoreszenz bei zahlreichen Pflanzenextrakten nach. Hagenbach (7, p. 508 ff.), der das Fluoreszenzlicht einer Chlorophyllösung als erster spektroskopisch untersuchte, findet den Beginn der Erregung bei $\lambda = 68{\cdot}7$. An einer frischen, ätherischen Lösung beobachtete er zwei Fluoreszenzmaxima, bei 67·9 und 65·0, von denen das erste bedeutend stärker ist. Außer von Hagenbach wurden Chlorophyllösungen bezüglich ihrer Fluoreszenz auch von Lommel (16, p. 568), der das Fluoreszenzmaximum bei 67·4 und von Linhardt (15, p. 1), der das Maximum bei 67·2 fand, untersucht. Während man früher allgemein annahm, daß das Chlorophyll nur in Lösung fluoresziere, im Blatte selbst aber nicht, gelang es Simmler (28, p. 603), Reinke (23, p. 265) und Hagenbach (8, p. 303) nachzuweisen, daß das Chlorophyll auch im Blatte selbst die rote Fluoreszenz erkennen lasse. Engelmann (5, p. 80) versuchte die Fluoreszenz einzelner Chloroplasten nachzuweisen, jedoch infolge ungeeigneter Methodik mit negativem Erfolg. Erst Tswett (33, p. 744), gelang es mit Hilfe des Reichertschen Fluoreszenzmikroskopes die Fluoreszenz der Chromatophoren zu beobachten.

Ein wesentlicher Fortschritt in der Untersuchung der Fluoreszenzerscheinungen wurde eingeleitet durch die Konstruktion des Fluoreszenzmikroskopes, welches zuerst die Firma Reichert und später mit Verbesserungen die Firma Zeiss als Luminiszenz-Mikroskop in den Handel brachten. Dieses Instrument ermöglicht es, die durch Strahlen hoher Brechbarkeit im Chromatophor erregte Fluoreszenz in bequemer Weise zu betrachten und das ausgestrahlte Licht spektroskopisch zu untersuchen.

Auf Anregung meines sehr verehrten Chefs, Herrn Professor Dr. Karl Linsbauer, versuchte ich mit Hilfe des Fluoreszenzlichtes die Zusammensetzung des Chlorophyllfarbstoffes in bezug auf die einzelnen fluoreszierenden Komponenten bei verschiedenen Chromatophorenpigmenten klarzulegen. Für die vielfachen, wertvollen Ratschläge und das Interesse an dieser Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. Karl Linsbauer auch an dieser Stelle auf das herzlichste.

II. Methodik.

Zu meinen Untersuchungen stand mir ein Reichertsches Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung. Bezüglich der einzelnen Teile eines solchen Apparates verweise ich auf die diesbezüglichen Abhandlungen von Reichert (22, p. 1010), und Lehmann (14, p. 417). Zur Optik will ich nur bemerken, daß ich stets mit dem „Euphos"-Deckglas arbeitete. Lehmann (14, p. 425) erkannte, daß bei Anwendung eines Kondensors mit Sternblende ein zu starker Lichtverlust eintritt; er ermittelte daher ein Glas, welches ein schwaches Absorptionsband im äußersten Rot und im Violett besitzt, an welches letztere sich unmittelbar die totale Absorption des Ultraviolett anschließt. Durch diese totale Absorption des Ultraviolett ist ermöglicht, das gesamte, ultraviolette Licht der Lampe zur Erregung der Fluoreszenz zu verwenden und außerdem auch noch die Fluoreszenz des optischen Systems und eine Schädigung der Augen zu vermeiden. Die Beeinträchtigung der Farbe des fluoreszierenden Körpers durch Absorption dieses Deckglases ist nur ganz verschwindend und praktisch bedeutungslos (14, p. 426). — Bezüglich der Quarzküvette, die als Lichtfilter diente, erwähne ich, daß die eine Kammer mit 20prozentiger Kupfersulfatlösung, die andere mit Nitrosodimethylanilin in einer Verdünnung von 1:12000 gefüllt war. Als Immersion zwischen Quarzkondensor und Quarzobjektträger wurde stets destil-

liertes Wasser verwendet, denn Glyzerin zeigte stets eine schwachblaue Fluoreszenz. — Die Untersuchung der lebenden Objekte erfolgte teils in destilliertem Wasser, teils (bei Meeresalgen) in filtriertem Meerwasser. Zuerst wurden die Objekte in lebendem Zustand betrachtet und das Spektrum des Fluoreszenzlichtes mit Hilfe eines Abbeschen Okularspektroskopes von Zeiss beobachtet. Dieses Okularspektroskop besitzt eine einstellbare Ångström-Skala, welche man auf die Weise einstellt, daß die Natriumlinie genau auf den Strich 68·9 fällt. Auf diese Weise war es möglich, das Fluoreszenzlicht des Chlorophylls sowohl im lebenden Chromatophor als auch im abgetöteten und in Lösung spektroskopisch genau zu analysieren. — Nach Beobachtung im lebenden Zustande wurden die Objekte in siedendem Wasser getötet und nun ebenfalls wieder auf ihre Chlorophyllfluoreszenz untersucht. Um auch den Farbstoff in Lösung zu determinieren, wurden zwei Extraktionsmethoden in Anwendung gebracht. Einerseits wurde das Material, stets in reinem Zustande, kurz mit destilliertem Wasser abgespült, zwischen viel Filterpapier abgetrocknet, mit 96prozentigem Alkohol extrahiert und diese alkoholische Lösung auf ihre Fluoreszenz geprüft. Anderseits wurde das Material nach gleicher Vorbehandlung (Waschen, Abtrocknen) nach den Angaben von Tswett (32, p. 388) mit alkoholischem Petroläther (10prozentig) extrahiert, um mit dieser Lösung nach Entfernung des Alkohols ein Tswettsches Chromatogramm herzustellen. — Um die Farbstofflösung überhaupt bequem mit dem Fluoreszenzmikroskop betrachten zu können, wurde ein gewöhnlicher Objektträger in der Mitte halbmondförmig ausgeschnitten und beiderseits je ein Quarzglasobjektträger (20 × 25) mittels Emaillack befestigt. Man erhielt auf diese Weise eine kleine Küvette, die für die ultravioletten Strahlen vollständig durchlässig war. Auf der dem Objektiv zugewendeten Seite der Küvette wurde in der Mitte mittels destillierten Wassers ein Euphos-Deckglas angeheftet, das für die Untersuchung genügend lange haften blieb.

Tswett (32, p. 384) hat bekanntlich eine Methode ausfindig gemacht, die es ermöglicht, die einzelnen Chlorophyllkomponenten und auch die anderen nicht fluoreszierenden Farbstoffe voneinander zu trennen. Die chromatographische Analyse erlaubt es, wenigstens makroskopisch in der Mehrzahl der Fälle die einzelnen Farbstoffkomponenten scharf getrennt voneinander zu erhalten. Bei der Adsorption wurde folgendermaßen nach Tswett vorgegangen. Das frische Material wurde mit destilliertem Wasser gewaschen, zwischen

viel Filterpapier getrocknet und mit Petroläther, dem 10 Prozent absoluter Alkohol zugesetzt worden war, extrahiert. Die petrolätherische-alkoholische Lösung wurde ausgiebig mit destilliertem Wasser gewaschen, um den Alkohol zu entfernen. Diese nun reine Farbstofflösung in Petroläther wurde durch das mit dem Adsorptionsmittel beschickte Filterröhrchen unter mäßigem Saugen der Wasserstrahlpumpe durchgezogen. Ein derartiges Filterröhrchen hatte, abgesehen von dem dünnen Teil, einen inneren Durchmesser von 15 mm und eine Länge von 55 mm. Auf dem Grunde des Röhrchens wurde ein Wattepfropf befestigt und frisch getrocknetes Kalziumkarbonat mit Hilfe eines Glasstabes, an dem ein engpassender Kork befestigt war, in dem Röhrchen bis zu einer Höhe von 35 mm festgestampft, so daß eine möglichst homogene Säule entstand. Vor dem Durchsaugen der Farbstofflösung ist es zweckmäßig, erst reinen Petroläther durchzuziehen. Ist die Farbstofflösung durchfiltriert, wäscht man mit reinem Petroläther nach, damit sich die Adsorptionszonen ausbreiten und ihre maximale Differenzierung erhalten. In vielen Fällen gelingt es nun, speziell wenn man viel Sorgfalt auf die Herstellung der Adsorptionssäule verwendet, sehr schöne Chromatogramme zu erzielen; es zeigte sich aber auch sehr oft, daß trotz der makroskopischen Trennung der Farbstoffe doch noch Spuren der einen z. B. der *b*-Chlorophyllkomponente in der Adsorptionszone der *a*-Komponente mit Hilfe der Fluoreszenzmethode nachgewiesen werden konnten. Dies ist ein Beweis für die außerordentliche Empfindlichkeit der Fluoreszenzmethode zur Erkennung der fluoreszierenden Chlorophyllkomponenten, nachdem für die mikrospektroskopische Untersuchung außerordentlich kleine Fragmente genügen. Es scheint mir also, daß die chromatographische Methode nicht unbedingt geeignet ist, eine quantitative Trennung der einzelnen Komponenten zu gewährleisten. — Ist das Chromatogramm hergestellt, wird die Säule vorsichtig aus dem Röhrchen herausgeschoben, mit dem Rasiermesser in die einzelnen Zonen zerlegt, diese gesondert in 96prozentigem Alkohol aufgelöst und die einzelnen Lösungen im Fluoreszenzlicht spektroskopisch untersucht.

III. Experimenteller Teil.

Tswett (33, p. 744) war der erste, der das Fluoreszenzlicht lebender Chromatophoren untersuchte. Bei *Spirogyra* und *Elodea* beobachtete er ein doppeltes Band:

Band I. λ 68·5—67·0
„ II. λ 66·0—65·0.

Nach seiner Ansicht entspricht das erste Band der Chlorophyllkomponente *a*, das zweite der Komponente *b*. Bei *Oscillaria* sah er ein breites, rotes Band:

λ 67·0—63·0,

woraus er schließt, daß außer der Chlorophyllfluoreszenz auch noch wasserlösliche Komponenten des Farbstoffes beteiligt seien. Lehmann (14, p. 468), der anläßlich der Prüfung des Zeissschen Luminiszenzmikroskopes nebenher *Diatomeen* und Grünalgen untersuchte, beobachtete nur ein Band im roten Teile des Spektrums, dessen Lage mit der des Bandes im Chlorophyllspektrum übereinstimmt.

Wenngleich nach Willstätters (36, p. 1ff.) ausgedehnten und hervorragenden Untersuchungen sich das Chlorophyll stets durch die Konstanz der grünen Komponenten, nämlich *a* und *b*, auszeichnet, so schien es mir doch nicht unmöglich, daß in besonderen Fällen Ausnahmen auftreten könnten. Es wurde daher vergleichsweise auch die Chlorophyllfluoreszenz möglichst verschiedenartiger Objekte zur Untersuchung herangezogen.

Untersucht wurden zunächst nur folgende Pflanzen:

Chrysomonadineen:	*Hydrurus foetidus*	
Diatomeen:	*Nitschia Palea* (Reinkultur)	
	Diatoma hiemalis	natürl. Reinkulturen
	Melosira varians	
Phaeophyceen:	*Fucus virsoides*	
	Dictyota dichotoma	
	Cystosira barbata	
Chlorophyceen:	*Ulva lactuca*	
	Zygnema stellinum	
Angiospermen:	*Neottia nidus avis*	
	Elodea canadensis	
	Urtica dioica	
	Pistacia vera (Samen)	
	Cuscuta glomerata	
	Lathraea squamaria	
	Triticum sativum	etiolierte Keimlinge.
	Zea Mays	

Angiospermen.

Elodea canadensis.

Betrachtet man frische Blätter im Fluoreszenzmikroskop, so erblickt man die einzelnen Chloroplasten in prachtvoll roter Fluoreszenz und mit Hilfe des Spektroskopes kann man deutlich zwei rote Bänder unterscheiden:

Band I. λ 68·0—66·0
„ II. λ 66·0—65·5.

Band I tritt sehr deutlich und scharf auf, Band II schließt eng an das erste an, zeigt jedoch eine bedeutend geringere Intensität und ist gegen die ultravioletten Strahlen außerordentlich empfindlich. Schon nach kurzer Zeit verschwindet das Fluoreszenzband II und es ist nur das Band I zu sehen. Tswett (33, p. 745) beobachtete etwas Ähnliches, doch zeigte sich nach seiner Mitteilung:

Band I bei λ 68·5—67·0
„ II bei λ 66·0—65·0.

Diese Verschiedenheit führe ich darauf zurück, daß Tswett nur mit Sternblende untersucht hat, nicht mit dem Euphos-Deckglas. Es ist sehr wahrscheinlich, daß bei der geringen Lichtintensität, die die Sternblende zuläßt, ein weiterer Abstand der Bänder voneinander beobachtet wird, als bei voller Lichtintensität, wo die Bänder außerordentlich scharf und deutlich auftreten.

Die Angaben über die Lage und Breite der Emissionsbänder sind Durchschnittswerte, aus einer größeren Anzahl von Beobachtungen gewonnen. Es zeigten sich nämlich mitunter geringfügige Differenzen: derartige Ablesungfehler schwankten zwischen 1 bis 4 Zehntel.

Die Bänder I und II entsprechen nun den beiden Chlorophyllkomponenten *a* und *b*, oder wie Tswett sie bezeichnet, den Chlorophyllinen α und β. Band I entspricht der Fluoreszenz der *a*-Komponente, Band II der Fluoreszenz der *b*-Komponente.

Daß das normale Chlorophyll aus zwei Komponenten besteht, ist, abgesehen von den früheren Beobachtungen, durch umfassende Untersuchungen von Willstätter (36) erhärtet worden. Nach diesem Forscher besitzt die *a*-Komponente tiefrote Fluoreszenz, die *b*-Komponente dagegen eine mehr braunrote. Bei meinen Beobachtungen konnte ich jedoch keine derartigen Unterschiede in der Fluoreszenzfarbe der beiden Komponenten feststellen. Die gleichen

Beobachtungen bezüglich der Fluoreszenz der Chlorophyllkomponenten wurden auch an Lösungen von Brennesselblättern, die nach den Angaben von Willstätter (36, p. 47, 54, 73) getrocknet und mit wasserhaltigem Azeton extrahiert worden waren, gemacht. Es zeigten sich auch hier die Komponenten *a* und *b*, nur etwas gegen das ultraviolette Ende des Spektrums verschoben:

Band I. λ 67·0—65·5
„ II. λ 65·5—65·0.

Pistacia vera.

Lopriore (17, p. 393) zeigte, daß die grüne Farbe der Pistaziamandel durch Chloroplasten bedingt wird, welche sehr zahlreich in der Kotyledonarmasse vorhanden sind. Durch die spektroskopische Untersuchung konnte er das Vorhandensein von Chlorophyll nachweisen. Ich untersuchte nun mit Hilfe der Fluoreszenzmethode dieses Chlorophyll und es zeigte sich, daß es die beiden Komponenten *a* und *b* enthält:

Band I. λ 68·0—66·0 . . . . *a*
„ II. λ 65·8—65·3 . . . . *b* } im Schnitt.

In der petrolätherischen sowie alkoholischen Lösung treten gleichfalls die beiden Bänder auf, nur etwas gegen das violette Ende des Spektrums verschoben:

Band I. 67·0—65·5 . . . . . *a*
„ II. 65·5—65·0 . . . . . *b*.

Cuscuta glomerata[1].

Diese gelbgefärbte Schmarotzerpflanze, die besonders an den jungen Spitzen zart grün gefärbt war, zeigte gleichfalls die für das Chlorophyll der grünen Pflanzen charakteristischen Fluoreszenzbänder:

[1]) In Übereinstimmung mit den bisherigen Befunden konnte mit Hilfe der Fluoreszenzmethode bei *Lathraea squamaria* kein Chlorophyll nachgewiesen werden. Desgleichen fehlt die Chlorophyllfluoreszenz vollständig in etiolierten Pflanzen (Mais- und Weizenkeimlinge). In den Extrakten dieser Pflanzen, die mit Methylalkohol gemacht wurden, konnte nur ein stark blau fluoreszierender Stoff beobachtet werden, der vielleicht die Ursache der von Hausmann und von Portheim (9, p. 51) beobachteten photodynamischen Wirkung solcher Extrakte auf rote Blutkörperchen ist. Daß diese photodynamische Wirkung nicht auf Spuren von Chromatophorenpigmenten zurückzuführen ist, zeigt das Ergebnis der überaus empfindlichen Fluoreszenzmethode.

Band I. λ 68·0—66·0 „ II. λ 65·8—65·5	}	im lebenden Chromatophor
„ I. 67·5—65·8 „ II. 65·8—65·3	}	in heißem Wasser abgetötet
„ I. λ 67·0—65·5 „ II. 65·5—65·0	}	in alkoholischer oder petrolätherischer Lösung.

Chlorophyceae.

Ulva lactuca.

Untersucht man frische Thallusstücke von *Ulva* in filtriertem Meerwasser, so zeigt sich eine prachtvoll rote Fluoreszenz der einzelnen Chloroplasten. Das Spektrum läßt deutlich die charakteristischen zwei Emissionsbänder erkennen:

Band I. λ 68·0—66·0 . . . . Chlorophyll *a*
„ II. 65·8—65·5 . . . . Chlorophyll *b*.

Tötet man ein Thallusstück in siedendem Wasser, so sieht man im gewöhnlichen Licht eine Quellung der Chloroplasten und die nun auftretenden Fluoreszenzbänder sind wie bei *Cuscuta* gegen den violetten Teil des Spektrums verschoben. Es erscheint:

Band I bei λ 67·5—65·8
„ II bei λ 65·8—65·3.

Extrahiert man eine größere Menge frischen Materials mit alkoholischem Petroläther und untersucht das Fluoreszenzlicht der Lösung spektroskopisch, so zeigen sich wieder die zwei für das Phanerogamenchlorophyll typischen Bänder:

Band I. 67·0—65·5
„ II. 65·5—65·0.

Ein mit der gereinigten Petrolätherlösung hergestelltes Chromatogramm läßt folgende Zonen erkennen:

I. Zone: farblos: nach Auflösung in 96prozentigem Alkohol keine Fluoreszenzerscheinung, abgesehen von der schwachen Fluoreszenz des Alkohols von λ 61—46.
II. Zone: gelbbraun: keine Fluoreszenz; dürfte durch Xanthophyll tingiert sein.

III. Zone: olivgrün: sehr schmal, ließ in alkoholischer Auflösung einen schwachen roten Streifen von λ 65·5—65·0 erkennen = Chlorophyll *b*.

IV. Zone: blaugrün: in alkoholischer Auflösung ein starkes, rotes Band von λ 67·0—65·5 = Chlorophyll *a*.

V. Zone: hellgelb: ohne Fluoreszenz, wahrscheinlich ein Xanthophyll.

VI. Zone: dunkelgelb: zeigt das gleiche Verhalten wie Zone II und V.

VII. Zone: farblos: ohne Fluoreszenz.

Filtrat: gelb gefärbt: ohne Fluoreszenz. Dieser Farbstoff ist nach Tswett (25, p. 391) mit Karotin identisch.

Die gleichen Verhältnisse bezüglich der Chlorophyllkomponenten *a* und *b* zeigte auch *Zygnema stellinum*. In allen bisher angeführten Fällen war das Chlorophyll konstant aus den fluoreszierenden Komponenten *a* und *b* zusammengesetzt.

Bemerkenswert ist ferner, daß beim Abtöten mit siedendem Wasser stets eine Verschiebung der beiden Bänder gegen den blauen Teil des Spektrums eintritt, ebenso auch bei Extraktion mit Alkohol oder Petroläther, wo noch eine stärkere Verschiebung resultiert. Wesentlich interessanter gestaltete sich die Untersuchung von Pflanzen mit gelbbraunen Chromatophorenpigmenten.

Phaeophyceen.

Fucus virsoides.

Betrachtet man Schnitte durch den Thallus von *Fucus*, die man vorher ausgiebig in filtriertem Meerwasser gewaschen hat, (es diffundiert nämlich aus den angeschnittenen Zellen ein stark blau fluoreszierender Stoff heraus, der die Chlorophyllfluoreszenz beeinträchtigt), so zeigen die einzelnen Chromatophoren eine blutrote Fluoreszenz, die im Spektroskop nur ein starkes, rotes Band:

$$\lambda\ 68{\cdot}0—66{\cdot}0$$

erkennen läßt. Im Absorptionsspektrum liegt das erste Band bei:

$$\lambda\ 67{\cdot}0—65{\cdot}0.$$

Gibt man ferner Schnitte in siedendes Wasser, so tritt momentan eine Grünfärbung ein, die Chromatophoren zeigen nun eine etwas

schwächere Fluoreszenz, im Spektroskop aber treten zwei, scharf voneinander getrennte Fluoreszenzbänder auf:

Band I. λ 67·5—65·8
„ III. λ 64·0—63·3.

Band III ist also von dem Band II, das bei Phanerogamen und Chlorophyceen beobachtet wurde, deutlich verschieden, einerseits durch die Lage bei λ 64·0—63·0, anderseits durch die fast gleiche Helligkeit mit Band I und, wie später gezeigt werden soll, durch das verschiedene Verhalten gegenüber Lösungsmitteln. Es ist nun wohl kaum zu zweifeln, daß, wie schon Sorby und Reinke fanden und später Tswett (31, p. 235) genau feststellte, die Chromatophoren der *Fucoideen* wenigstens im Tode zwei Chlorophyllkomponenten enthalten, nämlich einerseits *a*, welche mit der gleichen Komponente der grünen Pflanzen vollständig übereinstimmt, anderseits eine Komponente, die ich Chlorophyll *c* nenne, Tswetts Chlorophyllin γ, die scharf von der zweiten Komponente *b* der grünen Pflanzen unterschieden ist.

Tswett (31, p. 241) stellt eine Lösung von Chlorophyllin γ = Chlorophyll *c* in der Weise her, daß er *Fucus* in 96prozentigem Alkohol erwärmt. Er erhält Lösungen, die wenig Chlorophyll *a* und Karotin, aber viel Fucoxanthin = Phykoxanthin Kylin (13, p. 222) und Chlorophyllin γ enthalten. Mittels Petroläther werden diese Lösungen von Karotin und Chlorophyllin *a* gereinigt. Schüttelt man weiter mit Petroläther unter reichlichem Wasserzusatz aus, so ist es möglich, die beiden Farbstoffe getrennt zu erhalten. Fucoxanthin geht in den Petroläther über und Chlorophyllin γ bleibt im wässerigen Alkohol suspendiert, woraus es mit Äthyläther aufgenommen werden kann. Tswett findet für diese dritte Chlorophyllkomponente ein sehr charakteristisches Absorptionsspektrum:

I. 63·8—62·2. II. 58·8—57·5. III. 46·5—44·0 (in Äther).

Willstätter (36, p. 121), der gleichfalls das Chlorophyll der Fucoideen in den Kreis seiner Untersuchungen zog, erhält bei raschem Verarbeiten frischer Braunalgen mit kalten Lösungsmitteln keine Spur von dieser dritten Komponente, die Extrakte zeigen das Absorptionsband bei λ 63·0 nicht. Nur aus nicht mehr frischen oder aus getrockneten Phäophyceen erhielt er wiederholt Lösungen, welche dieses Chlorophyll aufweisen. Willstätter (36, p. 122) schließt also aus seinen Beobachtungen, daß die dritte Komponente kein

natürlicher Farbstoff ist. Bezüglich der *b*-Komponente bemerke ich, daß Tswett (31, p. 243) schon auf ihr Fehlen im Chlorophyll der Phaeophyceen aufmerksam machte, während Willstätter (36, p. 122) das Vorkommen der *b*-Komponente in Spuren konstatierte. Bei meinen Untersuchungen nun konnte die *b*-Komponente nicht nachgewiesen werden und ich vermute, daß sie tatsächlich fehlt. Aus den folgenden Versuchen dürfte dies noch klarer hervorgehen.

Extrahiert man nach der eingangs beschriebenen Methode frisches *Fucus*-Material mit alkoholischem Petroläther, so zeigt die Lösung nur das Fluoreszenzband der *a*-Chlorophyllkomponente

Band I. λ 67·0—65·5.

Ein mit der gereinigten Petrolätherlösung hergestelltes Chromatogramm ließ folgende Zonen erkennen:

I. Zone: farblos: keine Fluoreszenz.
II. Zone: gelbbraun: keine Fluoreszenz, Xanthophyll.
III. Zone: blaugrün: zeigte ein starkes, rotes Band.
IV. Zone: gelb: } ohne Fluoreszenz, Xanthophyll.
V. Zone: gelb: }
Filtrat: gelb: Karotin, zeigte gleichfalls keine Fluoreszenz.

Die Angabe von M. Ch. Dhéré (4, p. 16), der eine Fluoreszenz des Karotins in petrolätherischer Lösung konstatieren zu können glaubte, dürfte auf der Nichtbeachtung der Eigenfluoreszenz des Petroläthers von:

λ 61·0—45·0

beruhen. Ich konnte niemals einen Unterschied in der Fluoreszenz einer reinen Petrolätherlösung und einer solchen, in welcher Karotin gelöst war, beobachten.

In dem petrolätherischen Extrakte von *Fucus* ist also, im Gegensatz zu den gleichen Lösungen der grünen Pflanzen, nur eine Chlorophyllkomponente, nämlich *a* enthalten.

Wurde das mit Petroläther ausgelaugte Material mit 96prozentigem Alkohol extrahiert und nun diese Lösung auf ihre Fluoreszenz geprüft, so erschienen überraschenderweise zwei Bänder, nämlich Band I von λ 67·0—65·5, welches dem Chlorophyll *a* entspricht und davon herrührt, daß in den Petroläther nicht die gesamte

Komponente in Lösung übergegangen war, und weiter das schon oben beschriebene Band III

von λ 64·0—63·0,

welches der III. Komponente = *c* angehört.

Entfernt man aus der alkoholischen Lösung das Karotin und das Chlorophyll *a* nach Tswett (31, p. 240) durch ausgiebiges Ausschütteln mit Petroläther, so kann man dann unter reichlichem Wasserzusatz die *c*-Komponente allein mit Äther aufnehmen und diese Lösung zeigt nun allein das III. Band

bei λ 64·0—63·0.

Die gleichen Ergebnisse zeigten sich bei Untersuchung von *Dictyota dichotoma* und *Cystosira barbata*. Extrahiert man frisches *Fucus*-Material sofort mit 96prozentigem Alkohol, ohne Behandlung mit Petroläther, so erhält man gleichfalls die Bänder I und III.

In Übereinstimmung mit Tswett (31, p. 235) und im Gegensatz zu Willstätter (36, p. 122) konnte also bei Untersuchung des Phaeophyceenpigmentes mit Hilfe der Fluoreszenzmethode die III. Komponente, Chlorophyll *c*, beobachtet werden. Bei meiner Methode der Extraktion ist wohl eine Zersetzung des Farbstoffes nicht wahrscheinlich, speziell da auch schon nach dem Abtöten mit siedendem Wasser diese *c*-Komponente sichtbar wird. Auf diesen Punkt wird später noch einmal zurückzukommen sein. Im lebenden Chromatophor konnte diese Komponente allerdings nicht beobachtet werden.

Diatomeen.

Mit Rücksicht auf die gleiche Farbe des Chromatophors der *Diatomeen* und der *Phaeophyceen* und auf den gleichen Farbenumschlag beim Abtöten war die Untersuchung dieser Pflanzengruppe ganz besonders interessant. Über die Fluoreszenz des lebenden Diatomeenchromatophors liegen, abgesehen von den nur nebenbei gemachten Beobachtungen von Lehmann (14, p. 460), keine weiteren Angaben vor. Spektroskopisch wurde das Fluoreszenzlicht des Diatomeenchromatophors ebensowenig wie das des Phaeophyceenfarbstoffes bisher geprüft.

Zur Untersuchung der fluoreszierenden Komponenten wurden teils Reinkulturen, die ich der Güte des Herrn Professor Dr. O. Richter-

Wien (26, p. 493) verdanke, wofür ich auch an dieser Stelle herzlichen Dank sage, verwendet, teils wurden auch natürliche Reinkulturen von *Diatoma hiemalis* + *Melosira varians* der Extraktion unterworfen. Diese Diatomeen kamen in außerordentlich großer Menge im *Andritz-Ursprung*, einer bassinartigen Quelle in der Nähe von Graz, vor und die schleimigen Hüllen, in denen die Individuen saßen, waren in großer Menge aneinandergeheftet, so daß das Material sich fast vollständig als gattungsrein erwies.

Eine einzelne *Diatomee* zeigt im lebenden Zustand im Fluoreszenzmikroskop eine karmoisinrote Fluoreszenz, die im Spektrum ein helles rotes Band

$$\lambda\ 68{\cdot}0—66{\cdot}0$$

erkennen ließ.

Tötet man Diatomeen mit heißem Wasser, so werden die Chromatophoren bekanntlich grün. Die Fluoreszenz desselben verschwindet nun für das bloße Auge, betrachtet man aber die getöteten *Diatomeen* mit dem Spektroskop, so erblickt man deutlich zwei Fluoreszenzbänder:

Band I. $\lambda\ 67{\cdot}5—65{\cdot}8$
„ II. $\lambda\ 64{\cdot}0—63{\cdot}3$.

Es ist also auch hier mit dem Tode eine Trennung des im Leben einheitlichen Bandes eingetreten, so wie bei *Fucus* und den übrigen *Phaeophyceen*. Band I entspricht der *a*-Komponente, Band III der *c*-Komponente, die *b*-Komponente konnte niemals, auch in Lösungen nicht, beobachtet werden.

Die Tatsache, daß durch das Abtöten der Zellen und die damit verbundene Quellung der Schleimhüllen und des Chromatophors die Fluoreszenz desselben verdeckt wird, dürfte mit den Beobachtungen von Molisch (19, p. 184) übereinstimmen, der zeigte, daß die Fluoreszenz von Chlorophyllösungen durch suspendierte Teilchen, gleichviel ob man einen Teil des Chlorophyllfarbstoffes durch Zusatz von etwas Wasser zur Ausscheidung bringt oder ob ein Zusatz von pulverartig oder emulgiert verteilter Substanz angewendet wird, leicht zum Verschwinden gebracht wird. Dies gilt aber nur für die Beobachtung mit dem freien Auge, denn mit Hilfe des Spektroskopes kann man stets die Fluoreszenzbänder beobachten.

Extrahiert man eine größere Menge reinen Diatomeenmateriales mit alkoholischem Petroläther, so zeigt die Lösung nur das Fluoreszenzband der *a*-Chlorophyllkomponente:

Band I. λ 67·0—65·5;

die Bänder II und III fehlen.

Ein Tswettsches Chromatogramm läßt folgende Zonen erkennen:

I. Zone: farblos: keine Fluoreszenz.
II. Zone: gelb: keine Fluoreszenz, Xanthophyll.
III. Zone: farblos: keine Fluoreszenz.
IV. Zone: blaugrün: Fluoreszenzband I λ 67·0—65·5 = a-Chlorophyllkomponente.
V. Zone: gelb: } ohne Fluoreszenz, Xanthophyll.
VI. Zone: orange: }
Filtrat: gelb: Karotin, gleichfalls ohne Fluoreszenz.

In der petrolätherischen Lösung ist also im Gegensatz zu den grünen Pflanzen und in Übereinstimmung mit Phaeophceen nur eine Komponente, und zwar a gelöst.

Extrahiert man das mit Petroläther behandelte Material nur mit 96prozentigem Alkohol, so treten in der alkoholischen Lösung zwei Fluoreszenzbänder auf:

Band I. λ 67·0—65·5
„ III. λ 64·0—63·0.

Band III entspricht dem Chlorophyll c der Phaeophyceen. Die gleiche Beobachtung macht man, wenn man das Material ohne Vorbehandlung mit Petroläther direkt der alkoholischen Extraktion unterwirft. Durch Auswaschen der alkoholischen Lösung mit Petroläther unter Wasserzusatz kann man die c-Komponente allein aus der wässerigen Alkohollösung in Äther überführen und es erscheint dann das Fluoreszenzband III allein.

Kohl (12, p. 124), der sich eingehend mit dem Studium des Diatomeenfarbstoffes beschäftigte, schließt aus seinen spektralanalytischen Beobachtungen, daß das Chlorophyll der Diatomeen mit dem der grünen Pflanzen vollkommen identisch sei. Demgegenüber konnte mit Hilfe der Fluoreszenzmethode nachgewiesen werden, daß das Chlorophyll der *Phaeophyceen* und *Diatomeen* bezüglich der fluoreszierenden Komponenten überraschend genau übereinstimmt und von dem Chlorophyll der grünen Pflanzen wesentlich verschieden ist. Bei beiden genannten Pflanzengruppen, die verwandtschaftlich in fast keinen Beziehungen stehen, zeigt der Chromatophor im lebenden Zustand eine Blaufärbung und ein einziges Fluoreszenzband, im abgetöteten eine grüne Farbe und zwei Bänder, von denen Band I

mit der *a*-Komponente übereinstimmt, Band III als *c*-Komponente von der *b*-Komponente der grünen Pflanzen verschieden ist und sich durch die Unlöslichkeit in Petroläther auszeichnet.

Chromulinaceen.

Hydrurus foetidus.

Diese *Chrysomonadinee* kommt in einem schnell fließenden Bache bei Stift Rain in der Nähe von Graz in großer Menge vor und zeigt im lebenden Zustande eine tiefbraune, oft schwarzbraune Farbe der Chromatophoren. H. Nebelung (21, p. 371ff.), der das Absorptionsspektrum von alkoholischen Lösungen (er extrahierte mit kochendem Alkohol) feststellte, fand, abgesehen von den normalen Absorptionsbändern des Chlorophylls, eine Absorption bei:

$$\lambda\ 51—49$$

welchen Streifen er als Band IV *a* beschrieb. Er weist auf die durch das Auftreten dieses Streifens bedingte Verschiedenheit vom gewöhnlichen Chlorophyll hin. Bei Lösungen, die mit kaltem Alkohol hergestellt worden waren, konnte ich jedoch im Absorptionsspektrum das Band IV *a* von λ 51—49 nicht beobachten und ich vermute, daß dieses Absorptionsband nur infolge Behandlung mit siedendem Alkohol in Erscheinung tritt.

Gaidukov (6, p. 331), der den Farbstoff einer anderen Chromulinacee, nämlich von *Chromulina Rosanoffii* untersuchte, fand, daß das Chlorophyll von dem der höheren Pflanzen sich etwas unterscheidet, indem das Band IV des gewöhnlichen Chlorophylls, das bei

$$\lambda\ 54{\cdot}0—53{\cdot}5$$

auftritt, bei *Chromulina*-Extrakten fehlt und er nennt das Chlorophyll „Chrysochlorophyll“ (d. h. in Chrysochrom eingehülltes Chlorophyll). Als Chrysochrom bezeichnet er den vollständigen Farbstoffkomplex, der sich aus Chrysochlorophyll, Chrysoxanthophyll und Phycochrysin zusammensetzt. Wie später gezeigt werden soll, verhält sich dagegen der Farbstoff von Hydrurus wesentlich anders.

Betrachtet man ein Stück lebenden *Hydrurus* im Fluoreszenzmikroskop, so erblickt man eine karminrote Fluoreszenz der Chromatophoren und im Spektroskop kann man mit Leichtigkeit ein Fluoreszenzband der einzelnen Chromatophoren bei

$$\lambda\ 68{\cdot}3—66{\cdot}0$$

feststellen. Dieses Band gleicht im wesentlichen dem der *Phaeophyceen* und *Diatomeen*.

Wird ein Stück des Thallus in heißes Wasser gegeben, so tritt eine momentane Grünfärbung ein, die Gallerte, in der die einzelnen Individuen sitzen, quillt sehr stark an und zeigt nun eine so starke blaue Fluoreszenz, daß es unmöglich ist, die Fluoreszenz in den Chromatophoren selbst zu beobachten. Mittels des Spektralokulars erkennt man jedoch wieder deutlich zwei rote Bänder:

Band I. λ 67·5—65·8 . . . . . Chlorophyll *a*
„ III. λ 64·0—63·2 . . . . . Chlorophyll *c*.

Von λ 62·0 an erblickt man dann auch die Fluoreszenz der Schleimgallerte. Daß man ohne Spektroskop die Fluoreszenz des getöteten Chromatophors nicht beobachten kann, dürfte mit der gleichen Erscheinung, wie sie schon bei Diatomeen beobachtet wurde, übereinstimmen.

Das frische *Hydrurus*-Material wurde nun teils mit alkoholischem Petroläther, teils mit 96prozentigem Alkohol extrahiert. Die Untersuchung der petrolätherischen Farbstofflösung ergab nun die interessante Tatsache, daß auch hier, genau wie bei Phaeophyceen und Diatomeen, nur die *a*-Chlorophyllkomponente in Lösung gegangen war. Die *b*-Komponente der grünen Pflanzen konnte nicht beobachtet werden. Das Extrakt hat eine gelbgrüne Farbe und zeigte im Spektroskop das Fluoreszenzband des *a*-Chlorophylls

Band I. λ 67·0—65·5.

Um auch makroskopisch nachzuweisen, daß tatsächlich nur die *a*-Komponente in den Petroläther übergegangen war, wurden einige Chromatogramme hergestellt, welche folgende Zonen zur Anschauung brachten:

I. Zone: farblos, ohne Fluoreszenzerscheinungen.
II. Zone: gelb, ohne Fluoreszenzerscheinungen, Xanthophyll.
III. Zone: blaugrün, zeigt das charakteristische Fluoreszenzband der *a*-Komponente Band I. λ 67·0—65·5.
IV. Zone: grau, keine Fluoreszenz.
V. Zone: orange, keine Fluoreszenz } Xanthophylle.
VI. Zone: gelb, keine Fluoreszenz }
VII. Zone: farblos, keine Fluoreszenz.
Filtrat: gelb gefärbt infolge Karotin, keine Fluoreszenz.

Untersucht man das Absorptionsspektrum der petrolätherischen Lösung, so zeigen sich folgende Absorptionsbänder:

Schichtdicke 3 mm: Band I. 66·3—65·0
„ II. 61·5—60·3 von 42·0 Endabsorption.

Schichtdicke 20 mm: Band I. 67·0—64·0
„ II. 62·0—60·0
„ III. 58·5—57·0
„ IV. 54·0—52·3
von 49·0 an Endabsorption.

Dieses Absorptionsspektrum stimmt bezüglich der Lage der drei ersten von Nebelung (21, p. 390) bei *Hydrurus* beobachteten Absorptionsbänder überein, das Band IV *a* konnte jedoch nicht beobachtet werden. Auch zeigt sich, daß das bei *Chromulina* von Gaidukov (6, p. 332) vermißte Band IV bei *Hydrurus* vorhanden ist.

Wurde das mit Petroläther ausgelaugte Material mit 96prozentigem Alkohol nochmals extrahiert, so färbte sich der Alkohol olivgrün und zeigte im Fluoreszenzlicht, genau so wie bei Phaeophyceen und Diatomeen, nun zwei Bänder:

Band I. λ 67·0—65·5 . . . . Chlorophyll *a*
„ III. λ 64·0—63·0 . . . . Chlorophyll *c*.

Tswett (31, p. 241), der, wie schon oben erwähnt, das Chlorophyll *c* = Chlorophyllin γ in den Extrakten von Fucus und Laminaria nachwies, gibt für diese Chlorophyllkomponente folgendes Absorptionsspektrum in ätherischer Lösung an:

Band I. 63·8—62·2
„ II. 58·8—57·5
„ III. 46·5—44 (und Endabsorption).

Das Absorptionsspektrum einer alkoholischen Lösung, gewonnen aus *Hydrurus*, zeigt bei 30 mm Schichtdicke folgende Bänder:

Band I. 68·0—64·5
„ II. 63·9—62·5
„ III. 61·7—60·0
„ IV. 58·8—57·0
„ V. 54·0—53·0
von 52 an Endabsorption.

Band II und Band IV dieses Absorptionsspektrums stimmen also genau mit den Bändern I und II der reinen Chlorophyll-*c*-Lösung

von Tswett überein. Es verhalten sich also die Chlorophyllkomponenten von *Hydrurus* genau wie die der *Phaeophyceen* und *Diatomeen*. Auch hier tritt die *c*-Komponente erst im Tode auf, ist unlöslich in Petroläther und zeigt das charakteristische Fluoreszenzband von λ 64·0—63·0. Das Chlorophyll *c* kann man auch beobachten, wenn man ein Stück von lebendem *Hydrurus* in die kleine, eingangs beschriebene Küvette gibt und Alkohol daraufschichtet. Sofort treten die beiden Bänder der Komponenten *a* und *c* in Erscheinung, während bei Behandlung mit Petroläther nur die *a*-Komponente sichtbar wird.

Betrachtet man nun zusammenfassend die Ergebnisse, die sich aus der Untersuchung des Farbstoffes der *Phaeophyceen*, *Diatomeen* und von *Hydrurus*, also Pflanzen ganz verschiedenen Verwandtschaftsgrades, mittels der Fluoreszenzmethode ergeben, so kann man eine völlige Übereinstimmung bezüglich der fluoreszierenden Komponenten beobachten. Die Chromatophoren aller dieser Pflanzen sind im lebenden Zustande gelbbraun gefärbt und zeigen ein einziges Fluoreszenzband, Band I λ 68·0—66·0, das dem Fluoreszenzband der *a*-Komponente der grünen Pflanzen entspricht. Beim Abtöten nehmen die Chromatophoren momentan eine grüne Farbe an und das Fluoreszenzspektrum zeigt nun aber im Gegensatz zu den Chromatophoren der grünen Pflanzen das Auftreten eines Bandes, das von dem Fluoreszenzband der *b*-Komponente vollständig verschieden ist, während das Band der *a*-Chlorophyllkomponente bei beiden Gruppen übereinstimmt.

Merkwürdig ist aber, daß das Fluoreszenzband dieser *c*-Chlorophyllkomponente im lebenden Chromatophor nicht sichtbar ist. Es wäre nun möglich, daß die vielleicht in geringer Menge vorhandene *c*-Komponente gewissermaßen erst nach dem Tode frei wird und in Erscheinung tritt, so zwar, daß im Tode eine Trennung der beiden Komponenten insofern eintritt, als die *c*-Komponente in irgendeiner Weise verändert wird und auf diese Weise zur Beobachtung gelangt. Die Ansicht Willstätters (36, p. 121), daß diese III. Komponente nur ein Zersetzungsprodukt ist, halte ich für unwahrscheinlich, nachdem doch bei dieser Extraktionsmethode eine Zersetzung fast unmöglich ist.

Die Frage, ob normales Chlorophyll in den Chromatophoren der Phaeophyceen und Diatomeen nativ vorkommt oder nicht, ist in der Literatur in verschiedenster Weise beantwortet worden. Molisch (18, p. 131) führt bekanntlich die braune Färbung der Phaeophyceen

und Diatomeen auf den Besitz eines modifizierten, braunen Chlorophylls, des Phaeophylls, zurück, das im Momente des Todes in gewöhnliches, grünes Chlorophyll übergeführt wird. Kohl (12, p. 124), Tswett (31, p. 235), Kylin (13, p. 221), Czapek (2, p. 602) und Willstätter (36, p. 118) bestreiten nun diese Ansicht. Tswett behauptet, daß die lebenden *Fucoideen* Chlorophyll enthalten, zwar nicht das gewöhnliche Chlorophyll, welches die Komponenten *a* und *b* enthält, sondern die *a*-Modifikation und eine gelbgrüne Komponente, die *γ*-Komponente = *c*-Chlorophyll. Er stellt sich vor, daß die grüne Farbe der Komponenten *a* und *c* nur durch die gelben Pigmente, namentlich Fucoxanthin verdeckt seien; durch Abbrühen lösen sich die Pigmente in den Fettstoffen und das Chlorophyll kann nun in seiner grünen Farbe in Erscheinung treten, bei Einwirkung von Lösungsmitteln dagegen wird die grüne Chlorophyllfarbe frei durch Auflösung oder Veränderung des Fucoxanthins. Willstätter (36, p. 118) bestreitet gleichfalls die Existenz des Phaeophylls und geht dabei von der Ansicht aus, daß ein braunes Chlorophyll im Sinne von Molisch vom gewöhnlichen Chlorophyll ganz verschieden wäre, das Absorptionsspektrum der Braunalgen unterscheide sich indessen gar nicht erheblich von dem der grünen Blätter. —

Betrachtet man nun aber mittels des Fluoreszenzmikroskopes ein Stück frischen Thallus einer *Phaeophycee* oder eine lebende *Diatomee* und ein Stück von durch siedendes Wasser, Azeton oder Alkohol getöteten, so zeigt sich eine deutliche Verschiedenheit bezüglich der Fluoreszenzbänder. Im intakten Chromatophor erblickt man nur ein Band bei λ 68·0—66·0, im grünen, abgetöteten aber zwei Bänder, von denen das eine deutlich von der *b*-Komponente des grünen Chlorophylls verschieden ist. Daraus ergibt sich, daß das Chlorophyll d. h. die grünen Komponenten der Phaeophyceen, Diatomeen und von Hydrurus sowohl in lebender, als auch in abgetöteter Grundlage vom Chlorophyll der grünen Pflanze wesentlich verschieden ist. Die Frage aber, ob diese braungefärbten Chromatophoren ein Phaeophyll im Sinne von Molisch enthalten oder nicht, kann naturgemäß mit Hilfe der Fluoreszenzmethode nicht entschieden werden.

Neottia nidus avis.

Mit Rücksicht auf die bei Braunalgen, *Diatomeen* und *Hydrurus* gemachten Erfahrungen und auch darauf, daß Molisch (20, p. 230)

auch bei *Neottia n. a.* ein Phaeophyll annimmt, war es wünschenswert, auch diese braune Pflanze hinsichtlich der fluoreszierenden Komponenten ihres Farbstoffes zu untersuchen. Angaben über die Fluoreszenz der *Neottia*-Chromatophoren liegen bis jetzt nicht vor.

Wiesner (34, p. 575) war es, der den Nachweis erbrachte, daß die braune Orchidee, *Neottia n. a.*, chlorophyllführend sei. Gibt man nämlich eine solche Pflanze in siedendes Wasser, in Alkohol oder Azeton, so tritt momentan eine Grünfärbung ein. Molisch (20, p. 230) nimmt nun ähnlich wie bei *Phaeophyceen* an, daß hier ein gewöhnliches Chlorophyll nicht existiert, sondern dieses erst aus dem modifizierten braunen Chlorophyll im Momente des Todes gebildet wird. Betrachtet man nämlich die Chromatophoren in gewöhnlichem Licht, so erscheinen sie als braune, mehr oder minder zugespitzte Körper, die, wie Schimper (27, p. 152) konstatierte, innerhalb braune nadelförmige Kristalle enthalten, die aus reinem Farbstoff bestehen. Es war nun wissenswert, ob diese Chromatophoren das Fluoreszenzspektrum des normalen Chlorophylls zeigten oder nicht.

Wurde ein braungefärbtes Korollblatt, das für die Untersuchung wegen seiner Zartheit sehr günstig war, untersucht, so zeigte sich infolge der blauen Fluoreszenz eines im Zellsafte gelösten Stoffes nur eine schwach rote Fluoreszenz der spindelförmigen Chromatophoren, die manchmal in der Nähe des Kernes in großer Menge angehäuft sind. Stellt man nun eine derartige Stelle im Fluoreszenzmikroskop ein und betrachtet durch das Spektroskop, so erblickt man deutlich und scharf das Fluoreszenzband der *a*-Komponente

bei λ 68·0—66·0.

Von einem Fluoreszenzband einer etwa vorhandenen *b*-Komponente war trotz genauester Beobachtung n i c h t s zu sehen.

Wurde ein derartiges Korollblatt nun in siedendes Wasser gegeben, so diffundierte ein starkblau fluoreszierender Stoff aus den Zellen. Im normalen Licht zeigten die Chromatophoren eine grüne Färbung, im Fluoreszenzlicht eine rote und das Spektrum wieder n u r e i n B a n d, welches der Lage nach mit dem Chlorophyll *a* vollkommen übereinstimmt:

λ 67·5—65·8.

Extrahiert man nun eine größere Menge frischen Materials mit alkoholischem Petroläther, eine gleiche Menge mit 96prozentigem Alkohol, so erscheint in der Petrolätherlösung, die gelblichgrau gefärbt ist, wieder nur e i n Fluoreszenzband:

λ 67·0—65·5.

In der alkoholischen Lösung zeigte sich gleichfalls nur das Band der *a*-Chlorophyllkomponente. Wird mit der gereinigten Petroläther-lösung ein Chromatogramm hergestellt, so zeigen sich folgende Zonen:

I. Zone: farblos, ohne Fluoreszenzerscheinungen.
II. Zone: blaugrün, sehr scharf abgegrenzt, ein Fluoreszenzband von λ 67·0—65·5 = *a*-Chlorophyll zeigend.
III. Zone:
IV. Zone: } gelb, Xanthophylle, ohne Fluoreszenz.
V. Zone:

Filtrat: gelb, Karotin, keine Fluoreszenz.

Es ist tatsächlich im Chromatophor von *Neottia u. a.* nur eine fluoreszierende Komponente vorhanden, welche mit dem Chlorophyll *a* der grünen Pflanzen identisch ist, von einer *b*- und *c*-Komponente konnte bei allen daraufhinzielenden Versuchen nichts beobachtet werden.

In der alkoholischen Lösung ist ferner noch ein brauner, im Petroläther unlöslicher Farbstoff vorhanden, der eine hellblaue Fluoreszenz zeigt und im Spektroskop ein Band von

$$\lambda\ 61{\cdot}0—45{\cdot}0$$

erkennen läßt.

Aus vorstehenden Beobachtungen erhellt, daß in den Chromatophoren von *Neottia u. a.* nicht das gewöhnliche Chlorophyll vorhanden ist, sondern ein Chlorophyll, welches nur eine einzige Komponente, nämlich *a* enthält. Die Frage, ob mit Hilfe dieses Chlorophylls die Assimilation ermöglicht ist, bedarf noch ihrer Beantwortung. Wiesner (34, p. 575) fand nämlich, daß in den Chromatophoren von *Neottia u. a.* Stärkekörnchen auftreten, die im Plasma dieser Körperchen entstanden sind wie Stärkeeinschlüsse in gewöhnlichen Chlorophyllkörnern, Reinke (24, p. 178) dagegen vermutet, daß die Stärke in *Neottia* geradeso wie bei *Corallorhiza* und *Epipogon* aus Huminsubstanzen gebildet wird. Es wäre anderseits leicht möglich, wie Wiesner (35, p. 4) betont, daß alles Chlorophyll in der Form, wie es in den Geweben von *Neottia u. a.* vorkommt, physiologisch gänzlich bedeutungslos ist, und nur als ein Rest anzusehen ist, von einer spezifisch grünen Pflanzenform ererbt, aus der *Neottia* nach und nach hervorgegangen ist. Für die Annahme eines solchen inaktiven Chlorophylls spricht nun die Tatsache, daß nur eine Chlorophyllkomponente vorhanden ist.

Zusammenfassung.

1) Mit Hilfe der Fluoreszenzmethode konnte der Nachweis geliefert werden, daß das Chlorophyll der grünen Pflanzen, wie schon Tswett (33, p. 745) und Willstätter (36, p. 101) fanden, aus zwei fluoreszierenden Komponenten *a* und *b* zusammengesetzt ist, die durch je ein Fluoreszenzband ausgezeichnet sind:

in lebender Grundlage	Band I. λ 68·0—66·0 . . .	*a*
	„ II. λ 65·8—65·5 . . .	*b*
getötet in siedendem Wasser	„ I. λ 67·5—65·8 . . .	*a*
	„ II. λ 65·8—65·3 . . .	*b*
in alkoholischer od. petrolätherischer Lösung	„ I. λ 67·0—65·5 . . .	*a*
	„ II. λ 65·5—65·0 . . .	*b*.

Das Band der *b*-Komponente ist bedeutend lichtschwächer und schließt, vielleicht durch ein nicht meßbares Minimum getrennt, fast unmittelbar an das Band der *a*-Komponente an.

2) Das Chlorophyll der Phaeophyceen, Diatomeen und Hydrurus ist vom Chlorophyll der grünen Pflanzen wesentlich verschieden.

In lebender Grundlage ist nur ein Fluoreszenzband:

Band λ 68·0—66·0

zu beobachten, welches vollständig mit der Chlorophyllkomponente *a* übereinstimmt.

3) Im getöteten Zustande oder in alkoholischer Lösung treten zwei Bänder auf:

I. λ 67·0—65·5 . . . . . *a*
III. λ 64·0—63·0 . . . . . *c*.

Band I stimmt mit dem Chlorophyll *a* überein, Band III ist von dem Chlorophyll *b* wesentlich verschieden. Dieses Band entspricht der Fluoreszenz einer III. Chlorophyllkomponente *c*, die Tswett bei Phaeophyceen nachwies und deren Existenz Willstätter bestreitet, während nun die Existenz derselben auch bei *Diatomeen* und bei *Hydrurus* sichergestellt ist.

4) Die Chlorophyllkomponente *b* fehlt bei Phaeophyceen (Tswett), Diatomeen und Hydrurus.

5) Allem Anscheine nach ist das Chlorophyll dieser Pflanzen ein sehr labiler Komplex, der im Tode eine Komponente abspaltet, die dann als Chlorophyll *c* in Erscheinung tritt.

6) Das Chlorophyll von *Neottia nidus avis* besteht nur aus einer einzigen fluoreszierenden Komponente, nämlich der Chlorophyllkomponente *a*. Vielleicht hängt dieses Fehlen der übrigen Komponenten mit einer „Inaktivität" des Chlorophylls zusammen.

Literaturverzeichnis.

1) Brewster, D., On the colours of natural bodies (Trans. Roy. Soc. Edinb. Bd. **12**, 1834, p. 538—545).
2) Czapek, F., Biochemie der Pflanzen (2. Aufl. Bd. **1**. 1913, p. 563ff).
3) Czapek, F., Über die Farbstoffe der Fucoideen (Lotos Bd. **59**; Prag 1911).
4) Dhéré, M. Ch., Détermination photographique des spektres de fluorescence des pigments chlorophylliens (Compt. Rend. No. 1, 1914).
5) Engelmann, Th. W., Über tierisches Chlorophyll (Pflügers Arch. f. ges. Physiolog. Bd. **32**, 1883, p. 80—96).
6) Gaidukov, N., Über das Chrysochrom (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **18**, 1900, p. 331).
7) Hagenbach, E., Versuche über Fluoreszenz (Pogg. Ann. Bd. **146**, 1872, p. 508—538).
8) Hagenbach, E., Fernere Versuche über Fluoreszenz (Pogg. Ann. Jubelbd. 1874, p. 303—313).
9) Hausmann, W., u. Portheim, L. v., Die photodynamische Wirkung der Auszüge etiolierter Pflanzenteile (Biochem. Zeitschr. Bd. **21**. 1909, p. 51).
10) Heimstedt, Zit. nach Lehmann (s. Reichert 22).
11) Kayser, H., Handbuch der Spektroskopie, Bd. **4**, Leipzig 1908.
12) Kohl, F. G., Die Farbstoffe der Diatomeenchromatophoren (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **24**, 1906, p. 124).
13) Kylin, H., Über die Farbstoffe der Fucoideen (Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. **82**, 1912, p. 221).
14) Lehmann, H., Das Luminiszenzmikroskop, seine Grundlagen und Anwendungen (Zeitschr. f. wiss. Mikroskop. Bd. **30**, 1913. p. 417).
15) Linhardt, E., Über Fluoreszenz erster Art (Diss. Erlangen 1882).
16) Lommel, E., Über das Verhalten des Chlorophylls zum Licht (Pogg. Ann. Bd. **143**, 1871, p. 568—585).
17) Lopriore, G., Über Chlorophyllbildung bei partiärem Lichtabschluß (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **22**, 1904, p. 393).
18) Molisch, H., Über den braunen Farbstoff der Phaeophyceen und Diatomeen (Bot. Zeitg. 1905, p. 131).
19) Molisch, H., Wissenschaftl. Ergeb. (Intern. bot. Kongreß Wien 1905. 1906, p. 184).
20) Molisch, H., Mikrochemie der Pflanze (Jena 1913, p. 228—231).
21) Nebelung, H., Spektroskopische Untersuchungen der Farbstoffe einiger Süßwasseralgen (Bot. Zeitg. 1878, p. 369).
22) Reichert, K., Das Fluoreszenzmikroskop (Physikal. Zeitschrift 1911, p. 1010.

23) Reinke, J., Die Fluoreszenz des Chlorophylls in den Blättern (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 2. 1884, p. 265).
24) Reinke, J., Zur Kenntnis des Rhizoms von Corrallorhiza und Epipogon (Flora 1873, p. 178).
25) Reinke, J., Beitrag zur Kenntnis des Phykoxanthins (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **10**, 1876, p. 399).
26) Richter, O., Reinkulturen von Diatomeen (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. **21**, 1903, p. 493).
27) Schimper, A. F. W., Untersuchungen über die Chlorophyllkörner (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **16**. 1885).
28) Simmler, R. T. H., Einiges über die Fluoreszenz- und Absorptionserscheinungen beim Blattgrün (Pogg. Ann. Bd. **115**, 1862, p. 603—617).
29) Sorby, H., On Comparative Vegetable Chromatology (Proceed. Roy. Soc. London, Bd. **21**, 1773, p. 442).
30) Stockes, Fluoreszierende Pilzfarbstoffe (Pogg. Ann. Bd. **87**, 1852, p. 480).
31) Tswett, M., Zur Kenntnis der Phaeophyceenfarbstoffe (Ber. der deutsch. bot. Ges. Bd. **24**, 1906, p. 235).
32) Tswett, M., Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls (ebenda p. 384).
33) Tswett, M., Über Reicherts Fluoreszenzmikroskop und einige damit angestellte Beobachtungen über Chlorophyll und Cyanophyll ebenda Bd. **29**, 1911, p. 744).
34) Wiesner, J. v., Untersuchungen über die Farbstoffe einiger für chlorophyllfrei gehaltenen Phanerogamen (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **8**, 1872, p. 575).
35) Wiesner, J. v., Über die Menge des Chlorophylls in den oberirdischen Organen von Neottia nidus avis (Flora Bd. **5**, 1874).
36) Willstätter, R., u. Stoll, A., Untersuchungen über Chlorophyll (Berlin, 1913).

Graz, 15. Juli 1914.

[Eingegangen am 18. Juli 1914.]

Eine einfache Mikroskopierbeleuchtung, welche nicht inkommodiert.

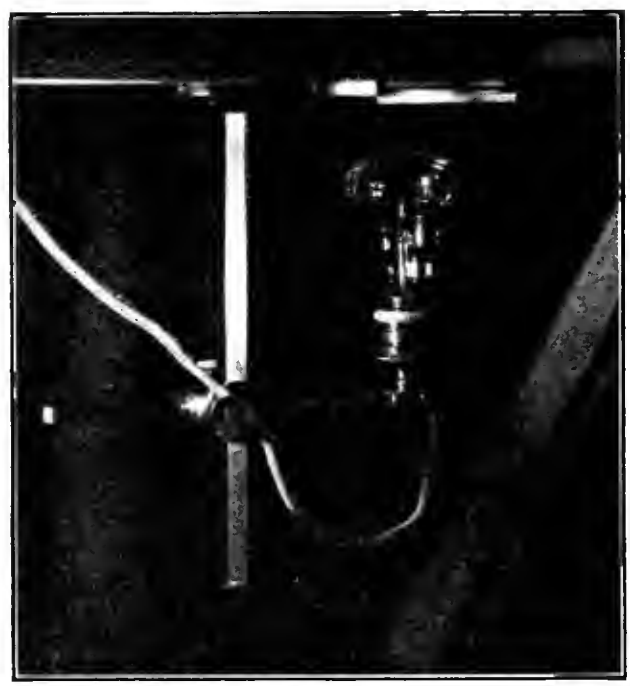
Von

F. F. Bruijning,

Reichs-Versuchsstations-Direktor in Wageningen (Holland).

Hierzu vier Textabbildungen.

In bezug auf die Anwendung künstlicher Beleuchtung beim Mikroskopieren können zwei Fälle unterschieden werden:



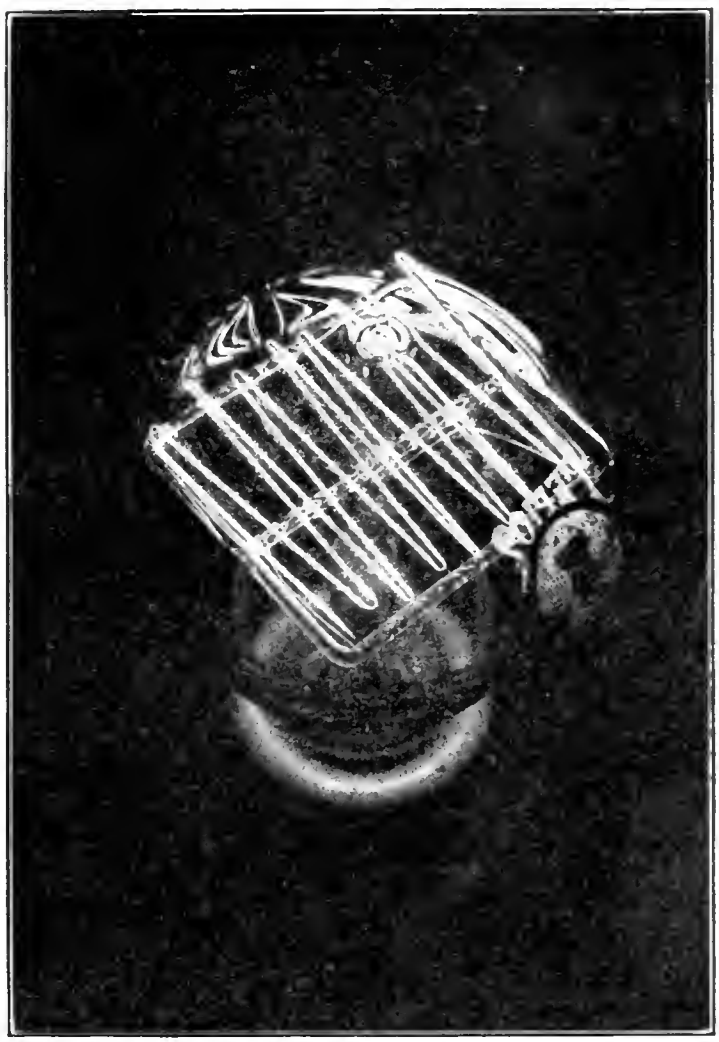
1.

1) Die Beleuchtungseinrichtung kommt nur für relativ kurze Zeit in Verwendung, oder

2) es soll während längerer Zeit, z. B. während mehrerer Stunden, ununterbrochen bei dieser Beleuchtung gearbeitet werden.

In dem ersten dieser beiden Fälle genügen wohl fast alle bis jetzt beschriebenen Mikroskopierlampen. Wenn man mit Dunkelfeld arbeiten will, oder — nur nicht zu lange Zeit hintereinander — mit

allerstärksten Vergrößerungen, so kann man dafür sehr zweckmäßig von kleinen selbstregulierenden Bogenlampen Gebrauch machen. Als solche möchte ich ganz besonders die vorzügliche Liliputbogenlampe von Leitz empfehlen; jede andere gute Lampe kann dafür in Anwendung kommen, z. B. die kleine ganz einfach und zweckmäßig



2.

eingerichtete elektrische Lampe von Frl. Tammes. Auch die auf p. 101 dieses Jahrganges (Bd. **31**) beschriebene Mikroskopierlampe von Fritz Levy scheint für Einzelbeleuchtung sehr empfehlenswert zu sein; persönlich habe ich jedoch mit ihr keine Erfahrungen gemacht.

Allen Mikroskopierlampen gemeinsam ist jedoch, daß sie die Arbeit durch Wärmeabgabe bald sehr unangenehm machen. Ganz besonders gilt das für das Gasglühlicht, aber auch die Metalldrahtlampen erwärmen auf die Dauer die nächste Umgebung des Mikro-

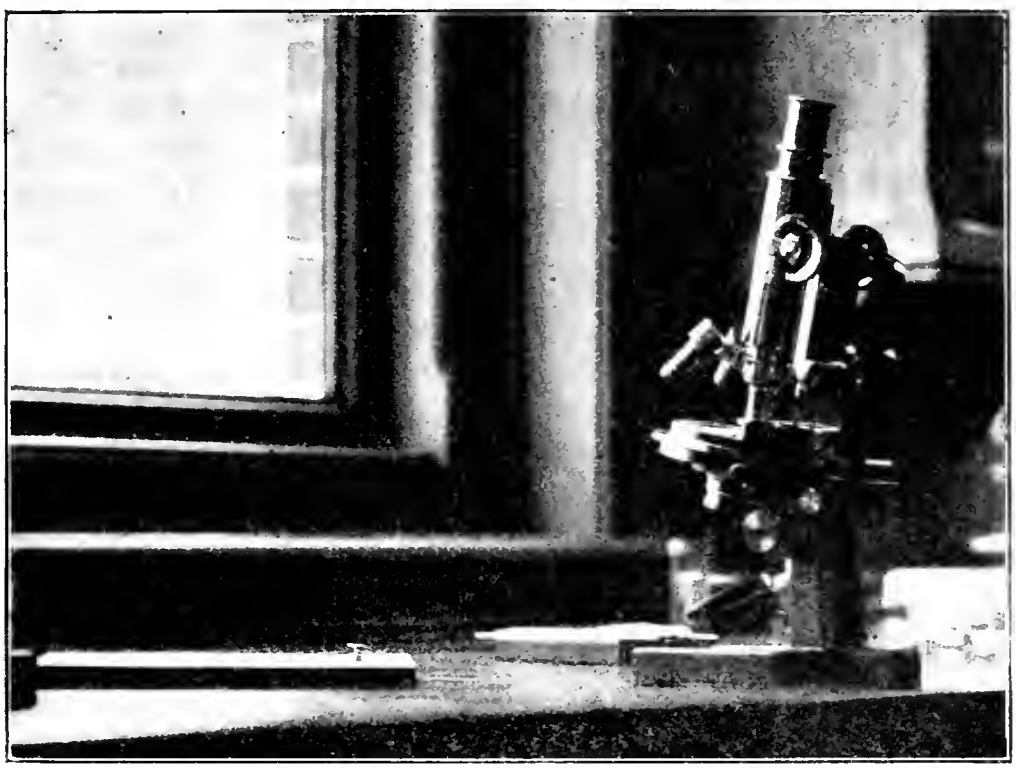
skops in hinderlicher Weise. Dabei nehmen sie manchmal ziemlich viel Raum ein, z. B. die Beleuchtungseinrichtungen, bei welchen eine mit Flüssigkeit gefüllte Glaskugel in Verwendung kommt. Diese Erwärmung ist nicht sehr hinderlich, wenn man schnell etwas nachsehen oder demonstrieren will, sie wird jedoch zu einer großen Unannehmlichkeit, wenn man einige Stunden ununterbrochen bei künstlicher Beleuchtung arbeiten soll.

3.

In einem solchen Falle kann man von einer sehr kräftigen indirekten Beleuchtung Gebrauch machen, wie sie z. B. von Levy (l. c.) beschrieben wurde. Für Einzelbeleuchtung eignet sich aber die beschriebene Anordnung nur wenig; dafür wäre sie auch wohl ein wenig zu kostspielig. Ich will daher eine sehr einfache Art der künstlichen Beleuchtung beschreiben, welche ich für meine Zwecke konstruiert habe, und die mir vorzügliche Dienste leistet. Sie gibt eine sehr sanfte, gleichmäßige Beleuchtung, welche vom Tageslichte kaum zu unterscheiden ist, und sich für alle Arbeiten in den Grenzen von normalen Vergrößerungen als ausgezeichnet brauchbar erwiesen

hat. Die ganze Einrichtung ist mit einfachen Mitteln in jedem Laboratorium bequem und billig darzustellen.

Die Beleuchtungsquelle befindet sich dabei unter dem Mikroskopiertische (Fig. 1). Die Glühlampe, welche dabei in Anwendung kommt, ist eine fünfzigkerzige Helioslampe. Bei dieser Lampe ist der Glühfaden auf einem viereckigen Rähmchen in der Weise befestigt, daß dessen Windungen ungefähr in einer Fläche liegen. Figur 2 gibt davon eine Abbildung; die Aufnahme geschah bei sehr kurzdauernder



4.

Beleuchtung resp. Aufleuchtung, damit der Verlauf des Fadens im Zickzack deutlich hervortreten sollte. Diese Lampe, resp. deren Fassung, kann mittels eines an der Unterfläche des Tisches angeschraubten Statives in jeder Richtung bewegt und zentriert werden gegen eine kreisförmige Öffnung in der Tischplatte, in welche ein kleiner dreilinsiger Kondensor eingeführt ist. Ein solcher Kondensor ist in jeder Handlung von Projektionsapparaten gegen geringen Preis zu haben; ich gebrauche einen solchen von 9 cm Diameter. Dieser Kondensor ist in den Figuren nicht ersichtlich; es befinden sich darunter (Fig. 1) zwei kleine Leisten, worin eine oder mehrere hellblaue Glasscheiben geschoben werden zur Abstimmung des Lichtes auf der

Farbe des Tageslichtes. Oberhalb des Kondensors befindet sich eine feine Mattscheibe, derer mattierte Seite mit Zaponlack (Negativkaltlack) übergossen worden ist. Diese Vorbehandlung ist unerläßlich; die Scheibe wird dadurch sehr lichtdurchlässig und gibt ein etwas opaliszierendes, sehr angenehmes Licht. Über dieser Scheibe befindet sich schließlich noch ein kleiner flacher Spiegel, welcher ausklappbar ist und mittels einer Klinke auf genau 45° eingestellt wird. Dieser Spiegel kann eventuell drehbar um die optische Achse des Kondensors angeordnet werden; manchmal wird man aber einem festen Stande den Vorzug geben.

Auf meinem Arbeitstische befindet sich die beschriebene einfache Einrichtung (vgl. Fig. 3) links vor dem Mikroskope, was mir am angenehmsten ist. Wenn das Tageslicht abnimmt und nicht mehr zur Arbeit ausreicht, brauche ich bloß den Beleuchtungsspiegel auszuklappen, die Lampe einzuschalten und mit dem Hohlspiegel des Mikroskops einzustellen, um sogleich über eine ganz vorzügliche Beleuchtung zu verfügen, womit ich ohne die geringste Belästigung durch unangenehme Erwärmung stundenlang hintereinander arbeiten kann. Wenn der Beleuchtungsspiegel zugeklappt ist (Fig. 4), macht sich die ganze Einrichtung über der Tischfläche kaum bemerkbar.

Wageningen, November 1914.

[Eingegangen am 8. November 1914.]

Eine kleine Bemerkung zur Schnittserienmethode von Suzuki.

Von

Dr. Fritz Ask

in Lund.

Hiermit erlaube ich mir auf einen Nachteil (unter gewissen Umständen!) der Celloïdinschnittserienmethode von Suzuki aufmerksam zu machen.

Die (im übrigen vorzügliche) Methode besteht bekanntlich darin, daß die Nummer des Schnittes mit japanischer Tusche direkt auf den Schnitt geschrieben wird, wonach sämtliche Schnitte zusammen in etwa 60prozentigem Spiritus aufbewahrt werden können. Die Tusche bleibt dann daran, und zwar auch die ganze Färbungsprozedur hindurch. (Man braucht also auch nicht die Objektgläser zu numerieren.) Es ist mir aber einmal geschehen, als ich von Deutschland nach Schweden über Saßnitz-Trelleborg fuhr und das Schiff wegen Sturm sehr heftig rollte, daß im Laufe von 4 Stunden einige in Spiritus aufbewahrte Schnittserien ziemlich viel geschädigt wurden. Durch die Bewegungen des Schiffes bzw. des Gefäßes wurde nämlich die Tusche beim Reiben der Schnitte gegeneinander mehrmals vollständig oder fast vollständig abgeschabt und lag dann als ein feiner Niederschlag auf dem Boden des Gefäßes; die meisten Schnitte wurden leider mehr oder weniger geschädigt.

Ich möchte deshalb für Seereisen mit „rauhen" Suzuki-Serien ernstlich warnen. Die Schnitte können unverbesserlich „seekrank" werden!

[Eingegangen am 20. September 1914.]

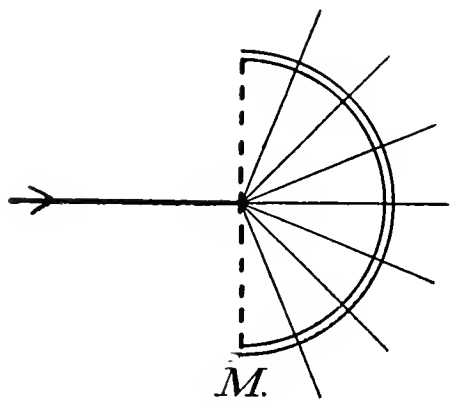
Über streuende Scheiben in der Mikrobeleuchtung.

Von

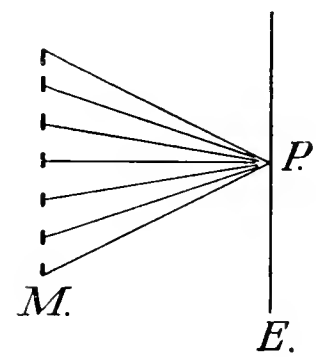
Dr. W. Scheffer.

Hierzu vier Textabbildungen.

Streuende Matt- oder Milchglasscheiben werden in der Mikrobeleuchtung häufig benutzt. Die vorliegende Mitteilung soll eine systematische Übersicht über die Wirkungsweise und die Verwendungs-



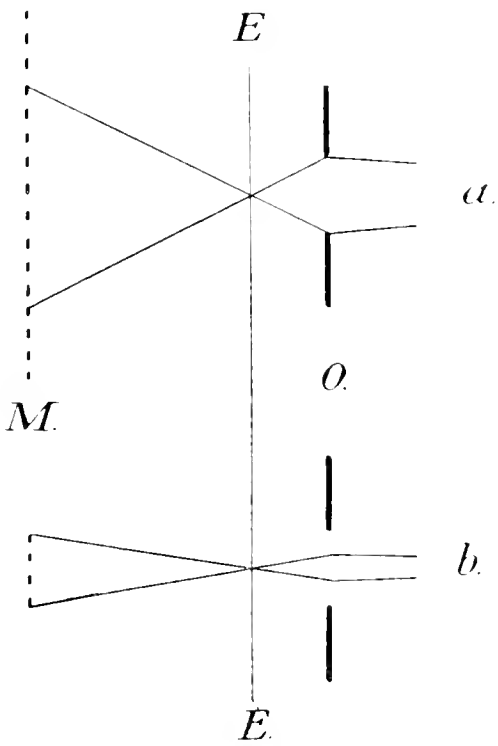
1.



2.

möglichkeiten streuender Scheiben bei der besagten Beleuchtung geben. Die Wirkung eines streuenden Mediums ist in Figur 1 dargestellt. Auf die durchscheinende, vollkommen streuende Scheibe *M* fällt, von links nach rechts verlaufend, ein enges Lichtbüschel ein. In *M* wird dasselbe zerstreut, das heißt, aus der einen ursprünglichen Richtung werden viele neue. Die Helligkeitsverteilung in den neuen Richtungen hängt von der Struktur in *M* ab. Wir wollen hier annehmen, daß eine vollkommene Streuung geschieht, das heißt, daß in allen Richtungen des ganzen Winkelraumes von $2\,R$, angedeutet durch den doppelten Kreisbogen, die gleiche Helligkeit vorhanden ist. Der Buchstabe *M* soll in dieser Arbeit eine vollkommen streuende Schicht bedeuten. *M* wird also durch Bestrahlung im besagten Sinne zu einer sekundären Lichtquelle. Die von *M* ausgehende Strah-

lung kann man mit Vorteil für unsere Betrachtung in zweifacher Weise zusammenfassen. Erstens betrachten wir nach Figur 1 das Strahlenbüschel, das von einem Punkte von M (im Sinne der geometrischen Optik) ausgeht. Hiervon war schon im vorhergehenden bei Figur 1 die Rede. Zweitens untersuchen wir, wie M einen außerhalb von M liegenden Gegenstand bestrahlt. In Figur 2 wird der in der Ebene E liegende Punkt P von M bestrahlt. Die Öffnung des Büschels, das die gesamte Bestrahlung des Punktes P von M

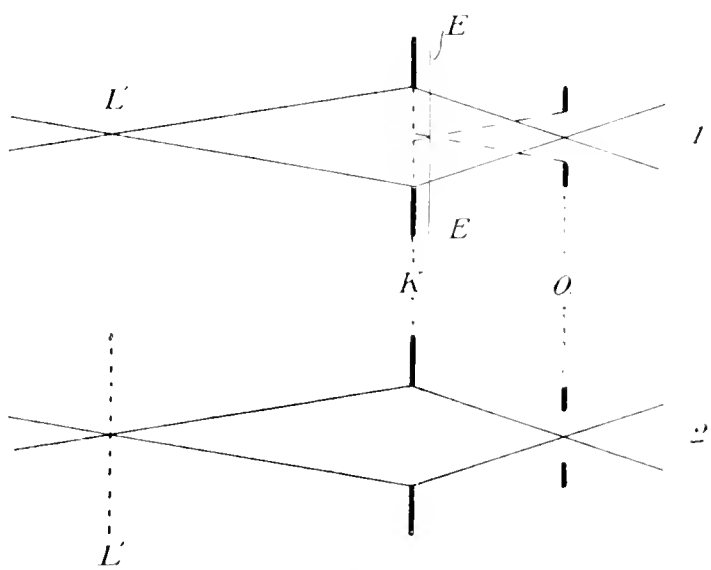


3.

aus enthält, wird bestimmt durch den Winkel, unter dem M, von P aus gesehen, erscheint. Wir haben also zweierlei zu berücksichtigen, erstens die gesamte von einem Punkt (einem Strukturelement) von M ausgehende Strahlung, ich möchte hierfür den Ausdruck „Strukturstrahlung" vorschlagen, und zweitens die gesamte von M nach einem Punkte außerhalb von M gehende Strahlung, die ich hier die „Flächenstrahlung" von M nennen will. Die Bedeutung der Flächenstrahlung für unseren Fall zeigt Figur 3. In EE befindet sich ein mikroskopisches Objekt, das von einem Objektiv abgebildet wird, dessen beide Pupillen der Einfachheit halber als zusammenfallend durch die Öffnungen in O dargestellt sind. EE wird in Figur 3 a von einer großen, in b von einer kleinen M bestrahlt. Die Öffnung der die Punkte in

EE bestrahlenden und ebenso der durch EE direkt in das Objektiv gelangenden Büschel ist abhängig von der Größe von M und außerdem von dem Abstand $M—E$. Wenn man die kleine M im Falle b genügend nahe an EE heranbringt, kann man dieselbe Öffnung der Büschel erhalten, wie im Falle a. Dieser Fall hat für die Beleuchtung mikroskopischer Objekte eine gewisse Bedeutung. Wie ohne weiteres aus Figur 3 hervorgeht, kann M einen Kondensor vertreten. Man kann sich leicht praktisch auf folgende Weise hiervon überzeugen. Man nimmt den Kondensor aus dem Mikroskop heraus und arbeitet am besten mit Bogen- oder Sonnenlicht. Um eine Blendung des Auges zu verhüten, legt man über das Okular Grauscheiben. Den Träger des Abbeschen Beleuchtungsapparates senkt man mit seinem Trieb soweit, daß man zwischen Kondensorhülse und Tisch bequem die streuende Scheibe einschieben kann. Wenn man runde streuende Scheiben von passender Größe hat, kann man sie auch in den Blendenträger des Beleuchtungsapparates legen. Nun beobachtet man einmal im parallelen Licht ohne M, das andere Mal mit eingelegtem M. Im letzteren Falle muß man mit Hilfe der Kondensor-Iris das beleuchtete Stück von M passend abgrenzen. Man sieht bei herausgenommenem Okular, wieviel von der Objektivöffnung mit direktem Licht erfüllt ist, und stellt bei eingesetztem Okular am Bild selbst die günstigste Blendenöffnung fest. Alle Objekte, für die eine größere Öffnung der beleuchtenden Büschel nötig ist, zeigen die Wirkungen von M gut, z. B. feine, stark gefärbte Bakteriengeißeln, Granula und andere feine absorbierende Objekte. Selbst die Wirkung des Immersionskondensors kann man mit einer M erreichen, wenn man dieselbe auf den Tisch legt, den Objektträger direkt auf sie, und beide mit einem Tropfen Zedernholzöl verbindet. Hier muß man entweder eine Milchglasscheibe nehmen, die in ihrer ganzen Dicke streut, oder, wenn man eine Mattscheibe nimmt, muß die klare Seite nach oben zu liegen kommen und mit dem Objektträger durch das Immersionsöl verbunden werden, damit das Öl nicht die Streuung aufhebt. Auch Objekte, deren Struktur besonders durch Beugung sichtbar wird, wie Diatomeenschalen, zeigen in gewissen Fällen die Wirkung von M recht deutlich. Bei der Mikrophotographie mit kurzbrennweitigen photographischen Objektiven, z. B. mit Planaren, ist die Wirkung einer M besonders wichtig und auch nach Figur 4 recht leicht verständlich. In Figur 4, 1 liegt die wiederum punktiert angedeutete Mattscheibe in der mit K bezeichneten Austrittspupille des Kondensors und das Objekt liegt, im Sinne der Licht-

bewegung, dicht hinter M und K in EE. Sie bewirkt also, daß das ganze Objektiv in O mit Licht erfüllt wird und daß seine ganze Öffnung für die Abbildung ausgenützt wird. Diese Anordnung ist besonders dann von Bedeutung, wenn man eine genügend helle Lichtquelle zur Verfügung hat. Dann kann eine M für alle kurzbrennweitigen Objektive die verschiedenen Kondensoren ersetzen. Dies geht bereits aus der Figur 3 hervor. Man kann also im Falle 1 der Figur 4 den Kondensor einfach weglassen und man hat nur dafür zu sorgen, daß die M in genügender Ausdehnung gleichmäßig beleuchtet ist.



4.

Dies ist von einer gewissen praktischen Bedeutung, denn man muß für die verschiedenen Objektivbrennweiten auch die passenden Kondensorbrennweiten nehmen und den Kondensor richtig zum Objektiv justieren. Diese, allerdings geringen, Schwierigkeiten fallen bei der Anwendung der M fort. Die Bildhelligkeit ist hier gering, besonders bei stärkeren Vergrößerungen; wenn man aber Bogenlicht hat, ist dieselbe für die schwächeren und mittleren Brennweiten der kurzbrennweitigen photographischen Objektive für die Mikrophotographie noch recht wohl genügend, und gerade hier macht die Kondensorfrage manchmal Schwierigkeiten. Bei den kürzeren Brennweiten dieser Objektivgruppe und stärkeren Vergrößerungen kann man die Frontlinse des Kondensors abschrauben und den unteren Teil desselben allein benutzen. Der aplanatische Kondensor nach Siedentopf des Zeiss-Werkes ist hierfür besonders eingerichtet. In 2

liegt M in L'. In beiden Figuren ist angenommen, daß, wie das in der Tat der Fall ist, vor dem Kondensor nicht die Lichtquelle selbst, sondern ihr Bild liegt. Es ist also möglich, in L' eine Mattscheibe aufzustellen. In diesem Falle vermindert M nur die Bildhelligkeit, weil durch die Streuung ein Teil des von L' nach dem Kondensor zielenden Lichtes an K vorbeigeführt wird. Die Öffnung der abbildenden Büschel wird im Falle 2 nicht beeinflußt.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß zwei Anwendungsformen der M zu unterscheiden sind; im ersten Falle ist die Strukturstrahlung, im andern die Flächenstrahlung das für die Anordnung Wirksame. Die erstere kann zur reinen Lichtschwächung ohne Nebenwirkung benutzt werden, wie das in Figur 4 oben (1) dargestellt ist, die andere zu gewissen Änderungen im Strahlengang der Beleuchtung, wobei immer als Nebenwirkung eine Helligkeitsverminderung erfolgt. Wenn M konjugiert zur Pupille des abbildenden Objektivs liegt, steht die Winkelgröße von M, gesehen vom Objektpunkt aus, im Wettstreit mit der Winkelgröße der Eintrittspupille von demselben Punkt aus gesehen. Selbstverständlich kommen häufig Zwischenstellungen der M vor, bei denen sie weder in der Lupe noch in der Pupille, sondern irgendwo zwischen beiden steht. Eine einfache geometrische Überlegung gibt nach dem Gesagten Aufschluß über die Wirkung von M in einer solchen Stellung.

[Eingegangen am 7. September 1914.]

Bemerkungen zur Beleuchtung mikroskopischer Objekte mit auffallendem Licht für die Mikrophotographie mit kurzbrennweitigen photographischen Objektiven.

Von

Dr. W. Scheffer.

Hierzu sieben Textabbildungen.

Die verschiedene Oberflächenbeschaffenheit der Objekte macht für den vorliegenden Zweck eine weitgehende Anpassung und Veränderungsmöglichkeit dieser Beleuchtungsvorrichtungen nötig. Bei der Verschiedenheit und Vielseitigkeit der mikroskopischen Aufgaben, die mir vorkamen, machte sich immer mehr das Bedürfnis nach möglichster Vereinfachung und Vereinheitlichung geltend, besonders, da oft an einem Tage kurz hintereinander mehrere recht verschiedene Aufgaben zu lösen waren. Ein Teil der hier beschriebenen Einrichtungen ist zusammen mit der in dieser Zeitschrift, Bd. **31,** p. 84 beschriebenen Einrichtung auch für die Beleuchtung mit dem Vertikalilluminator ein bequemes Hilfsmittel und **alle** Beleuchtungen, die überhaupt vorkommen, können bei **unveränderter** Aufstellung des Mikroskops sowie der kleinen Bogenlampe der optischen Bank und der Kamera auf einfache Weise rasch hergestellt werden. Wenn auch in den meisten mikroskopischen Laboratorien ein besonders rascher Übergang z. B. von der Beleuchtung mit durchfallendem Licht zu der Beleuchtung mit dem Vertikalilluminator kaum vorkommt, so ist anderseits für einen sehr vielseitigen Betrieb, der mit möglichster Zeitersparnis arbeiten muß, eine solche Möglichkeit des raschen und bequemen Überganges von großer Annehmlichkeit.

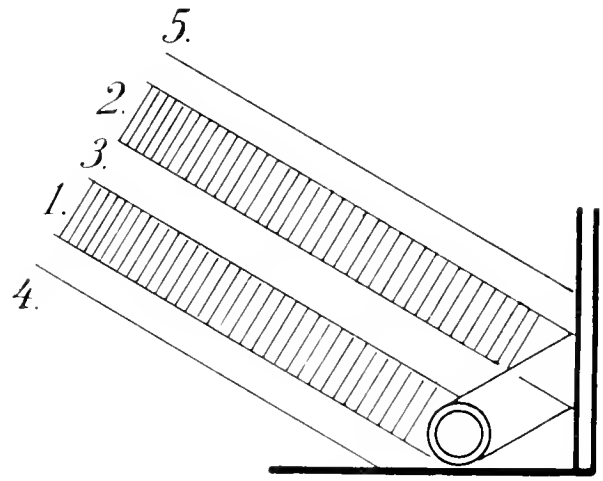
Bei der hier in Frage kommenden Beleuchtung habe ich den Grundsatz befolgt, der eigentlichen Beleuchtungseinrichtung durch die aplanatische Sammellinse paralleles oder schwach konvergentes Licht

zuzuführen und die für die Beleuchtung notwendigen Änderungen durch die eigentliche Beleuchtungseinrichtung zu bewirken.

Die folgende Einteilung erleichtert die Übersicht über die verschiedenen Möglichkeiten. Die „eigentliche" Beleuchtungseinrichtung ändert die Beschaffenheit des ursprünglichen, vom Kollimator oder Kollektor kommenden, parallelen Büschels. Wir haben Einrichtungen zu unterscheiden, die wirken:

I. Durch regelmäßige Ablenkung, nämlich Spiegelung, Brechung oder beide zusammen. II. Durch diffuse Streuung des Lichtes.

Die Einrichtungen können ändern:



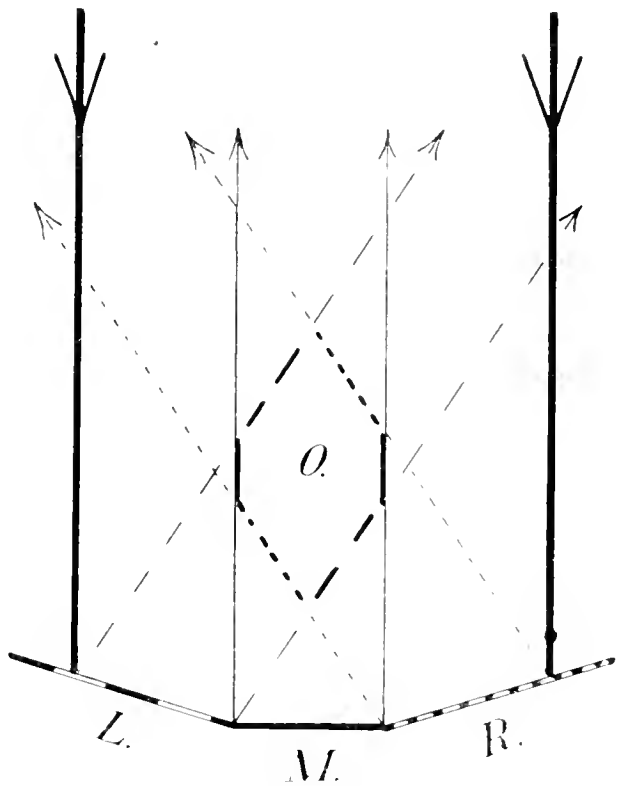
1.

A. nur die Richtung. (Spiegelung)	B. nur die Öffnung. (Spiegelung, Brechung oder beides)	C. Beides. (Spiegelung und Brechung, Brechung allein, diffuse Streuung).
a. eine Reflexionsebene		
b. mehrere Reflexionsebenen		

Die Veränderungen können sich beziehen auf: Erstens das ganze Büschel oder einen Teil desselben, zweitens mehrere gesonderte Teile desselben Büschels.

Figur 1 zeigt die einfachste und wohl am häufigsten für kleine räumliche Gegenstände benutzte Einrichtung des Falles A. a. Das aus den parallelen Büscheln 1—5 zusammengesetzte Gesamtbüschel bestrahlt das durch den Doppelkreis angedeutete kleine Objekt. Die direkte Beleuchtung erfolgt durch den schraffierten Teil 1. Hinter dem Objekt ist ein Spiegel aufgestellt, angedeutet durch die beiden starken Linien. Derselbe knickt den auf ihn fallenden Teil des Büschels und bewirkt eine Beleuchtung der von der Lichtquelle abgewandten

Seite des Objekts. Diese erfolgt durch den Inhalt des ebenfalls schraffierten Büschels 2. Die Teile 4 und 5 sowie der Teil 3 gehen für die Beleuchtung verloren. Es geht ohne weiteres aus der Figur 1 hervor, daß der Verlust an 3 mit der Entfernung des Spiegels vom Objekt wächst, und daß infolgedessen der Durchmesser des gesamten Büschels desto größer sein muß, je weiter der Spiegel vom Objekt entfernt wird.

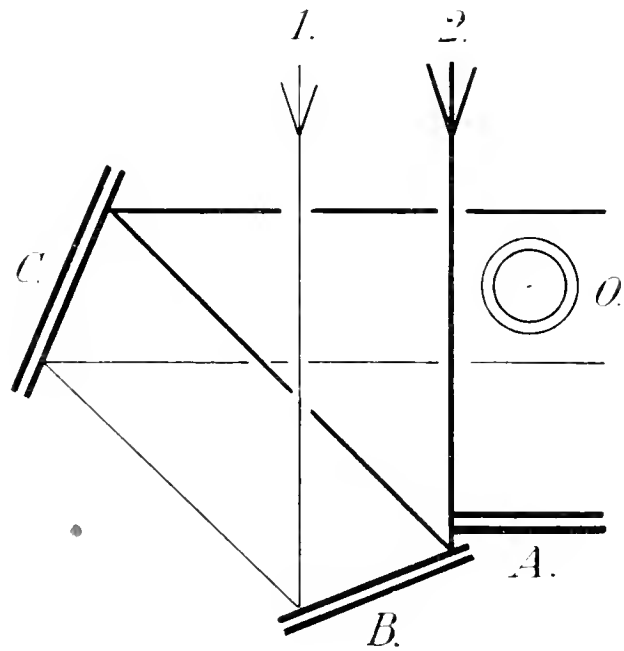


2.

Man wird also denselben so nahe wie möglich an den Aufnahmegegenstand heranbringen. Durch Neigen des Spiegels kann man die Richtung des von hinten beleuchtenden Lichtes beliebig ändern.

Figur 2 zeigt eine in den meisten Fällen ausreichende recht bequeme Einrichtung des Falles A. b. Die drei Spiegel *L*, *M* und *R* sind fest miteinander verbunden. Sie beleuchten das Objekt von hinten und von beiden Seiten und außerdem wird es direkt von vorn beleuchtet. Eine derartige Einrichtung kann man sich auf einfache Weise selbst herstellen. Figur 3 zeigt, wie man mit Hilfe von fünf Spiegeln das Objekt in vier zueinander senkrechten Richtungen beleuchten kann. Die beiden rechten Spiegel sind in der Figur als selbstverständlich weggelassen. Das Objekt in *O* ist durch den dop-

pelten Kreis angedeutet. Für eine derartige Beleuchtung muß das Gesamtbüschel einen gewissen Durchmesser haben. Aus Figur 4 geht hervor, daß, gleichgebaute Sammellinsen, die sich nur durch die Brennweiten unterscheiden, als Kollimatoren vorausgesetzt, das Büschel mit dem geringsten Durchmesser das hellste ist. Ein Punkt der Lichtquelle L bestrahlt die Pupille der Sammellinse (Ein- und Austrittspupille sind der Einfachheit halber als zusammenfallend bezeichnet) und diese strahlt paralleles Licht in ihren Bildraum. Die Pupille P_1 sendet ein Büschel vom Durchmesser p_1 und P_2 ein solches vom



3.

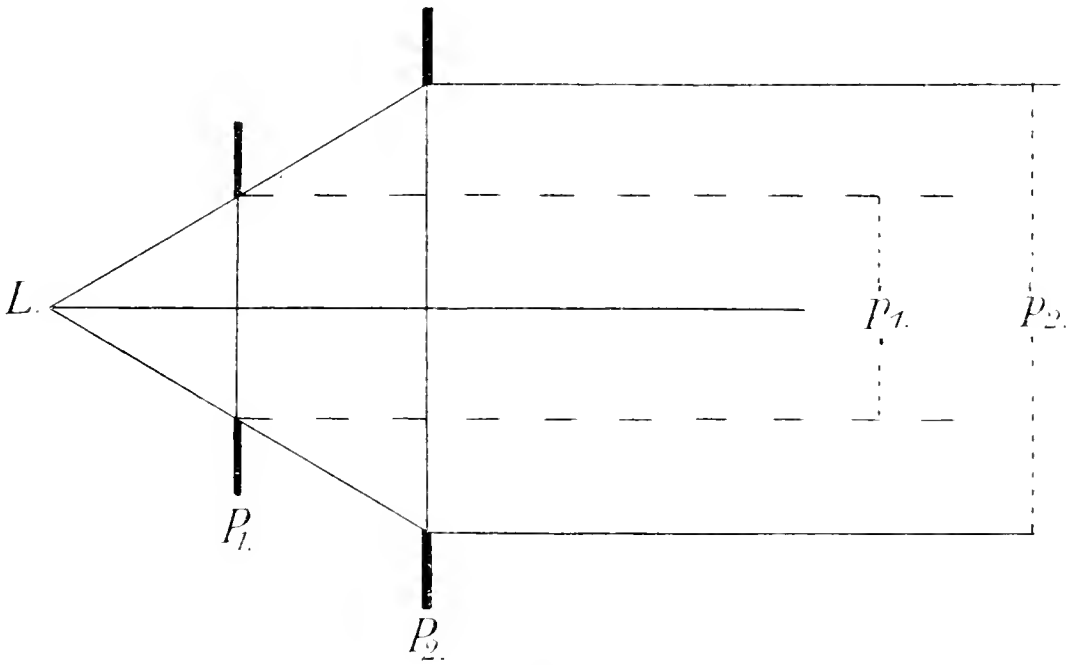
Durchmesser p_2 aus. Die Flächen der Querschnitte der beiden Büschel verhalten sich wie die Quadrate ihrer Durchmesser.

Es wird also die im Objektraum in einem gewissen Kegelraum enthaltene Lichtmenge im Bildraum in verschieden weiten Lichtröhren, je nach dem Ausführungsmaßstab der Sammellinse, verlaufen.

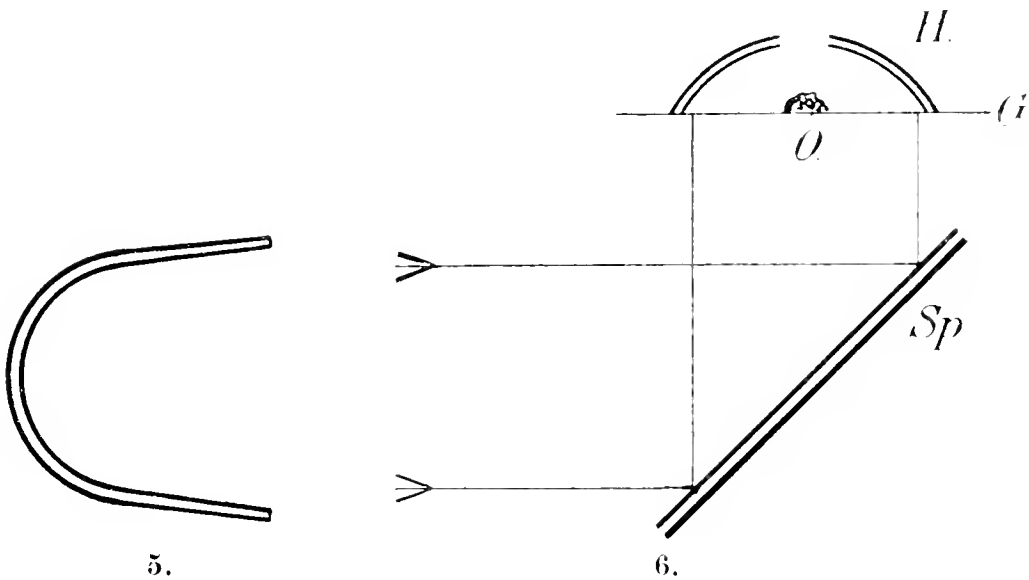
Soweit meine Erfahrungen gehen, genügt für fast alle Zwecke die Beleuchtung nach A, wobei nur Planspiegel angewandt und die Büschel nur gekniekt werden.

Im Fall B wird im allgemeinen die Austrittspupille eines Kollektors auf dem Objekt abgebildet. In diesem Falle wird natürlich dem Beleuchtungsapparat kein paralleles, sondern schwach konvergentes Licht zugeführt, denn die Lichtquelle muß auf der Beleuchtungslinse abgebildet werden. C. ist eine Verbindung der Fälle A. und B. Hier

sind natürlich viele Variationsmöglichkeiten vorhanden. Überhaupt ist bei der vorliegenden Beleuchtungsart der Geschicklichkeit des Mikroskopikers viel überlassen.



4.

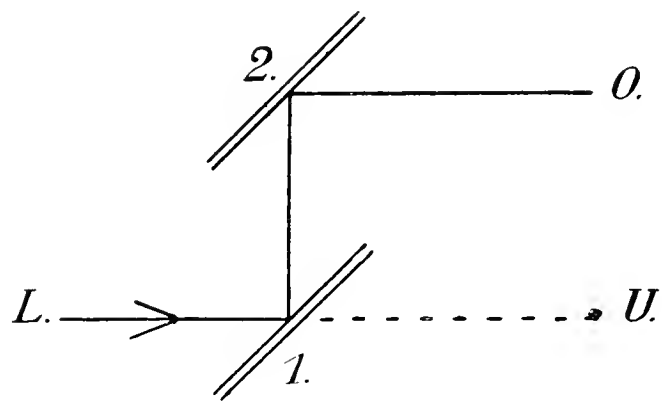


5. 6.

Figur 5 zeigt, von oben gesehen, eine im Gebrauch besonders einfache Einrichtung nach C. Sie ist ein nach der Figur gebogenes Stück Messingband, das auf seiner Innenseite mit einer diffus streuenden weißen Schicht ausgekleidet ist. Auch diese Einrichtung gehört zu den am meisten gebrauchten und bequemsten Hilfsmitteln für unsern Zweck.

Eine weitere, ebenfalls sehr bequeme Einrichtung zeigt Figur 6. Das parallele Lichtbüschel fällt auf den Mikroskopspiegel *Sp* und geht durch die Glasplatte *G*, auf der das Objekt *O* liegt. Über dasselbe ist *H* gestülpt, ein Reflektor, der innen, ebenso wie die Beleuchtungseinrichtung in Figur 5, mit einer weißen diffus streuenden Auskleidung versehen ist. Wenn *H* spiegelt, muß in der Öffnung von *H* ein Bild der Lichtquelle entworfen werden, das diese Öffnung ganz erfüllt. Dann bildet *H* die Öffnung des Kollektors auf dem Objekt ab. Diese Einrichtung ist bereits von Des Cartes (Cartesius) beschrieben und abgebildet.

Das vom Kollimator kommende Büschel ist auf seinem Wege zur eigentlichen Beleuchtungseinrichtung bequem zugänglich. Man



7.

kann es sowohl im ganzen wie auch teilweise schwächen. Da es meist paralleles Licht enthält, kann man durch geeignete Anordnung von Matt- oder Farbscheiben, die nur von gewissen Teilen des Büschels durchdrungen werden, besondere Licht- und Schattenwirkungen hervorbringen, die auf andere Weise nur recht schwer zu bekommen sind. Meist sind die mikrophotographischen Einrichtungen nur für durchfallendes Licht eingerichtet und für den vorliegenden Zweck müssen oft recht unbequeme Gelegenheitsanordnungen hergestellt werden. Ich möchte hier auf ein sehr einfaches und altbekanntes Hilfsmittel hinweisen. Auch für unsere Zwecke liegen die Objekte, ähnlich wie für durchfallendes Licht, auf dem Objekttisch des Mikroskops. Man kann diesen bei den vollendetsten Stativen um einige Zentimeter heben und senken. Das genügt aber hier nicht. Mit der in Figur 7 angedeuteten Spiegeleinrichtung, die mit einem Reiter auf die optische Bank gesetzt wird, knickt man den Strahlengang des vom Kollimator kommenden parallelen Büschels zweimal. Durch

Neigen des Spiegels 2 und gegebenen Falles Höher- oder Tieferstellen desselben kann man das Büschel bequem in geeigneter Weise zum Objekt neigen. Wir nehmen ebenso, wie in der Mitteilung in dieser Zeitschrift Bd. **31**, p. 84, immer ein aufrechtstehendes Mikroskop an. *L U* ist dann der direkte Weg des Büschels zum Mikroskopspiegel, *L O* der Weg für die hier in Frage kommende Beleuchtung und außerdem kann man diese Spiegeleinrichtung für den Gebrauch des Vertikalilluminators benutzen. Man kann also Mikroskop und Bogenlampe immer unberührt stehen lassen und man braucht nur die Spiegeleinrichtung (Figur 7) auf die optische Bank zu setzen. Hierbei ist besonders bequem, daß die Tischhöhe und die Stellung des Mikroskops immer dieselbe bleiben, so daß man jede beliebige Arbeit bequem im Sitzen mit der einmal als angenehm angenommmen Körperhaltung ausführen kann.

[Eingegangen am 7. September 1914.]

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Kgl. Forstakademie in Eberswalde, Moltkestraße 19.]

Ein Objekthalter für Zeißsche anastigmatische Doppellupen.

Von

Prof. Dr. Max Wolff.

Hierzu vier Textabbildungen.

Die von der Firma Carl Zeiss konstruierten anastigmatischen Lupen sind, vor allem in der Vereinigung von je zweien zu einer Doppeleinschlag-Lupe, zum unentbehrlichen Rüstzeug des Entomologen geworden, und die neuere angewandt-entomologische Literatur[1] gedenkt dieser unübertrefflichen Instrumente als eines der notwendigsten Hilfsmittel beim Bestimmen von Insekten. Daß sie für den Botaniker ebenfalls große Bedeutung erlangt haben, bedarf an dieser Stelle keines besonderen Hinweises.

Die Brauchbarkeit der Zeissschen Anastigmat-Lupen hat mir vor Jahren Anlaß gegeben, durch ein kleines zum Halten des Untersuchungsobjektes geeignetes, leicht an den Schalen der Doppellupe zu befestigendes Gestell das Arbeiten mit ihnen bequemer und ihre Anwendbarkeit in gewissem Sinn vielseitiger zu gestalten.

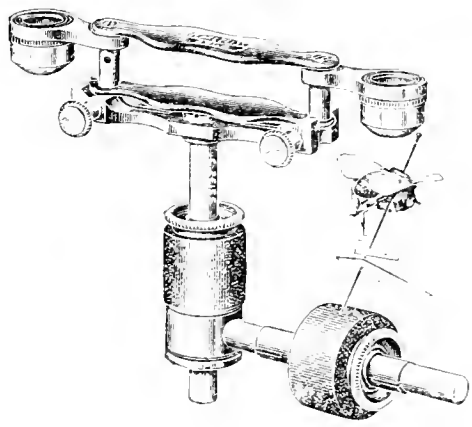
Dem bereitwilligen Entgegenkommen der Jenaer Firma auf meine Anregung verdankt der kleine, im folgenden näher beschriebene Apparat seine Entstehung.

In Figur 1 ist der Objekthalter, mit seiner Doppelklemme an der unteren Schale einer Doppellupe befestigt, abgebildet und zugleich gezeigt, wie man sich seiner beispielsweise bei der Untersuchung genadelter Insekten zu bedienen hat.

In Figur 2 ist der Objekthalter für sich allein abgebildet. Die

[1]) Vgl. z. B. K. Escherich, Die Forstinsekten Mitteleuropas. Bd. 1, p. 418. Berlin (P. Parey) 1914.

Konstruktion dürfte hieraus ohne weiteres erhellen. Die gerändelten Klemmschräubchen *1 1* betätigen die klauenartig ausgebildeten Aufschnitte der beiden Enden der Grundplatte des Halters, auf der sich eine Säule *2* erhebt.

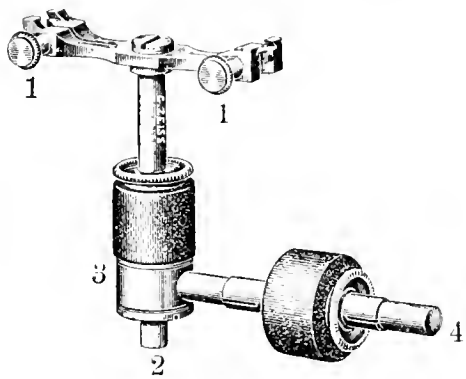


1.

Objekthalter nach M. Wolff ($^1/_2$ nat. Größe) in Verbindung mit der Doppellupe.

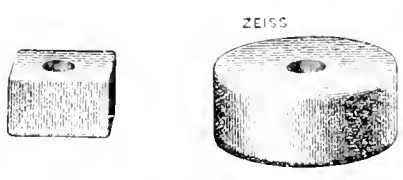
Auf dieser Säule *2* gleitet sanft und doch mit zur Fixierung genügender Reibung die Hülse *3*.

Die Hülse *3* besteht aus zwei Hauptteilen. Der untere trägt einen, sich mit sanfter Reibung um den Hülsenzylinder drehenden,



2.

Objekthalter allein.



3.

Korke zum Auswechseln.

mittels besonderer Mutter bremsbaren, kräftigen Ring, auf dem sich eine zweite Säule *4* erhebt.

Über den oberen Teil des Hülsenzylinders können zwei verschiedene Korke gesteckt (vgl. Figg. 1, 2 und 3 [rechte Abbildung]) und mittels besonderer, gerändelter Mutter fixiert werden.

Ähnlich wie dieser Teil des beschriebenen Hülsenzylinders, ist eine zweite Hülse gebaut, die auf der erwähnten Säule *A* mit sanfter Reibung verschiebbar ist. Auch hier können nach Lösen einer gerändelten Mutter zwei dem Instrument beigegebene Steckkorke von etwas geringerer Höhe, als die beiden vorerwähnten (vgl. Figg. 1, 2 und 3, linke Abbildung) gegeneinander ausgewechselt werden.

Entsprechend der Brennweite des zur Verwendung gelangenden Gliedes der Doppellupe (der 16-, 20- oder 27fachen anastigmatischen, oder der, ebenfalls mit dem Objekthalter verwendbaren 10fachen aplanatischen Lupe, die ja bekanntlich von der Jenaer Firma auch mit einer der vorerwähnten Lupen zu einer Doppeleinschlaglupe vereinigt wird) und je nach der Befestigung des Untersuchungsobjektes auf einer längeren oder kürzeren Nadel, ferner je nachdem man an genadelten Objekten die rechte oder linke, die Ober- oder Unterseite usw. zu betrachten wünscht (vgl. Fig. 4; Voraussetzung ist natürlich, daß die Präparation eine bequeme Betrachtung der Unterseite des Objektes zuläßt), stellt man sich mühelos mit dem beschriebenen Objekthalter durch Verschieben der Hülsen und Lupenarme und unter Verwendung der verschiedenen Steckkorke das oder die (miteinander zu vergleichenden) Untersuchungsobjekte ein.

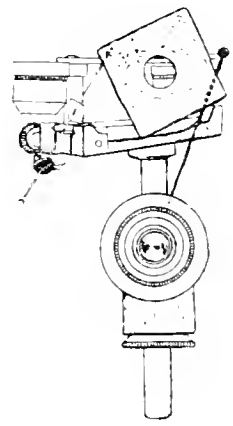
Untersucher, die über eine etwas unruhige Hand zu klagen haben, werden finden, daß die Verwendung der starken anastigmatischen Lupen selbst bei anhaltendem Arbeiten (z. B. bei Determinationen) nun nicht im geringsten mehr anstrengend oder ermüdend wirkt, weil der Objekthalter jedes Untersuchungsobjekt genau so sicher und stabil einzustellen gestattet, als ob es auf dem Tische eines Mikroskopes sich befände. Der wichtige Vorteil, eine größere Anzahl miteinander zu vergleichender Objekte schnell nacheinander in das Gesichtsfeld der Lupe bringen zu können[1], wird ebenfalls als sehr wesentlich empfunden werden. Dabei wird aber noch ein weiterer Vorzug sich geltend machen, den das nunmehr feste System Lupe — Objekt auszunützen gestattet: die Verwendung des Objekthalters erleichtert es außerordentlich, die günstigste Beleuchtung des Objektes ausfindig zu machen, ohne daß man hierbei genötigt würde, den günstigsten Abstand der Lupe vom Auge zu ändern.

---

[1]) Man stelle sich z. B. in Figur 1 mehrere genadelte Insekten, je nachdem an dem vertikal verschiebbaren, oder an dem horizontal beweglichen Korken so befestigt vor, daß die Nadeln wie Radien stehen, so wird ohne weiteres das oben Angedeutete klar werden.

Wie bekannt, ist es notwendig, das Auge möglichst dicht an die Lupe heranzubringen[1], weil nur dann das ungewöhnlich große Gesichtsfeld der anastigmatischen Lupen voll ausgenützt wird.

Endlich ist man in der angenehmen Lage, die starken anastigmatischen Lupen zu Demonstrationen in ausgiebigerer Weise zu benützen, als es bisher möglich war. Man kann nunmehr das Instrument mit richtig eingestelltem Objekt bei den Hörern zirkulieren lassen und ist sicher, daß diese auch wirklich das sehen, was gezeigt werden soll.



4.

Für diesen Zweck verfügten wir bisher nur über Vorrichtungen, die das Betrachten von Präparaten auf gläsernen Objektträgern ermöglichten.

Flache Gebilde, wie z. B. Blattstücke mit Pilzrasen, Eiablagen oder ähnlichen Objekten, werden zweckmäßig auf dem vierkantigen Steckkork mit kurzen Nadeln, sogen. Etikettennadeln befestigt, oder einfach lose auf diesen aufgelegt.

Daß man bei Benutzung des Objekthalters eine Hand zum Anfertigen von Skizzen oder schriftlichen Notizen frei behält, ist ebenfalls ein wichtiger Vorteil, auf den ich zum Schlusse kurz hingewiesen haben möchte.

---

[1]) Eine Regel, gegen die merkwürdigerweise oft nicht bloß Anfänger verstoßen.

[Eingegangen am 23. November 1914.]

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Kgl. Forstakademie in Eberswalde, Moltkestraße 19.]

Über die Verwendung des Zeichenprismas für Mikroprojektion auf horizontale und vertikale Flächen.

Von

Prof. Dr. Max Wolff.

Hierzu zwei Textabbildungen.

Die Entstehung von Improvisationen kann verschiedene Gründe haben. Mangel an vollkommenen Arbeitsmitteln braucht keineswegs immer den Anstoß zu geben, vielmehr können, — von einer gewissen Freude an der Ausnützung der Möglichkeit, diesen oder jenen Apparat universell zu gebrauchen, ganz abgesehen, — die Dinge so liegen, daß bestimmte Arbeiten nicht so häufig vorkommen, daß sich die Aufstellung eines speziell dafür gebauten Apparates lohnt.

In Laboratorien, in denen tagtäglich beinahe rekonstruktiv-zeichnerische Wiedergaben von Schnittserien (zum Beispiel) hergestellt werden müssen, wird man die Aufstellung eines der heute von verschiedenen Firmen, meist nach dem Prinzip des sogen. Edingerschen Zeichenapparates, vollkommener aber nach Angaben von Greil in den Werkstätten des Zeiss-Werkes gebauten Instrumente, bei denen größtenteils unter Zuhilfenahme von Schwachstrombogenlampen die Projektion des Präparates auf eine schwachverdunkelte horizontale Zeichenfläche erfolgt, — Mikroprojektion auf kurze Bilddistanz —, als lohnend erkannt und ausgeführt haben. Wo mehr gelegentliche Mikroprojektion in Frage kommt, wird man erwägen, daß diese Instrumente nicht ganz billig sind, und daß, abgesehen von einer mehr oder weniger weitgehenden Spezialisierung[1], ihre Bauart nicht so kompendiös ist, wie das oft wünschenswert wäre.

[1]) Mit Ausnahme des Greilschen sind diese Apparate für Mikrophotographie, — Einstellung des Bildes in der Aufsicht, — nicht sehr brauchbar, wenn es sich um stärkere Vergrößerungen handelt.

Das dürfte mit der Anlaß gewesen sein, daß die Firma E. Leitz-Bergmann auf Anregung von Edinger eine sehr vereinfachte und sehr brauchbare Apparatur herausgebracht hat, die eigentlich lediglich aus einem Grundbrett (aus Holz) besteht, das auf einem Halter ein Dunkeltuch trägt, und einem Spiegel, der nach Art eines Sömmering-schen Spiegels (ein solcher hat nur wesentlich kleinere Dimensionen) auf dem Okularende des um etwa 45° geneigten Mikroskopes aufgesteckt wird. Mittels einer (an sich beliebigen, nur möglichst kräftigen) Mikroskopierlampe wird das Bild ohne jede Verzeichnung nach unten auf die Zeichenfläche projiziert.

Für die Projektion von Präparaten, deren Beschaffenheit kein stärkeres Neigen des Mikroskopes gestattet, ist diese Apparatur, wenn es sich um horizontale oder schwach geneigte Zeichenflächen handelt, ebensowenig zu gebrauchen, wie die, deren Beschreibung ich im folgenden gebe. Aber dafür hat letztere das voraus, daß man sie auch zwecks zeichnerischer Wiedergabe des Präparates am aufrechtstehenden Mikroskop und mit mäßig (25°) geneigter Zeichenfläche zu benutzen pflegt, allerdings als Camera lucida: denn der wesentliche Bestandteil dieser Apparatur ist die bekannte, als „Zeichenprisma" seit über 40 Jahren von der Firma Carl Zeiss gebaute Camera lucida, nur daß ich ihr für Projektionszwecke die in Figur 1 angedeutete Stellung am horizontal umgelegten Mikroskope gebe, wodurch der Strahlengang in geeigneter Weise verändert wird.

Ich habe den Strahlengang in der Figur ungefähr richtig angegeben. Die Inkorrektheit in der Wiedergabe des einen Reflexionswinkels bitte ich zu entschuldigen. Für diejenigen Leser, denen ausschließlich der Abbesche Zeichenapparat (oder ein anderes System) vertraut sein sollte, füge ich eine Abbildung des Prismas und des gewöhnlich zur Anwendung gelangenden Strahlenganges bei, vgl. Figur 2.

Diese universelle Verwendbarkeit des altbewährten Prismas, von dem sich heute noch viele tüchtige wissenschaftliche Zeichner nicht zu trennen vermögen, die es dem theoretisch sehr vollendeten Abbe-schen Zeichenapparat vorziehen, ist meines Wissens bisher nicht beachtet worden.

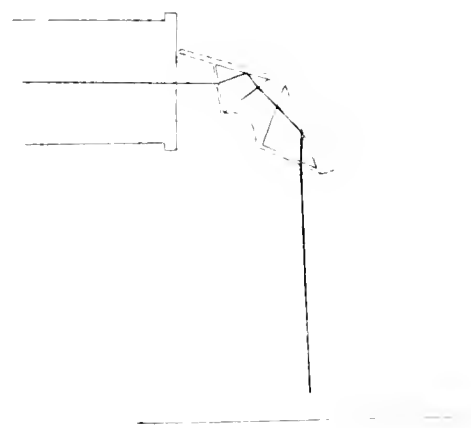
Wie gewöhnlich bei Linsen und Prismen von kleinen Dimensionen ist der Lichtverlust durch Absorption praktisch gleich Null. Für die vorgedachten Zwecke wird die Brauchbarkeit des Prismas gegenüber oberflächenversilberten Spiegeln in keiner Weise hierdurch eingeschränkt.

Arbeitet man mit aufrecht stehendem Mikroskop, so kann man auf ausreichende Entfernungen (5 bis 6 m), wie sie etwa für Laboratorien und kleinere Auditorien durchschnittlich in Betracht kommen, sehr schöne Projektionen auf einem vertikalen Schirm ausführen.

Welcherlei Vorrichtung man sich auch immer bedient, immer wird man im wesentlichen mittels des umgelegten Mikroskopes nur Dauerpräparate projizieren, sei es zum Zwecke der Demonstration, sei es, um sie zu zeichnen.

Man hätte also, unter Anwendung des Zeichenprismas folgende Möglichkeiten:

I. Zeichnungen mit dem als Camera lucida verwendeten Prisma. Das Mikroskop steht aufrecht (vertikal), die Zeichenfläche ist um 25° gegen die Objekttischebene des Mikroskopes zu neigen (Zeichenbrett!). Es können frische, wie Dauerpräparate gezeichnet werden.



1.

Stellung und Strahlengang der Zeiss'schen Camera lucida bei Verwendung für Mikroprojektion. Der Reflexionswinkel im zweiten Prisma ist nicht ganz korrekt eingezeichnet. (1/3 nat. Größe.)

II. Zeichnungen mit dem als Teilstück einer Camera obscura verwendeten Prisma. Das Mikroskop ist horizontal umgelegt und steht auf einem Klotz[1] in passend erscheinender Höhe über der schwach (wie die gewöhnlichen Reißbretter, vgl. Figur 1), — am besten nach dem dann vor dem Okularende des Mikroskopes sitzenden Zeichner

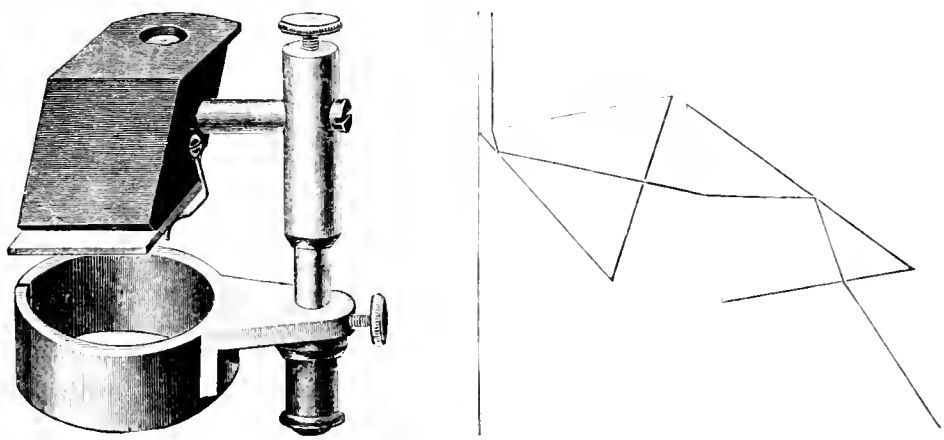
[1]) Ich selbst stelle es auf die, an einer schweren eisernen Säule hoch und niedrig verstellbare Konsole des Universal-Tisch-Stativs, das mein Freund, Herr G. Geiger-München, auf meine Anregung hin gebaut hat. Es soll an dieser Stelle noch näher beschrieben werden. Erwähnt habe ich es schon in Bd. 31, p. 209 dieser Zeitschrift.

zu abfallend[1], — geneigten Zeichenfläche. Hier erscheint das reelle Bild des Objektes noch bei starker Vergrößerung in ausreichender Lichtstärke, wenn der Arbeitsraum nur mäßig verdunkelt wird.

Das auf diese schwach geneigte Zeichenfläche projizierte Bild kann natürlich auch vor einer kleineren Anzahl von Hörern demonstriert werden. Es steht aufrecht, aber seitenverkehrt. Die seitenverkehrte Projektion ist kein Nachteil, für spätere Reproduktion (Lithographie) sogar vorteilhaft.

Es können nur Präparate gezeichnet oder demonstriert werden, die das Umlegen des ganzen Mikroskopes vertragen.

III. Zeichnungen und Projektionen zu Demonstrationszwecken unter Verwendung des Prismas als Camera obscura, aber mit auf-



2.

Zeichenprisma (Camera lucida). $^{3}/_{4}$ und $^{2}/_{1}$ nat. Größe.)

recht stehendem Mikroskope (man stelle sich die Figur 1 auf die Seite gestellt vor), also Projektion auf einem vertikalen Schirm. Mit Hilfe des Prismas können so auch lebende Präparate und solche, die der ganzen Art der Aufstellung nach das Umlegen des Mikroskopes nicht vertragen, gezeichnet oder (was bei dieser Anordnung wohl in den meisten Fällen allein beabsichtigt sein wird) zu Demonstrationszwecken projiziert werden.

Jeder Erfahrene weiß, daß es bisweilen vorteilhaft und bequemer ist, eine Zeichnung durch Überzeichnen des auf die Zeichenfläche reell projizierten Bildes herzustellen, bisweilen aber die Camera lucida, in irgendeiner ihrer verschiedenen Formen, das gegebene Hilfsmittel ist[2].

[1]) Der Zeichner würde also in Figur 1 rechts sitzend zu denken sein.

[2]) Der erste Fall ist beispielsweise gegeben, wenn von Schnittserien zahlreiche relativ detailarme Umriß- oder auch Übersichtsbilder gemacht

Daß das alte Zeisssche Zeichenprisma uns in die Lage versetzt, beiden Anforderungen in sehr vollkommener Weise zu genügen, schien mir also der Mitteilung wert.

Es ist dann aber wohl auch nötig, kurz die Grenzen der Leistungsfähigkeit des Instrumentes zu umschreiben, natürlich hauptsächlich für den ersten der beiden erwähnten Zwecke[1].

Die einzig wichtige Frage ist hier die Möglichkeit, das Gesichtsfeld des Mikroskopes als vollen Bildkreis wiederzugeben. Wie weit geht diese Möglichkeit?

Wie leicht einzusehen, hängt sie von der größeren oder geringeren Divergenz der den Bildkreis begrenzenden Strahlen ab, die das zur Verwendung gelangende Okular verlassen. Da das Prisma (resp. die Prismen) dem Strahlenbüschel Flächen von ungefähr $1{\cdot}2 \times 1{\cdot}2$ cm entgegenstellt, so können die schwächeren Huygensschen und die schwächeren Kompensationsokulare, — No. 6 aber schon nicht mehr, — Verwendung finden.

Aus dem Bildkreis, den stärkere Okulare ohne die Zwischenschaltung des Prismas entwerfen würden, schneidet dieses ein ungefähr quadratisches Feld heraus. Da man gewöhnlich bei den uns hier interessierenden Projektionen den Abbildungsmaßstab durch die Wahl des Objektivs und den ja leicht variierbaren Abstand des Okularkopfes von der Projektionsebene, nicht aber durch Inanspruchnahme einer größeren Zahl von Okularen bestimmen wird, so

werden sollen, vor allem wenn es sich um große Formate der Originalzeichnung handelt, die aus technischen Gründen bei der Reproduktion eine starke Reduktion des Maßstabes gestatten soll (Flügelgeäderzeichnungen!). Der letzte Fall tritt dagegen eigentlich immer ein, wenn wirklich feinere Details gezeichnet werden müssen. Denn so exakt, wie bei der direkten Beobachtung, lassen sie sich in dem projizierten Bild doch niemals zur Anschauung bringen und studieren.

[1]) Über die Begrenzung einer Leistungsfähigkeit als Camera lucida nur einige Worte. Die Firma Carl Zeiss sagt zwar (vgl. Druckschrift: Mikro 184, 1912/13, p. 78), daß ihr Zeichenprisma einen gewissen prinzipiellen Nachteil gegenüber dem Abbeschen Zeichenapparate hätte, weil, wie bei den meisten anderen Zeichenapparaten, nur ein Teil der Austrittspupille ausgenützt werde, der Abbesche Würfel aber im allgemeinen deren volle Öffnung zur Geltung gelangen läßt, also auch bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen jeden Lichtverlust vermeidet. Ich finde aber, daß durch die heute mit Recht immer mehr in Aufnahme gekommene Verwendung künstlicher, regulierbarer Lichtquellen dieser Fehler des Zeichenprismas ganz bedeutungslos geworden ist.

scheint mir diese einzige, erwähnenswerte Beschränkung bei den meisten Arbeiten ohne Belang zu sein.

Haben die austretenden Büschel eine größere Öffnung, so muß man freilich zu Spiegeln greifen, welche die Dimensionen haben, die dem mechanisch ganz vortrefflichen, auf Anregung von Greil entstandenen „Projektionszeichenapparate“ von der Firma Carl Zeiss gegeben worden sind.

Greil und Zeiss sind, meiner Überzeugung nach mit vollem Recht, denselben Weg bei der Konstruktion ihrer Apparatur gegangen, wie mein Freund, Herr Gustav Geiger und ich bei der unsrigen, nämlich dem Universal-Tisch-Stativ. Beide, voneinander ganz unabhängige Konstruktionen vermeiden nämlich den von anderen beschrittenen Weg, direkt mit dem Mikroskope nach unten zu projizieren. Das ließe sich, wie ich auf Grund praktischer Erfahrungen mit solchen Apparaten hervorheben möchte, nur rechtfertigen, wenn diese Anordnung wenigstens für mikrophotographische Arbeiten von Vorteil wäre. Wie oben (vgl. die Anmerkung) angedeutet, ist das aber gerade nicht der Fall. Und so ist die Vereinfachung, die in dieser Richtung angestrebt wurde, nur eine scheinbare. Werden solche Apparaturen auch noch für den schnellen Übergang von der Horizontal- zur Vertikalprojektion eingerichtet, so ist konstruktiv wie auch die Preise zeigen) die Einfachheit vollends verloren.

Ich kann also jedenfalls dem Greilschen Apparat nur Beifall zollen. Lediglich die Lichtquelle scheint mir nicht so praktisch zu sein, wie die berühmte Jenaer Firma beharrlich angibt.

Auch wenn ich die Besorgnis hegen müßte, man könne an meiner Objektivität in der Beurteilung der Geigerschen Bogenlampen, die ich ausschließlich benütze, zweifeln, würde ich es doch nicht unterlassen können, immer wieder darauf hinzuweisen, daß ich die angeblichen Vorteile der anderen Systeme nicht einzusehen vermag.

Über die verschiedenen Modelle der Geigerschen Bogenlampen habe ich in dieser Zeitschrift so eingehend berichtet, daß ich nur daran zu erinnern brauche, daß die $3^1/_2$ Amp.-Lampe fast 4 Stunden ununterbrochen brennt und daß das dann notwendige Auswechseln der Kohlen kaum 10 Sekunden erfordert.

Demgegenüber, meine ich, ist es belanglos, daß man eine Nernst-Lampe zwar nur beim Anzünden, — in der bekannten, doch etwas umständlichen Art und Weise —, zu bedienen braucht. Denn über 3 Stunden, ohne jede Unterbrechung im Lichtkreis des Projektionsbildes zu arbeiten, wird kaum ein Zeichner seinen Augen zumuten.

Soll oder muß die Arbeit in kürzeren Intervallen ausgeführt werden, so muß man sich entschließen, die Nernst-Lampe entweder brennen zu lassen, oder die Anzündeprozedur jedesmal von neuem vorzunehmen.

Und da, glaube ich, wird der Stromverbrauch sicher nur selten ein so geringer sein, wie bei den Bogenlampen, die, wie gewöhnliche Glühlampen, im Augenblick ausgeschaltet und ebenso schnell wieder in Betrieb gesetzt werden können.

[Eingegangen am 7. Dezember 1914.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Herxheimer, G., Technik der Pathologisch-histologischen Untersuchung. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1912. 393 pp. 9 M.

Obwohl über zwei Jahre seit dem Erscheinen dieses Buches verflossen sind, so lohnt sich doch eine kurze Anzeige. Herxheimer hat sich nämlich allermeist nicht damit begnügt, die Methoden einfach zu schildern, sondern ihnen teils als Einleitung, teils am Schlusse eine Kritik beigegeben, die auf eigenen Erfahrungen beruht, mithin dem Benutzer — es brauchen durchaus nicht nur Pathologen zu sein — manche Enttäuschung ersparen kann. Natürlich werden in erster Linie die Methoden vorgeführt, die von den Fachgenossen ausgeklügelt wurden, also wird z. B. auf p. 107 Orths Lithionkarmin als das beste Karmingemisch gerühmt, obgleich es so stark alkalisch ist und die Nachbehandlung mit Salzsäure-Alkohol nötig macht: ebenso Weigerts Eisenhämatoxylin „mit van Gieson-Nachfärbung“ (p. 112). Indessen kann man fast durchweg mit Herxheimers Urteilen übereinstimmen.

Was uns einen Mangel des Buches zu bilden scheint, ist das Fehlen beinahe jeglicher Quellenangabe, und doch hätte sich dafür der Platz etwa in dem Umfange wie im Schmorlschen Buche leicht durch stilistische Kürzungen der oft gar zu ausführlichen Vorschriften gewinnen lassen. Ferner übernimmt der Verf. aus den Originalrezepten treulich die Benutzung der sogen. gesättigten Farblösungen, von denen ja nie feststeht, ob sie wirklich solche sind, vielmehr nach der Art ihrer Bereitung oft genug wahrscheinlich wird, daß sie es nicht sind. Daß ihm Hämatoxylin einfach dasselbe bedeutet wie Alaunhämatoxylin, ist ebenfalls bedauerlich; er bezeichnet außerdem das Hämatoxylin als eine Leukobase und gibt die unrichtige Ansicht anderer Mikrotechniker wieder, der Alaun wirke in Verbindung mit

dem Hämatoxylin als Beize. Besonders eingehend sind die Kapitel Bakterien, Blut und Nervensystem bearbeitet; sie bieten, soweit wir das beurteilen können, sogar mehr, als der Pathohistologe erwarten darf. Bei der ebenfalls genau dargelegten Fettfärbung ist die Schrift von Eisenberg (1910) nicht berücksichtigt worden.

Lediglich im Interesse der gewiß bald nötig werdenden zweiten Auflage seien folgende Notizen angefügt. Unklar ist auf p. 22 die Beschreibung der Methode Arnolds mit den Holundermarkplättchen, auf p. 38 die Mayers zur Ermittelung der Reinheit des Alkohols, auf p. 325 die Zusammensetzung von Anglades Gemisch. Ferner: Zenkers Gemisch enthält nicht 0·5 sondern 5 Prozent Sublimat; die Osmiumsäure dürfte außer in den allerersten Jahren nach ihrer Entdeckung nie 15 Mark das Gramm gekostet haben; die Vorschrift zu Böhmers Alaunhämatoxylin (auf p. 103) rührt bestimmt nicht von Böhmer her, und auf derselben Seite wird beim Hämalaun Hämatein statt Hämatoxylin vorgeschrieben; p. 72 und anderswo wird noch immer von einer japanischen Aufklebemethode gesprochen, auch ist nicht einzusehen, warum man das Eiweiß auf dem Tragglase (Objektträger) erst koagulieren läßt, bevor man das Wasser darauf bringt; p. 72 sollte man das Eiweißglyzerin doch nicht als Glyzerinleim bezeichnen; p. 124 steht Glyzerin-Äthermischung statt Glyzerinäther-Gemisch, p. 332 Dinitroresorzin statt Dinitrosoresorzin, und auf p. 340 wird zum Entkalken „Ebnersche alkoholische Salzsäure" empfohlen, die es nicht gibt. Da der Schwefel lat. sulfur heißt, so ist sulpho, sulphi usw. ungenau. Auch manche Autorennamen sind schlecht weggekommen: auf p. 325 steht Anglave statt Anglade und Fox statt Fol, p. 330 May statt Mays, p. 156 Lorrain-Smith statt Smith, p. 180 und 187 Mc Callum statt Macallum; auf p. 325 soll Callins wohl Kallius heißen, Ford-Robertson wohl Robertson und Shaw-Bolton wohl Bolton, usw. — Stilistisch wäre auch an nicht wenigen Stellen die bessernde Hand anzulegen. Der Gegensatz einmal — anderseits ist doch gar zu lax; das Verb sprayen ließe sich durch ein deutsches ersetzen, ebenso sollten die bei den Medizinern beliebten „souveränen" Methoden und „eleganten" Bilder ausgemerzt werden; das Verb frieren darf man gewiß nicht transitiv brauchen (p. 24: „man friere nicht zu stark", d. h. die Gewebe); p. 249 erkenntlich statt erkennbar. Zu beanstanden wäre auch, daß es regelmäßig heißt, ein Gemisch „besteht aus:" und nun folgen lauter Nominative! Bedenklich ist auf p. 76 der Satz: „er bedeckt die Objektträger mit einer Gelatineschicht, die er sich so herstellt, daß er sich 16 g Gelatine in 300 cm Wasser löst"; ebenso auf p. 121 das „Einlegen in in Anilinwasser gesättigtes Säurefuchsin" oder auf p. 327: „die Methode Yamagiwas, welche in Müllerscher Flüssigkeit gehärtete Stücke nach Celloïdineinbettung in alkoholischer Eosinlösung und wässeriger Anilinblaulösung mit Differenzierung in alkalischen Alkohol anwendet".

P. Mayer (Jena).

Schneider, A. u. W., Praktikum der mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere und Grundzüge der mikroskopischen Technik. Für das Selbststudium bei der Fortbildung des Lehrers, für Seminare und höhere Lehranstalten sowie zur Einführung für die Studierenden der Zoologie. Wien u. Leipzig (Tempsky & Freytag) 1915. 111 pp. m. 75 Textfigg. geb. 2 M.

Die Verff., beides Lehrer, liefern in ihrem „Praktikum der mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere" auf etwa 70 Seiten und 50 Textfiguren — sie sind alle neu — eine für ihre Leser mehr als hinreichende Darstellung der meisten Organe der Vertebraten (in erster Linie der Säuger). Sie schicken auf etwa 30 Seiten eine elementare Mikrotechnik voraus, die aber ebenfalls genügen dürfte, um bei einigem Geschicke den Benutzer zur Herstellung der Präparate anzuleiten. Die Preise der Instrumente und Reagentien werden genau angegeben. Zum Fixieren dienen Pikrinsalpetersäure, Sublimatlösung (3·5prozentige), Formol, Carnoys und Tellyesnitzkys Gemisch, zum Färben eine Art von Glychämalaun, Parakarmin, Eosin, Säurefuchsin, Indigkarmin und Pikrinsäure, als Medien Glyzeringelatine und Balsam (vorher Zedernöl oder Terpineol). Gelehrt werden: Einbetten in Paraffin, Schneiden aus freier Hand und mit Jungs Studentenmikrotom, Mazerieren, Entkalken, Schleifen, Versilbern und Vergolden sowie die Methoden von Weigert, Ramón, Golgi und Nissl für die Nervengewebe. Als neu erscheint mir nur die Verwendung von Kaliumbromat statt des Jodates zur Oxydation des Hämatoxylins; daß stets von Hämatoxylin geredet wird, wenn es sich um Alaunhämatoxylin handelt, sei nebenbei erwähnt. In Figur 19 heißt das Objekt Amphioxus lanceolatus, in Figur 18 dagegen Branchiostoma lanceolota; Ramón gilt als Autor der Methode für die Nerven, Cajal als der der Färbung mit Indigkarmin plus Pikrinsäure; p. 104 steht Membrana tectorum statt tectoria. Warum im Speziellen Teile manche Abschnitte besternt sind, andere nicht, wird nicht gesagt: wahrscheinlich sind jene die wichtigeren. *P. Mayer (Jena).*

Klopstock-Kowarsky, Praktikum der klinischen chemisch-mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 3. Aufl. Berlin u. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1915. 392 pp. u. 24 Tfln. geb. 8 M.

Das Erscheinen der 3. Auflage des für die klinische Praxis bestimmten Buches beweist, daß es in ärztlichen Kreisen als kurzer, zuverlässiger Führer Anklang gefunden hat. Die Verff. setzen voraus, daß der Benutzer des Buches ein gewisses Maß biologischer Bildung besitze. Es wäre auch sonst nicht möglich gewesen, den sehr reichhaltigen Stoff auf so kleinem Raume zu verarbeiten. Der Inhalt erstreckt sich auf die Methoden der Untersuchung von Sekreten ver-

schiedener Herkunft, von Sputum, Mageninhalt, Faeces, Blut, Punktionsflüssigkeiten und erkrankter Haut. Am Schlusse werden die allgemeinen bakteriologischen Methoden kurz abgehandelt. Ref. ist der Meinung, daß dieser Abschnitt zweckmäßiger am Anfang des Buches seinen Platz fände; er würde dann die Einleitung zu den speziellen Bakteriennachweisen, die in den übrigen Kapiteln angegeben sind, darstellen. Die Verff. haben bei der Abfassung des Buches die chemischen, histologischen, bakteriologischen, serumdiagnostischen und andere biologische Methoden gleichermaßen berücksichtigt und sich in der Auswahl durch die Bedürfnisse der ärztlichen Praxis leiten lassen. — Die vorliegende 3. Auflage hat manche Ergänzungen und Verbesserungen aufzuweisen. Die Kapitel zur Untersuchung des Blutes und der Faeces sind teilweise umgearbeitet worden. Im ersteren hat die Wassermannsche Reaktion eine ausführliche Darstellung gefunden: auch ist es durch Aufnahme der Abderhaldenschen Reaktion zur Diagnose der Schwangerschaft erweitert worden. Die farbigen, auf 24 Tafeln vereinigten Zeichnungen sind fast durchweg neu angefertigt und dadurch verbessert worden. *Hans Schneider (Bonn).*

Arnold, J., Über Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Jena (G. Fischer) 1914. 471 pp. u. 4 Tfln. 16 M.

Arnold faßt in einem umfangreichen Buche über die Struktur des Zellplasmas die Ergebnisse seiner zahlreichen — es sind mehr als 50 — Arbeiten aus den Jahren 1875 bis 1913 zusammen. Prinzipiell Neues wird daher nicht geboten, immerhin geben wir seine Methoden hier kurz wieder, eventuell unter Hinweis auf frühere Referate in dieser Zeitschrift. Untersucht wurden vom Verf. wesentlich Säuger (Hund, Katze, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen usw.) und Frosch, nebenbei auch Huhn und Gans. Nerven- und Knochengewebe hat er nicht berücksichtigt. Zur Isolierung der „Formelemente" dienen ihm 2- bis 5promillige Lösungen von Osmiumsäure sowie eine 10prozentige Lösung von Jodkalium: da diese aber Quellungen zur Folge haben kann, so wird ihr unter Umständen ein wenig Lugolsches Gemisches zugesetzt. Ein besonders gutes Objekt ist die Zunge eines Frosches, die von einem Thomaschen Träger gehalten und, wenn erwünscht, mit einem Deckglase bedeckt wird. Man kann sie so auch mit vitalen Farbstoffen (am besten mit Neutralrot) bestäuben oder mit sehr schwachen Lösungen davon betupfen. Zur supravitalen Färbung trägt man Stückchen der Zungenschleimhaut ab, legt sie in solche Lösungen (von Methylenblau 1 : 20000) und fixiert sie später mit Formoldämpfen nach der Methode von Gross (s. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 596), worauf sie in absolutem Alkohol mit oder ohne Pikrinsäure gehärtet werden. Ferner lassen sich auf die vorgelagerte Zunge oleïnsaures Natron (in Substanz oder schwacher Lösung) und Olivenöl

bringen und nach der Fixierung diese Fette in den Geweben mit Sudan erkennen. Magen. Der Gaumen von Fröschen wird mit Neutralrot oder Methylenblau eingestäubt, das Mucin mit Mucikarmin oder Thionin nachgewiesen; es sowohl als auch das Fibrin färben sich mit dem Best'schen Karmin wohl nur dann, wenn ihnen Glykogen beigemischt ist. Darm. Zur Isolierung der Zellen werden ganze Abschnitte in Jodkaliumlösung eingelegt und 6 bis 12 Stunden später die Epithelien abgeschabt. Der Weg des Fettes wird nach Fütterung der Frösche mit ganz kleinen Partikeln von Seife, die mit Alkanna oder Sudan gefärbt sind, studiert; oder den Tieren wird Öl injiziert. Leber. Isolierung der Zellen und supravitale Färbung wie oben angegeben; fixiert werden die Zellen mit 4 bis 10prozentigem Formaldehyd (nachher entweder direkt Alkohol, oder erst Chromsäure nach Benda, oder Flemmings Gemisch), Flemmings Gemisch, „Müller-Sublimat (ohne Eisessig)", Sublimatchlornatrium und Sublimateisessig, gefärbt mit Eisenhämatoxylin oder nach Bendas Mitochondrienmethode oder nach Pianese (s. diese Zeitschr. Bd. **19**. 1902, p. 91). Niere. Zur intravitalen Färbung werden warm-gesättigte Lösungen von Neutralrot, ferner Lösungen von Methylenblau, Indigkarmin und Lithionkarmin in das Unterhautzellgewebe namentlich von Mäusen injiziert, zur supravitalen Färbung feine Schnitte oder Schabsel eben getöteter Tiere in schwache Farbstofflösungen eingelegt. Fixiert wird vorwiegend mit Bendas Chromosmiumgemisch und Sublimatlösungen ohne Essigsäure, diese beiden Methoden ergänzen sich. Die nur 3 bis 5 μ dicken Paraffinschnitte werden mit Eisenhämatoxylin, oft auch hinterher mit Kristallviolett-Anilinöl (Grübler) tingiert und mit Nelkenöl allein oder Nelkenöl-Anilin (10 : 1 differenziert (s. diese Zeitschr. Bd. **20**. 1903, p. 70). Milchdrüsen. Zur Untersuchung des Fettes färbt man am besten ganz feine Gefrierschnitte von Material, das in Formol fixiert ist, mit „Hämatoxylin und Sudan" oder im Brütofen 24 bis 36 Stunden lang mit Marchis Gemisch. Zur Isolierung der Plasmasomen und Granula werden feine Schabsel entweder mit Jodkalium und Eosin behandelt oder mit Marchis oder Schultzes Gemisch mindestens 2×24 Stunden lang im Brütofen belassen und nun kleine, mit einer Platinöse herausgefischte Partikel auf 24 Stunden in „Salzsäure-Alkohol (1% : 50%)", dem auf je 10 cc 5 Tropfen gesättigter wässeriger Lösung von Säurefuchsin, hinzugefügt werden, gelegt: ist die Färbung deutlich geworden, so zerzupft man das Präparat in Glyzerin (s. diese Zeitschr. Bd. **23**, 1906, p. 214). Haut und Nickhaut des Frosches. Mazerierung, supra- und intravitale Färbung wie gewöhnlich. Um Fette in die Hornhaut einzuführen, wird in den Nickhautsack lebender oder eben getöteter Frösche eine 0·05- bis 1prozentige Lösung von oleïnsaurem Natrium in 1prozentiger Salzlösung eingeträufelt oder die Cornea mit Seifenpulver bestäubt; Fixierung in Formol. Färbung mit Sudan oder Marchis Gemisch. Knorpel. Beobachtung des lebenden Episternums des Frosches, ferner intra-

vitale Färbung mit Indigkarmin durch Einspritzung des Farbstoffes in die Lymphbahnen, worauf die Objekte teils frisch untersucht, teils nach Härtung in absolutem Alkohol in Schnitte zerlegt werden, die in Balsam oder mit Chlorkalium gesättigtes Glyzerin kommen. Auch wird Neutralrot oder Methylenblau unter die Brusthaut gebracht und 24 Stunden später das Epi- oder Hyposternum studiert. Muskeln. Fixierung mit Sublimat-Chlornatrium (ohne Essigsäure) und Bendas Chromosmiumgemisch. Die Färbung der Mitochondrien nach Benda hat Verf. etwas abgeändert und damit sehr gute Resultate erhalten (s. diese Zeitschr. Bd. **27**. 1910, p. 137). Leukozyten und Verwandte. Isolierung der Zellen im frischen Knochenmark wie gewöhnlich. Zur intravitalen Granulafärbung werden ganz dünne Plättchen von Holundermark in den Rückenlymphsack des Frosches oder das Unterhautzellgewebe von Säugern eingeführt, nachdem man sie mit sehr feinen Körnchen von Neutralrot, Methylenblau oder eines Gemenges beider Stoffe beschickt hat, und 12 bis 24 Stunden später in einer feuchten Kammer untersucht; andere Plättchen werden in Milch getaucht, ebenfalls unter die Haut resp. in den Lymphsack gebracht und nach 1 bis 2 Tagen entweder unter Zusatz von Farbstoffen in der feuchten Kammer studiert oder auf 24 Stunden in Formol und von da in Osmiumsäure oder Flemmings Gemisch gelegt. Der Milch kann auch Tusche beigegeben werden. Dünne Scheibchen von Hammeltalg werden zwischen zwei Plättchen eingeschlossen und so in den Lymphsack geschoben, ähnlich wird mit Nervenmark vom Frosch, das in 1prozentiger Salzlösung zerkleinert ist, verfahren (s. diese Zeitschr. Bd. **18**. 1901, p. 42). Die Plättchen können ferner zur Einführung von Eisentartrat oder Ferrum hydrogenio reductum in den Lymphsack dienen; analog wird bei Kaninchen durch ein Bohrloch im Femur ein dünner Eisendraht geschoben und nach Verschluß der Wunde 1 bis 4 Monate dort belassen; alsdann wird das Knochenmark auf die Siderosis hin geprüft. Endlich kann man von den Plättchen die Zellen auf Deckgläser abstreichen und hier weiter behandeln. Bei der intravitalen Färbung der Froschzunge hat es sich ergeben, daß das Neutralrot nicht so giftig ist wie das Methylenblau. Speziell für die Mastzellen ist die Harnblase des Frosches sehr geeignet: man legt sie in eine schwache Lösung von Neutralrot und sieht bereits nach 10 bis 20 Minuten die gefärbten Granula im Epithel. Schnitte durch die Zungenwurzel des Frosches „wurden in 5prozentigem Alkohol, dem einige Tropfen polychromen Methylenblaus (Unna) kurz vor dem Gebrauch hinzugesetzt waren, mindestens eine Stunde lang tingiert, dann kurz in 50prozentigem Alkohol mit Zusatz einiger Tropfen Glyzerinäthers abgespült und in 90prozentigem Alkohol differenziert" (p. 349). Glykogen. „Das Desiderat, dessen Berechtigung ich bereitwillig anerkenne, daß als Glykogen nur diejenige Substanz anerkannt wird, welche außer mit der Bestschen und Mayerschen Färbung bei den Jodmethoden und der Speichelprobe positive Resul-

tate ergibt, stößt in seiner Ausführung auf Schwierigkeiten" (p. 295). Verf. stellt das Vorkommen diffusen Glykogens nicht in Abrede, läßt aber seine „Bindung an die präformierten Bestandteile des Plasmas, die Granula, die Mitosomen und Mitochondrien, eine, wenn nicht gesetzmäßige, so doch weit verbreitete Erscheinung" sein (p. 408). Durch Jod läßt es sich nicht so sicher nachweisen wie durch die Methoden von Best und P. Mayer. Zur Fixierung der Leber — die des Kaninchens ist besonders empfehlenswert — dient am besten absoluter Alkohol, jedoch „finden sich meistens nur in den zentralen Zonen brauchbare Bilder" (p. 67), denn an den Rändern ist das Glykogen oft verklumpt. Bei der Härtung in Formol scheint ein Teil gelöst zu werden. Die Behandlung der Objekte mit filtriertem Speichel darf nicht unterlassen werden; sie bildet die Kontrolle, auch kann man nach der Lösung des Glykogens die Plasmasomen darstellen. Unter Umständen muß man aber den Speichel lange wirken lassen. Wenn sich mit dem Bestschen Karmingemisch auch „mucinoide und fibrinoide" Substanzen färben — s. oben — so enthalten diese wohl Glykogen, nicht aber wird der Wert der Methode dadurch beeinträchtigt. Beim Knorpel ist sehr gut die Vorfärbung mit Eisenhämatoxylin. Beim Herzmuskel ist die Räucherung mit Jod im Ausschliff eines Tragglases (Objektträgers) auch „an Schnitten von Celloïdinpräparaten nach Entwässerung in Alkohol und Aufhellung durch Origanumöl" (p. 263) ausführbar und liefert gute Bilder: bei Anwendung wässeriger Jodlösungen können selbst an fixierten Objekten noch Veränderungen des Glykogens eintreten. Zur Härtung der Herzen kleiner Säuger wurde das Fixiermittel — „Alkohol, Sublimat-Alkohol (5 Prozent), Formol-Alkohol (10 Prozent) oder Müller-Formol" (p. 280) — durch Aorta und Pulmonalis injiziert. Die Verlagerung des Glykogens läßt sich durch Neukirchs Methode (Fixierung in Formol oder Sublimat unter Zusatz von Dextrose, s. Arch. Path. Anat. Bd. **200**, 1910) vermeiden. Um auch Paraffinschnitte mit Bestschem Karmin behandeln zu können, spült man das Präparat, nachdem das Paraffin mit Xylol weggeschafft worden ist, mit Äther-Alkohol ab, bringt es in eine schwache Celloïdinlösung, läßt dann diese ablaufen, so daß nur eine ganz dünne Schicht davon auf dem Präparat bleibt, und taucht dieses in 80prozentigen Alkohol, bis das Celloïdin fest geworden ist. Dieses stört bei der Färbung fast gar nicht, kann auch später durch Nelkenöl oder Äther-Alkohol entfernt werden.

Nebenbei sei darauf hingewiesen, daß Verf. die Namen der von ihm zitierten Autoren manchmal ungenau angibt, so daß es dann nicht ohne weiteres möglich ist zu wissen, wen er meint. Statt Zillinberg-Paul, Ottilie wird Zillenberg, P. oder gar Zillerberg gesetzt; aus Marco Fedele wird ein Fedele Marchi, aus Zsigmondy ein Ziegmundi, aus Mönckeberg ein Menkeberg, aus Krahelska eine Kraheiska, usw. Mayer, P. und Mayer, S. erscheinen im Text meist als Meyer; Mayer, S. in der Literaturliste sogar an beiden Stellen,

was noch fataler ist; Mayer, P. nur als Meyer, während Mayer, A. mit sieben Arbeiten in dieser Liste nachhinkt. *P. Mayer (Jena).*

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Spalteholz, W., Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Nebst Anhang: Über Knochenfärbung. 2. Aufl. Leipzig 1914. 93 pp.

Verf. gelangte zu seiner 1911 zuerst mitgeteilten[1] Methode bei dem Versuch, ganze Herzen aufzuhellen. Dieser gelang nur unvollkommen mit den in der Mikroskopie gebräuchlichsten Aufhellungsmedien, vollständig mit einem bestimmten Gemisch von Benzol und Schwefelkohlenstoff. Genauere Analyse zeigte nun: 1) Jedes Gewebe, jedes Organ, überhaupt jeder organische Körper tierischer oder pflanzlicher Herkunft besitzt einen bestimmten Brechungsindex, der die Resultate der Brechungsindices seiner Elemente ist. Daher läßt sich die in der Mikroskopie für dünne Gewebsschichten seit langem übliche Methode der Aufhellung auf ganze Gewebe, Organe und tierische und pflanzliche Körper übertragen; denn im Grunde genommen berücksichtigt man auch bei der Aufhellung mikroskopischer Objekte und feiner Schnitte den mittleren Brechungsindex eines Gemenges von stofflichen Elementen verschiedenen Lichtbrechungsvermögens. 2) Ein Gewebe, Organ usw. erreicht das Optimum der Durchsichtigkeit, wenn die Aufhellungsflüssigkeit den ihm selbst zukommenden Brechungsindex besitzt. Ist die Differenz zwischen dem Brechungsindex des Mediums und dem des Gewebes klein, so ist das Gewebe noch durchscheinend; ist diese Differenz groß, so bleibt es undurchsichtig. Am deutlichsten offenbaren sich solche Unterschiede bei dicken Objekten. 3) Die mittleren Brechungsindices der verschiedenen Gewebe stimmen nicht ganz überein. (Für entkalkte menschliche Knochen ist $n_D = 1{\cdot}547$, für menschliche Herzen $1{\cdot}551$. Der Brechungsindex pflanzlicher verholzter Gewebe liegt, nach brieflicher Mitteilung des Verf., hoch, nahe bei dem des Benzylbenzoats.) Daher ist es möglich, ein Organ, eine Gewebepartie usw. deutlich sichtbar zu machen durch Anwendung einer Aufhellungsflüssigkeit, deren Brechungsindex nicht mit dem des Organs, jedoch mit dem seiner Umgebung übereinstimmt. Hierauf beruht die Methode des Verf.

Um nicht für jedes Gewebe ein besonderes Aufhellungsmittel ausfindig machen zu müssen, suchte Verf. nach zwei Medien, durch deren Mischung der Brechungsindex innerhalb der nötigen Breite variiert werden konnte. Die Mischung sollte farblos, klar, unzersetzlich, für

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 29. 1912. p. 89.

die Gewebe indifferent, ungiftig, nicht feuergefährlich und nicht zu teuer sein. Verf. fand solche Medien in einigen ätherischen Ölen (Firmen: Heine & Co., Leipzig; Schimmel & Co., Miltitz; Anton Deppe Söhne, Hamburg-Billbrook). Als Medium von niedrigem Index benutzt er künstliches Wintergrünöl (Gaultheriaöl, $n_D = 1{\cdot}534—1{\cdot}538$) oder das billigere und nicht hautreizende Safrol ($n_D = 1{\cdot}540—1{\cdot}542$), als Medium von höherem Index Benzylbenzoat ($n_D = 1{\cdot}568—1{\cdot}57$) oder entfärbtes Isosafrol der Firma Schimmel & Co. ($n_D = 1{\cdot}577$). Das Optimum der Durchsichtigkeit für entkalkte Knochen erwachsener Menschen erreicht man z. B. durch Mischen von 5 Gewichtsteilen Wintergrünöl und 3 Gewichtsteilen Benzylbenzoat, oder von 3 Teilen Wintergrünöl und 1 Teil Isosafrol, oder auch von 3 Teilen Safrol und 1 Teil Benzolbenzoat.

Die Anfertigung der Präparate geschieht folgendermaßen: Die Objekte werden, am besten mit Formalin, Alkohol oder Sublimat, fixiert und dann gründlich (tage- bis wochenlang) mit käuflichem Wasserstoffsuperoxyd, dem zur Verhinderung der Mazeration 1 Prozent Formalin zugesetzt wird, gebleicht. Hierauf werden sie tagelang in fließendem Wasser, dann 1 bis 2 Tage in oft gewechseltem destilliertem Wasser gewaschen. Man führt sie nun durch die Alkoholstufen in absoluten Alkohol über, in dem sie bis zur völligen Entwässerung verbleiben, und bringt sie alsdann in Benzol, das innerhalb 1 bis 2 Tagen zweimal gewechselt wird, damit alle Alkoholspuren verschwinden. Hierauf überträgt man sie mit möglichst wenig Benzol in die Endflüssigkeit, d. h. eine der oben erwähnten Mischungen. Indem man mehrere Tage hintereinander je einige Stunden lang mittels einer Wasserstrahlluftpumpe evakuiert, entfernt man die Luft und das Benzol völlig aus den Präparaten. Zweckmäßig ist es, der Endflüssigkeit zuerst einen etwas zu niedrigen Brechungsindex zu geben und das Optimum der Durchsichtigkeit durch vorsichtiges Hinzufügen von kleinen Mengen des stärker brechenden Öles herzustellen. Die Mischung der Öle und ihr Eindringen in das Objekt dauern immer längere Zeit.

Als Nebenoperationen, die das Ergebnis verbessern, seien erwähnt: Entschuppen und Enthaaren der Haut, Injektion der Gefäße mit Leimmassen, Füllung von Hohlräumen (Labyrinth usw.) mit Woodschem Metall, spezifische Färbung bestimmter Gewebe, z. B. der Knochen. (Vgl. den Anhang.) — Durchsichtig gemachte Präparate sind hart und glasklar. Alle Teile, deren Brechungsindex merklich von dem der Endflüssigkeit abweicht oder die von Natur oder künstlich gefärbt sind, heben sich deutlich hervor. Der Gesamtton der Färbung der Präparate ist hellgelblich bis braun. —

Den Mikroskopiker interessiert in dem Werkchen vor allem die prinzipielle Erörterung über das Wesen der Aufhellung. Die vom Verf. benutzten ätherischen Öle wird er als unschädliche Aufhellungsmittel auch für seine Zwecke verwenden. Ferner kann die beschriebene Methode ihm wichtige Dienste leisten zum Vorstudium der Objekte, die später nach Schnitten rekonstruiert werden sollen.

Bei weniger schwierigen und größeren Objekten mag sie sogar manchmal die Rekonstruktion unnötig machen. *Hans Schneider (Bonn).*

Edinger, L., Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Präparaten (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 1; Wissenschaftl. Vereinigung am städtischen Krankenhause zu Frankfurt a. M., Sitz. 11. Nov. 1913).

Wie schon in einem früheren Referate erwähnt wurde, hat Herr Liesegang in dem Laboratorium von Herrn Prof. Edinger ein Verfahren zur Einbettung mikroskopischer Präparate in Gelatine ausgearbeitet. Es ist nun allmählich gelungen, von den mancherlei Mängeln, die diesem Verfahren, das berufen ist, den Kanadabalsam zu verdrängen, noch anhaften, einige zu beseitigen. Paraffinserien und einzelne Schnitte werden bereits tadellos, bei Serien, die zwischen Celloïdinschichten eingebettet sind, kommen gelegentlich noch Stellen vor, wo die Gelatine nicht eindringt. Ganz besonders vorteilhaft ist das neue Verfahren für die großen Schnitte durch die menschlichen Hemisphären, ferner bei histologischen Färbungen, bei denen unter anderen die Silberimprägnation, die feinsten Fettröpfchen usw. prachtvoll erhalten werden können. Der größte Vorteil ist der, daß die Schnitte direkt aus Wasser resp. der wässerigen Farbflotte in die Einschlußmasse kommen. Wichtig ist, daß die Gelatine nie über 35° erwärmt wird, weil sie sonst in die Leimmodifikation übergeht und vom Glase abspringen kann. Sie springt auch ab, wenn die Schicht zu dick ist. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schiassi, B., Nouvelles solutions physiologiques (La Semaine méd. Année **33**, 1913, no. 50, p. 589—590).

Verf. betont, daß wenn die Lösung von Ringer für die niederen Tiere und die von Locke für die Säugetiere in der Tat die passendsten sind, für den Menschen speziell eine etwas andere Zusammensetzung, die er gefunden hat, sich als noch besser erweist. Es ist dies die folgende Mischung:

Natriumchlorat	6·50 g
Kaliumchlorat	0·30 „
Kalziumchlorat, geschmolzen	1·00 „
Natriumbikarbonat	0·50 „
Glykose	1·50 „
Destilliertes Wasser	1000·00 „

Schiefferdecker (Bonn).

Simarro y Villaverde, Método de coloración histológica por el negro de anilina producido en el tejido. — Comunicación previa (Bol. Soc. Españ. Biol. Año **3**, 1913, no. 21, 22, p. 25—27).

Die hier angewendete Methode beruht bekanntlich auf der Oxydation eines Anilinsalzes, durch welche der Reihe nach ein roter, dann ein grüner (esmeraldina) und zuletzt ein schwarzer Stoff entsteht (Anilinschwarz, das unlöslich und widerstandsfähig gegen Säuren, Alkalien usw. ist). Diese Oxydation geschieht auf Kosten von chlorsaurem Kalium und des Sauerstoffs der Luft durch die katalytische Einwirkung von bestimmten Metallsalzen, so z. B. der Vanadiumsalze, Kupfer- und Eisensalze. Die in der Färberei angewendeten Verfahren bestehen im allgemeinen darin, das Gewebe mit dem Metallsalze zu imprägnieren und es dann in eine Mischung zu bringen von Anilinsulfat oder Anilinchlorhydrat und chlorsaurem Kalium. Die katalytische Wirkung entwickelt sich langsam, so daß sich innerhalb von 24 bis 48 Stunden, je nach der Temperatur, das Smaragdgrün entwickelt, das allmählich übergeht in das Schwarz. Die Einwirkung der Luft oder die Einwirkung von anderen Oxydationsmitteln, wie Kaliumbichromat, vervollständigen dann die Erzeugung des schwarzen Farbentones. (E. Noelting, A. Lehne, O. Piquet, Le Noir d'Aniline. Paris. Aux Bureaux de la Revue Générale des Matières Colorantes, 1908.) Die Verff. haben nun diesen Färbeprozeß für histologische Zwecke benutzt und haben gefunden, daß eine Anilinschwarz-Färbung sowohl im Stücke wie in Schnitten auftritt, wenn man die kurze Zeit mit Formol fixierten Stücke entweder in eine Lösung des Ammoniummetavanadates (0·25 : 100), oder in eine Lösung des Eisensulfates (5 : 100), oder des Kupfersulfates (1 : 100), oder des Kupferchlorates (2 : 100) einlegt. Man kann auch die Osmiumsäure (1 : 1000) als Katalysator benutzen (aber nur für Schnitte) nach der auf rein chemischem Wege erfolgten Entdeckung von K. A. Hofman (Sauerstoff-Übertragung durch Osmiumtetroxyd und Aktivierung von Chlorat-Lösung. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft No. 16. 7. Dez. 1912). Auch die Imprägnierung mit Silbernitrat (5 : 100) läßt in Schnitten eine smaragdgrüne Färbung entstehen. Palladium, Platin und Uran erzeugen schwache Färbungen auch nur an Schnitten. Nach der Imprägnation des Gewebes mit dem Katalysator, der vorzugsweise elektiv wirkt, bald auf die Kerne und das Bindegewebe (Metavanadat), bald auf das Protoplasma (Eisen, Silber und Kupfer), wobei das Stück 24 bis 48 Stunden lang in der Salzlösung im Ofen (37°) verbleibt, wird es gründlich ausgewaschen und übertragen in eine Mischung von gleichen Teilen einer wässerigen Lösung des Anilinchlorhydrates (8 : 100) und des chlorsaurem Kaliums (4 : 100), in dieser Mischung, wiederum im Ofen, verbleibt das Präparat 24 bis 48 Stunden. Ist die Färbung ungenügend geworden, so verstärkt man die Oxydation in einer Kaliumbichromatlösung (5 : 100), wodurch die Reaktion vervollständigt wird. Hierfür kann man auch ozonisiertes Terpentinöl benutzen, welches bei Einbettung in Paraffin zur Lösung dieses dienen kann. Stärker wird die Färbung, wenn man als Katalysator das Ammoniumvanadat (0·25 : 100) benutzt, worin das Präparat 24 Stunden

im Ofen verbleibt. Nach dem Vanadat folgt als Verstärker der Färbung das Eisensulfat, doch wird durch dieses nicht die Kernfärbung verstärkt. Die gefärbten Stücke werden vorzugsweise in Paraffin eingebettet, können aber auch in Celloïdin eingeschlossen werden, da sowohl das Smaragdgrün wie das Anilinschwarz unveränderlich und unlöslich sind; nur die rotviolette Färbung (der erste Oxydationsgrad des Anilins) löst sich in Alkohol, immerhin verbleiben Reste der Färbung, wenn das Stück groß ist und die Einbettung schnell vor sich geht. Die Schnitte können aufgehellt werden mit ozonisiertem Terpentinöl, welches die Färbung in höherem Grade als andere Öle verstärkt. Nach Verf. hat diese Färbungsmethode besonders beim Nervensysteme sehr interessante Resultate ergeben, welche er veröffentlichen wird. Hier weist er nur kurz auf die Färbungserscheinungen hin, die bei fast allen Geweben erhalten werden können (Muskel, Leber, Milz, Niere, Hoden, Nervenzentren und Nebennieren). Im allgemeinen ist die Färbung stark und undurchsichtig und eignet sich für die Photographie. Mit dem Vanadat färben sich zunächst die Kerne, die Gefäße, das Blut und das Bindegewebe nehmen ferner eine starke Färbung an, während das Protoplasma der höheren Elemente (Muskel, Nervenzentren) in der rötlichen Färbung des ersten Oxydationsgrades des Anilins erscheint. Die Osmiumsäure erzielt bei Schnitten dem Vanadat entsprechende Wirkungen, ebenso das Silber, doch ist die Färbung hier schwächer. Die Kupfer- und Eisensalze ergeben hauptsächlich Protoplasmafärbungen, bei denen sich die Kerne nicht abheben. Die Verff. setzen ihre Untersuchungen noch mit anderen Metallsalzen fort. *Schiefferdecker (Bonn).*

Ranke, O., Neue Kenntnisse und Anschauungen von dem mesenchymalen Syncytium und seinen Differenzierungsprodukten unter normalen und pathologischen Bedingungen, gewonnen mittels der Tanninsilbermethode von N. Achúcarro (Sitzber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., mathem.-naturwiss. Klasse, Abt. B, Biol. Wissensch. Jahrg. 1913, 3. Abhandl. 30 pp. u. 10 Tfln.).

Die bisherigen Vorstellungen von Genese, fertiger Struktur und pathologischer Reaktion des mesenchymalen Bindegewebes müssen nach Ergebnissen mit der Methode von Achúcarro sehr erheblich modifiziert werden. Die Methode ist die folgende: Fixierung in 10prozentiger Formollösung (nicht über ein Jahr). Gefrierschnitte von 10 bis 20 μ. Kurzes Auswaschen in destilliertem Wasser. Erwärmen der Schnitte in kaltgesättigter Tanninlösung (15 Minuten bei 50°). Nach Erkalten Behandlung jedes einzelnen Schnittes in folgender Weise: kurzes Auswaschen in destilliertem Wasser. Überführung des Schnittes in eine Schale mit 20 cc destillierten Wassers

mit Zufügung von 8 Tropfen der ammoniakalischen Silberlösung nach Bielschowsky. In dieser Lösung verbleibt der Schnitt unter anhaltender Bewegung mit einer Glasnadel so lange, bis er (unter Abgabe von brauner Farbe an die Silberlösung) einen bestimmten bräunlichen Ton angenommen hat. Kurzes Auswaschen in destilliertem Wasser. Überführung des Schnittes in 10prozentige Formollösung zur Reduktion. Auswaschen. Steigender Alkohol. Xylol-Balsam. — Die Anwendbarkeit dieser Methode konnte wesentlich erweitert werden, da sich herausstellte, daß sich mit ihr die Bestandteile des mesenchymalen Bindegewebes nicht nur in Gefrierschnitten, sondern in beliebig gehärteten und in Paraffin oder in Celloïdin eingebetteten Gewebsteilen darstellen lassen. Nicht geeignet sind nur Fixierungsflüssigkeiten, die Metallsalze (speziell Chromate) enthalten. Gute Resultate ergeben Alkohol von 96 Prozent, Formol 10prozentige Lösung, Keyserlingsche Flüssigkeit. Besonders brauchbar zeigten sich Celloïdinschnitte, die sich seit Jahren in 80prozentigem Alkohol in verkorkten Gläsern befanden, deren Alkohol durch tanninhaltige Bestandteile gelblich gefärbt war. Verf. legt daher jetzt frische Schnitte oder Teile von Schnittserien, welche nach der Methode von Achúcarro behandelt werden sollen, in 80prozentigen Alkohol, dem einige Korkteile beigefügt sind. Solche Schnitte kommen, nach Auswaschen in Brunnenwasser, für 8 bis 12 Stunden in eine 10prozentige Formollösung (eine längere Zeit schadet nichts), dann kurze Auswässerung, dann konzentrierte wässerige Tanninlösung bei 50° für einige Minuten bis mehrere Stunden (die Zeitdauer scheint fast ganz belanglos zu sein) zur Beizung (wichtig ist die Art des Tannins. Das zu 50 Prozent in Wasser lösliche Acid. tannic. leviss. puriss. von Merck, Pharmacopoe V, wirkt ausgezeichnet, das schwerer lösliche Tannin der älteren Pharmacopoe dagegen gibt ganz ungleichwertige Resultate), dann Ausschwenken in destilliertem Wasser, bis die Schnitte den letzten Rest des Tannins abgegeben haben (vollkommen undurchsichtig geworden sind). Dann wird immer nur je ein Schnitt in die Silberlösung von Achúcarro (Verf. nimmt etwa 12 Tropfen der ammoniakalischen Silberlösung auf 20 cc Wasser) übertragen und mit einer Glasnadel so lange in ständiger Bewegung gehalten, bis er bis zu einem gewissen, für verschiedene Organe und verschiedenartige pathologische Prozesse verschiedenen Grade gebräunt ist. Dann direktes Übertragen (ohne vorheriges Auswaschen) in die reduzierende 10prozentige Formollösung. Dann je nach Bedarf Kern- oder Protoplasmafärbung. Hierfür erwies sich als besonders brauchbar (für beide Zwecke) die Behandlung mit Eosinthionin-Methylenzur (Ranke, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psych. Bd. 7, 1911).

Schiefferdecker (Bonn).

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Plenk, H., Die Entwicklung von Cistella (Argiope) neapolitana. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Brachiopoden (Arb. a. d. Zool. Inst. d. Univ. Wien Bd. **20**, 1913, p. 93—108 m. 1 Tfl.).

Die Embryonen bis zum freischwimmenden Stadium findet man bei Cistella in den Bruttaschen des Muttertieres. Bis zu diesem Stadium ist also ein vollständiges Material verhältnismäßig leicht zu erlangen. Die Embryonen wurden nach Öffnung des erwachsenen Tieres unter dem binokularen Mikroskop mit der Nadel herauspräpariert und mit der Pipette auf einen Objektträger für 1 bis 2 Minuten in Sublimat-Eisessig (5 Prozent Eisessig auf gesättigte Sublimatlösung) und von da in Jodalkohol gebracht. An Totalpräparaten des lebenden Embryos konnte infolge der großen Undurchsichtigkeit des Objektes nur wenig beobachtet werden, die Hauptsache wurde deshalb an Paraffinschnittserien studiert. Als einzig befriedigendes Färbemittel erwies sich Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Leider wird die Klarheit der Präparate, namentlich der jüngeren Stadien, sehr durch die sich stark mitfärbenden Dotterkörner beeinträchtigt.

E. Schoebel (Neapel).

Braue, A., Die Pollensammelapparate der beinsammelnden Bienen (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**, 1913, p. 1—96 m. 26 Figg. u. 4 Tfln.).

Das Untersuchungsmaterial bestand aus trockenen und in 60prozentigem Alkohol konservierten Tieren. Letzteres erwies sich für die Weiterbehandlung geeigneter als ersteres. Die mit Pinzette und Messer vorsichtig vom Thorax getrennten Beine wurden in destilliertes Wasser übergeführt, dann in einer übersättigten wässerigen Chlorlösung gebleicht, nach gehörigem Auswaschen durch Alkohol in Xylol gebracht und in Kanadabalsam eingeschlossen. *E. Schoebel (Neapel).*

Rösch, P., Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der Strepsipteren (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**, 1913, p. 97—146 m. 8 Figg. u. 4 Tfln.).

Die Wespen wurden chloroformiert und die ihrer Leibeshöhle sorgfältig entnommenen lebenden Parasiten in heißem Sublimat fixiert. Nach Färbung mit Alaunkarmin oder Delafields Hämatoxylin wurden letztere durch Xylol in Paraffin eingebettet. Die Schnitte erhielten meist

dann noch eine Nachfärbung mit Pikrokarmin oder Eosin. Für die Sichtbarmachung von Basalmembranen, Stäbchen, Zellgrenzen u. dgl. kam außerdem Heidenhains Eisenhämatoxylin zur Verwendung.

E. Schoebel (Neapel).

Kühnle, K. F., Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn, die Kopfnerven und die Kopfdrüsen des gemeinen Ohrwurms (Forficula auricularia L.) mit Bemerkungen über die Gehirne und Kopfdrüsen eines Springschwanzes (Tomocerus flavescens Tullb.), einer Termitenarbeiterin [Eutermes peruanus f. aequatorianus Holmgr.] und der indischen Stabheuschrecke [Dixippus morosus] (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**. 1913. p. 147—276 m. 36 Figg. u. 5 Tfln.).

Da alle speziellen Imprägnationsmethoden zur Darstellung des Nervensystems im Stich ließen, mußte ausschließlich mit den allgemeinen Mitteln der Fixierung und Färbung gearbeitet werden. Von den zahlreichen für andere Insekten empfohlenen Fixierungsmitteln wurden im vorliegenden Fall die besten Resultate mit 10prozentigem Formol und Flemmingscher Lösung erzielt. Da die zur Erweichung des Chitins üblichen Mittel alle im Stich ließen, konnten nur von frisch gehäuteten Tieren oder nach Präparation des Gehirnes befriedigende Präparate erhalten werden. Die besten Färbungen gab Delafields Hämatoxylin, Eosin und Säurefuchsin sowie bei Fixierung mit Flemmingscher Lösung Reduktion der Osmiumsäure durch rohen Holzessig oder Pyrogallol.

E. Schoebel (Neapel).

Kerschner, Th., Die Entwicklungsgeschichte des männlichen Kopulationsapparates von Tenebrio molitor L. (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**. 1913, p. 337—376 m. 11 Figg. u. 4 Tfln.).

Die mit Chloroformdämpfen betäubten Tiere wurden zur Entfernung der Luft aus den Tracheen zunächst in destilliertes, auf 60 bis 70° C erwärmtes Wasser gebracht, bis sie untersanken, dann in heißem Sublimat fixiert und nach 24stündigem Verweilen darin in kaltes Hennings'sches Gemisch, bestehend aus 16 Teilen konzentrierter Salpetersäure, 16 Teilen 0·5prozentiger Chromsäure, 24 Teilen gesättigter Lösung von Sublimat in 60prozentigem Alkohol, 12 Teilen gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung und 42 Teilen absolutem Alkohol, gebracht, worin junge Larven und frisch gehäutete Individuen mit dickem, erhärtetem Chitin 48 Stunden verblieben. Die Objekte wurden dann in steigendem Alkohol entwässert, aus dem absoluten Alkohol, in dem sie 24 Stunden verweilen mußten, auf 24 Stunden

in Zedernholzöl eingelegt und schließlich auf 12 bis 24 Stunden in Xylol übertragen. Von hier kamen sie auf 24 bis 48 Stunden in Paraffin. Notwendig ist, die Tiere vor dem Einlegen in absoluten Alkohol an der Grenze von Thorax und Abdomen zu durchschneiden. Aufgeklebt wurden die eventuell unter Hilfe von Mastixkollodium-Bepinselung hergestellten Schnitte mit Glyzerineiweiß und vor dem Wegschwimmen durch einen dünnen Photoxylinüberzug gesichert. Gefärbt wurden die Schnittserien mit Ehrlichs Hämatoxylin und 0·1prozentigem Eosin.

E. Schoebel (Neapel).

Müller-Calé, K., Über die Entwicklung von Cypris incongruens (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 113—170 m. 25 Figg. u. 6 Tfln.).

Die Eipakete von Cypris incongruens wurden fixiert, wenn sie 5, 10, 20, 30 und 60 Tage alt waren, wobei das bis zum Sieden erhitzte Sublimat-Eisessiggemisch nach Gilson-Petrunkewitsch (Einwirkung 4 bis 5 Stunden) und zur Kontrolle Sublimatalkohol zur Verwendung kamen. Um den schwer schneidbaren Dotter zu erweichen, erwies sich eine 2- bis 3tägige Behandlung mit salzsaurem Alkohol, in dem Pepsin gelöst war, als vorteilhaft. Zur Einbettung zeigte sich nach mannigfachen Versuchen mit anderen Methoden nur die kombinierte Kollodium-Paraffinmethode in folgender Ausführung als geeignet: Aus 96prozentigem Alkohol kommen die Objekte in ein Gemisch von 96prozentigem Alkohol und 4prozentigem Kollodium 2 : 1 auf 5 bis 7 Tage, dann in eine Mischung von Zedernholzöl und Chloroform 1 : 1 auf 2 bis 3 Tage; hierauf folgt Einbettung in Paraffin von 42° C Schmelzpunkt auf eine halbe Stunde, schließlich in Paraffin vom Schmelzpunkt 48° C auf 2 bis 3 Stunden. Es empfiehlt sich beim Überführen in das Zedernholzölgemisch im Interesse der besseren Schneidbarkeit nur eine möglichst dünne Kollodiumschicht am Objekt zu belassen. Auch bei der Färbung erwies sich der Dotterreichtum äußerst hinderlich, denn der Dotter wird durch alle Kernfarbstoffe mitgefärbt. Zur Verwendung kam hauptsächlich Delafields Hämatoxylin und Eosin, nebenbei aber noch Boraxkarmin-Blen de Lyon und Eisenhämatoxylin entweder allein oder mit Lichtgrün. Hierbei war es nötig, statt mit Eisenalaun mit salzsaurem Alkohol zu differenzieren, weil es sonst nicht möglich war den Dotter hinreichend zu entfärben.

E. Schoebel (Neapel).

Schuch, K., Beiträge zur Kenntnis der Schalendrüse und der Geschlechtsorgane der Cumaceen (Arb. a. d. Zool. Inst. d. Univ. Wien Bd. **20**, 1913, p. 7—22 m. 2 Tfln.).

Von den angewandten Fixierungsmitteln leistete neben verschiedenen warm angewandten Sublimatgemischen vor allem die Tellyesniczkysche Flüssigkeit recht gute Dienste. Für Untersuchungen,

die sich auf den Thorax beschränken, empfiehlt es sich den Tieren kurz vor der Fixierung das Abdomen abzuschneiden, damit die Flüssigkeit besser eindringen kann. Zur Entkalkung des Panzers, die bei größeren Formen unerläßlich ist, wurde Perényische Flüssigkeit angewandt. Die Einbettung erfolgte (mit Xylol oder Zedernholzöl als Intermedium) in Paraffin. Zum Färben der Schnitte leistete Eisenhämatoxylin nach Heidenhain mit und ohne Eosin- oder Säurefuchsinnachfärbung weitaus die besten Dienste.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Unna, P. G., Die Herkunft der Plasmazellen (Virchows Arch. Bd. **214**, 1913, p. 320—339 m. 2 Tfln.).

Fixierung für 24 Stunden in 2prozentiger wässeriger Chlorzinklösung, Übertragen für wenigstens 24 Stunden auf einen Wattebausch in ein Gläschen, das bis zur Höhe des Gewebstückes mit absolutem Alkohol gefüllt ist und verschlossen wird. Hierdurch ist im Gewebe die Integrität des Granoplasmas (Cytose) gewährleistet, das in absolutem, nicht aber in verdünntem Alkohol unlöslich ist und durch Chlorzink gefällt wird unter Erhöhung seiner Färbbarkeit. In absolutem Alkohol können die Stücke längere Zeit verbleiben, doch ist ein sehr langer Aufenthalt nicht ratsam, da der Alkohol als reduzierender Körper allmählich die Färbbarkeit aller Gewebe herabsetzt. Zum Verschlusse der Gläschen sind Korke, falls sie nicht gut paraffiniert sind, zu vermeiden, da sie alkohollösliche reduzierende Stoffe, vor allem Tannin, enthalten, die durch den Alkohol den Geweben zugeführt werden und die Färbbarkeit dieser sehr schädigen. Am besten ist schneller Einschluß der Präparate in Celloïdin, in dem sie sich beliebig lange gut halten, da Celloïdin viel Sauerstoff gespeichert enthält. Die Stücke kommen für 24 Stunden in eine dünne und ebenso lange in eine konzentrierte Celloïdinlösung, am besten bei Zimmertemperatur, was bei starkem Fettgehalte notwendig ist, da in der Wärme das Celloïdin schmierig wird. Sehr kleine Stücke können direkt in dickes Celloïdin eingelegt werden. Schnittdicke 10 bis 15 μ, dünnere Schnitte fallen bei Granulomen leicht auseinander, auch werden viele Zellzusammenhänge zerschnitten. Dickere Schnitte (bis 20 μ) zeigen wohl noch mehr Zusammenhänge, eignen sich aber nicht mehr so gut für Lumière-Aufnahmen. Die Schnitte werden von Celloïdin befreit und bleiben längere Zeit in einer Alkohol-Äthermischung, um alle schwer löslichen Reste von Lipoiden auszuziehen, wodurch die Färbung verbessert wird. Nimmt man zur

Farbmischung ein durch Schütteln mit Chloroform (P. Mayer) von Methylviolett frisch gereinigtes Methylgrün, so erscheinen die Kerne hellgrün und die Methode geht über in die chemisch wertvolle Nuklein-Nukleolin-Methode. Farbmischung:

Methylgrün (eventuell gereinigt)		0·15 g
Pyronin		0·25 „
Alkohol, 96prozentig		2·50 „
Glyzerin		20·00 „
Karbolwasser, 0·5prozentig	ad	100·00 „

1) Die Schnitte kommen durch Wasser (20 bis 30 Minuten) bei Zimmertemperatur in diese Mischung. 2) Kurzes Abspülen in schwach mit Essigsäure angesäuertem Wasser. 3) Übertragen der Schnitte für 1 bis 2 Sekunden in absoluten Alkohol mit 0·5 pro mille Trichloressigsäure, in der sie sehr rasch entfärbt werden. 4) Dann in absoluten Alkohol, in dem die Entwässerung in Ruhe vollendet wird, dann 5) Bergamottöl mit Xylol, dann Balsam. — Um die Verbindungsbrücken zwischen den Plasmazellen zu sehen, muß man besonders trockene, teilweise fibröse Gewebe mit Plasmazellengehalt auswählen und in diesen die jüngsten Ansammlungen der Plasmazellen. Besonders trockene Formen von Granulom sind: das Lupusfibrom und festes tuberkulöses Granulationsgewebe, die syphilitische Initialsklerose und tertiäre Syphilide, das Nackenkeloid und die Elephantiasis der Beine und alle vernarbenden und hypertrophischen Formen von Granulomen. Besonders schöne Bilder lieferte die an Spongioplasma reiche Aktinomykose der Rinder.

Schiefferdecker (Bonn).

Meßner, E., Weitere Mitteilungen über die Färbung der Nisslschen Schollen mit Pikrokarmin (Journ. f. Psychol. u. Neurol. Bd. **20**, 1913, p. 256).

Die übliche Färbung der Nissl-Körper mit basischen Anilinfarbstoffen hat den Nachteil, daß die Präparate, namentlich, wenn sie nicht vor Licht geschützt sind, allmählich mehr oder weniger verblassen. Aus diesem Grunde hat Verf. die Färbung mit Ranvierschem Pikrokarmin vorgeschlagen (Journ. f. Psychol. u. Neurol. Bd. **18**, 1911; vgl. diese Zeitschr. Bd. **29**, 1912, p. 416—417). Er mußte damals aber die Frage offen lassen, ob die Färbung auch für die Gehirnrinde brauchbar sei. Nach seinen jetzigen Erfahrungen kann er sie auch für die Groß- und Kleinhirnrinde sowie für Ganglien empfehlen. Zur Fixierung hatte er für das Rückenmark angegeben Formol oder Alkohol, für die Großhirnrinde und die Purkinjeschen Zellen ist nur Alkohol brauchbar. Methode für alle Fälle: Fixieren in absolutem Alkohol, Celloidineinbettung, Färben in dem filtrierten, heißen Farbbade einer etwa 1- bis 2prozentigen wässerigen Lösung von Ranviers Pikrokarmin (von Grübler in Leipzig). In

der Regel genügen 3 bis 5 Minuten. Abspülen in Wasser, Differenzieren in Salzsäurealkohol, bis die Nissl-Schollen sich scharf abheben. Entwässern, Lackeinschluß. Rückenmark und Hirnstamm können auch in Formol fixiert werden. Bei den Formolpräparaten entfärbt sich das Bindegewebe viel leichter als bei den Alkoholpräparaten. Dasselbe gilt, nur weniger ausgesprochen, für die weiße Substanz. Namentlich dicke Alkoholschnitte behalten häufig einen roten Ton der weißen Substanz, was jedoch die Brauchbarkeit der Präparate nicht beeinträchtigt. Bei langer Einwirkung des Salzsäurealkohols tritt nicht leicht eine Überdifferenzierung ein. — Gegenüber der Färbung mit basischen Anilinfarbstoffen besteht der Unterschied, daß die Kerne mit Karmin besser gefärbt sind, dagegen werden etwa vorhandene Plasmazellen oder Mastzellen nicht dargestellt. — Zum Schlusse macht Verf. noch die Bemerkung, daß nach Ziehen in Bardeleben's Handbuch der Anatomie, Lieferung 7, p. 114, schon Kotlarewsky angegeben hat, daß sich die Nissl-Schollen mit Boraxkarmin, dagegen nicht mit neutralem Karmin färben. *Schiefferdecker (Bonn).*

Péterfi, T., u. **Engel, A.,** Das Muskelgewebe der Milz des Menschen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1914, No. 13, p. 312—317 m. 4 Figg. im Text).

Untersucht wurde möglichst frische und gesunde menschliche Milz. Jede Milz wurde in zahlreiche Stücke zerlegt und so verarbeitet, daß möglichst verschiedene Gegenden untersucht und miteinander verglichen wurden. Fixierung mit Formolessigsäure, Trichloressigsäure 5prozentige Lösung, Sublimatessigsäure und Zenker'scher Flüssigkeit. Einbettung teils in Paraffin, teils in Celloidin-Paraffin. Schnitte 5 bis 10 μ dick. Färbung mit der Weigert'schen Resorcin-Fuchsin- und mit der Unna-Tänzer'schen Orceinfärbung in Verbindung mit Eisenhämatoxylin (Weigert) und der Methode von van Gieson.

Schiefferdecker (Bonn).

Greschik, E., Histologische Untersuchungen der Unterkieferdrüse [Glandula mandibularis] der Vögel. Ein Beitrag zur Kenntnis der Mucinbildung (Aquila Bd. **20**, 1913, Budapest, p. 331—364 m. 2 Tfln. u. 3 Abb. im Text).

Die Unterkieferdrüse ist am stärksten entwickelt bei den spechtartigen Vögeln. Brauchbares Spechtmaterial vermochte Verf. aber nicht zu erhalten und mußte sich daher begnügen mit dem Wendehals (Iynx torquilla). An diesem konnten auch Versuche mit Pilokarpin angestellt werden. Der Speichel der Spechte ist sehr klebrig, fadenziehend und hat die Bedeutung, daß die Tiere mit der durch Speichel befeuchteten Zunge ihre aus Insekten und Ameisen bestehende

Nahrung leicht erfassen können. Bei diesem Vogel wurden außer der normalen Drüse auch durch Pilokarpin gereizte Drüsen (0·1 Prozent Pilocarpinum hydrochloricum subkutan injiziert) untersucht. Die kleinen Tiere vertrugen das Pilokarpin sehr gut. Bei Untersuchungen, die das Studium der Sekretion, der Vorgänge und Veränderungen in den Drüsenzellen bezwecken, muß man eine Anzahl von Tieren untersuchen, da die Drüsen bei den verschiedenen Individuen abweichende (wenn auch nur wenig) funktionelle Verschiedenheiten zeigen. Außer dem Wendehalse wurde noch die Drüse eines finkenartigen Vogels, des Kernbeißers (Coccothraustes coccothraustes L.) untersucht. Auf Grund der an diesen beiden Arten gemachten Beobachtungen wurden dann auch die Drüsen von mehreren anderen Arten untersucht. Die Drüse von Lynx wurde auch gleich nach der Dekapitation frisch untersucht, die meisten Präparate aber nach Fixierung angefertigt. Da die Erhaltung der Mucingranula besonders schwierig ist, so war es schwer, ein geeignetes Fixierungsmittel zu finden. Gute Resultate ergab endlich Alkohol-Formol nach Schaffer. Die nach der Dekapitation sofort herausgenommenen Drüsenstückchen kamen für 48 Stunden in eine Mischung von 2 Teilen 96prozentigen Alkohols und einem Teile Formol, nachher in 96prozentigen Alkohol. Wasser oder wässerige Farblösungen sind möglichst zu vermeiden. So werden die reifen, zerfließenden Granula allerdings weniger gut, die sogenannten Praemucigengranula aber sehr gut erhalten. Ein großer Vorteil dieser Flüssigkeit ist der, daß nach ihr fast alle Färbungen gut gelingen. Mit gutem Erfolge wurde auch benutzt Sublimatosmium (Sublimatlösung 16 cc, 2prozentige Osmiumsäurelösung 4 cc). Auch Osmiumdämpfe erhielten die Granula gut. Benutzt wurden ferner konzentrierte Sublimatlösung in destilliertem Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung, ferner Heidenhains „Subtriessig" (Sublimat 9 g, Trichloressigsäure 2 g, Eisessig 1 cc, physiologische Kochsalzlösung 100 cc). Die sublimathaltigen Fixierungsflüssigkeiten erhalten die reifen Mucingranula nicht gut, sie koagulieren und es entstehen so die meist beschriebenen, bekannten Drüsenbilder, bei denen man nur aus den intergranulären Netzen auf die Gegenwart der Granula schließen kann. Gebraucht man aber diese sublimathaltigen Fixierungsflüssigkeiten neben Osmium oder der Schafferschen Flüssigkeit, so ergeben sie sehr brauchbare Präparate. Ferner wurden noch benutzt die Hermannsche und die Zenkersche Flüssigkeit und absoluter Alkohol. Letzterer erhält die Granula verhältnismäßig gut. Einbettung des fixierten Materiales durch Schwefelkohlenstoff in Paraffin. Ein Lacertakopf wurde nach Entkalkung nach Apáthy doppelt in Celloïdin und Paraffin eingebettet. Diese Methode erwies sich als vorzüglich: die Organe behielten ihre ursprüngliche Lage bei und das Material konnte sehr dünn geschnitten werden. Die Schnittdicke bei den Präparaten des Verf. war durchschnittlich 4 μ. — Zur Färbung wurden hauptsächlich benutzt die

regressiven Neutralfärbungen von Heidenhain in folgenden Verbindungen: Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin: 1 Prozent Brillantschwarz etwa 1 Stunde, bis die Schnitte stark, aber noch durchsichtig, gefärbt waren, 0·1 Prozent Toluidinblau, 0·5 Prozent Phenolsafranin, worin die Schnitte bis zur Differenzierung verblieben. Ferner Brillantschwarz-Toluidinblau, Thiazinrot-Toluidinblau, Thiazinbraun-Toluidinblau. Weiter wurde benutzt die Mallory-Färbung. Material, das nicht aus Zenkerscher Flüssigkeit stammt, kann man dadurch brauchbar machen, daß man die Schnitte auf kurze Zeit in eine 2- bis 3prozentige Lösung von Kaliumbichromat oder in Zenkersche Flüssigkeit legt: Mucin, Kollagen blau; Kerne, elastische Fasern gelb; Cytoplasma, Myofibrillen rot; Praemucigen-Granula gelb, rot oder blau, je nach der Zusammensetzung des Mucins. Verf. benutzte zur Vorfärbung statt Fuchsin S oft Azokarmin. In seinen Präparaten färbten sich in den Vogeldrüsen die Mucingranula blau (heller oder dunkler), Kern und Cytoplasma rot, Myofibrillen ebenfalls rot. Oft (wahrscheinlich genügte der rote Farbstoff nicht) färbten sich Zellkerne und Cytoplasma gelb. Von sonstigen den Schleim spezifisch färbenden Farbstoffen wurden benutzt: Mucikarmin, Bismarckbraun, Tolnidinblau und Gentianaviolett. Versucht wurde ferner das polychrome Methylenblau von Unna (Material aus Alkohol in polychromes Methylenblau für 1 Minute, Abspülen in angesäuertem Wasser, Fixierung in 10prozentiger Lösung von Kaliumbichromat 30 Sekunden, absoluter Alkohol, Bergamottöl, Balsam) ohne besonderen Vorteil. Material aus Osmium wurde gewöhnlich gefärbt in Safranin-Lichtgrün. Bei Material aus Sublimat wurde benutzt die Mischung von Ehrlich-Biondi nach Krause oder Bergonzini oder das Triacid von Ehrlich. Gute Resultate ergab das Verfahren von Dominici: Orange 0·3 g und Eosin 0·25 g gelöst in 50 cc destilliertem Wasser, Färbung 20 bis 30 Minuten, Abspülen in 60prozentigem Alkohol, dann 0·5prozentige wässerige Thioninlösung, Differenzierung in 60prozentigem Alkohol. Viele Präparate färbte Verf. mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und darauf mit Chromotrop, Thiazinrot, Thiazinbraun oder Brillantschwarz. Das Thiazinrot, Azokarmin usw. verlieren nach einiger Zeit bedeutend an Färbungskraft; man muß dann, wenn man nicht immer frische Lösungen herstellen will, die Lösung etwas ansäuern und erhält dann wieder die stärkere Färbung wie zuerst. Das Ansäuern pflegt Verf. in folgender Weise auszuführen: er schneidet mit einer Schere einen sehr dünnen Papierstreifen ab, taucht dessen Ende in Essigsäure und bringt dieses dann in das die Farblösung enthaltende Schälchen, er erreicht dadurch, daß er nur minimale Säuremengen in die Farblösung bringt. Anwärmen gibt nicht so gute Resultate wie Ansäuern. In einigen Fällen benutzte er auch Azokarmin-Pikroblauschwarz. Mehrere Schnitte färbte er mit Hämatoxylin (Delafield) und Chromotrop oder mit Delafield-van Gieson. Neben Heidenhains Eisenhämatoxylin ver-

wandte er auch das Weigertsche und nahm hiernach gewöhnlich Thiazinrot. *Schiefferdecker (Bonn).*

Greschik, E., Mikroskopische Anatomie des Enddarmes der Vögel (Aquila Bd. **20**, 1912, Budapest, p. 210—269 m. 1 Tfl. u. 29 Figg. im Text).

Verf. hat eine große Anzahl von Vogelarten untersucht. Nach Durchschneidung des Bauchfelles nahm er den Darm der Kloake entlang bis zu den Blinddärmen heraus, zerlegte ihn in physiologischer Kochsalzlösung in Schnitte und brachte diese dann in die Fixierungsflüssigkeit. Im allgemeinen wurden von drei Stellen des Enddarmes Teile entnommen: 1) von der Gegend der Coecalinsertion, Enddarm-Anfang oder Vorderteil. 2) Von der Mitte des Enddarmes, Enddarm-Mitte. 3) Von der Kloake, Kloakengegend des Enddarmes. Der frische Darm zieht sich bekanntlich in der Fixierungsflüssigkeit zusammen, man pflegt ihn daher auf Korkstückchen aufzuspannen. Bei kleineren Vögeln, bis zu Lerchengröße, ist das überflüssig, aber die Kloake muß man immer aufschneiden, und entweder sehr kleine Stückchen fixieren oder aufspannen, auch bei sehr kleinen Vögeln, da die hier vorhandene starke Muskelschicht das leichte Eindringen der Fixierungsflüssigkeit verhindert. Bei größeren Vögeln werden einzelne kleine Darmstückchen fixiert. Zur Fixierung wurden benutzt: Pikrinformol nach Bouin, Mayersche Pikrinsalpetersäure, Zenkersche Flüssigkeit, Sublimat-Eisessig-Alkohol nach Apáthy, Sublimat-Eisessig-Alkohol nach Lenhossék (Sublimat 2 g, Kochsalz 0·4 g, Eisessig 5 cc, 70prozentiger Alkohol 100 cc, also eigentlich die vorige Flüssigkeit in schwächerer Konzentration), konzentrierte Sublimatlösung, konzentrierte Salizylsäurelösung in Drittelalkohol, Flemmingsche Chrom-Osmium-Essigsäure, schwächere und stärkere Lösung. Von allen diesen Fixierungsflüssigkeiten erhielt die Flüssigkeit von Bouin die sämtlichen Schichten des Enddarmes gleich gut, und wenn auch die Pikrinsäure in einigen Fällen die spätere Färbung etwas beeinflußte, konnten die Präparate doch bei allgemein histologischen Untersuchungen sehr gut gebraucht werden. Die Zotten und besonders deren Epithel wurden am schönsten fixiert durch Sublimat-Eisessig-Alkohol nach Lenhossék. Diese Fixierungsflüssigkeit ergab die schönsten Präparate, und nach ihr konnten am besten benutzt werden Heidenhains Eisenhämatoxylin und die Mischung von Ehrlich-Biondi, der einzige Nachteil bestand darin, daß sie an manchen Stellen die Muskelschichten von den anderen Schichten trennte. Sehr brauchbar war auch die Zenkersche Flüssigkeit. Von den Flemmingschen Flüssigkeiten ergab die schwächere im allgemeinen gute Resultate. Ziemlich gut wurde der Enddarm auch von der konzentrierten Salizylsäurelösung in Drittelalkohol nach Heidenhain fixiert, doch entsprach die Erhaltung des Darmepithels nicht den Erwartungen.

Die Lieberkühnschen Drüsen wurden am besten fixiert durch die Sublimatmischungen. Zur Isolierung wurde mit gutem Erfolge der Drittelalkohol von Ranvier benutzt. — Das fixierte Material wurde durch Chloroform in Paraffin eingebettet. Quer- und Längsschnitte wurden nach der japanischen Methode auf die Deckgläschen aufgeklebt. Schnittdicke 4 bis 6 μ, nur zur Orientierung auch 10 bis 15 μ. — Färbung: Heidenhains Eisenhämatoxylin allein oder vorher mit Bordeaux R gefärbt, zum Nachfärben Orange G, ferner Eosin und Säurefuchsin. Diese Färbung wurde am meisten benutzt und ergab die schönsten Bilder, obgleich sie große Vorsicht verlangt. Auch die Weigertsche Hämatoxylinmethode ergab gute Resultate, ihr Vorteil ist, daß die Färbung progressiv erfolgt, die Differenzierung also wegfällt; bei der vorigen regressiven Methode verliert man oft dadurch, daß die Differenzierung beliebig unterbrochen werden kann, viele Einzelheiten. Viele Präparate wurden gefärbt mit IA Hämatein nach Apáthy, Hämatoxylin nach Delafield, das oft verbunden wurde mit dem Pikrinfuchsin nach van Gieson. Sehr schöne Präparate wurden erhalten, wenn Material aus Sublimat mit der Krauseschen Modifikation der Mischung von Ehrlich-Biondi oder mit Triacid von Ehrlich gefärbt wurde. In einigen Fällen wurde auch benutzt das Dreifarbengemisch nach Oppel sowohl beim Material aus Sublimat wie aus Chromsäure. *Schiefferdecker (Bonn).*

Möllendorf, v., Über Vitalfärbung der Granula in den Schleimzellen des Säugerdarmes (Verhandl. d. Anat. Ges., 27. Versamml. Greifswald 10. bis 13. Mai 1913: Anat. Anzeiger, Ergänzh. zu Bd. **44**, 1913, p. 117—123 m. 4 Figg. im Text).

Verf. hat mit den von Goldmann zu Untersuchungen benutzten Farbstoffen: Pyrrholblau, Trypanblau, Neutralrot und außerdem noch mit Bismarckbraun, Nigrosin und Natronkarmin bei weißen Mäusen Untersuchungen angestellt über den ersten Transport dieser Farbstoffe und über die Ausscheidungsbilder. Die verschiedenen Farbstoffe verhielten sich in bezug auf diese Studien gleich. Gerade in den ersten Stunden nach der Aufnahme des Farbstoffes ist der hier beobachtete Prozeß stark ausgesprochen. Die mit Chloroform getöteten Tiere wurden in 10prozentiger Formollösung konserviert und mit der Gefrierschnittmethode verarbeitet. Für Paraffineinbettung eignet sich die Fixierung schlecht. Kernfärbung mit Alaunkarmin, das auch bei Bismarckbraun gute Kontraste gibt, für rote Vitalfarben wurde eine befriedigende Gegenfärbung nicht gefunden. Die Farbstoffe wurden sämtlich in 1prozentiger Lösung subkutan angewendet, meist 1 cc der Lösung auf 20 g Tier. Außer bei Pyrrholblau, das infolge seiner langsamen Aufnahme ins Blut langsamer durch den Körper transportiert wird, zeigt sich die Farbstoffverteilung im Körper schon nach 15 bis 20 Minuten

in der gleichmäßig zunehmenden Färbung der Haut. Im Urin erfolgt Ausscheidung zur gleichen Zeit, in den Fäces findet sich Farbstoff erst nach etwa 4 bis 5 Stunden. Schon nach etwa 20 Minuten finden sich bei Trypanblau im Magen größere Mengen von Farbstoff, der aus dem Blute durch das Plattenepithel im kardialen Abschnitte des Magens und der Speiseröhre hindurchgedrungen ist. Im Gallenblaseninhalte findet man den Farbstoff erst nach etwa $1^1/_2$ bis 2 Stunden. Eine Farbstoffaufnahme in den Sternzellen der Leber tritt erst nach etwa 6 Stunden auf. Das Schicksal des in den Magen ausgeschiedenen Farbstoffes läßt sich am besten am leeren Darme, bei Hungermäusen, beobachten. Es tritt ein allmähliches Hinabrücken der Farbstoffe im Dünndarme ein. Dabei treten in dem sonst hell gebliebenen Darme einzelne etwa 2 bis 3 cm lange Teile durch stärkere Färbung hervor. Eine solche Stelle bezeichnet regelmäßig die untere Grenze, bis zu der der Farbstoff vorgerückt ist. Weiter oben gelegene derartige Partien zeigen wohl neue, später ausgeschiedene Farbstoffmassen an. Nach etwa 3 Stunden erreichen die ersten Farbstoffmassen die Ileocoecalklappe. An den stark gefärbten Teilen des Dünndarmes treten nun die von dem Verf. untersuchten Bilder hervor. In den weiter oben gelegenen stark gefärbten Darmteilen desselben Tieres finden sich dann andere Ausscheidungsbilder. *Schiefferdecker (Bonn).*

Anitschkow, N., Über experimentell erzeugte Ablagerungen von anisotropen Lipoidsubstanzen in der Milz und im Knochenmark (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **57**, 1913, H. 2, p. 201—222 m. 3 Tfln.).

Stückchen von Milz und Knochenmark wurden teils in einer 10prozentigen Formollösung, teils in der Flüssigkeit von Helly-Maximow fixiert. Die in Formol fixierten Milzstückchen wurden mit dem Gefriermikrotome geschnitten und die Schnitte teils ungefärbt (in polarisiertem Lichte), teils auf Fettsubstanzen gefärbt mit Sudan III, Nilblausulfat und nach Smith-Dietrich untersucht. In einem Falle wurden die Schnitte auch nach der Methode von Bielschowsky für die Gitterfasern gefärbt. Die in der Flüssigkeit von Helly-Maximow fixierten Stückchen wurden in Celloïdin eingebettet, die Schnitte nach Rubaschkin auf dem Objektträger aufgeklebt, von Celloïdin befreit und dann hauptsächlich nach Giemsa, bisweilen auch mit einer Mischung von Azur II und Eosin gefärbt. Vom Knochenmarke wurden außerdem stets Ausstrichpräparate auf Objektträgern hergestellt, die teils in frischem Zustande (mit Neutralrot angefärbt) in polarisiertem Lichte untersucht, teils in der Flüssigkeit von Helly-Maximow fixiert und mit Giemsa-Lösung gefärbt wurden.

Schiefferdecker (Bonn).

Champy, C., Recherches sur la spermatogénèse des Batraciens et les éléments accessoires du testicule (Arch. d. Zool. Expér. et Gén. t. **52**, 1913, fasc. 2, p. 13—304 av. 12 pl.).

Die Tiere wurden gleich nach der Gefangennahme getötet. Einige wurden auch in der Gefangenschaft gehalten, aber dann so, daß sie möglichst unter natürlichen Bedingungen lebten. Verf. hat dabei beobachtet, daß es einer sehr engen Gefangenschaft und sehr ungünstiger Bedingungen bedarf, um die Entwicklung der Geschlechtsdrüsen der Batrachier zu verändern. Verf. hat alle nur möglichen histologischen Methoden an den Batrachierhoden angewendet, so namentlich alle möglichen Fixierungsmittel, so daß er eine gewisse Autorität in bezug auf die Fixierungsmethoden, die er anwendet, besitzt. Er hat sämtliche Präparate, auch die, welche sehr schlecht geworden waren, durchmustert, da auch die starken Veränderungen der Gewebe von Wichtigkeit für das Verständnis sind. Nach seinen Erfahrungen gibt kein Fixierungsmittel ein absolut getreues Bild der Wirklichkeit. Die Fixierungsmittel, die Bilder ergeben, die sich der Wirklichkeit am meisten nähern, sind die von Benda und Altmann, aber auch diese Bilder sind nicht absolut sicher. Da sie die meisten Färbungen nicht gestatten, geben sie hierdurch Gelegenheit zu Irrtümern. Die Flüssigkeit von Bouin, die von Hermann und selbst die von Flemming haben den Nachteil, die Eiweißlösungen des Kernes und der Zelle in Netzform niederzuschlagen, es macht aber nicht viel aus, ob man diese Netzform erhält oder einen homogenen Niederschlag. Die Flüssigkeit von Bouin ist äußerst bequem und wird viel verwendet, weil sie alle Arten von Färbungen erlaubt. Verf. verwendet jetzt die folgende Flüssigkeit:

Karbolsäure, kristallisiert, gesättigte wässerige Lösung	15 Teile
Formol, 40prozentig	4 „
Trichloressigsäure, 20prozentige Lösung	15 „

Die Mischung hält sich nicht länger als 8 Tage, man darf daher nicht zuviel auf einmal darstellen. Die Fixierung ist häufig auf der Oberfläche etwas stark, man kann dies vermeiden, wenn man das Stück für einige Sekunden in die mit Wasser verdünnte Mischung bringt. Die Mischung dringt sehr gut ein, und die Fixierung ist im allgemeinen besser als bei der Flüssigkeit von Bouin. Namentlich das Cytoplasma bleibt sehr gut erhalten. Für Gesamtbilder ist die Flüssigkeit von Bouin mitunter vorzuziehen, da bei der vom Verf. angegebenen Fixierung die Kerne oft so aussehen wie nach der Flüssigkeit von Benda, dieses Aussehen ist natürlicher, aber für ein Übersichtsbild nicht so günstig. Mitunter sind die Mitochrondrien durchaus erhalten und z. B. mit Magdalarot färbbar. Die Holmgrenschen Kanäle sind erhalten. Nach dieser Fixierung gelingen alle Färbungen. Verf. be-

vorzugt als solche das Eisenhämatoxylin mit der Färbung von Prenant oder einer der Varianten. Nützlich ist es, zum Vergleiche auch ein wenig differenziertes Eisenhämatoxylin zusammen mit einer Plasmafärbung wie Orange oder Kongorot zu verwenden. Verf. verwendet verschiedene Modifikationen der Methode von Prenant. Die typische Methode: Eisenhämatoxylin und Eosin mit Lichtgrün ist diejenige, die das Bindegewebe am schärfsten und sichersten färbt. Das Lichtgrün verblaßt und verschwindet oft in kurzer Zeit. Ersetzt man das Lichtgrün durch Methylenblau, so ist die Färbung kaum haltbarer. Verf. hat nach einer stark differenzierten Färbung mit Eisenhämatoxylin die folgenden Kontrastfärbungen benutzt: 1) Bordeauxrot und Lichtgrün oder umgekehrt (man muß ein Bordeauxrot wählen, das gut färbt), die käuflichen Sorten sind sehr verschieden. 2) Kongorot und Lichtgrün. 3) Magdalarot (Rose de Magdala) und Kongorot. Alle diese Farbstoffe in konzentrierter wässeriger Lösung. Man färbt gründlich mit dem ersten Farbstoffe (20 bis 30 Minuten), wäscht in Wasser aus, und färbt mit dem zweiten verschieden lange, indem man von Zeit zu Zeit mit dem Mikroskope kontrolliert, um die Differenzierung an dem gewünschten Punkte abzubrechen. Es findet eigentlich keine elektive Färbung statt, der als zweiter angewendete Farbstoff zersetzt den ersten in folgender Reihe: Bindegewebe, Schleim, Cuticula und Bürstenbesatz, dann weiterhin: chromatoide Körper, Nukleolen (Pyrenin), dann Cytoplasma. Der Kernsaft bleibt schließlich allein durch den ersten Farbstoff gefärbt übrig. Wendet man zuerst das Grün an und dann erst das Bordeauxrot, so erhält man die umgekehrten Färbungen. Das Lichtgrün scheint eine besondere Affinität für die Nukleolen zu besitzen und färbt sie fast stets. Die Verbindung Bordeauxrot-Lichtgrün ergibt schärfere Färbungen und eine größere Elektivität für das Zellinnere als die ursprüngliche Methode: Eosin- oder besser Erythrosin-Lichtgrün. Die Färbung ist aber auch wenig haltbar. Die Verbindung Kongorot-Lichtgrün gibt eine gute Elektivität und hält sich auch besser, doch verbleicht das Lichtgrün schließlich. Die Verbindung Magdala-Congo sieht nicht sehr gut aus, aber die Färbung ist sehr lehrreich und bleibt dauernd erhalten. Man kann die beiden roten Farbentöne sehr wohl unterscheiden, und da das Bindegewebe ziemlich hell gefärbt ist, kann man außerdem noch z. B. die elastischen Fasern darstellen. Bei einer 24stündigen Färbung mit Magdala nach Fixierung in der Formol Karbolsäure-Mischung erhält man oft schöne Bilder der Mitochondria. Sehr schöne Bilder hat Verf. erhalten mit Brasilin. Dieser Farbstoff wird gebraucht wie Eisenhämatoxylin und hat keine Vorteile vor dem Hämatoxylin. Für eine schnelle Untersuchung kann man denselben auf folgende Weise benutzen: eine 1prozentige alkoholische Brasilinlösung und die Weigertsche Mischung (Eisenchlorid [perchlorure de fer] von 45° 4 Teile, Salzsäure 1 Teil, Wasser 100 Teile) werden zu gleichen Teilen gemischt. Die Mischung hält sich. Man

setzt ihr ebensoviel von einer gesättigten Lösung von Lichtgrün zu (manchmal etwas mehr, manchmal etwas weniger je nach Beschaffenheit des Grüns, man muß versuchen). Diese Mischung gibt schöne Färbungen der Kerne und Kernkörperchen, sie differenziert scharf das Chromatin von dem Pyrenin. Die langsame Methode ist die beste: man stellt eine heißgesättigte Lösung von Ammoniakalaun dar, setzt ihr 5 Prozent einer gesättigten alkoholischen Lösung von Brasilin zu, läßt abkühlen und reifen (oft muß man lange Zeit reifen lassen, es hängt das ab von der Beschaffenheit des Brasilins), dann Dekantieren. Mit dieser Mischung kann man 20 bis 25 Minuten färben, dann mit Lichtgrün, man erhält rosa und grüne Färbungen entsprechend denen mit der Benda'schen Mischung (Safranin-Lichtgrün), aber nur nach Fixierungsmitteln ohne Osmiumsäure. Man wendet dieselbe Verbindung besser an nach Eisenhämatoxylin, nach stärker differenzierter Eisenhämatoxylinfärbung färbt man 24 Stunden mit Alaunbrasilin, entfärbt ein wenig durch Auswaschen mit Alkohol und färbt dann mit Lichtgrün oder Kongorot. So erhält man gute Färbungen der interzellulären Kittschichten und der elastischen Fasern. Mitunter bleibt das Bindegewebe teilweise mit Brasilin gefärbt, während der Schleim stets das Lichtgrün annimmt. In einer besonderen Arbeit wird Verf. die Technik seiner Färbung mit Jod-Osmium mitteilen und die mit dieser erhaltenen Resultate. Die sehr labilen Fette des instertitiellen Gewebes hat Verf. nicht erhalten können. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lecha-Marzo, A., El ácido fosfo-molibdico reactivo del esperma (Bol. Soc. Españ. Biol. Año **3**, 1913. no. 21, 22, p. 43—46).

Im Jahre 1907 hat Bokarius (Vierteljahrschr. f. gerichtl. Medizin. 3. Folge, Bd. **33**, H. 2) eine Mitteilung gemacht, daß man bei Zusatz von Phosphorwolframsäure zu einem wässerigen Auszuge eines menschlichen Spermafleckens eigentümliche Plättchen resp. Stäbchen als sichere Reaktion erhält. Diese Mitteilung scheint nicht weiter beachtet worden zu sein. Im Jahre 1912 hat Verf. zusammen mit Prof. Welsch (Arch. internat. méd. lég.) die Reaktion von Bokarius nachuntersucht, hat sie aber nicht wesentlich gefunden. Er hat jetzt eine neue Reaktion gefunden mit der Phosphormolybdänsäure (10prozentige Lösung von Merck), einem Reagenz, das ihm schon bei anderen chemischen Arbeiten für die mikrochemische Untersuchung auf Alkaloide gedient hatte. Er konnte nachweisen, daß die Kristalle einer großen Anzahl von Alkaloiden bei der Einwirkung dieser Säure nicht kristallinische Produkte liefern, sondern sich mit einer halbdurchlässigen Niederschlagsmembran umgeben und ein schönes osmotisches Wachstum zeigen. Die Reaktion der Phosphormolybdänsäure geschieht in der Kälte und die Behandlung ist eine sehr einfache. Man nimmt einen

Tropfen Sperma, frisch oder schon faulend, der verschiedene Wochen oder Monate alt sein kann, überträgt ihn auf den Objektträger, bedeckt ihn mit einem Deckglase und läßt dann einen Tropfen der Säurelösung zutreten. Handelt es sich um die Untersuchung eines Spermafleckes, so befeuchtet man einen Teil des befleckten Gewebes mit destilliertem Wasser, faltet es nach einiger Zeit und drückt zwischen Daumen und Zeigefinger etwas Flüssigkeit auf den Objektträger aus. So erhält man ein konzentriertes Material, das durch Verdampfung bei milder Wärme noch konzentrierter werden kann. Unmittelbar nach dem Säurezusatze zeigt sich ein weißer Niederschlag, der weiterhin grün und blau werden kann. Die Reaktion braucht in der Kälte einige Minuten. Unter dem Mikroskope sieht man bei 500facher Vergrößerung zahlreiche Kristalle. Diejenigen, welche nach dem Verf. am charakteristischsten für das Sperma sind, sind schöne hexagonale Platten, die allein oder in Gruppen liegen, auch kann man Kristalle sehen, die etwas an die von Barberio erinnern: einige von rhombischer Form, andere in Form von kreisförmigen Scheiben, oder von ovoider Form zwischen den beiden genannten Formen. Die kreisförmigen Bildungen zeigen mitunter eine radiäre Streifung, es finden sich auch gekreuzte oder sternförmige Doppelkristalle. Das ganze übrige Gesichtsfeld ist erfüllt von gelben Kügelchen. Einige Kristallbildungen sind ungefärbt, andere gelb, andere gelbgrün, immer ist die mikroskopische Untersuchung einfach. Die hexagonalen Kristalle sind recht widerstandsfähig gegen Chloroform, Kalilauge läßt sie hellblau erscheinen und gleichzeitig neue Kristallformen entstehen. Die bei dieser Reaktion erhaltenen Kristalle können nach schnellem Auswaschen in Xylol in Kanadabalsam aufbewahrt werden. In alten Präparaten verändert sich die Farbe der Kristalle. In Fäulnis begriffenes Sperma, das zahlreiche Böttcher'sche Kristalle enthielt, ergab stets eine positive Reaktion. Auch faulendes Sperma, das mehrere Monate lang im Laboratorium aufbewahrt worden war, ergab die Reaktion, auch der flüssige Teil. Mit diesem letzteren erhielt man hexagonale Kristalle, mit gezackten Rändern, welche an Blätter und ovoide oder nadelförmige Kristalle erinnerten, und zahlreiche gelbe Kügelchen. — Speichel und Urin ergaben eine negative Reaktion. In dem letzteren zeigten sich Würfel und einzelne Nadeln, die leicht von den Kristallen im Sperma zu unterscheiden sind. Auch Pflanzensäfte (Apfel, Birne, Orange usw.) ergaben negative Resultate. Die Körper, welche bei der Zersetzung von Eiweißstoffen entstehen, scheinen Irrtümer nicht verursachen zu können: Weder das Guanidin (nach Peset sollte dies die Ursache der Reaktion von Barberio sein), noch das Kreatin, der Harnstoff, das Tyrosin lassen kristallinische Niederschläge mit Phosphormolybdänsäure entstehen. Die quadratischen Plättchen, die man mit Xanthin, und die zu Gruppen oder Sternen vereinigten gelben Nadeln, die man mit Cholin (1 : 100) bei der Behandlung mit Phosphormolybdänsäure erhält, unterscheiden sich sofort

von den Kristallen im Sperma. Zahlreiche Alkaloide, die Verf. daraufhin geprüft hat, ergaben keine dem Sperma ähnliche Reaktion. Nach vorläufigen Versuchen, die Verf. mit flüssigem Sperma, mit Böttcherschen Kristallen und dem Spermin von Poehl angestellt hat, ist er der Meinung, daß das Spermin bei seiner Reaktion Anteil hat. Das Cholin ergab keine den Spermakristallen vergleichbaren Formen, das Spermin von Poehl ergab dagegen kreisförmige Scheiben, quadratische und mitunter hexagonale Plättchen. Der Kaninchenhoden, der nach neueren Untersuchungen des Verf. eine positive Reaktion nach Barberio ergibt, läßt langsam zahlreiche gelbe Kügelchen, quadratische und sehr große rechteckige Plättchen bei der Reaktion des Verf. entstehen. Der Hodensaft des Kaninchens zeigt also eine etwas modifizierte Reaktion. Verf. setzt seine Untersuchungen noch fort, um den Wert seiner Reaktion für die gerichtliche Medizin genauer festzustellen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schröder, R., Über die zeitlichen Beziehungen der Ovulation und Menstruation [Zugleich ein Beitrag zur Corpus luteum-Genese] (Arch. f. Gynäkol. Bd. **101**, 1913, H. 1, p. 1—35 m. 4 Tfln.).

In allen Fällen kurze Zeit nach der Operation Fixierung in Formol. Aus dem Endometrium wurden zur Alkoholhärtung sofort Stücke herausgeschnitten, die Ovarien wurden aber im ganzen gehärtet. Das Endometrium wurde so bearbeitet, wie im Arch. f. Gynäkol. Bd. **98** angegeben worden ist, nach Paraffineinbettung wurden die vier dort genannten Färbungen, besonders die Hämalaun-Mucikarminfärbung, angewandt und schließlich die Präparate nach den dort begründeten Gesichtspunkten untersucht und die Befunde in einen ausführlichen Protokollvordruck eingetragen. Die Ovarien wurden nach guter Anhärtung in Scheiben von 0·25 bis 0·5 cm Dicke zerlegt und nach Corpus luteum-Bildungen durchsucht. Die Schwierigkeiten, die hier für das unbewaffnete Auge bestehen, werden in der weiteren Beschreibung von dem Verf. erläutert. Sobald eine Bildung nicht sicher als Corpus luteum erkannt werden konnte, wurden alle nur ähnlichen Stellen einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen, wobei man mehrfach Überraschungen in der Identifizierung erlebte. Ähnliche Gebilde sind vor allen Dingen atretische Follikel und Follikelblutzysten. Die Gewebestücke, die ein Corpus luteum irgendeines Stadiums enthielten, wurden in Paraffin eingebettet, in möglichst dünne Schnitte zerlegt und nach verschiedenen Gesichtspunkten gefärbt, aber alle Fälle übereinstimmend. Hämatoxylin-Eosinfärbung und Eisenhämatoxylin (Weigert-) van Gieson-Elastika (Weigert) dienten zur Darstellung der Kern-, Protoplasma- und gröberen Bindegewebsverhältnisse. Als feinstdifferenzierende Bindegewebsfärbung wurde die Bielschowsky-Hörmann-Färbung bei allen Fällen durchgeführt, sie ist der van Gieson-

Färbung weit überlegen, ebenso der MALLORY-Bindegewebsfär ng, und ist für die ersten Corpus luteum-Stadien nicht zu entbehren für die Lösung der Genesefrage direkt ausschlaggebend. Die HÖR NN-Färbung ist sehr schwierig, sie muß erst durch mehrfache U ng erprobt werden und ist auch dann noch schwankend, sie verlangt ehr dünne Schnitte, viel Geduld und Aufmerksamkeit: die Paraffinsc itte werden mit Glasstäben (kein Metall) vom Mikrotome aus durch fol nde Lösungen geführt: 1) Silbernitrat, 2prozentige Lösung, in d der Schale (bei Zimmertemperatur 18 bis 20 Stunden, bei Brutsch nk-temperatur 12 Stunden). 2) Kurzes Abspülen in destilliertem W ser. 3) Zu 20 cc einer 2prozentigen Lösung von Silbernitrat setzt man 3 Tropfen einer 10prozentigen Natronlauge, der sich bildende N lerschlag wird durch tropfenweisen Zusatz von Ammoniak und durch s kes Umrühren aufgelöst. In dunkler Schale 3 bis 5 Minuten. 4) K rzes Abspülen in destilliertem Wasser. 5) Formollösung, 20pro tig, 10 Minuten. 6) Auswässern in reichlichem, etwas erwärmtem Br nen-wasser, etwa 20 Minuten. 7) Abspülen in destilliertem W ser. 8) Mischung von Goldchlorid, einprozentige Lösung, 4 bis 6 T pfen mit destilliertem Wasser 20 cc und Eisessig 4 bis 6 Tropfen, erin bis zu rötlichvioletter Färbung, individuell verschieden, im allge inen 3 bis 4 Stunden. Dunkle Schale. 9) Abspülen in destilliertem W sser. 10) Natriumthiosulfat, 5prozentige Lösung, 1 Minute. 11) W sern 24 Stunden lang in destilliertem Wasser. Aufziehen der P affin-schnitte. Entparaffinieren in Xylol, Einschließen in Kanadab sam. — Um auch das Auftreten von Fett in den verschiedenen rpus luteum-Stadien beurteilen zu können, wurden dann außerd von jedem Corpus luteum-Stücke Gefrierschnitte hergestellt u mit Hämalaun-Sudan III gefärbt. *Schiefferdecker (Bo n).*

Péterfi, T., Beiträge zur Histologie des Amnions u zur Entstehung der fibrillären Strukturen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1913, No. 7, p. 161—173 m. 8 F g. im Text).

Verf. hat in dem Amnion von Hühnerembryonen von , 5, 7 und 8 Tagen ein Fibrillennetz gefunden, zu dessen Nachweis er die folgenden Methoden benutzt hat. 1) Vitale Methylenblaufärbung: Einwirkung einer Methylenblaulösung von 1 : 1000 während 3 bis 4 Stunden. Fixierung in molybdänsaurem Ammonium oder in phosphormolybdänsaurem Natrium nach BETHE. 2) Methode von RAMÓN Y CAJAL: a. Silbernitrat 1prozentige Lösung b 32° 3 Tage, dann Reduktion in einer 1prozentigen Lösung von Hydrochinon mit 5 Prozent Formol während 12 Stunden; b. ammoniakalischer Alkohol 24 Stunden, 1prozentige Lösung von Silbernitrat bei 32° 3 Tage, Reduktion wie oben. 3) Vergoldung nach APÁTHY mit Hämatein 1A. Nachfärbung: Fixierung in gesättigter Sublimatlösung

2 Stunden, dann Jod, dann 1prozentige Lösung von Goldchlorid 2 Stunden. Exposition am Lichte, in einer sehr dünnen Ameisensäurelösung. Nachfärbung mit Hämatein IA. 4) Methode von Bielschowsky mit und ohne Nachfärbung mit Hämatein IA. 5) Silberimprägnation zum Nachweise der Zellgrenzen. 6) Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain. Das Material war fixiert in Bichromatessigsäure. Nach derselben Fixierung 7) Doppelfärbung mit Hämatein-Erythrosin, oder 8) mit Azokarmin-Mallory-Färbung. 9) Färbung elastischer Fasern nach Weigert: Resorcin-Fuchsin 24 Stunden, dann 96prozentiger Alkohol, dann Weigertsches Eisenhämatoxylin (Fixierung in 12prozentiger Formollösung). Die Fibrillen lassen sich am besten mit der Bielschowskyschen Methode oder mit der Vergoldung von Apáthy färben, wenn man die Präparate mit Hämatein IA. nachfärbt. Sie erscheinen dann als dunkelblaue oder schwarze, scharf gezeichnete, wellenförmige Linien, die ein dichtes Netz bilden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Brlend, T. H., The pronephros of Chrysemys marginata (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**. 1913. p. 1—90 m. 12 Figg. u. 4 Tfln.).

Die jüngeren Embryonen — von der Segmentierung bis zum Stadium, in dem alle Urwirbel ausgebildet sind — wurden mit Kolyesniczkys Flüssigkeit und die älteren mit Zenkers Gemisch fixiert. Gefärbt wurde im Stück, und zwar die jüngeren Stadien mit Boraxkarmin, die älteren mit Ehrlichs Hämatoxylin.

E. Schoebel (Neapel).

Egewald, C., Vergleichende histologische Untersuchungen über den äußeren Gehörgang der Haussäugetiere (Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropol. Bd. **16**. 1913. H. 2. p. 201—238 m. 1 Tfl.).

Es wurden die Ohren von meist jungen Tieren verwendet (Fohlen, Kalb, Ziege, Lamm, Schwein, Hund, Katze). Fixierung in 10prozentiger Formollösung und in Flemmingscher Lösung. Nach der Fixierung wurde mechanisch möglichst viel vom Felsenbeine entfernt, so daß das Trommelfell frei lag. Entkalkt wurden die in Formol fixierten Objekte mit 5prozentiger Salpetersäure oder 10prozentiger Trichloressigsäure. Die Entkalkung war gewöhnlich in 8 bis 14 Tagen beendet. Nach dem Entkalken kamen die Präparate für 24 Stunden in eine 5prozentige Glaubersalzlösung, um das Aufquellen bei nachfolgenden Auswaschen zu vermeiden. Auswaschen 24 Stunden in fließendem Wasser. Das so erhaltene Material wurde in steigendem Alkohol gehärtet, beginnend mit 50prozentigem. Einbettung in Celloidin. Schnittdicke 12 bis 20 μ. Das Material (der äußere Gehörgang, Ringknorpel mit Trommelfell), wurde jedesmal in drei Blöcke ge-

Färbung weit überlegen, ebenso der Mallory-Bindegewebsfärbung, und ist für die ersten Corpus luteum-Stadien nicht zu entbehren, für die Lösung der Genesefrage direkt ausschlaggebend. Die Hörmann-Färbung ist sehr schwierig, sie muß erst durch mehrfache Übung erprobt werden und ist auch dann noch schwankend, sie verlangt sehr dünne Schnitte, viel Geduld und Aufmerksamkeit: die Paraffinschnitte werden mit Glasstäben (kein Metall) vom Mikrotome aus durch folgende Lösungen geführt: 1) Silbernitrat, 2prozentige Lösung, in dunkler Schale (bei Zimmertemperatur 18 bis 20 Stunden, bei Brutschranktemperatur 12 Stunden). 2) Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser. 3) Zu 20 cc einer 2prozentigen Lösung von Silbernitrat setzt man 3 Tropfen einer 40prozentigen Natronlauge, der sich bildende Niederschlag wird durch tropfenweisen Zusatz von Ammoniak und durch starkes Umrühren aufgelöst. In dunkler Schale 3 bis 5 Minuten. 4) Kurzes Abspülen in destilliertem Wasser. 5) Formollösung, 20prozentig. 10 Minuten. 6) Auswässern in reichlichem, etwas erwärmtem Brunnenwasser, etwa 20 Minuten. 7) Abspülen in destilliertem Wasser. 8) Mischung von Goldchlorid, einprozentige Lösung, 4 bis 6 Tropfen mit destilliertem Wasser 20 cc und Eisessig 4 bis 6 Tropfen, hierin bis zu rötlichvioletter Färbung, individuell verschieden, im allgemeinen 3 bis 4 Stunden. Dunkle Schale. 9) Abspülen in destilliertem Wasser. 10) Natriumthiosulfat, 5prozentige Lösung, 1 Minute. 11) Wässern 24 Stunden lang in destilliertem Wasser. Aufziehen der Paraffinschnitte. Entparaffinieren in Xylol, Einschließen in Kanadabalsam. — Um auch das Auftreten von Fett in den verschiedenen Corpus luteum-Stadien beurteilen zu können, wurden dann außerdem von jedem Corpus luteum-Stücke Gefrierschnitte hergestellt und mit Hämalaun-Sudan III gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Péterfi, T., Beiträge zur Histologie des Amnions und zur Entstehung der fibrillären Strukturen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1913, No. 7, p. 161—173 m. 8 Figg. im Text).

Verf. hat in dem Amnion von Hühnerembryonen von 3, 5, 7 und 8 Tagen ein Fibrillennetz gefunden, zu dessen Nachweis er die folgenden Methoden benutzt hat. 1) Vitale Methylenblaufärbung: Einwirkung einer Methylenblaulösung von 1 : 1000 während 3 bis 4 Stunden. Fixierung in molybdänsaurem Ammonium oder in phosphormolybdänsaurem Natrium nach Bethe. 2) Methoden von Ramón y Cajal: a. Silbernitrat 1prozentige Lösung bei 32° 3 Tage, dann Reduktion in einer 1prozentigen Lösung von Hydrochinon mit 5 Prozent Formol während 12 Stunden; b. ammoniakalischer Alkohol 24 Stunden, 1prozentige Lösung von Silbernitrat bei 32° 3 Tage, Reduktion wie oben. 3) Vergoldung nach Apáthy mit Hämatein IA. Nachfärbung: Fixierung in gesättigter Sublimatlösung

12 Stunden, dann Jod, dann 1prozentige Lösung von Goldchlorid 24 Stunden. Exposition am Lichte, in einer sehr dünnen Ameisensäurelösung, Nachfärbung mit Hämateïn IA. 4) Methode von Bielschowsky mit und ohne Nachfärbung mit Hämateïn IA. 5) Silberimprägnation zum Nachweise der Zellgrenzen. 6) Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain. Das Material war fixiert in Sublimatessigsäure. Nach derselben Fixierung 7) Doppelfärbung in Hämateïn-Erythrosin, oder 8) mit Azokarmin-Mallory-Färbung. 9) Färbung elastischer Fasern nach Weigert: Resorcin-Fuchsin 24 Stunden, dann 96prozentiger Alkohol, dann Weigertsches Eisenhämatoxylin (Fixierung in 12prozentiger Formollösung). Die Fibrillen lassen sich am besten mit der Bielschowskyschen Methode oder mit der Vergoldung von Apáthy färben, wenn man die Präparate mit Hämateïn IA. nachfärbt. Sie erscheinen dann als dunkelblaue oder schwarze, scharf gezeichnete, wellenförmige Linien, die ein dichtes Netz bilden. *Schiefferdecker (Bonn).*

Burlend, T. H., The pronephros of Chrysemys marginata (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 1—90 m. 12 Figg. u. 4 Tfln.).

Die jüngeren Embryonen — von der Segmentierung bis zum Stadium, in dem alle Urwirbel ausgebildet sind — wurden mit Tellyesniczkys Flüssigkeit und die älteren mit Zenkers Gemisch fixiert. Gefärbt wurde im Stück, und zwar die jüngeren Stadien mit Boraxkarmin, die älteren mit Ehrlichs Hämatoxylin.

E. Schoebel (Neapel).

Hegewald, C., Vergleichende histologische Untersuchungen über den äußeren Gehörgang der Haussäugetiere (Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropol. Bd. **16**, 1913, H. 2, p. 201—238 m. 1 Tfl.).

Es wurden die Ohren von meist jungen Tieren verwendet (Fohlen, Kalb, Ziege, Lamm, Schwein, Hund, Katze). Fixierung in 10prozentiger Formollösung und in Flemmingscher Lösung. Nach der Fixierung wurde mechanisch möglichst viel vom Felsenbeine entfernt, so daß das Trommelfell frei lag. Entkalkt wurden die in Formol fixierten Objekte mit 5prozentiger Salpetersäure oder 10prozentiger Trichloressigsäure. Die Entkalkung war gewöhnlich in 8 bis 14 Tagen beendet. Nach dem Entkalken kamen die Präparate für 24 Stunden in eine 5prozentige Glaubersalzlösung, um das Aufquellen beim nachfolgenden Auswaschen zu vermeiden. Auswaschen 24 Stunden in fließendem Wasser. Das so erhaltene Material wurde in steigendem Alkohol gehärtet, beginnend mit 50prozentigem. Einbettung in Celloïdin. Schnittdicke 12 bis 20 μ. Das Material (der äußere Gehörgang, Ringknorpel mit Trommelfell), wurde jedesmal in drei Blöcke ge-

teilt, von jedem wurden in drei verschiedenen Lagen Schnitte gemacht. Von jeder Schnittsorte wurden zunächst vier Stücke gefärbt. Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield und Eosin bzw. Säurefuchsin-Pikrinsäure (van Gieson), ferner mit Mucikarmin zur Darstellung des Schleimgehaltes der Zellen. Färbung der elastischen Fasern mit Resorcinfuchsin und Nachfärbung mit Pikrokarmin. Für Fett Anfertigung von Gefrierschnitten, die mit Sudan III und dann mit Hämatoxylin behandelt wurden. Zum deutlichen Erkennen der Pigmentkörnchen wurden einige Präparate nur mit Eosin gefärbt.

Schiefferdecker (Bonn).

Asai, T., Untersuchungen über die Struktur der Riechorgane bei Mustelus laevis [Glatter Hai, Selachier] (Anat. Hefte, H. 149 [Bd. **49**, H. 3], 1913, p. 441—522 m. 4 Tfln. u. 8 Figg. im Text).

Das Material muß sehr frisch sein. Es wurden nur ganz junge Fische benutzt, vom Kopf bis zum Schwanzende 50 bis 55 cm, Gewicht 55 bis 65 g, das Riechorgan ist hier schon fast völlig entwickelt. Fixierungsflüssigkeiten: Müllersche Flüssigkeit, Zenkersche, Flemmingsche, Müller-Formol, Formol, 10prozentige Lösung. Vor dem Einlegen wurde mit äußerster Vorsicht der Schleim entfernt, der das Epithel überzieht. Die das Riechorgan enthaltende Schleimhautkugel wurde stets aus ihrer knorpeligen Hülle herausgenommen und dann erst in die Härtungsflüssigkeit gebracht. Durch vorsichtiges Schütteln am nächsten oder an einem der folgenden Tage konnte leicht der Schleim, der sich als Besatz gebildet hatte, entfernt werden. Auch für den Flimmerbesatz waren die genannten Fixierungsflüssigkeiten geeignet. Isoliert wurde mit dem Ranvierschen Drittelalkohol, da hierbei die Besätze der Flimmerhärchen niemals aneinander kleben, was bei Anwendung von Osmiumsäure vorkommt. Verfahren: nach möglichster Entfernung des Schleimes wurde ein kleines Stück der Schleimhautkugel in dem Drittelalkohol 12 bis 24 Stunden mazeriert. Dann wurde die Flüssigkeit etwas geschüttelt, wobei sie trüb wurde. Allmählich senkten sich dann die geformten Bestandteile zu Boden. Von diesen wurde ein Tropfen auf den Objektträger gebracht, mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt und mit starker Vergrößerung betrachtet. Bei einer Dauer der Mazeration von 24 Stunden ist eine Außentemperatur von 17 bis 18° C am günstigsten, diese Zeitdauer ist auch im ganzen die geeignetste. Mit dem Steigen der Temperatur nimmt die Zeitdauer ab, mit dem Sinken zu. Bei längerer Dauer werden die Zellen mehr oder weniger stark zerstört. — Von Schnitten wurden Horizontal-, Sagittal- und Frontalschnitte der Schleimhautkugel hergestellt. Der Sagittalschnitt geht, der Mittelachse des Tractus olfactorius parallel, durch die Mitte der Schleimhautkugel, der Horizontalschnitt fällt mit der Fläche

des bindegewebigen Scheidenblattes zusammen; der Frontalschnitt bildet mit den beiden vorherigen Schnittrichtungen einen rechten Winkel. Als grundlegende Färbung wurden benutzt Hämatoxylin-Eosin, Boraxkarmin und Alaunkarmin. Die Schnitte nach Flemming-scher Flüssigkeit wurden meist mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain) gefärbt. Für die Bindegewebsfasern und elastischen Fasern wurden die Methoden von Hansen und Weigert benutzt, für die markhaltigen Fasern die Methode nach Weigert-Pal, für die marklosen Nerven die von Ramón y Cajal modifizierte Golgische und die Bielschowskysche Silbermethode. Nützlich war auch die Silbermethode von Cajal für Nervenzellen und Neurofibrillen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Jurjewa, E., Die Nervenendigungen im Zahnfleisch des Menschen und der Säugetiere (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 9, p. 772—780 m. 2 Tfln.).

Benutzt wurde die Schleimhaut des Zahnfleisches der Menschen und von verschiedenen Säugetieren (Maus, Kaninchen, Katze, Hund, Kuh und Pferd). Gewöhnlich wurde die Schleimhaut des Zahnfleisches mit dem Periost vorsichtig und sorgfältig mit scharfen Skalpellen von der vorderen und hinteren Fläche der Kiefer abpräpariert. Die so erhaltenen Stücke wurden entweder im ganzen nach Ehrlich-Dogiel gefärbt für Flächenpräparate, oder es wurden von den Stücken zunächst mit einem Rasiermesser aus freier Hand Schnitte parallel oder senkrecht zur Oberfläche des Zahnfleisches hergestellt und diese mit Methylenblau gefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Rachmanow, A., Beiträge zur vitalen Färbung des Zentralnervensystemes [Nebst einigen Bemerkungen über den feineren Bau der Pia] (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 9, p. 750—771 m. 1 Tfl.).

Verf. hat das Zentralnervensystem von Kaninchen, Ratten und Mäusen mit den Goldmannschen Farbstoffen, Isaminblau und Trypanblau, zur vitalen Färbung behandelt. Einspritzung der Farbstoffe in 1prozentiger Lösung, bei Kaninchen intravenös, bei Ratten und Mäusen subkutan. Die Einspritzungen wurden wöchentlich wiederholt. Die Kaninchen erhielten jedesmal 10 bis 20 cc der Lösung, die Ratten 1·0 bis 2·0 cc und die Mäuse 0·5 bis 0·7 cc je nach dem Gewichte des Tieres. Fixierung mit einer 15prozentigen Formollösung, Färbung der Gefrierschnitte mit Kochenille nach Czokor.

Schiefferdecker (Bonn).

Doinikow, B., Histologische und histopathologische Untersuchungen am peripheren Nervensystem mittels vitaler Färbung (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 9, p. 731—749 m. 1 Tfl.).

Verf. hat für seine Untersuchungen die Goldmannschen Farben, Isaminblau und Trypanblau, zur vitalen Färbung benutzt. Die Färbung wurde bei weißen Mäusen gewöhnlich „hochgetrieben", d. h. die Tiere erhielten 10 bis 12 Einspritzungen von Isaminblau oder 3 bis 4 von Trypanblau. Weiße Ratten erhielten 4 bis 5 subkutane Einspritzungen von Trypanblau, Meerschweinchen ebenso viele intraperitoneale Einspritzungen und Kaninchen 4 bis 5 Einspritzungen von Trypanblau intravenös. Die Nerven und Ganglien der frisch getöteten Tiere wurden in 15prozentiger Formollösung fixiert und die Gefrierschnitte oder Zerzupfungspräparate mit Kochenille nach Czokor nachgefärbt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Cajal, S., Ramón y, Un nuevo proceder para la impregnación de la neuroglia (Bol. Soc. Españ. Biol. Año **3**, 1913, no. 23, 24, p. 104—108).

Es gibt viele Methoden zur Darstellung der Neuroglia, die aber mit wenigen Ausnahmen recht kompliziert und launenhaft sind. Die folgende einfache Methode hat befriedigende Ergebnisse am menschlichen Gehirne nach Formolhärtung ergeben. Das Prinzip dieser Methode beruht auf einer besonderen Eigentümlichkeit des Sublimats. Unterwirft man einen Schnitt des in Formol gehärteten nervösen Zentralorganes der isolierten Einwirkung von Goldchlorid, so bewirken die organischen Substanzen der grauen und weißen Substanz die langsame Reduktion des Goldes in Form eines rosa oder violetten Niederschlages. Diese Färbung ist nicht elektiv (höchstens treten die markhaltigen Fasern hervor). Fügt man aber zu der Goldlösung einen Beschleuniger zu, der gleichzeitig eine Beize ist, z. B. das Sublimat, so wird die Reduktion weit energischer und der metallische, violette oder graublaue Niederschlag findet sich, wenigstens im Anfange, nur in dem Protoplasma der Neurogliazellen. Methode: 1) Stücke vom menschlichen Groß- oder Kleinhirne werden 1 oder 2 Tage lang oder länger in 12prozentiger Formollösung gehärtet. Die gewünschte Reaktion tritt auch nach einer 8tägigen Härtung noch ein, ist aber am stärksten nach 1 bis 2 Tagen. 2) Gefrierschnitte von 10 bis 20 μ Dicke. Um die aufquellende Wirkung des reinen Wassers zu vermeiden, kommen die Schnitte in eine 4- bis 6prozentige Formollösung. 3) Rasches Abwaschen der Schnitte in zweimal gewechseltem destilliertem Wasser. 4) Übertragen der Schnitte in die folgende Mischung:

Goldchlorid, einprozentige Lösung	10 cc
Sublimat, 5prozentige Lösung	10 „
Destilliertes Wasser	50—60 „

Die Verdünnung dieser Flüssigkeit zur Hälfte mit Wasser ergibt auch gute Resultate, doch erfordert die Reduktion längere Zeit (wenigstens 24 Stunden). Statt der Nadeln benutzt man Stäbchen. Die Schnitte verbleiben in der Flüssigkeit im Dunklen 12 bis 16 Stunden. Die

Reduktion beginnt von der ersten Stunde an und nimmt allmählich zu, so daß die Schnitte violett werden. Erwärmung (37 bis 50°) beschleunigt die Reduktion erheblich, ist aber nicht vorteilhaft, da die Elektivität leidet. Im Winter kann man indessen mit Vorteil eine Temperatur von 28 bis 35° anwenden. 5) Auswaschen der Schnitte in reichlichem destilliertem Wasser. 6) Entwässerung in Alkohol, Aufhellung in Nelkenöl oder Origanumöl und Einschluß in Balsam. Die Schnitte erhalten sich in gutem Zustande wenigstens einige Wochen, wenn man Sonnenlicht und starkes diffuses Licht vermeidet: das Nervengeflecht kann eventuell noch nicht reduziertes Goldchlorid enthalten, das von dem Licht ausgefällt wird, wenn man die Schnitte nicht in einer Lösung von Natriumhyposulfit fixiert hat. Diese bekannte Operation hat einen Nachteil: die Schnitte quellen bei der Berührung mit der Fixierungsflüssigkeit, und diese Quellung setzt sich fort bei dem Auswaschen in destilliertem Wasser. Unter Umständen bewirkt die Entwässerung durch Alkohol Schrumpfung. Man kann diese Einwirkung des Alkohols mindern, wenn man steigenden Alkohol benutzt (50prozentig, 75prozentig, 90prozentig usw.), weit einfacher und wirksamer aber ist das folgende Verfahren: 7) die vorher gut ausgewaschenen Schnitte kommen für 10 Minuten oder mehr in die folgende Fixierungsflüssigkeit:

Natriumhyposulfit	10 g
Destilliertes Wasser	100 cc
Absoluter Alkohol	100 „

8) Zweimaliges Auswaschen in 40prozentigem Alkohol. 9) Nachdem die Schnitte in diesem das überschüssige Natriumhyposulfit verloren haben, werden sie mit einem sauberen Spatel auf den Objektträger übertragen und hier mit einem weichen Pinsel vorsichtig ausgebreitet, hierbei verlieren sie soviel Feuchtigkeit, daß sie fest an dem Objektträger anhaften und eine weitere Einwirkung von 75prozentigem und dann von absolutem Alkohol vertragen, ohne sich zu verschieben. Von dem absoluten Alkohol genügen einige Tropfen, die rasch über den Objektträger hinfließen. 10) Nach der Entwässerung Aufhellung in Nelkenöl oder Origanumöl, Xylol, Einschluß in Balsam oder Damarlack. Mitunter kann man zur Aufhellung auch mit Vorteil Kreosot verwenden, das bei unvollständig entwässerten Schnitten wirkt, d. h. bei solchen aus 79prozentigem Alkohol. Man soll die Präparate untersuchen mit dem Apochromat 1·30 von Zeiss und mit aller Blendöffnung des Abbeschen Apparates. Das gelbe Licht der elektrischen Lampen ist infolge des Kontrastes zur Untersuchung günstiger als das weiße Licht des Auer-Brenners oder des blauen Himmels, da der Grund im allgemeinen rosa ist, von dem sich dann dunkelviolett, leicht körnig, die Neurogliazellen und Fortsätze abheben. Die Neurone mit ihren Fortsätzen und das Myelin sollen sich nicht von dem allgemeinen Grunde abheben, nur die Kerne sind graublau und stark körnig. — Wie bei anderen Methoden, z. B. auch bei der

ausgezeichneten Methode von Achúcarro, ist die Neuroglia der weißen Substanz stärker und konstanter gefärbt als die der grauen Substanz. Ferner treten stark gefärbt hervor die Neurogliafüßchen an den Blutgefäßen. Die Färbung ist verschieden je nach der Frische der Präparate und nach der Zeit des Verbleibens der Stücke in Formol. Im allgemeinen erscheinen die Neurogliafortsätze um so feiner, je schneller nach dem Tode die Präparate fixiert worden sind und je gesunder das Gehirn war, am besten nach einem Tode durch Unfall. Zu bemerken ist ferner, daß die Schnitte aus tiefer liegenden Teilen (innere Windungen), zu denen die Fixierungsflüssigkeit langsam vorgedrungen ist, bessere Bilder ergeben als die oberflächlichen Windungen, die schnell von dem Formol durchsetzt wurden. In diesen tiefen Windungen gelingt vor allem die Färbung der Molekularschicht besser, die oft nur wenig gefärbt wird. Mitunter genügt ein Einschluß der Stücke in Gelatine, welche die Schnitte mit einer schützenden Membran umgibt, um diesen Nachteil der Methode zu vermeiden. — Wie schon erwähnt, ist der metallische Niederschlag in den Neurogliazellen körnig. Man kann diesen Fehler verringern, wenn man zu der Fixierungsflüssigkeit 20 Prozent Azeton oder Methylalkohol setzt. Dabei wird auch die durch das Formol herbeigeführte Quellung der Stücke vermieden. Der Methylalkohol wirkt außerdem als ein Beschleuniger der Reduktion, so daß diese schon nach 6 bis 10 Stunden beendigt ist. — Wenn endlich diese Stücke schwache und wenig kontrastreiche Färbungen ergeben, kann man die Kraft des Goldbades verstärken durch Zusatz von einigen Tropfen einer gesättigten Lösung von Kupfernitrat (auf 20 cc der Badflüssigkeit 3 bis 4 Tropfen, die Flüssigkeit muß einen leicht grünlichen Ton annehmen). Bei dieser Modifikation wird die Zeit für die Imprägnation auf mehr als die Hälfte abgekürzt und die Wirkung außerdem noch weit kräftiger. Der Zusatz zu dem Goldbade oder zu der Fixierungsflüssigkeit von verschiedenen Metallsalzen oder von organischen Substanzen (Pyridin, Chloralhydrat, salzsaurem Morphin, Nikotin, Aldehyden, Chinon usw.) bewirkt Veränderungen sowohl in bezug auf die Stärke, wie auch auf die elektive Fähigkeit des Goldniederschlages. Mit der Untersuchung dieser merkwürdigen Reaktionsverschiedenheiten, die für fast alle Gewebe verwendbar sind, ist Verf. zurzeit noch beschäftigt. — Was die mit dieser Methode erlangten Resultate anbelangt, so stimmen sie im wesentlichen überein mit denen, die mit der Methode von Achúcarro und mit der Uran-Formol-Methode des Verf. gewonnen sind. Die graue wie die weiße Substanz zeigen ein außerordentlich reiches und kompliziertes zusammenhängendes Geflecht, aber nicht ein diffuses Netz. Alle Fasern entspringen deutlich von dem Körper der Neurogliazellen. Der metallische Niederschlag findet sich nicht in den mit der Weigertschen Methode färbbaren differenzierten Fasern, sondern in dem granulierten Protoplasma, welches diese umhüllt. Mitunter färben sich, wenn auch nur schwach, die Neurone, wobei der Kern

dunkel gefärbt wird, das Kernkörperchen aber hell bleibt, während das körnige und violette Protoplasma deutlich die Nissl-Schollen erkennen läßt. *Schiefferdecker (Bonn).*

Schneider, O., Zur Kenntnis der Chordascheiden insbesondere der sogenannten Elastica interna bei Cyclostomen und Fischen (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 171—214 m. 7 Tfln.).

Das Material war teils in Alkohol, teils in Formol fixiert. Zur Differenzierung der elastischen Fasern wurde sowohl mit Resorcinfuchsin nach Weigert, als auch mit 1prozentiger Unnascher Orceïnlösung gefärbt. Die üblichen Färbungszeiten genügten aber durchaus nicht für eine scharfe Elastinfärbung; manchmal mußten die Schnitte mit der ersteren Farbe 2 und 3 Stunden, mit der letzteren bis zu 24 Stunden behandelt werden. Im allgemeinen gab die Orceïnmethode die besseren Präparate, namentlich weil eine Nachfärbung, z. B. Hämatoxylin-Eosin, möglich ist und bei Überfärbung mit salzsaurem Alkohol leicht differenziert werden kann, was bei Resorcinfuchsin so gut wie ausgeschlossen ist. Beide Methoden haben übrigens den Nachteil, daß sie außer Elastin auch Knorpel und mucinhaltige Substanzen stark mitfärben. Während nun die unerwünschte Knorpelfärbung kaum zu Verwechslungen Veranlassung geben kann, ist dies mit der Mucinfärbung anders, und deshalb wurde gegebenen Falles das Mucin immer durch Behandlung mit Kalilauge zerstört. Eingebettet wurde sowohl in Paraffin als auch in Celloïdin. Bei dem ersteren Verfahren ist unangenehm, daß die Faserscheide namentlich bei Alkoholmaterial bei der zum Aufkleben der Schnitte auf dem Objektträger nötigen Erwärmung stark aufquillt. Dieser Nachteil gegenüber der Celloïdineinbettung, nach welcher eine solche Quellung nicht auftritt, wird aber sehr überwogen von den Vorteilen, die die Paraffineinbettung bietet. Einmal lassen sich mit ihr dünnere Schnitten herstellen und dann ist nach ihr stets eine bedeutend bessere Elastinfärbung zu erzielen. — Entkalkt wurde mit häufig gewechselter 1prozentiger Salzsäure. *E. Schoebel (Neapel).*

Sheldon, R. E., Paraffine-Weigert methods for the staining of nervous tissue, with some new modifications (Folia Neuro-Biologica Bd. **8**, 1914. No. 1, p. 1—28).

Verf. hebt hervor, wie wichtig es zurzeit ist, bei der Größe der Gehirnschnitte und bei der Notwendigkeit, Serienschnitte anzufertigen, daß man die Weigertsche Methode auch nach Paraffineinbettung benutzen kann. Er gibt erst eine Übersicht über die bisherigen Methoden und teilt dann die von ihm gefundene und ausprobierte Methode mit. Er hebt dabei die Bedeutung auch geringfügiger Dinge hervor, wenn man gute Resultate erhalten will. Methode für das

erwachsene menschliche Gehirn: 1) Fixierung. Sorgfältig ausgesuchte Fälle werden injiziert mit 30- bis 50prozentiger Formollösung, durch welche das Gehirn durchaus fixiert wird. Nach 1 oder 2 Tagen wird das Gehirn herausgenommen und für 4 bis 8 Tage in eine 10prozentige Formollösung gelegt. Das ganze Gehirn wird nach 2 bis 3 Tagen in Schnitte von 1 cm Dicke zerlegt. Gute Resultate wurden auch erhalten bei Gehirnen von Leichen, die schon eine Woche alt, aber bei niederer Temperatur aufbewahrt worden waren. Fast ebenso gute Resultate erhält man an Gehirnen, die frisch aus der Leiche herausgenommen wurden, sofort in eine 10prozentige Formollösung gelegt und nach 2 Tagen, wie oben, zerschnitten wurden. In jedem Falle soll das Gehirn an der Basilararterie aufgehängt werden, um Druck zu verhüten. Ist das Gehirn nicht mit Formollösung injiziert worden, so geschieht es häufig, daß bestimmte Gegenden, namentlich nach dem frontalen Teile der inneren Kapsel hin, mangelhaft sind. Man kann das Gehirn entweder der Quere nach durchschneiden, indem man von dem verlängerten Marke ausgeht, oder nach der Methode von Hardesty (Hardesty, J., Neurological technique, 1902, U. of C. Press, fig. 2; derselbe: A laboratory guide for histology. P. Blakiston's Son and Co., Philadelphia, fig. 24). Im letzteren Falle kann man eine sehr gute Serie erhalten trotz der schiefen Lage der Blöcke. Hierzu ist es praktisch, die Blöcke nur 0·5 cm dick zu machen, da auf diese Weise der Verlust von einzelnen Schnitten erheblich verringert wird. Formol wirkte als erstes Fixierungsmittel besser als irgendein Chromsalz. Auch Kaliumbichromat ist bekanntlich ein sehr mangelhaftes Fixierungsmittel für Zellen und seine Verwendung bedingt einen erheblichen Nachteil bei der gewöhnlichen Methode von Weigert-Pal, es ist indessen zu benutzen, wenn die Zellen hervortreten sollen. 2) Die Schnitte durch das ganze Gehirn werden in Blöcke zerlegt, die nicht größer sein sollen als 4·5 : 5·5 cm. Diese kommen für 2 Stunden in fließendes Wasser. Bei Blöcken von dieser Größe kann man den ganzen Gehirnstamm einschließen. Im Kleinhirne schneide man die Blöcke so, daß sie auf der einen Seite von der Mitte her (somewhat to one side of the median line) liegen, um den ganzen Nucleus dentatus und den Pedunculus pontis mit zu erhalten. Im oberen Teile des Pons und in den unteren Vierhügeln kann man den ganzen Querschnitt erhalten. Oberhalb dieser Gegend, d. h. durch die vorderen Vierhügel und höher hinauf, muß man die Blöcke fast ganz von der einen Seite der Mittellinie ausschneiden, um den Hippocampus und das Corpus striatum noch mit zu erhalten. So ist es möglich, nicht nur alle Strukturen des Gehirnstammes, sondern auch das Corpus striatum, das Claustrum, die äußere Kapsel, den Balken, den Fornix und etwas von der Gehirnrinde zu erhalten. 3) Beizung. Zwei Beizen ergaben durchaus befriedigende Resultate: 1) Fluorchrom 2 g, Kaliumbichromat 3 g, Wasser 100 cc, oder: 2) Kupferbichromat 2 g, Kaliumbichromat

3 g, Wasser 100 cc. Das Fluorchrom oder das Kupferbichromat sind zuerst in der vollen Wassermenge zu lösen, sie werden dabei erwärmt, aber nicht bis zum Kochen. Nach der Lösung wird die volle Menge der Kaliumbichromatkristalle zugesetzt. Die Lösung soll frisch hergestellt werden, die Blöcke kommen in die warme Flüssigkeit. Sie verbleiben mit einer von den beiden Lösungen 15 Tage im Ofen bei 37 bis 40°. Die Menge der Lösung soll beträchtlich die Masse der Blöcke übertreffen; man soll sie nach 5 bis 6 Tagen wechseln. Die Behandlung in der Beize ist von großer Wichtigkeit. Beide Beizen machen die Blöcke brüchig und bei zu langer Einwirkung ist es unmöglich, gute Serienschnitte zu erhalten, falls man überhaupt noch mit Paraffin schneiden kann. Eine Gefahr der Überchromierung scheint nicht vorhanden zu sein. Verbleiben die Blöcke zu kurze Zeit in der Beize, so wird das Myelin durch den absoluten Alkohol und das Xylol angegriffen und außerdem färben sich die zu wenig chromierten Schnitte aus der Mitte des Blockes überhaupt nicht. Die Durchdringung geht bei der Kupfermischung nicht so schnell vor sich wie bei der Fluorchrommischung. Auch eine Mischung von: Chromalaun 2 g, Kaliumbichromat 3 g, Wasser 100 cc wurde als Beize versucht, sie dringt aber nicht genügend ein, macht die Stücke sehr brüchig und ergibt keine gute Färbung. Verf. hebt hervor, daß eine Beize, die für das verlängerte Mark günstig wirkt, nicht genügt für die weiter nach vorn gelegenen Teile, da die Fasern des Pons, der Hirnschenkel und der inneren Kapsel leicht mehr Chrom aufnehmen und sich dann nur sehr schwer schneiden lassen. Müllersche Flüssigkeit und Kaliumbichromat brauchen zur Beizung eine weit längere Zeit und ergeben nicht so gute Resultate mit der Differenzierung nach Pal, wenngleich ganz befriedigende Präparate mit der Differenzierung in Borax-Blutlaugensalz-Lösung zu erhalten sind. Ist der Block unvollkommen chromiert, so kann man auch mit einer 1prozentigen Chromsäurelösung 15 Minuten lang auf dem Objektträger beizen, doch ist dieses für längere Serienschnitte nicht zu empfehlen, weil man viel Zeit braucht. In solchem Falle wird außerdem oft das Myelin in hohem Grade von dem absoluten Alkohol und Xylol aufgelöst. 4) Auswaschen und Entwässern. Fließendes Wasser 24 Stunden, 50-, 67-, 82- und 95prozentiger Alkohol je 48, absoluter Alkohol 24 Stunden. In vielen Fällen wird man auch beträchtlich weniger Zeit brauchen, doch ist eine gründliche Entwässerung von Wichtigkeit, besonders wenn man Zedernholzöl zur Aufhellung verwendet. Die Entwässerung geht natürlich weit schneller vor sich, wenn man mehr den stärkeren Alkohol anwendet, doch führt dies zu beträchtlicher Härte des Blockes, die man vermeiden soll. 5) Aufhellen. Zedernholzöl 4 Tage oder mehr, Karbol-Xylol 12 Stunden, Xylol 3 Stunden. Die Blöcke können in dem Zedernholzöl fast unbegrenzt lange verbleiben. Bei Herstellung einer vollständigen Gehirnserie verfährt Verf. so, daß er den ersten Block nach 4 Tagen herausnimmt, einbettet und schneidet, die wei-

teren Blöcke nach Bedürfnis. So zu verfahren, ist sicherer, als alle Blöcke auf einmal aufzuhellen, einzubetten und zu montieren. Karbol-Xylol und Xylol müssen in reichlicher Menge angewendet werden, um das Eindringen und das Schneiden zu erleichtern. Trotz mehrmaligem Wechseln des Paraffins lassen sich keine guten Schnittbänder herstellen, wenn in dem Paraffin noch Zedernholzöl enthalten ist. Die Verwendung von Karbol-Xylol oder Xylol allein zum Aufhellen ist nicht zu empfehlen wegen ihrer härtenden Eigenschaft, besonders wenn es sich um die dicken Faserbündel des Pons, der Rinde (Crusta) und der inneren Kapsel handelt. Diese Härtung tritt noch stärker hervor, wenn die Beize zu lange eingewirkt hat. 6) Einbettung. Paraffinbad (24 Stunden) einmal gewechselt. Erwärmung bis zu der oben angegebenen Grenze scheint das Material nicht zu schädigen. Einschluß in Paraffin von 56°. Das Einbettungsparaffin muß beträchtlich härter sein als das Durchtränkungsparaffin. Bei Blöcken von 4·5 : 5·5 cm ist die Menge des Nervengewebes im Verhältnisse zu der Menge des eingedrungenen Paraffins sehr groß. Ist das Durchtränkungsparaffin und das Einbettungsparaffin etwa von derselben Härte, so schrumpft das mehr spongiöse Gewebe beträchtlich infolge der Hülle des sich abkühlenden Paraffins. Beim Schneiden dagegen dehnen sich die Gewebsschnitte aus, werden größer als der umgebende Paraffinring und legen sich daher in Falten, welche oft nicht beseitigt werden können. Wird zur Einbettung ein weit härteres Paraffin verwendet als zur Durchtränkung, so wird das Gewebe weniger zusammengepreßt und die Faltung wird vermieden. 7) Herstellung der Blöcke. Man benutzt hierzu Papierkästchen, die nur die notwendige Größe haben, da eine Abkühlung ohne Kristallisation nur möglich ist, wenn der Block eine möglichst geringe Umkleidung von Paraffin besitzt. Der Block wird in üblicher Weise auf dem Halter befestigt, wobei man die richtige Stellung desselben genau überlegen muß, da Blöcke von dieser Größe auf der Maschine schwer verstellt werden können. 8) Schneiden. Am besten macht man Schnitte von 12 bis 15 μ Dicke. Bei einem Blocke von 4·5 : 5·5 cm hat Verf. vollkommen gute Schnitte zwischen 4 und 25 μ herstellen können. Die dickeren Schnitte falten sich leicht und differenzieren sich mit der Lösung nach Pal nicht gut auf dem Objektträger. Die dünnen Schnitte zeigen die feinen Fasern ausgezeichnet, sind sie aber 10 μ oder weniger dick, so werden sie zu blaß für Übersichtsbilder. Schnitte von 12 bis 15 μ Dicke zeigen scharfe Kontraste bei schwachen Linsen, lassen die feinen Fasern deutlich erkennen, breiten sich gut aus und differenzieren sich gut auf dem Objektträger mit der Palschen Lösung. 9) Montieren. Die Schnitte schwimmen auf dem Objektträger auf erwärmtem Wasser und werden dann durch Eiweiß befestigt. Man läßt die Schnitte 12 Stunden lang trocknen und bringt sie dann bei 52° in ein Bad für 2 Stunden. Das Paraffin schmilzt, das Eiweiß der Fixierungsflüssigkeit gerinnt, die Schnitte breiten sich

völlig flach aus und sind auf dem Objektträger sicher fixiert. Tut man das nicht, so lösen sich die Ecken der großen Schnitte leicht ab oder die Schnitte schwimmen fort. 10) Sekundäre Beizung. Die Schnitte kommen jetzt in Körbe zu 10 Objektträgern oder noch besser in einen Objektträgerhalter für 50 Objektträger. Dieser kommt für 5 Minuten in Xylol, für 2 Minuten in 95prozentigen Alkohol und wird dann in dünne Celloïdinlösung getaucht. Darauf läßt man die Schnitte leicht trocknen und überträgt den Halter für je 2 Minuten in 95prozentigen Alkohol, 82prozentigen, 67prozentigen, 50prozentigen und dann in fließendes Wasser, dann in eine kalte, halb gesättigte Lösung von Kupferazetat für 12 Stunden. Ist die Fluorchrom-Kaliumbichromat-Beize verwendet, so wird die sekundäre Beizung in Kupferazetat für die Palsche Differenzierung notwendig. Sie ist nicht wesentlich, wenn die Kupfer-Bichromat-Kaliumbichromat-Beize benutzt wird, für die Palsche Differenzierung, verbessert die Präparate aber etwas. In der Kupferazetatlösung kann man 800 bis 1000 Objektträger beizen, die sich in Haltern von je 50 Stück befinden. 11) Färbung. Die Halter werden aus der Kupferazetatlösung herausgenommen und für 10 Minuten in fließendes Wasser gebracht, um die Gerinnung des Farbstoffes zu vermeiden. Dann Übertragen in die Weigertsche alkalische Hämatoxylinlösung für 4 bis 8 Stunden, wobei eine längere Einwirkung im allgemeinen bessere Resultate ergibt. Die Kultschitzkysche Färbung gibt nicht so gute Resultate mit den angewandten Beizen, besonders für die feineren Fasern. Eine Schale voll Farbstoff genügt für 800 bis 1000 Objektträger, wenn vorher der Überschuß an Kupferazetat genügend ausgewaschen worden ist. 12) Differenzierung. Die Objektträgerhalter kommen für 5 Minuten in fließendes Wasser, um den überflüssigen Farbstoff auszuwaschen, und werden dann mit dem Boden nach oben in ein Wasserbecken gebracht. Differenzierung am besten mit der Palschen Flüssigkeit, wobei man eine 0·5prozentige Lösung des übermangansauren Kaliums verwendet. Man kann von dem 50 Stück haltenden Halter 5 Objektträger entnehmen und auf einmal differenzieren. Dann Abspülen in Wasser und Übertragung für 15 Minuten in eine starke Lösung von Lithiumkarbonat, wodurch die blaue Färbung beträchtlich verstärkt wird. Die Objektträger kommen dann in Körbe zu je 10 Stück und werden nachtsüber in fließendem Wasser gelassen, wodurch die blaue Farbe noch verstärkt wird. Die Zeitdauer in der Lösung von übermangansaurem Kalium muß sorgfältig bestimmt werden, da bei zu langer Einwirkung die graue Substanz rot anstatt weiß wird. In der Mischung von schwefligsaurem Kalium und Oxalsäure werden die Schnitte etwas überdifferenziert, wodurch die Farbe wiederkommt bei der späteren Behandlung. Das schließliche gründliche Auswaschen ist wichtig, um das Abblassen zu verhindern, welches durch geringe Reste von zurückgebliebener Differenzierungsflüssigkeit bedingt wird. Alle Schnitte, die überdifferenziert

oder nicht genügend gefärbt sind, können in die Kupferazetatlösung zurückgebracht und noch einmal, wie oben, behandelt werden. Man kann den Prozeß so wiederholen, bis eine gute Färbung erzielt ist, ohne daß die Qualität leidet. 13) Aufheben. Die Objektträger werden in den Körben durch die Alkoholreihe bis zu 95prozentigem Alkohol hindurchgeführt, dann durch Karbolxylol und Xylol in neutralen Damarlack eingeschlossen. Den letzteren stellt man sich so her, daß man zu 100 cc einer dünnen Xylol-Damarlacklösung 1 g Kaliumkarbonat oder Lithiumkarbonat zusetzt, die Lösung gründlich schüttelt und im Ofen bei 37·5° einige Wochen stehen läßt. Dann ist der größte Teil des Karbonats auf den Boden des Gefäßes gesunken; filtrieren. Die Schnitte werden in dieser Lacklösung etwas blaner und bewahren ihre Farbe. Die gefärbten Schnitte sollen in Alkohol oder Xylol nicht länger als nötig verbleiben, da sie etwas abbleichen. 14) Gegenfärbung. Die hierzu gewöhnlich verwendeten Farbstoffe, wie das Karmin von Upson, geben nach der Fixierung in Fluorchrom keine guten Resultate. Einer der besonderen Vorteile der hier angegebenen Methode ist, daß eine Gegenfärbung nicht notwendig ist, da die Zellen und der Grund deutlich hervortreten. — Resultate: Scharf blau gefärbte Fasern auf einem leicht gelblich-grauen Grunde. Die feinen Fasern treten ungewöhnlich deutlich hervor. So besonders in der unteren Olive oder in dem Nucleus dentatus, die daher dunkeler erscheinen als bei der gewöhnlichen Färbung nach Weigert-Pal. Im Querschnitte erscheinen die Scheiden als scharfe blaue Zylinder, der Achsenzylinder hellbraun. Die Zellen treten sehr deutlich hervor, leicht gelbbraun bis dunkelbraun. Die Zellwand, die Kernmembran, das Cytoplasma, der Kern und das Plasmosom erscheinen stets deutlich. Meist ist das Cytoplasma erfüllt von deutlichen runden, bräunlichen Körnchen, die ihrer Form nach an die Neurosome von Held erinnern. Die pigmenthaltigen Zellen zeigen die charakteristischen Lipochromkörnchen, gewöhnlich an einer Seite der Zelle. Infolge dieser Körnchen ist das Cytoplasma meist dunkler als der Kern, das Plasmosom ist stets dunkel. Der Kern zeigt gewöhnlich feine braune Körnchen, die in ihrer Lage dem Chromatin entsprechen. In den Purkinjeschen Zellen zeigt das Cytoplasma gewöhnlich weniger Körnchen als der Kern, und daher erscheint der letztere dunkler. Die Kerne der Neurogliazellen sind dunkelbraun und stets umgeben von einem hellen Cytoplasmahofe. Die Körnerzellen des Kleinhirnes sind diesen Kernen sehr ähnlich, aber größer. — Die hier angegebene Methode ergibt sehr gute Resultate für die Gehirne der niederen Wirbeltiere und auch für die der niederen Säugetiere. Besonders gute Resultate werden in letzteren Fällen erhalten durch Fixierung des Gehirnes von einem frisch getöteten Tiere in 10prozentiger Formollösung (4prozentiger Formaldehydlösung) für 2 bis 4 Tage, dann 10tägige Beizung mit einmaligem Wechsel in einer Lösung von Kupferbichromat 3 Prozent und

Fluorchrom 2 Prozent. Das Fluorchrom kommt in die volle Wassermenge und wird durch leichtes Erhitzen gelöst, dann wird das Kupferbichromat zugesetzt. Hierauf filtrieren. Während der Beizung läßt man am besten das Präparat im Ofen bei einer Temperatur von 33 bis 35°. Höhere Temperaturen soll man vermeiden, um die Präparate nicht brüchig werden zu lassen. Dann Auswaschen in fließendem Wasser für einige Stunden, Entwässerung, Aufhellen in Zedernholzöl, Karbolxylol und Xylol, wie oben, Durchtränkung in Paraffin von 42°, Einbettung in Paraffin von 52°, Schnittdicke 10 μ. Weitere Behandlung wie oben, mit Ausnahme dessen, daß das Kupferazetat nicht benutzt wird. Ungewöhnlich deutliche Weigert-Pal-Präparate werden auf diese Weise gewonnen: scharf blaue Fasern auf grauem Untergrunde, von dem sich die Zellen in graugelber Farbe abheben. Diese Methode erfordert vorsichtige Anwendung, da sowohl das Fluorchrom wie das Kupferbichromat die Präparate sehr brüchig machen. Besondere Sorgfalt muß auch angewendet werden in bezug auf den Wärmegrad während der Beizung und in bezug auf die Zeitdauer des Verweilens in den stärkeren Alkoholen, in Karbolxylol, Xylol und Paraffin. Auch in der Behandlung der Präparate muß man sehr vorsichtig sein, da diese sehr leicht zerbrechen. Diese letztere Methode ist für das Gehirn des erwachsenen Menschen nicht anwendbar, da sie das Material hart und brüchig macht. *Schiefferdecker (Bonn).*

C. Botanisches.

Salomon, H., Über das Vorkommen und die Aufnahme einiger wichtiger Nährsalze bei den Flechten (Diss. Jena 1913; Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **54**, 1914, p. 309).

Die Methoden zum mikrochemischen Nachweis von P, Mg, K, NO_3 und Ca werden kritisch besprochen.

Nachweis von Phosphor. Verf. bestreitet die Ansicht (Iwanoff), daß die Hansensche Nachweismethode mit molybdänsaurem Ammon + Salpetersäure zur Feststellung der Lokalisation des Phosphors ungeeignet sei, weil sich die Ammoniumphosphormolybdat-Kristalle nie in der Zelle niederschlügen. Er findet, daß die gebildeten Kristalle nur bisweilen außerhalb der Zelle liegen. Auch konnte er, entgegen Schimpers Angaben, mit dem Reagens die organisch gebundene Phophorsäure in den Samen von Rizinus und Lupinus als molybdänsaures Salz nachweisen.

Um anorganische und organische Phosphate getrennt sichtbar zu machen, verfährt Verf. folgendermaßen: die Schnitte werden erst 14 bis 20 Tage mit ammoniakalischer Magnesiumsulfatlösung (246·5 g $MgSO_4$ und 53·5 g NH_4Cl im Liter Wasser) behandelt, mit verdünntem Ammoniak ausgewaschen und untersucht. Anorganische Phosphate sind als phosphorsaure Ammoniakmagnesia gefällt. Man

löst diese Kristalle durch verdünnte Salzsäure auf, wäscht sorgfältig aus und bringt die Schnitte für wenigstens 24 Stunden in das Hansensche Reagens, wäscht mit destilliertem Wasser aus und untersucht. Etwa anwesende organische Phosphate liegen nun als Ammoniumphosphormolybdat vor. — Ganz sicher dürfte diese Unterscheidung nicht sein, da auch das erstbenutzte Pfeffersche Reagens mit gewissen organischen Phosphorverbindungen reagieren könnte.

Die Methode von Macallum, die Kristalle von Ammoniumphosphormolybdat mittels salzsauren Phenylhydrazins zu reduzieren, so daß sie sich grün bis blau färben, und die sich anschließende Methode von Weyland, die so reduzierte Phosphorverbindung mit 1prozentiger wässeriger Hämatoxylinlösung rein blau zu tingieren, ist nur mit Vorsicht verwendbar. Das Molybdänreagens muß bis auf die letzten Spuren ausgewaschen werden; sonst würde, da das salzsaure Phenylhydrazin Molybdänsäure reduziert, eventuell neben der Phosphorsäure auch das zugesetzte Reagens nachgewiesen werden. Die Weylandsche Hämatoxylinfärbung ist diffus und verwischt die Lokalisation des Niederschlags. Auch kann die freie Salpetersäure des Hansenschen Reagens Eisen und Aluminium freimachen, die dann ebenfalls blaue Hämatoxylinverbindungen bilden.

Nachweis von Kalium. Die Überführung der mit Kobaltnatriumnitrit (de Koninck) gefällten kleinen Pentagondodekaeder des Kalium-Kobaltdoppelsalzes in schwarzes Kobaltsulfid, die Weevers vorgeschlagen hat, erscheint dem Verf. bedenklich. „Diese schwarze Färbung zeigt in erster Linie Kobalt an und Kalium nur insofern, als es als Doppelsalz vorhanden ist. Dieses Vorhandensein ist ein ganz geringes und dazu, wie festgestellt wurde, ein sehr wechselndes. Bleibt nur eine Spur des Fällungsmittels in dem Schnitt zurück, oder ist der Niederschlag in seiner Zusammensetzung sehr arm an Kalium, so gewinnt man ein ganz falsches Bild von der Menge und Verteilung des Kaliums.“ Man muß also bei dieser Methode für völliges Auswaschen des Kobaltnatriumnitrits sorgen.

Nachweis von Kalzium. Macallum und Weyland hatten angegeben, daß man die Kalziumkristalle, die man durch Ausfällen mit Ammoniumoxalat oder Schwefelsäure erhält, mit Hämatoxylin anfärben und dadurch deutlicher machen könne. Auch sollte Hämatoxylin mit gelöstem Kalzium rot reagieren. Verf. findet diese Methode unbrauchbar. Hämatoxylin gibt nur mit Kalkkarbonat und mit gelöstem Bikarbonat Rotfärbung, nicht aber mit dem Sulfat, Oxalat, Nitrat und Chlorid, weder in fester Form noch in wässeriger oder alkoholischer Lösung. Außerdem gibt Hämatoxylin mit freier Schwefelsäure rote Reaktion. Wird diese zum Fällen benutzt und nicht völlig ausgewaschen, so erhält man eine rote Tinktion, die aber mit Kalzium nichts zu tun hat. Schließlich kann durch das zum Auswaschen benutzte Wasser gelöstes Bikarbonat eingeführt und zur Reaktion gebracht werden. Diese Methode muß also verlassen werden.

Verf. wandte zur Tinktion sowohl der durch Fällung gewonnenen Kalziumsalze als auch ihrer Lösung Anthrapurpurin (ein 1-, 2-, 7-Trioxyanthrachinon) an. Dieser rote Farbstoff färbt die Sulfate, Nitrate, Chloride, Karbonate und Oxalate des Ca violett. Am geeignetsten erwies sich eine ammoniakalische Lösung, der etwa 1prozentiges Kochsalz zugefügt ist. Durch das NaCl werden Ca-Karbonat oder -Phosphat in Chlorid übergeführt, das besonders gut mit Anthrapurpurinlösung reagiert. Das Ammoniak soll lösliche Kalksalze als Hydroxyd fällen.

Nachweis von Stickstoff in anorganischer Bindung. Der Nachweis mit Diphenylamin- und Brucinschwefelsäure (Molisch) war bei den Flechten wenig geeignet. Der Nachweis mit Cinchonamin versagte ganz. Auch mit Nitron (Busch) erhielt Verf. nicht immer die Nitronnitrat-Nadeln.

Nachweis von Ammonium. Es wurde zunächst Nesslers Reagens angewendet. Da manche Flechten mit ätzenden Alkalien eine braungelbe Flüssigkeit ergaben, mußte nacheinander untersucht werden 1) in Nesslers Reagens, 2) in dem Reagens ohne Alkali, 3) in Kalilauge allein. Chemisch reine Flechtensäuren geben mit dem Nesslerschen Reagens teilweise eine Fällung, die mit dem Niederschlag, den man bei der Einwirkung auf Ammoniak erhält, sehr ähnlich ist. Daher wies Verf. Ammoniak auf makrochemischem Wege nach. — *Hans Schneider (Bonn).*

Esmarch, F., Untersuchungen über die Verbreitung der Cyanophyceen auf und in verschiedenen Böden (Diss. Kiel 1914).

Verf. überdeckt die Bodenproben, die auf ihren Gehalt an Cyanophyceen untersucht werden sollen, mit Fließpapier. Die Algen durchwachsen das letztere und machen sich auf ihm oft schon nach wenigen Tagen als farbige Flecke bemerkbar. *Küster (Bonn).*

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Arnold, J., Über Plasmastrukturen und ihre funktionelle Bedeutung. Jena (G. Fischer) 1914. 471 pp. u. 4 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 394.) 16 M.

Herxheimer, G., Technik der pathologisch-histologischen Untersuchung. Wiesbaden (J. F. Bergmann) 1912. 393 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 391.) 9 M.

Klopstock-Kowarsky, Praktikum der klinischen chemisch-mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 3. Aufl. Berlin u. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1915. 392 pp. u. 24 Tfln. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 393.) geb. 8 M.

Schneider, A. u. W., Praktikum der mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere und Grundzüge der mikroskopischen Technik. Für das Selbststudium bei der Fortbildung des Lehrers, für Seminare und höhere Lehranstalten sowie zur Einführung für die Studierenden der Zoologie. Wien u. Leipzig (Tempsky & Freytag) 1915. 111 pp. m. 75 Textfigg. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 393.) geb. 2 M.

2. Mikroskop und seine Nebenapparate.

Baudrexel, A., Augenschutz. Eine praktische Neuerung für den Gebrauch des Mikroskops und ähnlicher optischer Apparate (Wochenschr. f. Brauerei Jahrg. **31**, 1914, No. 25, p. 237—238 m. 2 Figg.).

Metz, M., Okularzählplatte (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 18, p. 991—992).

Singer, Ch., Notes on the early history of microscopy (Proc. R. Soc. of Med. vol. 7, no. 8, Sect. of Hist. of med. p. 247—279 w. 23 figg.).

3. Mikrophotographie und Projektion.

Tandler, J., Das photogrammetrische Rekonstruktionsverfahren in seinen Beziehungen zur Anatomie (Verh. Ges. Deutscher Naturf., 85. Vers. Wien 1913, 2. Teil, 2. Hälfte, p. 965—967).

Thulin, I., Note sur une méthode microphotographique pour l'étude des structures moindres que 0·2 μ (Bibliogr. Anat. t. **24**, fasc. 3, p. 116—122 av. 2 figg.).

4. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Day, L. E., An improved method of mounting museum specimens (Trans. Chicago pathol. Ser. vol. 9, 1914, no. 3, p. 106—111).

Edinger, L., Ersatz des Kanadabalsams durch Gelatine an mikroskopischen Präparaten (München. med. Wochenschr. Jahrg. **61**, 1914, No. 1; Wissenschaftl. Vereinigung am städtischen Krankenhause zu Frankfurt a. M., Sitz. 11. Nov. 1913; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 400).

Heydenreich, L. v., Ein Thermoregulator mit Wasser für Thermostaten (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **73**, 1914, H. 6, p. 444—448 m. 1 Fig.).

Kiyono, K., Die vitale Karminspeicherung. Ein Beitrag zur Lehre von der vitalen Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Zelldifferenzierungen im entzündeten Gewebe. Mit einem Vorwort von L. Aschoff. Jena (G. Fischer) 1914. VII, 258 pp. 5 farb. Tfln. 16 M.

Nirenstein, E., Das Wesen der Vitalfärbung (Verh. Ges. Deutsch. Naturf., 85. Vers. Wien 1913, 2. Teil, 2. Hälfte, Leipzig 1914, p. 8—18).

Ranke, O., Neue Kenntnisse und Anschauungen von dem mesenchymalen Syncytium und seinen Differenzierungsprodukten unter normalen und pathologischen Bedingungen, gewonnen mittels der Tanninsilbermethode von N. Achúcarro (Sitzber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., mathem.-naturwiss. Klasse, Abt. B, Biol. Wissensch. Jahrg. 1913, 3. Abhandl. 30 pp. u. 10 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 402).

Schiassi, B., Nouvelles solutions physiologiques (La Semaine méd. Année **33**, 1913, no. 50, p. 589—590; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 400).

Simarro y Villaverde, Método de coloración histológica por el negro de anilina producido en el tejido. — Comunicación previa (Bol. Soc. Españ. Biol. Año. **3**, 1913, no. 21, 22, p. 25—27; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 400).

Spalteholz, W., Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen. Nebst Anhang: Über Knochenfärbung. 2. Aufl. Leipzig 1914. 93 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 398.)

Wright, Fr. E., A simple method for the accurate measurement of relative strain in glass (Journ. Washington Acad. of Sci. vol. **4**, 1914, no. 21, p. 594).

Wright, A. E., Technik der Gummisaugkappe und Glaskapillare und ihre Anwendung in der Medizin und Bakteriologie. Jena (G. Fischer) 1914. XV u. 235 pp. 8°. 6 Tfln. u. 79 Figg. 7·50 M.

5. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Böhm, J., Trichinoskopbetrieb (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene Jahrg. **24**, 1914, H. 22, p. 509—512).

Braue, A., Die Pollensammelapparate der beinsammelnden Bienen (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**, 1913, p. 1—96 m. 26 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 401).

Kerschner, Th., Die Entwicklungsgeschichte des männlichen Kopulationsapparates von Tenebrio molitor L. (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 337—376 m. 11 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 405).

Kühnle, K. F., Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn, die Kopfnerven und die Kopfdrüsen des gemeinen Ohrwurms (Forficula auricularia L.) mit Bemerkungen über die Gehirne und Kopfdrüsen eines Springschwanzes (Tomocerus flavescens Tullb.), einer Termitenarbeiterin [Entermes peruanus f. aequatorianus Holmgr.] und der indischen Stabheuschrecke [Dixippus morosus] (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**, 1913, p. 147—276 m. 36 Figg. u. 5 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 405).

Lima, Armanda R. V., Meio rapido para revelar ovulos de parasitas intestinaes nas fezes (Brazil medico vol. **4**, 1913, p. 427).

Müller-Calé, K., Über die Entwicklung von Cypris incongruens (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 113—170 m. 25 Figg. u. 6 Tfln.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 406).

Plenk, H., Die Entwicklung von Cistella (Argiope) neapolitana. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Brachiopoden (Arb. a. d. Zool. Inst. d. Univ. Wien Bd. **20**, 1913, p. 93—108 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 404).

Rösch, P., Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der Strepsipteren (Jena. Zeitschr. f. Naturw. Bd. **50**, 1913, p. 97—146 m. 8 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 404).

Schuch, K., Beiträge zur Kenntnis der Schalendrüse und der Geschlechtsorgane der Cumaceen (Arb. a. d. Zool. Inst. d. Univ. Wien Bd. **20**, 1913, p. 7—22 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 406).

b. Wirbeltiere.

Anitschkow, N., Über experimentell erzeugte Ablagerungen von anisotropen Lipoidsubstanzen in der Milz und im Knochenmark (Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allgem. Pathol. Bd. **57**, 1913, H. 2, p. 201—222 m. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 414).

Asai, T., Untersuchungen über die Struktur der Riechorgane bei Mustelus laevis [Glatter Hai, Selachier] (Anat. Hefte, H. 149 [Bd. **49**, H. 3], 1913, p. 441—522 m. 4 Tfln. u. 8 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 422).

Burlend, T. H., The pronephros of Chrysemys marginata (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 1—90 m. 12 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 421).

Cajal, S., Ramón y, Un nuevo proceder para la impregnación de la neuroglia (Bol. Soc. Españ. Biol. Año **3**, 1913, no. 23, 24, p. 104—108; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 424).

Champy, C., Recherches sur la spermatogénèse des Batraciens et les éléments accessoires du testicule (Arch. d. Zool. Expér. et Gén. t. **52**, 1913. fasc. **2**, p. 13—304 av. 12 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 415).

Donikow, B., Histologische und histopathologische Untersuchungen am peripheren Nervensystem mittels vitaler Färbung (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 9, p. 731—749 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 423).

Dubois, R., Procédé d'embaumement et de momification à l'air libre du Professor Raphael Dubois (9me Congrès intern. Zool. Monaco 1913, Rennes 1914, p. 160—164 av. 1 fig.).

Greschik, E., Histologische Untersuchungen der Unterkieferdrüse [Glandula mandibularis] der Vögel. Ein Beitrag zur Kenntnis der Mucinbildung (Aquila Bd. **20**, 1913, Budapest, p. 331—364 m. 2 Tfln. u. 3 Abb. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 409).

Greschik, E., Mikroskopische Anatomie des Enddarmes der Vögel (Aquila Bd. **20**, 1912, Budapest, p. 210—269 m. 1 Tfl. u. 29 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 412).

Hegewald, C., Vergleichende histologische Untersuchungen über den äußeren Gehörgang der Haussäugetiere (Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropol. Bd. **16**. 1913, H. 2, p. 201—238 m. 1 Tfl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 421).

Jurjewa, E., Die Nervenendigungen im Zahnfleisch des Menschen und der Säugetiere (Folia Neuro-Biologica Bd. **7**, 1913, No. 9, p. 772—780 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 423).

Lecha-Marzo, A., El ácido fosfo-molíbdico reactivo del esperma (Bol. Soc. Españ. Biol. Año **3**, 1913, no. 21, 22, p. 43—46; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 417).

Losee, J. R., a. **Ebeling, A. H.**, The cultivation of human tissue in vitro (Journ. of exper. med. vol. **19**, 1914, no. 6, p. 593—602 w. 3 pl.).

Meßner, E., Weitere Mitteilungen über die Färbung der Nisslschen Schollen mit Pikrokarmin (Journ. f. Psychol u. Neurol. Bd. **20**, 1913, p. 256; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 408).

Möllendorf, v., Über Vitalfärbung der Granula in den Schleimzellen des Säugerdarmes (Verhandl. d. Anat. Ges., 27. Versamml. Greifswald 10. bis 13. Mai 1913; vgl. Anat. Anzeiger, Ergänzh. zu Bd. **44**, 1913, p. 117—123 m. 4 Figg. im Text; diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 413).

Péterfi, T., u. **Engel, A.**, Das Muskelgewebe der Milz des Menschen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1914, No. 13, p. 312—317 m. 4 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 409).

Péterfi, T., Beiträge zur Histologie des Amnions und zur Entstehung der fibrillären Strukturen (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1913, No. 7, p. 161—173 m. 8 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 420).

Rachmanow, A., Beiträge zur vitalen Färbung des Zentralnervensystemes [Nebst einigen Bemerkungen über den feineren Bau der Pia] (Folia Neuro-Biologica Bd. 7, 1913, No. 9, p. 750—771 m. 1 Tfl.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 423).

Schneider, O., Zur Kenntnis der Chordascheiden insbesondere der sogenannten Elastica interna bei Cyclostomen und Fischen (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **36**, 1913, p. 171—214 m. 7 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 427).

Schröder, R., Über die zeitlichen Beziehungen der Ovulation und Menstruation [Zugleich ein Beitrag zur Corpus luteum-Genese] (Arch. f. Gynäkol. Bd. **101**, 1913, H. 1, p. 1—35 m. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 419).

Sheldon, R. E., Paraffine-WEIGERT methods for the staining of nervous tissue, with some new modifications (Folia Neuro-Biologica Bd. 8, 1914, No. 1, p. 1—28; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 427).

Unna, P. G., Die Herkunft der Plasmazellen (VIRCHOWS Arch. Bd. **214**, 1913, p. 320—339 m. 2 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 407).

c. Botanisches.

Esmarch, F., Untersuchungen über die Verbreitung der Cyanophyceen auf und in verschiedenen Böden (Diss. Kiel 1914; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 435).

Salomon, H., Über das Vorkommen und die Aufnahme einiger wichtiger Nährsalze bei den Flechten (Diss. Jena 1913; Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. **54**, 1914, p. 309; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 433).

†

Mit Prof. Dr. **Stanislaus von Prowazek,** dem Abteilungsvorsteher am Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg, der am 17. Februar 1915 im Gefangenenlager zu Kottbus dem Flecktyphus zum Opfer gefallen ist, hat die Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie einen hochgeschätzten Mitarbeiter verloren.

Band 31. Heft 4.

Aus optischen und mechanischen Werkstätten VII[1].

Von

Dr. E. Wychgram

in Kiel.

Hierzu sechs Textabbildungen.

Das Studium der Materialien, welche für die praktische Optik und die konstruktive Mechanik grundlegend sind, hat für das Gebiet der Metalle uns einen gewissen abgeschlossenen Bestand der verfügbaren Möglichkeiten geschaffen, während auf dem großen Gebiete der Körper, die wir unter „Glas" verstehen, erst eine jüngere Entwicklung infolge systematischer Bearbeitung unter Aufwendung bedeutender Mittel und Methoden kontinuierliche Fortschritte gebracht hat. Dabei war anfänglich das Hauptinteresse auf die optischen Eigenschaften gerichtet, und erst die letzten Jahre haben Gläser gezeitigt, die besonders thermische und mechanische Forderungen erfüllen. Wohl alle Fortschritte auf diesem Gebiete in Deutschland sind dem Jenaer Glaswerk von Schott & Gen. zu verdanken.

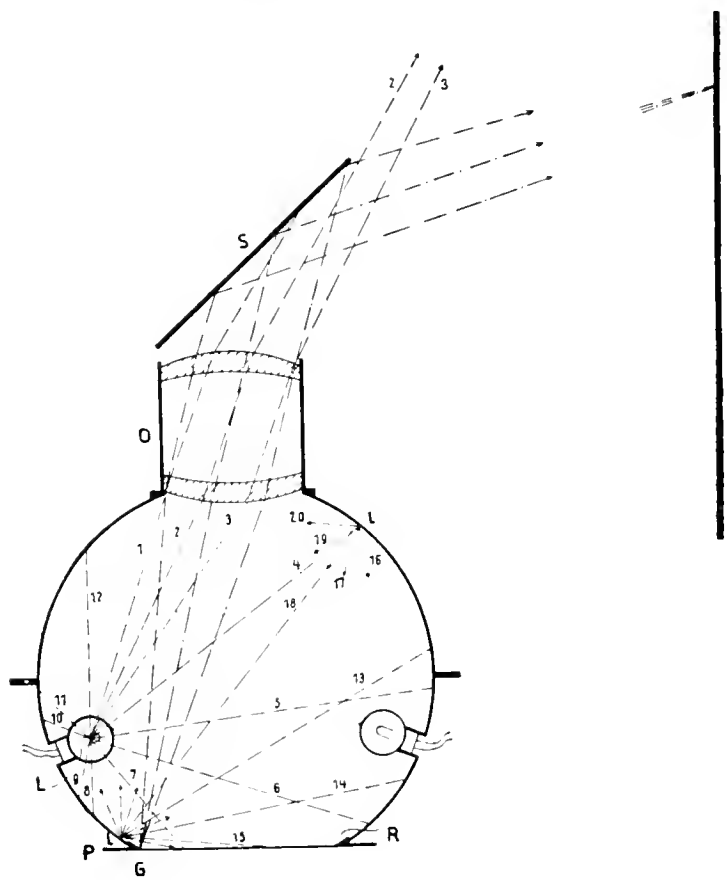
Der großen Liste optischer und technischer Gläser dieses Werkes ist neuerdings das sogen. Tempax-Glas hinzuzufügen (Bekanntgabe von Schott & Gen. vom März 1914). Dieses Glas ist nächst dem berühmten Quarzglas das Glas höchster thermischer Widerstandskraft.

Als thermischer Widerstandskoeffizient F gilt hier das Maß derjenigen Temperaturdifferenzen, die der betreffende Körper bei plötz-

[1]) Vgl. diese Zeitschr. Bd. 30, 1913. p. 319.

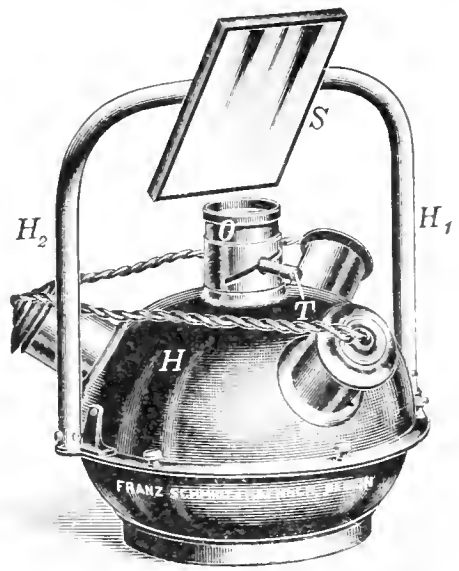
licher Abkühlung noch erträgt, ohne infolge der eintretenden Spannungsvorgänge seiner Oberflächen zu springen. Es ist abhängig vom Ausdehnungskoeffizient α, der Wärmeleitfähigkeit K, dem Elastizitätskoeffizienten E. der Zugfestigkeit p; dem spezifischen Gewicht s und der spezifischen Wärme c eines Glases, und ist definiert durch die Beziehung

$$F = \frac{p}{\alpha \cdot E} \sqrt{\frac{K}{s \cdot c}}.$$



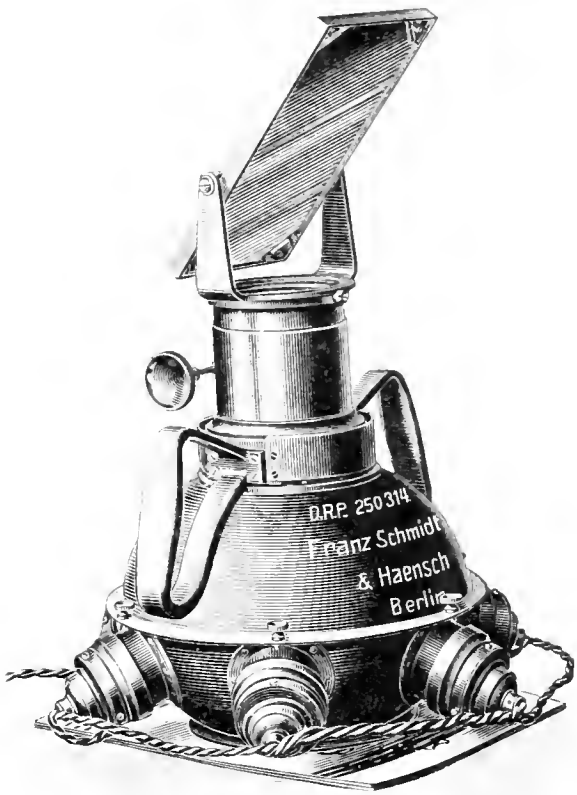
1.

Was nun diese Größen, einzeln betrachtet, anlangt, so waren für verschiedene Glassorten die einzelnen Variabeln in großen Intervallen verfügbar. So lag p zwischen 3·5 und 8·1 (schweres Bleisilikat und Kalizinksilikat), α lag in den Grenzen 0·000011 bis 0·000034 (Zinkboratglas und Alkalisilikat mit Zinkoxyd und Tonerde). K hatte einen weniger großen Spielraum (0·0011 bis 0·0023), C lag für mittlere Temperaturbereiche) zwischen 0·08 und 0·23, E zwischen 4800 und 7970, s zwischen 2·2 und 6·3. — Es darf demnach wohl als ein hervorragender Erfolg auf Grundlagen wertvoller Vorarbeiten



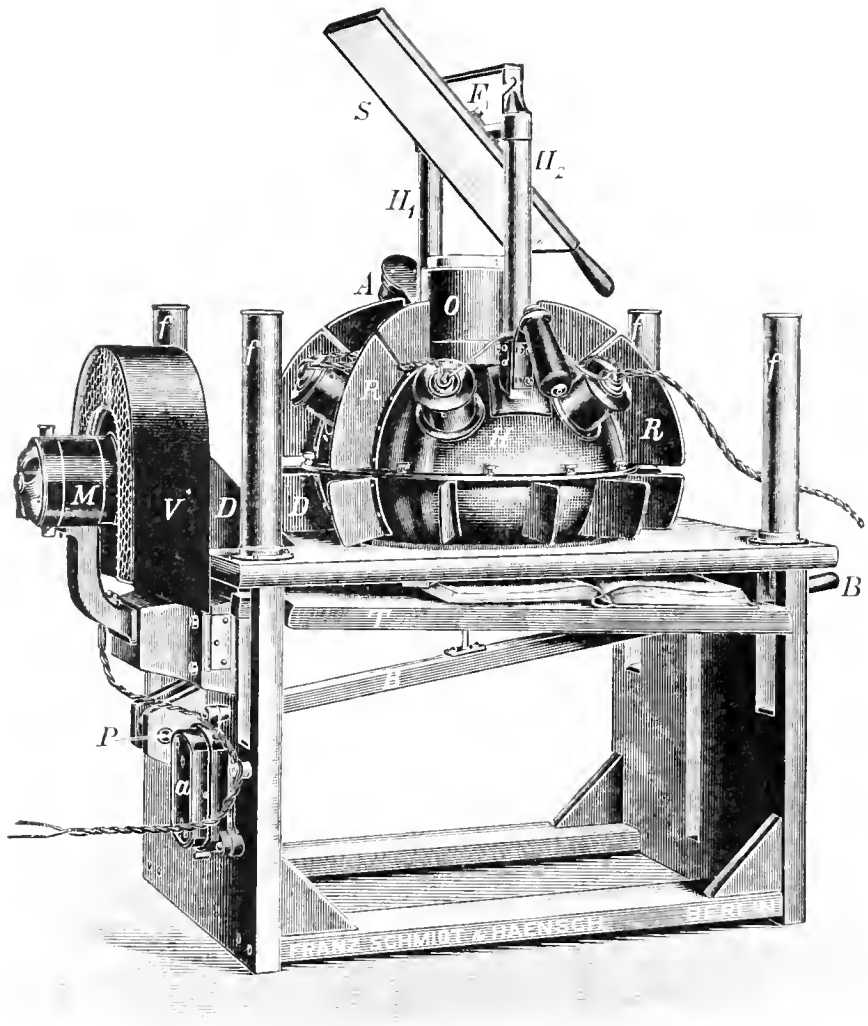
2.

bezeichnet werden, aus den vorhandenen Möglichkeiten dieses Optimum des Tempax-Glases zu erschmelzen. Das Anwendungsgebiet ist weit,



3.

und zwar nicht nur für technische Zwecke (Tafelglas, Farbenglas, Gerätglas), sondern besonders kommt es für optische Zwecke in Frage, so zu Scheinwerferspiegeln (Signalapparate, Episkope!) und Kollektoren und Kondensoren, die hohen Temperaturen und großen Temperaturschwankungen ausgesetzt sind (Kinematographie, Projektionsapparate).



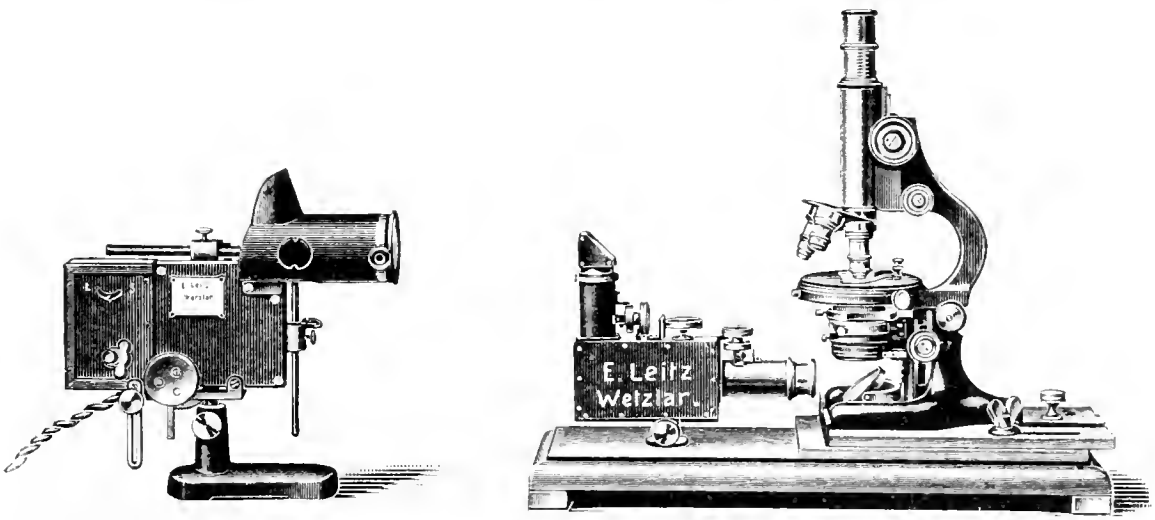
4.

Im übrigen haben wir, was instrumentelle Neuerungen anlangt, diesmal nicht so vielerlei Erscheinungen zu erwähnen, als in den letzten Berichten, dafür allerdings sind die einzelnen Neuerungen von größerer Tragweite und in ihren theoretischen Ableitungen recht interessant. Voran steht hier wohl die Wiederbelebung und technische Durchbildung der Ulbrichtschen Kugel, auf der eine ganze Reihe neuer Apparate basieren, mit welchen die Firma Schmidt & Haensch einige Probleme überaus glücklich gelöst hat.

Setzt man in eine innen diffus reflektierende Hohlkugel eine Lichtquelle, so findet eine derartige gehäufte und gleichmäßige Reflexion statt, daß die ganze Innenfläche gewissermaßen zu einer ganz gleichmäßig strahlenden, sekundären Lichtquelle wird. Für diese indirekte Beleuchtungsstärke Q gilt die einfache ULBRICHTsche Formel

$$Q = \frac{(1-a)\cdot J}{a\,r^2},$$

wobei a den an der Innenfläche absorbierten Teil des Lichtes, also $1-a$ den reflektierten Teil (die sogen. Albedo), r den Kugelradius, J die Helligkeit der primären Lichtquelle bedeuten.



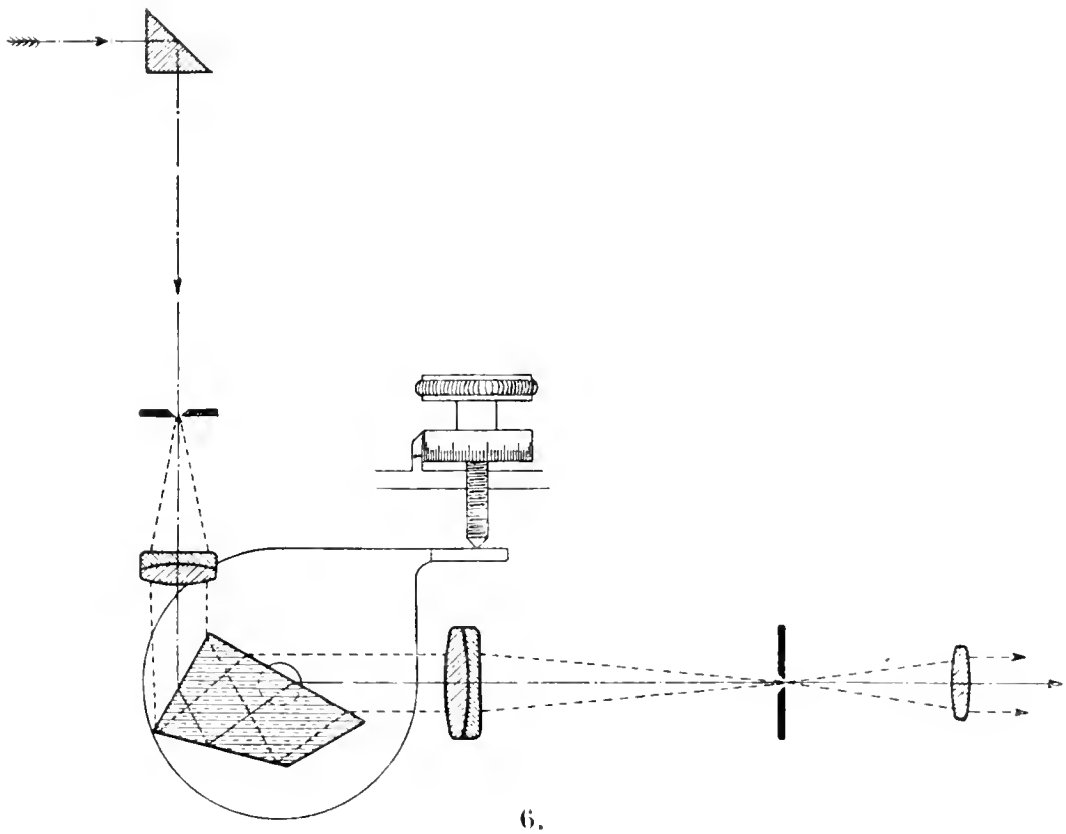
5.

Trifft man für die Abmessungen und den Anstrich der Hohlfläche die geeigneten Maße und Materialien, so läßt sich schon mit geringem Aufwande eine sehr beachtenswerte Helligkeit erzielen. So sind Q, wenn man 4 Metallfadenlampen von je 25 Kerzen nimmt, und eine Albedo von 0·8, die sich praktisch leicht erreichen läßt, voraussetzt, bei einem Kugelradius von 12 cm $Q = 28000$ Meterkerzen. Läßt man die Lampen mit Überlastung brennen, so sind 80000 Meterkerzen leicht herauszuholen. Nun bedingt die praktische Ausführung natürlich die Aussparung von Öffnungen für den Austritt des Lichtes (abbildende Systeme) und für die zu beleuchtenden Objekte. Es ist dies gleichbedeutend mit einer Verminderung der Albedo. Bei einem Kugelradius von 12·5 cm wirkt eine Aussparung von 6 cm Durchmesser erst wie eine Verminderung der Albedo um 0·04, wobei die Aussparung als schwarz berechnet ist. Was nun die Aus-

führungsformen anlangt, so kommt die Eleganz der Erfindung bei episkopischer Anordnung erst besonders zur Geltung.

Figur 1 zeigt den Strahlengang hierfür im Prinzip.

Figuren 2 und 3 einfache aufsetzbare Episkope. Das Innere der Hohllampe ist natürlich mit einem mattweißen Anstrich versehen (Barytweiß, Kreide, Magnesia oder dgl. in Wasserglas oder Zaponlack). Die Lampen sind Osramlampen in einer Spezialform, sie brennen mit etwa 19 Prozent Überbelastung. Beim Wechseln des



6.

Objekts ist ein Dunkelschalter in Tätigkeit zu setzen, der die Lampen auf Rotglut herunter bringt (durch Hintereinanderschaltung), so daß keine störenden Blendungen eintreten.

Der große Vorteil dieser Apparate besteht in der Befreiung vom Bogenlicht, so daß an jeder gewöhnlichen Hausleitung, gleichviel ob Wechsel- oder Gleichstrom, gearbeitet werden kann. Die größte Helligkeit, welche erreichbar ist, entspricht der einer 30 Amp.-Bogenlampe. Auch dieser Apparat (Fig. 4) mit elektrischer Ventilatorkühlung, ist durch Stecker an die gewöhnliche Hausleitung anschließbar. Die nutzbare Bildfläche hat hier 40 cm Durchmesser, dies erklärt die Dimensionen und Montierung des Apparates.

Der Kategorie der Lichtquellen- und Beleuchtungssysteme wäre hier noch der kleine lichtstarke Chromochromator der Leitz-Werke zuzuzählen, der von Dr. Jentzsch und Berek berechnet und entworfen, offenbar eine recht gediegene Bereicherung unserer physikalischen Hilfsapparate darstellt. Figuren 5 und 6 zeigen seine äußere und innere Anordnung. Auf die theoretischen Erwägungen, die der zu fordernde spektrale Reinheit und die zweckmäßige Dispersion, sowie die Breite des Eintritts- und Austrittsspaltes (beide übrigens bilateral verstellbar) festlegen, kann hier nicht eingegangen werden. Durch Drehung des Prismas vermittelst der oberen Schraube mit Trommelablesung (1 Teil $= 10\ \mu$) lassen sich die einzelnen Spektralabschnitte über den Spalt hin bewegen, so daß jeder Wellenlängenbereich einstellbar ist. Der Austrittsspalt wäre dann wohl auf die Kondensoriris (eine Hilfsblende im Präparat?) abzubilden, oder aber das Spektrum (Eintrittsspalt) auf der Kondensoriris und der Austrittsspalt im Präparat (Köhlersches Prinzip). Die Dispersion beträgt zwischen C und F etwa 2^{01}.

---

[1]) Die für dieses Heft geplante Fortsetzung kann wegen Einberufung des Verfassers zum Heeresdienst erst später erfolgen.

[Eingegangen am 10. Februar 1915.]

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Kgl. Forstakademie in Eberswalde, Moltkestraße 19.]

Das Geigersche Universal-Tisch-Stativ für Mikroprojektion, Mikro- und Makro-Photographie, sowie über einen neuen Präpariertisch.

Von

Prof. Dr. Max Wolff.

Hierzu vier Textabbildungen.

Es besteht heute an guten Spezialeinrichtungen für Mikroprojektion, sowie für mikro- und makrophotographische Arbeiten kein Mangel. Es wird aber gleich mir so mancher als einen empfindlichen Nachteil dieser Apparate empfunden haben, daß sie im allgemeinen wenig universell sind.

Und während heute kaum ein Biologe oder Mediziner einer guten Balgenkamera für makrophotographische Aufnahmen entraten kann, ist es doch nicht möglich, diese selbst ihrem Werte und ihrer an sich ganz zweifellosen Brauchbarkeit entsprechend auch für andere, besonders für mikrophotographische Zwecke so zu verwenden, wie es für wünschenswert schon allein im Hinblick auf die angelegten Kosten und wegen der oft sehr wichtigen Raumersparnis angesehen werden muß. Anderseits sind die für Mikroprojektion auf kürzere Entfernungen (zum Zeichnen oder Demonstrieren des Bildes) bestimmten Einrichtungen fast alle nur in beschränktem Maße auch für photographische Arbeiten gut verwendbar.

Man war bisher vielmehr gezwungen, für wissenschaftliche mikrophotographische Arbeiten einen besonderen mikrophotographischen Apparat und ebenso für Mikroprojektionen besondere Vorrichtungen anzuschaffen.

Ich habe nun gemeinschaftlich mit meinem verehrten Freunde, Herrn Gustav Geiger in München, einen Apparat zu konstruieren versucht,

der es ermöglicht jedes vorhandene Mikroskop zu Mikroprojektionen auf horizontale und vertikale Ebenen und selbst bei Gebrauch der stärksten Systeme, sei es zu Demonstrationszwecken, sei es zum Überzeichnen des projizierten Bildes, sowie jede vorhandene, für wissenschaftliche Arbeiten überhaupt brauchbare, das heißt stabil gebaute und mit genügend großem Balgenauszug versehene Kamera für mikrophotographische und für makrophotographische Arbeiten so auszunützen und zu verwenden, daß die betreffenden Arbeiten mit derselben Exaktheit und ähnlicher Bequemlichkeit erledigt werden können, als ob man spezielle Apparate benützte.

Eine universell verwendbare Apparatur hat selbstverständlich nicht die Aufgabe, darf auch (wenn man nicht kritiklos übertreibt) keineswegs mit dem Anspruch darauf angekündigt werden, die verschiedenen Spezialapparate ihres Leistungsbereiches überflüssig machen zu können.

Das Ideal bleibt immer, für jeden besonderen Zweck ein speziell dafür gebautes Arbeitsgerät zur Verfügung und in Gebrauchsbereitschaft stehen zu haben, allein schon wegen der Zeitersparnis, dann auch wegen der Möglichkeit, die Arbeit schematisch, eventuell durch ungeübte Arbeitskräfte erledigen zu lassen[1].

Aber wie oft ist dieses Ideal aus Mangel an Mitteln oder auch an Raum unerfüllbar, und wie oft wäre es wenigstens im Interesse fruchtbarer Arbeit besser gewesen, wenn die zur Verfügung stehenden Mittel für andere, wichtigere Dinge angelegt worden wären.

Wer, wie der Schreiber dieser Zeilen, lange Jahre in der nicht beneidenswerten Lage gewesen ist, an eine Arbeitsstätte gebunden zu sein, deren Leitung in den Händen eines Nichtfachgenossen und Nichtfachmannes lag, wird nachempfinden können, was es bedeutet, von außersachlichen Schwierigkeiten durch universelle eigene Instrumente unabhängig gemacht worden zu sein.

Aber nicht nur an in ähnlicher Lage Befindliche denke ich bei der Niederschrift näherer Mitteilungen über den in Rede stehenden Apparat, sondern auch an alle die, welche unter Verhältnissen arbeiten, wo äußerste Sparsamkeit mit den Geldmitteln sachlich geboten ist, oder wo die Beschränktheit des Raumes den Wunsch nach einem Universalapparat entstehen läßt.

---

[1]) Was aber gerade auf photographischem Gebiete lange nicht in dem Maße möglich ist, wie manche Autoren meinen, — wie ihre Veröffentlichungen beweisen!

Unser Universal-Tisch-Stativ bietet aber nicht nur den Vorteil, eine Anzahl mehr oder weniger umfangreicher Apparate in einen einzigen zu vereinen und mit sehr wenigen und einfachen Griffen sich für die verschiedenen in Betracht kommenden Zwecke aufbauen zu lassen, sondern es läßt sich auch äußerst kompendös verpacken resp. verstauen, was für Mitnahme eines derartigen wichtigen Instrumentes auf Forschungsreisen zu Lande oder zur See, auf Stationsdampfern und kleineren Fahrzeugen von ausschlaggebender Bedeutung sein wird.

In dieser Beziehung füllt das Universal-Tisch-Stativ meiner Überzeugung nach eine Lücke im Instrumentar des photographierenden Biologen und Mediziners aus.

Meinem verehrten Freunde, Herrn Gustav Geiger, München, bin ich zu großem Danke für das selbstlose, opferwillige Eingehen auf meine Vorschläge verpflichtet, dem ich auch an dieser Stelle Ausdruck geben möchte.

Nach über zweijähriger Erprobung ist aus mancherlei mühsamen und kostspieligen Vorkonstruktionen und Versuchen das Instrument in einer Vollendung hervorgegangen, die theoretisch und praktisch nichts mehr zu wünschen übrig läßt.

I. Allgemeine Beschreibung des Geigerschen Universal-Tisch-Stativs und seiner Nebenapparate.

Die Einrichtung des Universal-Tisch-Stativs ist aus unseren Figuren 1 bis 3 ohne weiteres deutlich zu ersehen. Von den möglichen und praktisch wichtigen Zusammenstellungen sind aus Gründen der Raumersparnis hier nur 3 Abbildungen gebracht worden.

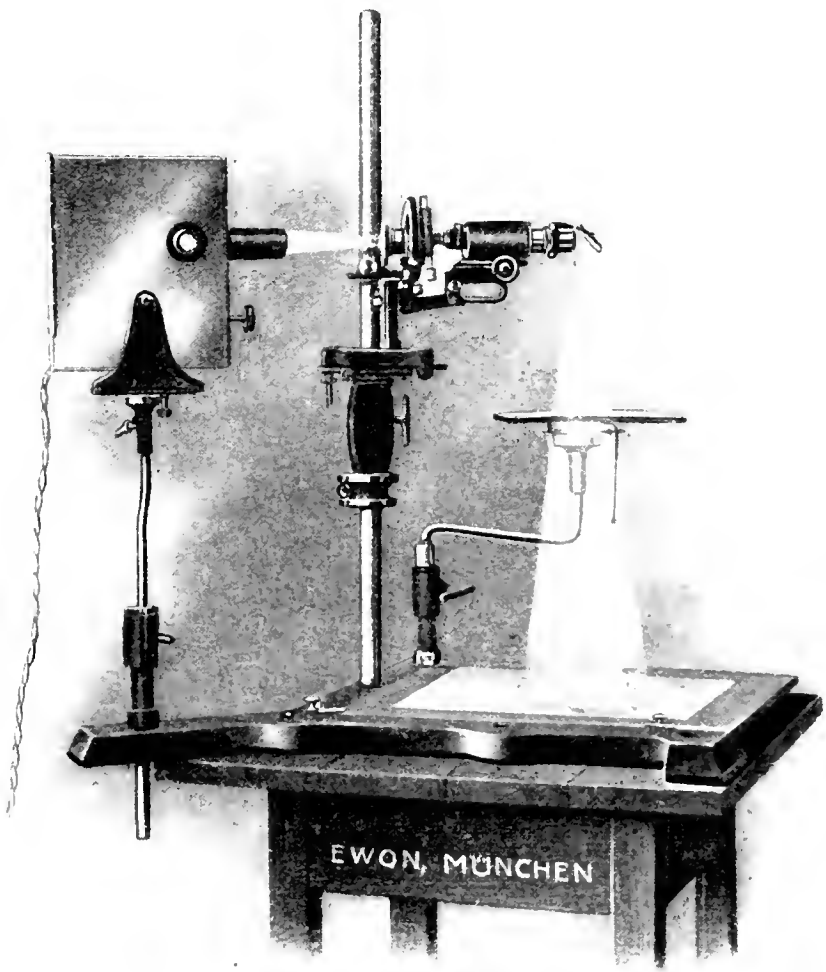
Speziell die Verwendung für klinische und forensische Zwecke werde ich an anderer Stelle näher behandeln.

Ein schwerer, eiserner Y-förmiger Fuß trägt eine in sechs verschiedene Durchbohrungen einschraubbare, kräftige, eiserne, mit Zentimeterteilung (Teilung in halbe Zentimeter) versehene Säule. Eine gegen die Innenseite des Fußes eingearbeitete Nut nimmt die auf den Figuren sichtbare, gegen Verwerfung genügend versicherte Holzplatte auf, die nötigenfalls durch Lösen von drei Knebeln leicht entfernt werden kann.

Diese Holzplatte ist in erster Linie dazu bestimmt, zur Anheftung von Zeichenpapier oder von Tafeln und sonstigen, in natürlicher Größe

oder in geringer Verkleinerung mit vertikaler Kamera zu photographierenden Objekten (vgl. Figg. 2 u. 3) zu dienen.

Auf der Säule selbst gleitet eine kräftig gearbeitete, mittels einer Klinke in beliebiger Stellung festklemmbare Konsole (neuerdings ohne besondere, schräge Streben) und unter ihr ein ebenfalls durch Klinke festklemmbarer Stellring (vgl. Fig. 3).



1.

Dieser Stellring ermöglicht es, die Konsole in jeder Höhenstellung zur Seite zu schwingen, nachdem man die Konsolenklemmung gelöst hat.

Will man mit horizontal umgelegtem, oder mit horizontal stehendem Mikroskop auf kurze Entfernung projizieren, so nimmt die Konsole das Mikroskop auf, wie das Figur 1 zeigt. Für das Arbeiten mit umgelegtem Instrument ist eine Vorrichtung zum Festklemmen desselben auf der Konsole vorgesehen.

Als Lichtquelle bei Mikroprojektionen der auf unserer Abbildung gezeigten Art benutze ich die in dieser Zeitschrift, Bd. **28**, p. 300 bis 321, von mir beschriebenen Geigerschen $3^1/_2$ Amp.-Bogenlampen, und zwar im zugehörigen Gehäuse (Ewon-Miniaturscheinwerfer), das entweder an dem auf Rollen fahrbaren und in der Höhe verstellbaren Stative des Scheinwerfers verbleibt, oder durch Lösen der Knebelschraube (am Fußstück des Gehäuses) hiervon abgenommen und auf eine Z-förmig gebogene eiserne Stange gesetzt wird, deren Gestalt und Befestigung am Universal-Tisch-Stativ aus Figur 1 bis 3 ohne weiteres ersichtlich sein dürfte.

Diese Z-Stange wird ebenso, wie eine zweite, dem Universal-Tisch-Stativ beigegebene eiserne Stange, die bestimmt ist, eine allseitig verstellbare Holzplatte zu tragen (auf Fig. 1 abgebildet), in einem kurzen, eisernen Stutzen hoch und tief verstellbar und zur Seite schwingbar befestigt. Dieser Stutzen wird in eines der sechs oben erwähnten Gewindelöcher des Y-förmigen Fußes je nach Bedarf eingeschraubt.

Wird das Universal-Tisch-Stativ auf dem ebenfalls von der Firma Gustav Geiger gebauten, auf unseren Figuren abgebildeten Spezialtisch aufgestellt, dessen Tischplatte mit Durchbohrungen versehen ist, die denen des Y-Fußes entsprechen (vgl. Fig. 1), so ist der Verwendung der sehr praktischen Z-Stangen keine Grenze gezogen (vgl. auch Fig. 5).

Verwendet man dagegen einen beliebigen Laboratoriumstisch, so stelle man den Y-Fuß so auf, daß der kurze Arm des Y ein Stück über den Tisch hervorsteht, wie die Figuren es zeigen, damit für eine Stellung der Z-Stange wenigstens nach unten Raum geschaffen wird. Für andere Stellungen oder für die zweite Z-Stange muß man entweder Löcher bohren, oder sie in umgekehrter Lage anbringen und etwaige Nebenapparate daran mit Adapterstücken befestigen.

Für alle photographischen Arbeiten wird an der Konsole ein dem Oberteil des Geigerschen Kameraneigers (großes Modell[1]) analog ausgebildeter, in jeder beliebigen Neigung fixierbarer Kamera-

[1]) Ich habe dieses Modell, das noch sehr große Reisekameras (bis 18×24) bequem und vibrationsfrei trägt, ebenso wie den für Kameras bis 9×12 bestimmten kleinen Geigerschen Kameraneiger (vgl. Figg. 7 u. 8 in dieser Mitteilung), der ebenfalls am Universal-Tisch-Stativ Verwendung findet, in der „Photo-Woche", 2. Jahrg., p. 6—8, und in der „Photographischen Korrespondenz", August 1912, No. 623, eingehend beschrieben.

träger eingesetzt, der ohne weiteres, nach Einführen des Stellstabes in den Konsolenschieberschlitz, mittels der Scharnierachse in der aus Figuren 2 und 3 deutlich zu ersehenden Weise befestigt werden kann.

Die beiden erwähnten Kameraneiger zeichnen sich durch große Stabilität aus und sind ganz flach zusammenlegbar (vgl. Fig. 8). Auf Wunsch kann zu dem Kameraträger, der für die Konsole des Universal-Tisch-Stativs bestimmt ist, ein auf jedem beliebigen photographischen Stativ[1] in der gewöhnlichen Weise zu befestigendes Unterteil nachgeliefert werden, das sich mittels der durchsteckbaren Scharnierachse mit dem Kameraträger leicht zu einem kompletten großen Geigerschen Neiger[2] vereinigen läßt.

Der kleine (ohne weiteres universell brauchbare) Kameraträger kann mittels eines Kopfes, auf den er geschraubt wird, in mannigfacher Weise am Universal-Tisch-Stativ Verwendung finden[3], wie unsere Figuren 1 und 2 andeuten. (Weitere Figuren sind der Raumersparnis wegen zurückgestellt worden.)

Das erwähnte, in jeder Stellung festklemmbare Kopfstück dient auch dazu, um die Scheinwerfer an der Z-Stange mittels einer eisernen Platte, auf der sie verschoben werden können, fast über die Mitte der hölzernen, in den Nuten des Y-Fußes liegenden Grundplatte zu bringen, wie Figur 3 es zeigt. Der lafettenartige Fuß des Lampengehäuses kann aber auch direkt auf das Kopfstück aufgeschraubt werden (vgl. Fig. 1)[4]. In Figur 2 ist das Kopfstück für sich, also außer Gebrauch abgebildet. Besondere, für sich festklemmbare Stellringe gestatten, die Z-Stange in beliebiger Höhenstellung zu schwenken (auf Fig. 1 ist an der Stange rechts ein solcher Ring abgebildet). Außerdem können auf der Konsole Kühl-

[1]) Gleichviel, ob diese Stative einen festen Kopf haben, oder ob dieser (Stativdreieck) abnehmbar ist.

[2]) Dagegen läßt sich das Oberteil des für gewöhnliche photographische Arbeiten bestimmten großen Geigerschen Neigers nicht ohne weiteres von seinem Unterteil trennen und am Universal-Tisch-Stativ anbringen.

[3]) Ebenso kann natürlich eventuell ein vorhandener kompletter großer Neiger angebracht werden.

[4]) Sind die Scheinwerfer in Gestalt der von mir in Bd. 28 dieser Zeitschrift, p. 300—321, beschriebenen Miniaturscheinwerfer vorhanden, so ist der Gehäusefuß auf einem mit Griff versehenen Kopf mittels gewöhnlicher Stativschraube befestigt. Dieser Kopf des Scheinwerferstativs paßt ohne weiteres auch auf die Z-Stangen des Universal-Tisch-Stativs. Nur die $2^1/_2$ Amp.-Lampe (vgl. Bd. 29, p. 328—335 dieser Zeitschrift) kann lediglich mittels eines besonderen Kopfes (schmäler als der oben beschriebene) an dem Universal-Tisch-Stativ Verwendung finden.

küvetten (auf den Figuren weggelassen) befestigt werden. Die eiserne mit Teilung versehene Hauptsäule ist 100 cm hoch und die Maße der Holzplatte betragen 55·5 × 70 cm, der Y-Fuß wird von einem 85 × 85 cm-Quadrate umschrieben, und die Höhe (Dicke) seiner Arme beträgt 5 cm. Daher beansprucht der in weniger als 5 Minuten in seine Teile zerlegte (und ebenso schnell wieder aufgebaute) Apparat zur Unterbringung bei längerem Nichtgebrauch oder zum Zwecke des Transportes nur einen lichten Raum von etwa 100 × 85 × 10 cm, wozu noch für die Konsole 35 × 15 × 15 cm kommen würden.

Es dürfte also die Behauptung berechtigt sein, daß er im Verhältnis zu seiner vielseitigen Verwendbarkeit und seiner massigen, stabilen Bauart ungewöhnlich einfach zerlegbar und kompendiös ist.

Das Auseinander- und Zusammenschrauben wird mit einem Griffstab (nicht mit besonderen Schraubenschlüsseln) vorgenommen, der in Löcher[1] paßt, die durch den basalen Teil der Säule und der Z-Stangen-Halter gebohrt sind. Auf diese Weise wird erreicht, daß die Gewindeteile sehr fest ohne besondere Anstrengung angezogen werden können und sich entsprechend mühelos wieder lösen lassen.

Meines Wissens ist hier zum ersten Male die Säule (wie die Z-Stangen-Halter) selbst als Schraube ausgebildet, während man früher die vertikale Schiene oder Säule durch Zwischenstücke, und zwar meist durch solche aus weicherem Metall (Messing) mit der Grundplatte zu verbinden pflegte.

Der damit erreichte Vorteil dürfte ohne weiteres einleuchten und ich kann nach mehrjährigem Gebrauch versichern, daß er in dem erwarteten Maße sich geltend gemacht hat: das eine, außerordentlich starke Gewinde ist gar keiner Abnutzung unterworfen. Die Säulen stehen daher heute noch ebenso fest im Fußstück des Apparates, wie am ersten Tage.

Bei einem sehr verbreiteten mikrophotographischen Spezialapparate, der an sich ein Muster guter feinmechanischer Arbeit war und den ich jahrelang benützte, konnte man leider das Gegenteil feststellen. Es wackelte hier die Stahlsäule, an der die Kamera hoch und tief verstellt werden und horizontal, wie vertikal orientiert werden konnte, ganz bedenklich, weil die schwachen Schrauben, die jene Säule in einer starken Messingmanschette hielten (die selbst auf

[1]) An der Hauptsäule auf den Abbildungen nicht zu sehen, dagegen am Z-Stangen-Halter unten wahrzunehmen.

massivem, in schwerer Eisenplatte geführten eisernen Schieber verschraubt war), sich unter starkem Verschleiß des Gewindes gelockert hatten.

Derartige Mängel können bei einer Befestigungsart, wie sie für das Universal-Tisch-Stativ gewählt worden ist, niemals auftreten. Man kann also wirklich von einer unverwüstlichen Dauerhaftigkeit des Instrumentes sprechen.

Mit einigen Worten möchte ich auf den Gebrauch des einzigen Teiles des ganzen Apparates eingehen, bei dem auf mehr zu achten ist während des Auf- und Abmontierens, als bloß auf die richtige Einführung in das Muttergewinde, — ich meine das Aufsetzen des neigbaren Kameraträgers auf die Konsole. Ich nehme an, daß der Kameraträger mit durchgesteckter und verschraubter Scharnierachse und am Stellstab durch die Kugelschraube desselben verwahrten Schieber aufgehoben wird, — Verluste einzelner Teile werden so am einfachsten vermieden. Um den Neiger (resp. Kameraträger) an der Konsole des Universal-Tisch-Stativs anzubringen, entferne man zunächst die eine der beiden Kopfschrauben der Scharnierachse und die Kugel, die am Ende des Stellstabes angeschraubt ist. Jetzt schiebe man den Schieber des Neigers so, daß der rechtwinkelige Ausschnitt links, und zwar dem die Achsenlager tragenden Konsolenende (links und rechts von hier aus geltend) zugewendet liegt, auf das Schlitzstück der Konsole. Die Schieberschraube ist selbstverständlich genügend zu lüften, damit die Schlitze des Schiebers und der Konsole, durch die der Stellstab hindurchgesteckt werden soll, genau übereinanderliegen. Nunmehr ist zuerst der Stellstab durch die Schieberschlitze und den Konsolenschlitz zu führen. Es ist darauf zu achten, daß der Stab auch wirklich den unteren Schieberschlitz passiert hat, nicht etwa aber daneben vorbeigeführt wurde. Darauf ist die Kugel wieder am Ende des Stellstabes anzuschrauben, so daß dieser nun nicht mehr zurückgleiten kann. Erst jetzt wird die Scharnierachse durch die Lagerstücke des Kameraträgers und der Konsole geführt und durch Aufschrauben der vorhin abgenommenen Kopfschraube befestigt. Der Kameraträger ist nunmehr gebrauchsfertig. Die Kamera kann mittels einer, das normale Stativgewinde tragenden Schraube absolut erschütterungsfrei an ihm befestigt werden.

Man weiche nicht von der hier angegebenen Reihenfolge der Manipulationen ab, da sonst die Einführung des Stellstabes etwas unbequem ist.

Beim Abmontieren des Kameraträgers (z. B. wenn das Mikroskop auf der Konsole Aufstellung finden soll) wird umgekehrt verfahren, d. h. zuerst die Neigerachse entfernt und dann erst, nach Abschrauben der Kugel, der Stellstab aus den Schlitzen gezogen und mit ihm die Neigerplatte ganz abgehoben.

Die hier gegebene Gebrauchsanweisung ist wohl an sich schon genügend verständlich.

II. Verwendung des Universal-Tisch-Stativs für Mikroprojektion und Mikrophotographie.

Die Verwendung des Universal-Tisch-Stativs für Mikroprojektion, und zwar zu Demonstrationszwecken, oder zum Nachzeichnen des projizierten Bildes zeigt Figur 1. Hier ist lediglich der Raumersparnis halber die Projektion auf eine ganz kurze Entfernung dargestellt worden.

Die Lichtstärke der von mir verwendeten Ewox-Miniaturscheinwerfer ist eine so erhebliche, daß ich noch auf $1^1/_2$ m Entfernung bei Tage in meinem Bromberger Laboratorium[1], das ich nur durch das Herunterlassen dünner, durchscheinender Vorhänge gedämpft hatte, mit mittelstarken und starken Trockensystemen genügend helle Projektionen auf gewöhnlichen Leinwandschirmen erhalten konnte.

Ich habe mich begnügt, die Verwendung des Apparates für zwei wichtige Aufgaben der Mikroprojektion abzubilden, nämlich für Demonstrationszwecke vor einem kleinen Hörerkreise und zum Nachzeichnen, aber beide Male mit horizontal umgelegtem Mikroskope.

Der Spiegel des Mikroskopes steht hierbei außer Gebrauch.

Soll mit aufrechtstehendem Mikroskope projiziert werden (und nicht etwa das Bild an der Decke erscheinen, wo es unbequem zu betrachten ist), so muß natürlich irgendein Spiegel oder Prisma Verwendung finden, genau wie beim Zeichnen auf horizontaler Fläche.

Über die Möglichkeit, zu diesem Zwecke direkt Zeichenprismen zu verwenden, habe ich mich in dieser Zeitschrift, Bd. **31**, näher

[1]) Dies war ein im 3. Stockwerk des Institutes belegener, eigentlich als photographisches Atelier gedachter (aber mit seinen beiden Glaswänden nach Nordost und Südost gelegener, darum für die eigentlichen Zwecke eines photographischen Ateliers ganz verfehlt gewählter) übermäßig heller Raum.

ausgelassen und brauche also wohl nicht noch einmal darauf einzugehen.

Mikroprojektion mit aufrechtstehendem Mikroskop ist empfehlenswert, wenn Projektion lebender Objekte (z. B. von Mikroorganismen, die in hängenden Tropfen studiert werden sollen) oder anderer feuchter Präparate in Frage kommt, ferner bei Projektion frischer Balsampräparate, die durch die Lage auf dem Objekttisch eines horizontal umgelegten Mikroskopes beschädigt werden könnten.

Das Mikroskop wird für Projektionsarbeiten in der aus Figur 1 ersichtlichen Weise auf die Konsole des Universal-Tisch-Stativs gestellt[1], von der der Kameraträger abgenommen worden ist.

Der Ewon-Scheinwerfer wird so aufgestellt, daß seine Tubusöffnung (nach Entfernung des die große Sammellinse tragenden Trichterstückes) etwa 5 bis 10 cm vom Mittelpunkt des Mikroskopspiegels entfernt steht, die vordere Wand des Scheinwerfergehäuses also 15 bis 25 cm, — je nach Apertur des zur Verwendung gelangenden Mikroskopobjektives und -kondensors.

Bei schwachen Vergrößerungen bedient man sich des Konkavspiegels und senkt den Kondensor des Mikroskopes. Bei starken (Zeiss D, E, oder $^1/_{12}$ Immersion z. B.) benutzt man die plane Seite des Mikroskopspiegels und hat den Kondensor des Mikroskopes beträchtlich zu heben.

Es sind natürlich auch andere Anordnungen von Lichtquelle, Mikroskop und Projektionsfläche möglich und mit dem Universal-Tisch-Stativ leicht aufzustellen. Man wird nur stets aus praktischen Gründen den großen Vorteil, den das Universal-Tisch-Stativ gegenüber andern, der Mikroprojektion und -photographie dienenden Apparaten bietet, auszunützen bemüht sein, daß bei allen Arbeiten die Einstell- und Regulierungsmechanismen des Stativs selbst wie die des Mikroskopes und der Lichtquelle, sehr nahe auf einem bequem zu beherrschenden Raum zusammengedrängt werden können.

Wird der kleine Projektionsschirm benutzt (sollen die Präparate also nur einem kleinen Auditorium von etwa 6 bis 8 Personen demonstriert werden) und soll der Lichtkreis noch ganz auf den Schirm fallen — bei Verwendung von Systemen, die Zeiss A, Leitz 3 bis Zeiss E, Leitz 7 mit schwachen Okularen entsprechen —, so braucht

---

[1]) Wenn es in horizontal umgelegter Stellung Verwendung findet wird es an der Konsole mit einer dem Apparat beigegebenen Klammer festgeschraubt.

die Entfernung vom Umkehr-Prisma oder -Spiegel zur Projektionsfläche nicht viel mehr als $^1/_2$ m zu betragen.

Man kann dann bei Verwendung einer $3^1/_2$ Amp.-Ewon-Lampe in völlig unverdunkelten Laboratorium oder Hörsaal, wenn nur der Projektionsschirm nicht direkt dem Fenster zugekehrt ist, auch noch starke Trockensysteme benutzen und erhält Bilder von völlig ausreichender Helligkeit.

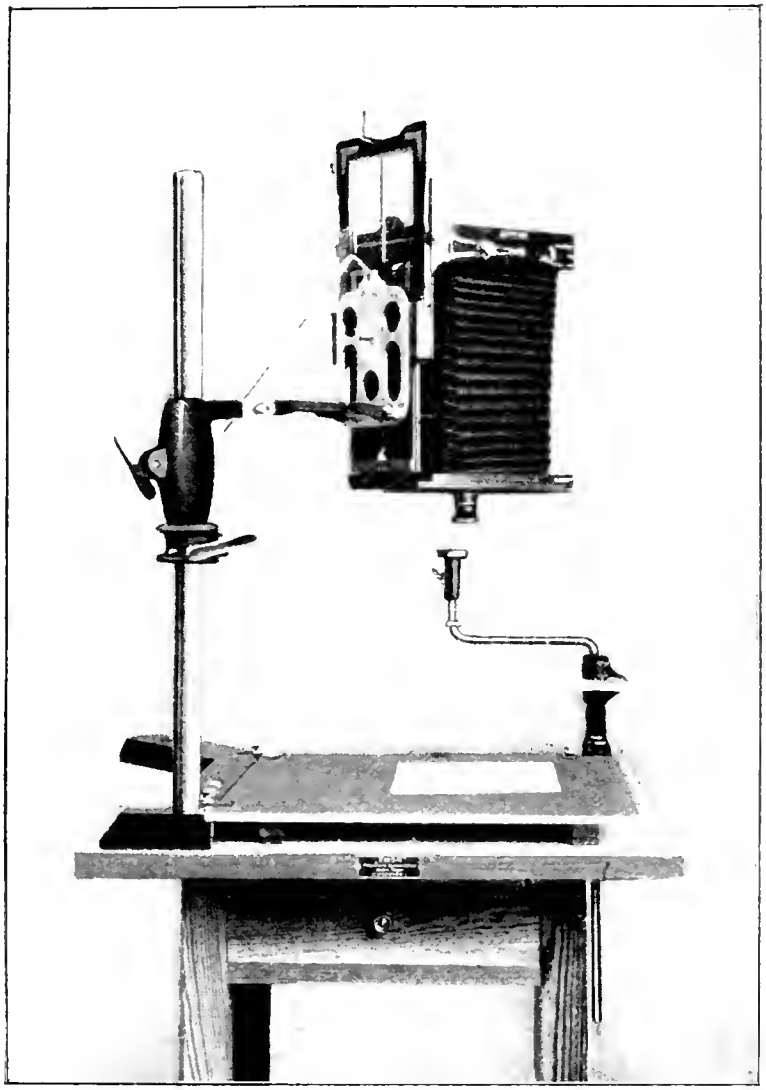
Zur Projektion embryologischer Schnittserien ist die Helligkeit der Bilder eigentlich unter allen Umständen genügend, wenn die hierbei gewöhnlich gebrauchten Vergrößerungen in Frage kommen.

Sollen natürlich subtile, blaß oder gar nicht gefärbte Strukturen (feinere Kernstrukturen, intrazelluläre Neurofibrillen, Schalenstrukturen von Diatomeen und ähnliche Objekte) gezeigt werden, so ist eine mäßige Verdunkelung des Raumes wünschenswert und die Verwendung der Zeissschen Projektionsschirme sehr zu empfehlen.

Größere Lichtkreise wird man gewöhnlich auf dem Grundbrett des Universal-Tisch-Stativs, das eine Stativmutter besitzt und daher, wie das kleine Projektionsbrett mittels des kleinen Ewon-Neigers und des Tellerstückes auf der doppelt geknieten (Z)-Stange befestigt werden kann, entwerfen, nachdem man vorher mit Reißnägeln einen entsprechend großen weißen Karton darauf befestigt hat. Die Z-Stange wird dann so zu drehen sein, daß die Entfernung der Projektionsfläche vom Prisma des Mikroskopes eine möglichst große wird. Das abgekniekte Stück ist 22 cm lang. Maximum und Minimum der Entfernung der Projektionsfläche können also um 44 cm differieren, so daß am Stativ selbst auf etwa 1 m Entfernung projiziert werden kann. Soll auf größere Entfernungen projiziert werden, so wird die Z-Stange einfach zur Seite geschwenkt. Wenn irgendein photographisches oder ein Scheinwerferstativ mit Neigevorrichtung zur Verfügung steht, kann auch dann die Grundplatte des Universal-Tisch-Stativs sehr gut als Trägerin des Projektionsschirmes Verwendung finden. Man ist auf diese Weise unabhängig von der Entfernung und Beschaffenheit der Wände des Projektionsraumes. Auch hier sind wieder die Zeissschen außerordentlich wenig Licht verschluckenden Schirme warm zu empfehlen, wenn möglichst geringe Verdunkelung des Raumes erwünscht ist.

Die Aufstellung des Universal-Tisch-Stativs für Mikrophotographie braucht nicht näher erörtert und abgebildet zu werden, nachdem ich in dieser Zeitschrift Bd. **31**, p. 202 die Verwendung von Spiegelreflexkameras für mikrophotographische Zwecke besprochen und dabei das für solche Arbeiten mit einer Spiegelreflexkamera ausgerüstete

Universal-Tisch-Stativ schon einmal (l. c. Fig. 2) abgebildet habe. Der Leser, dem meine Abhandlung nicht zugänglich sein sollte, kann sich überdies ohne weiteres aus den Figuren (besonders aus Fig. 2) der vorliegenden Mitteilung ein Bild machen, wie das Stativ für mikrophotographische Arbeiten aufzubauen ist.

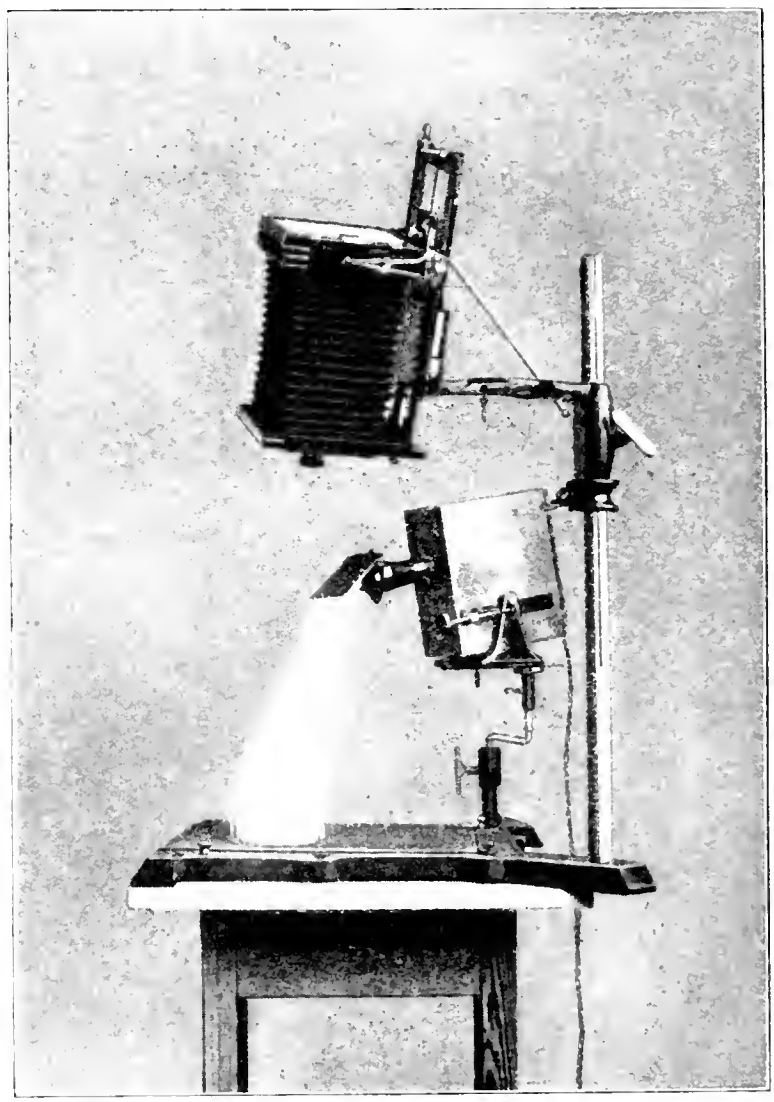


2.

Daß man nur die Konsolenklemmung zu lösen, die Konsole etwas anzuheben und mit der ganzen Kamera zur Seite zu schwenken hat, um freien Zugang zum Okular zu erhalten, und daß der in seiner Lage verbleibende Stellring dafür sorgt, daß die Kamera wieder genau in die alte Stellung kommt, bedarf wohl ebenfalls lediglich kurzer Erwähnung.

III. Verwendung des Universal-Tisch-Stativs für Lupenphotographie.

Es dürfte auch kaum näherer Ausführungen bedürfen, um die Verwendung des Universal-Tisch-Stativs für die photographische Wiedergabe von Objekten in relativ schwacher Vergrößerung, also unter



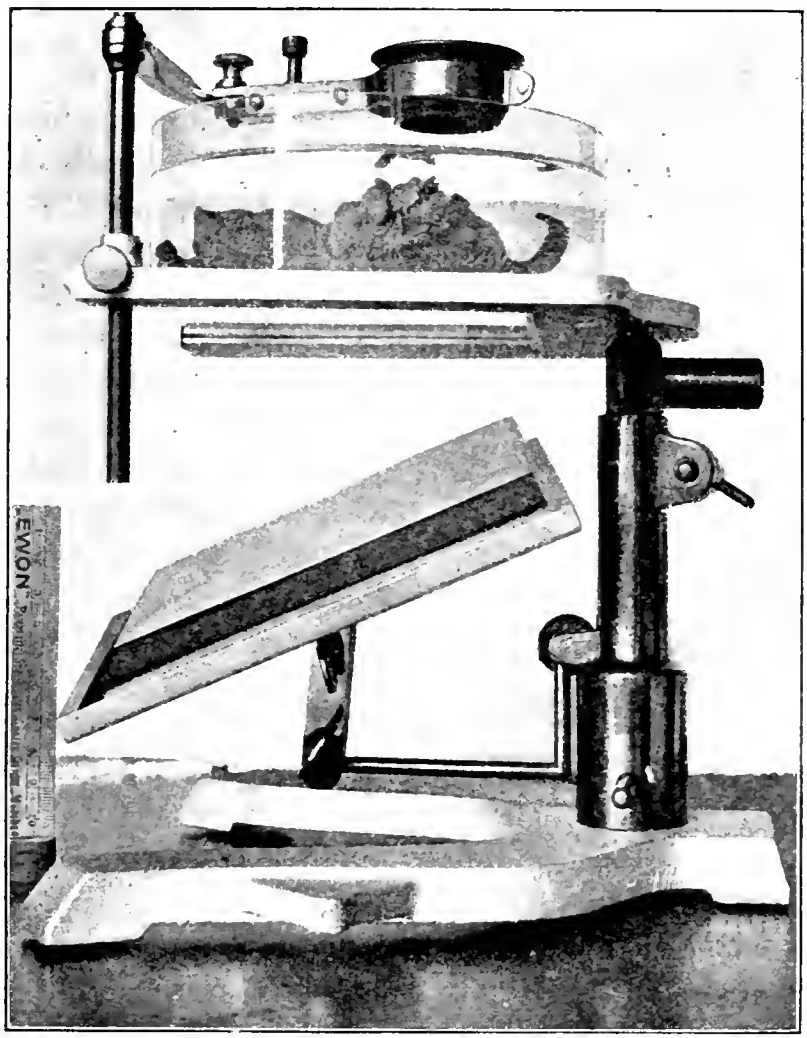
3.

Verwendung von kurzbrennweitigen photographischen Objektiven, die eine befriedigende Korrektion für solche Arbeiten aufweisen (Planare, Leukare, Summare), zu erläutern und der Hinweis auf Figur 2[1] und 3

[1]) Eine speziell die Anordnung für Lupenphotographie zeigende Figur wurde von mir, wie eine Anzahl anderer Figuren, der Raumersparnis wegen zurückgezogen.

und (falls relativ stärkere „Lupenvergrößerung“ in Frage kommt) auf die Mitverwendung eines geeigneten Präpariertisches genügen.

Das weiter unten beschriebene neue Präparierstativ eignet sich wegen seiner Abmessungen besonders gut dazu, solche Aufnahmen „schattenfrei“ (die Technik solcher Aufnahmen kann ich wohl als bekannt voraussetzen) auszuführen.



4.

IV. Ein neuer Präpariertisch.

Im Gegensatz zu allen bisher gebauten Präparierstativen weist das neue Geigersche Präparierstativ (vgl. Fig. 4) eine Tischhöhe (= Höhe der Glasplatte über der Tischplatte des Arbeitsplatzes) auf, bei deren Wahl lediglich das praktische Bedürfnis, nicht das Vorbild der Tischhöhe, die man heute unseren größeren Mikroskopen gewöhnlich zu geben pflegt, ausschlaggebend gewesen ist.

Das Geigersche Präparierstativ ist gebaut worden, um sehr große Objekte (oder in sehr großen Schaden befindliche) noch untersuchen, präparieren und eventuell unter Vermeidung von Schlagschatten photographieren zu können.

Der die Aufnahme beliebiger Lupen gestattende Lupenarm wurde gewählt, weil die einfache Lupe auf der Reise (für die das Stativ besonders mit berechnet und deshalb völlig zerlegbar eingerichtet wurde) entschieden praktischer ist, als größere und empfindlichere binokulare Instrumente[1].

Für die vorstehend angegebenen Zwecke ist die gewöhnliche Höhe der zum Präparieren dienenden Tische, mögen sie nun kleinere oder größere Tischflächen besitzen, ungenügend[2]. Denn sie gestatten nicht die Anbringung von allseitig und ausgiebig beweglichen und genügend großen Spiegeln und veranlassen, bei der Verwendung einfacher Lupen, eine sehr unangenehme gebückte Kopfhaltung.

Wir wählten deshalb für die Tischhöhe ein Minimum von 18 cm. Nach Lösen der in Figur 4 sichtbaren Klemmschraube kann die Tischsäule noch um 2 cm verlängert, also auf 20 cm gebracht werden. Es können daher noch sehr starke Lupen (die eventuell an einem besonderen, vor dem Präpariertisch aufzustellenden, mit Zahn und Trieb versehenen Stativ zu befestigen sind) benutzt werden, ohne daß man eine bei längerem Arbeiten ermüdende und unbequeme Körperhaltung einzunehmen brauchte. Der mit doppeltem Kugelgelenk versehene allseitig ausgiebig bewegliche rechteckige Spiegel hat eine Größe von 13×16 cm und kann in einer Nut, mit der drei Seiten der Fassung versehen sind, weiße und schwarze Zelluloidplatten von gleicher Größe aufnehmen. (Vgl. Fig. 4; hier ist jede nur ein Stück zur Seite gezogen!) Außerdem kann er um den Betrag von 3 cm gehoben und gesenkt werden. Die Spiegelglasplatte des Tisches ist 12×12 cm groß. Die Maße von Spiegel (respektiv der von unten her

[1]) Die ausgezeichneten und äußerst kompendiösen Zeissschen Fernrohrlupen lassen sich selbstverständlich ebenfalls in den Lupenarm des neuen Stativs einsetzen. Ich benütze sie so an ihm mit sehr gutem Resultate seit etwa Jahresfrist.

[2]) Die Firma Carl Zeiss liefert jetzt einen sehr sorgfältig gearbeiteten Präpariertisch von gewöhnlicher Höhe mit 12 cm im Durchmesser großer Spiegelglasplatte. Hier ist die geringe Höhe (10 cm) aber begründet, weil der Tisch für das große binokulare Präpariermikroskop bestimmt ist. Allerdings wäre mir manchmal an diesem Tisch eine Spiegelbewegung, analog der an dem Geigerschen Präpariertisch, sehr erwünscht. Die Neigung des Spiegels ist meist viel zu steil für den Lichteinfall.

diffuses Licht entsendenden weißen Platte) und Tischöffnung (Spiegelglasplatte) gestatten noch sehr große Objekte (größere Libellen z. B.) selbst bei schwacher Vergrößerung schattenfrei zu photographieren.

Sehr wesentlich ist der Doppelzapfen, der es gestattet, dem Tisch sowohl die (gewöhnliche) horizontale, als auch eine vertikale Stellung zu erteilen. Da in drei auf jeder Tischseite angebrachten Bohrungen kräftige Objektträgerklemmen befestigt werden können, eignet sich der Tisch in dieser Stellung für alle möglichen Zwecke, von der Durchmusterung photographischer Negative angefangen bis zur Untersuchung und Beobachtung von Objekten, die sich in küvettenartigen Mikroaquarien befinden. Daß der kräftige, über jede beliebige Stelle des Tisches schwenk- und führbare Lupenträger beliebige Lupen (mit Fassungsdurchmessern von 12 mm bis 35 mm) aufzunehmen vermag, ist eine Neuerung, die sich unter manchen Verhältnissen als sehr praktisch bemerkbar machen wird. Der Lupenarm kann aber auch so in die vorn seitlich am Tische befindliche Klemmhülse eingeführt werden, daß er sich unter dem Tische befindet. An Stelle der Lupen nimmt er dann einfache Brillenglaskondensoren auf und ermöglicht so die erforderliche Regulierung des Strahlenganges (über die ich mich hier nicht näher auszulassen brauche), wenn mit mikrophotographischen Objektiven Aufnahmen von größeren Schnitten (Markscheidenfärbung, cytoarchitektonische Rindenstudien!) in durchfallendem Licht gemacht werden sollen.

Das neue Präparierstativ kann ohne Verwendung von Schraubenzieher oder -schlüssel in wenigen Augenblicken auseinandergenommen werden. Es nimmt dann sehr wenig Raum ein und ist beliebig (z. B. zwischen Reisegepäck) zu verpacken.

* * *

Die sämtlichen, in vorstehenden Zeilen beschriebenen Neukonstruktionen werden gebaut und sind zu beziehen von den „Ewon"-Werkstätten, Gustav Geiger, München, Mathildenstr. 12 I. R. G.

[Eingegangen am 5. Dezember 1914.]

[Mitteilung aus der Pflanzenschutzstelle an der Kgl. Landwirtschaftlichen Akademie, Bonn-Poppelsdorf.]

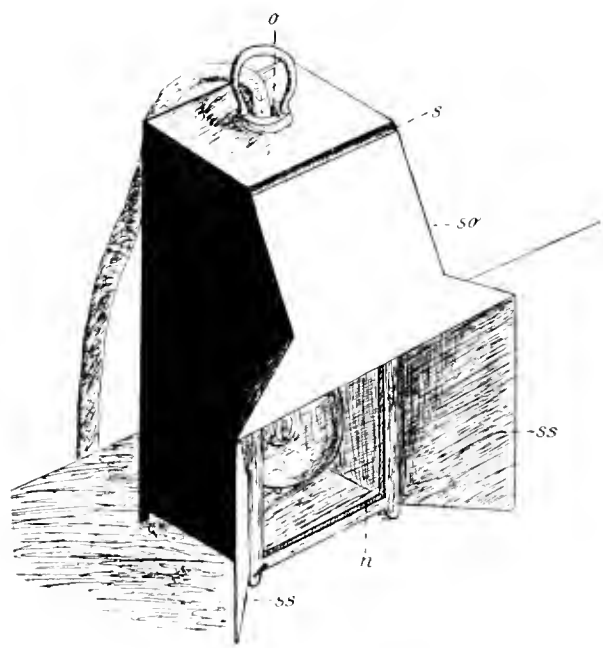
Eine neue Mikroskopierlampe.

Von

G. Voß,
Assistent.

Hierzu eine Textabbildung.

Die nach unseren Angaben hergestellte Mikroskopierlampe setzt sich aus einem Weißblechgehäuse und einer gewöhnlichen Metall-



fadenlampe zusammen. Das Gehäuse besteht aus einem hohen Kasten von fast quadratischem Grundriß und ist vorn im unteren Teil offen. Um das Licht zu dem Mikroskopspiegel zu leiten, den Arbeitsplatz voll zu beleuchten und gleichzeitig das Auge gegen störendes direktes Licht zu schützen, ist das Gehäuse auf der Vorderseite oben mit

einem nach vorn vorspringenden Blechschirm versehen (*so* in der Figur). Aus dem gleichen Grunde sind an dem unteren Teil seitwärts schräg nach außen vorspringende Seitenschirme (*ss* in der Figur) angebracht, welche mit dem oberen Schirm zusammenhängen (siehe Figur). An der Vorderseite des eigentlichen Kastens sind Nuten angebracht (*n* in der Figur), in welchen eine Glasscheibe (*s*) ruht, die sich nach oben herausziehen läßt. Durch eine Öffnung in der Mitte der Decke (*o*) führt der elektrische Leitungsdraht, welcher in einem Stechkontakt endigt. Gleichzeitig wird diese Öffnung zur Befestigung der Fassung für die Glühlampe benutzt. Innen ist das Gehäuse blank, außen schwarz lackiert.

Das Gehäuse mit Fassung kann man sich mit geringen Kosten von jedem Klempner anfertigen lassen, schraubt dann eine Metallfadenlampe von 50 Kerzenstärken hinein und hat eine äußerst billige Mikroskopierlampe, welche auch für den Gebrauch von Ölimmersion und starken Okularen eine vollkommen ausreichende Lichtquelle darstellt, ohne wie die Gaslampe durch große Wärmeentwicklung zu belästigen. Besonders empfehlen dürfte sich die Lampe für den Gebrauch bei mikroskopischen Übungen usw., da sie vor allem den Vorzug der Billigkeit hat.

[Eingegangen am 7. Januar 1915.]

Exogene Fällungen bei der histologischen Färbung.

Von

Raphael Ed. Liesegang.

Einerseits sind viele Histologen damit zufrieden, wenn irgendwelche Färbungen oder Inkrustierungen mit Regelmäßigkeit bestimmte Strukturen in den Geweben oder Zellen erkennen lassen. Die chemische Natur des Gefärbten interessiert sie weniger. Anderseits begnügen sich manche Biochemiker mit dem Nachweis an sich bestimmter chemischer Stoffe. In welchem Teil des Objekts dieselben vorkommen, das ist ihnen nicht so wichtig. Die durchaus notwendige Vereinigung beider Methoden entwickelt sich erst seit einiger Zeit. Ihr Ziel wird einmal sein, die Auflösbarkeit der histologischen Elemente bis zur äußersten Grenze, nämlich bis zur Größenordnung der Moleküle zu treiben, und dabei den chemischen Charakter jedes der Bausteine anzugeben.

Für die Arbeiten, welche sich in dieser Richtung bewegen, sind einige Vorworte nötig. Denn eine Durchsicht der Literatur zeigt, daß schon allerlei Fehler in der Auslegung der Resultate gemacht worden sind. Hier sei zunächst die Rede von einigen falschen Lokalisierungen löslicher anorganischer Stoffe.

Diese lassen sich nicht so „fixieren", wie es mit einer Anzahl von Eiweiß-, Lipoid- und anderen vielatomigen organischen Stoffen wenigstens einigermaßen gelingt. Denn ihre Fixierungsmittel, welche gewöhnlich zugleich auch ihre Nachweisungsmittel sind, bewirken fast immer eine Ortsveränderung derselben.

Es gelingt nämlich nicht, das in irgendeiner Gallerte gleichmäßig verteilte Salz durch eine eindringende zweite Lösung so zu fällen, daß der Niederschlag ebenfalls gleichmäßig verteilt ist. Und die Möglichkeit einer homogenen Fixierung oder Färbung eines homogen verteilt gewesenen Stoffes ist doch eigentlich das Grunderfordernis jeder histologischen Technik.

Diese Unmöglichkeit ist durch folgendes bedingt: Beginnt an der Peripherie des Stücks die erste Bildung eines Niederschlags, so

wandert von den etwas tiefer gelegenen Stellen etwas von dem in ihm enthaltenen löslichen Salz nach dem Fällungsort hin. Rückt die Niederschlagsbildung tiefer in das Stück hinein, so verarmt dessen Innerstes immer mehr daran. Schließlich findet das Eindringende kein Reagens mehr vor, und die Mitte des Stücks bleibt niederschlagsfrei.

Aber bei den Fällen, welche hier geschildert werden sollen, ist es noch weit schlimmer: Das Gallert- oder Gewebestück, in welchem ein löslicher Stoff durch Fällung nachgewiesen werden sollte, bleibt selber ganz niederschlagsfrei. Die ganze Reaktion findet ausschließlich in der umgebenden Flüssigkeit statt. Gleichzeitig seien solche Fälle erwähnt, bei welchen sich nur an der Peripherie ein Niederschlag bildet.

Das möge an einem konkreten Beispiel klargemacht werden: Eine 5prozentige Gelatinelösung wird mit etwas Chlornatrium gemischt, Reagensgläser damit zur Hälfte gefüllt, die Gelatine wird erstarren gelassen, und dann etwas wässerige Silbernitratlösung darüber geschichtet. Ist die Konzentration der letzteren mit 3·4 Prozent (= etwa 0·2 normal) größer als diejenige des Chlornatriumgehaltes der Gallerte mit 0·6 Prozent (= etwa 0·1 normal), so bildet sich der Chlorsilberniederschlag innerhalb der Gallerte. Nur der unterste Teil bleibt frei davon. Bei einem zweiten Versuch betrage der Chlornatriumgehalt der Gallerte 3 Prozent (= etwa 0·5 normal), die Silbernitratlösung sei nur 1·7 Prozent (= etwa 0·1 normal). Diesmal bildet sich alles Chlorsilber in der aufstehenden Silbernitratlösung. Nimmt man unter sonst gleichen Verhältnissen bei einem dritten Versuche die Silbernitratlösung doppelt so stark (0·2 normal), so bildet sich im Laufe von 2 Tagen nur eine außerordentlich dünne, dafür aber sehr dichte Chlorsilberhaut an der Oberfläche der Gallerte.

Die Zahlenangaben lassen erkennen, daß bei diesen Reagenzien allein das Verhältnis ihrer Konzentrationen für den Ort bestimmend ist, wo sich der Niederschlag bildet. Um das Chlor, wenn auch nicht gleichmäßig verteilt, innerhalb der Gallerte zu fixieren, muß man für eine höhere Konzentration der Silberlösung sorgen.

Aber bei anderen Reagenzien hilft dieses, in der histologischen Technik so leicht anzuwendende Mittel doch nicht. Denn es kommt nicht allein auf die Konzentration an, sondern auch darauf, wie rasch die Stoffe in der Gallerte zu diffundieren vermögen. Der Fall, welcher die Bedeutung dieses Moments am auffallendsten zeigt, ist der, bei welchem der aufgesetzten Lösung das Diffusionsvermögen ganz fehlt. Hier hilft auch das günstigste Konzentrationsverhältnis nicht, um eine

vollkommene Ausscheidung innerhalb der aufstehenden Lösung zu verhindern.

Solche Reagenzien sind tatsächlich in der histologischen Technik vorgeschlagen oder angewandt worden. So sollte die mit Salpetersäure versetzte Lösung des molybdänsauren Ammons, welche sich bei Reagensglasversuchen so ausgezeichnet zum Nachweis anorganischer Phosphate eignet, auch zur ortsrichtigen Fällung derselben innerhalb von pflanzlichen und tierischen Geweben benutzt werden. Namentlich Macallum[1] will hiermit gute Erfolge erzielt haben. Um den im Gewebe wenig sichtbaren Phosphormolybdän-Niederschlag (welchen er annahm) bemerkbarer zu machen, ließ er eine Nachbehandlung mit Phenylhydrazinchlorhydrat folgen. Andere verwendeten zum gleichen Zweck Pyrogallol. Die zahlreichen Berichte anderer Forscher über ihre Nachprüfungen des Verfahrens behandeln hauptsächlich die Frage, inwieweit unter dem Einfluß der Salpetersäure Phosphorsäure mit in Reaktion getreten sein könne, welche vorher durch organische Bindung maskiert war. Andere bezweifelten aber überhaupt, ob die Färbung wirklich etwas mit einem Phosphatgehalt zu tun habe. Und diejenigen, welche hiervon überzeugt waren, kritisierten auf Grund ihrer Versuche die Lage des Niederschlags. Hansen[2] wies direkt exogene Reaktionen nach, indem er sagte: „Auch diffundiert bei der Reaktion die Lösung (des anorganischen Phosphats) gewöhnlich aus der Zelle, so daß die Reaktion außerhalb der Zelle stattfindet und der Niederschlag daher in der Umgebung des Schnittes zu suchen ist.“ Auch Raciborski[3] erhielt bei der Behandlung der an anorganischen Phosphaten reichen Stengelspitzen von Euphorbia neriifolia und einiger anderer pflanzlichen Gewebe den Phosphormolybdän-Niederschlag gewöhnlich in der Umgebung. Beide glaubten zwar noch, denselben unter günstigen Bedingungen auch innerhalb der Zelle erzeugen zu können. Aber Iwanoff[4] erklärte direkt, daß das Ammoniumphosphormolybdat sich niemals innerhalb der Zelle bildet. Deshalb bestritt Scott[5] die Richtigkeit der Angabe von Macallum, Lilienfeld und Monti[6] über die mikrochemische Lokalisation der Phosphate in den

[1]) Macallum, A. B., Proc. Roy. Soc. t. 63, 1898, p. 417. — Trans. Canadian Inst. t. 6, 1898.

[2]) Hansen, Arb. d. Bot. Inst. Würzburg, Bd. 3, 1885, p. 98.

[3]) Raciborski, Botan. Ztg. 1893, p. 245.

[4]) Iwanoff, Jahrb. wiss. Bot. Bd. 36, 1901,

[5]) Scott, Journ. of Physiol. vol. 35, 1907, p. 119.

[6]) Lilienfeld u. Monti, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 17, 1892.

Geweben. Und Zacharias[1] konnte sagen: „Eine zuverlässige Methode zur Ermittlung der Verteilung des Phosphors in der Zelle besitzen wir noch nicht."

Dieses vollkommene Versagen der Methode konnte erst seine Erklärung finden, nachdem Wöhler und Engels[2] nachgewiesen hatten, daß die Molybdänsäure in der Reagensflüssigkeit überhaupt nicht in echter, sondern in kolloider Form vorliege. In dieser hat sie aber kein Diffusionsvermögen. Ihre Konzentration mag also beliebig diejenige des Phosphats im Gewebe überwiegen, letzteres wird doch immer herauswandern und den Niederschlag außen erzeugen. — Die Richtigkeit dieser Vermutung ergab sich bei einigen Versuchen, bei welchen etwas Trinatriumphosphat in einer Gelatinegallerte verteilt war. Noch viel auffallender wurde aber die Erscheinung, als das in der Gallerte enthaltene Phosphat gar nicht löslich, sondern als Trikalziumphosphat unlöslich war. Auch hierbei bildete sich in der aufstehenden Flüssigkeit ein Phosphatmolybdän-Niederschlag. Dieser Vorgang erklärte sich dadurch, daß die Salpetersäure aus dem Reagens in die Gallerte eindrang, hier das Kalziumphosphat löste, und daß das Gelöste nun zur Molybdänsäure zog.

Auf ähnliche Weise sind irrige Anschauungen über die Verteilung der Kalisalze im Muskel- und Nervengewebe zustande gekommen: Macallum[3] verwendete dazu eine Modifikation der Kobaltnitrat-Methode von Erdmann. Da er den Niederschlag niemals in den Nervenzellen und ihren Fortsätzen auftreten sah, schloß er, daß diese kaliumfrei seien. Für die exogene Reaktion spricht sein Befund, daß die Zelloberflächen oft so reichlich mit dem Niederschlag bedeckt waren, daß dadurch deren Inneres ganz verborgen wurde. — In diesem und ähnlichen Fällen braucht dem Reagens die Diffusionsfähigkeit nicht überhaupt vollkommen zu fehlen. Es genügt auch schon, wenn die Diffusion nur in dem betreffenden Medium unmöglich oder sehr verzögert ist. — In einer späteren Arbeit[4] glaubte Macallum sogar, einen ähnlichen Befund als Beweis gegen die Anwendbarkeit der van't Hoffschen Lösungstheorie angeben zu können. Er brachte das auf Algen vorkommende Protozoon Acineta tuberosa aus dem Meerwasser direkt für 5 Minuten in eine Lösung von Kobaltnatriumnitrit $[CoNa_3(NO_2)_6]$, entfernte dann den Reagensüberschuß durch Waschen

[1]) Zacharias, Progr. Rei Bot. Bd. **3**, 1909, p. 124.
[2]) Wöhler u. Engels, Kolloidchem. Beih. Bd. **1**, 1910, p. 474.
[3]) Macallum, Journ. of Physiol. vol. **32**, 1905, p. 95.
[4]) Macallum, Proc. Roy. Soc. London vol. **86**, B., 1913, p. 527.

mit eiskaltem Wasser und machte die Färbung dadurch deutlicher, daß er die Kobaltverbindung in Sulfid überführte. Aus seinen Befunden schloß er in erster Linie auf einen erhöhten Gehalt der Kalisalze in der Tentakelmembran. Im Cytoplasma war (bei gestreckten Tentakeln) keine Spur von Färbung zu finden. Macallum behauptete, daß ein Minimum von Oberflächenspannung Anlaß für die Ansammlung der Kalisalze in diesem Organismus sei.

Auch diejenigen Verfahren verdienen hier eine Erwähnung, bei welchen zwei gelöste Stoffe nacheinander auf das Block- oder Schnittpräparat wirken, und die Färbung oder Inkrustation gewisser histologischer Elemente bei der Umsetzung der beiden Stoffe erfolgt. Denn sie illustrieren besonders gut, was bei den Versuchen zum ortsrichtigen Nachweis gelöster Substanzen geschehen kann. Es wird z. B. niemand einfallen, zu glauben, daß die Zellen, welche sich durch die Golgi-Methode färben, dies deshalb tun, weil sich vorher in ihnen allein das Kaliumbichromat angesammelt habe. Muß dann aber nicht die folgende Schlußfolgerung von Monti[1] als allzu gewagt bezeichnet werden? Derselbe wollte wissen, in welchen Elementen der Magenschleimhaut die Salzsäure des Magensaftes produziert werde. Er ließ deshalb Silbernitratlösung darauf wirken. Als es sich zeigte, daß der Chlorsilberniederschlag sich hauptsächlich in den endozellulären Exkretionskanälen der delomorphen Zellen dieses Gewebes bildete, glaubte er, diese als den Produktionsort bezeichnen zu können. Auch die Schwefelammoniummethode von Macallum[2] zum Nachweis der Verteilung des Eisens innerhalb einer Zelle wird unter dem gleichen Fehler leiden. Gilson[3] nahm mit Recht an, daß hierbei erst sekundär das Eisen aus anderen Teilen der Zelle in das Chromatin des Kerns gelangt sei. Vielleicht „entwickelt" hier auch das naszierende Schwefeleisen in ähnlicher Weise das Chromatin, wie es das naszierende Silberchromat bei den Ganglienzellen tut. Es ist wahrscheinlich, daß sowohl Monti wie Macallum bei Verwendung viel verdünnterer Reagenzien die Niederschläge exogen erhalten hätten.

Bei den Silbermethoden von Golgi und Cajal bildet sich gewöhnlich ein Teil des Niederschlags außerhalb des Blocks. Namentlich bei Golgi steht die Konzentration der zweiten Lösung (Silbernitrat) oft nicht im richtigen Verhältnis zu derjenigen der ersten (Kalium-

[1]) Monti, R„ Arch. di fisiol. t. **11**, 1913, p. 155.

[2]) Macallum, Proc. Roy. Soc. London vol. **50**, 1892, p. 277. — Journ. of Phyiol. vol. **16**, 1894.

[3]) Gilson, Rep. Brit. Assoc. Adv. of Science 1892, p. 778.

bichromat). Wenn sich dabei nach der anfänglichen exogenen Fällung später eine endogene bildet, so ist dies darauf zurückzuführen, daß die Flüssigkeitsmengen sehr verschieden gewählt werden. Zuerst zieht Kaliumbichromat aus dem Block in die umspülende Silbernitratlösung hinein. Dadurch schwächt sich allmählich die Konzentration im Block ab. Die Silbernitratlösung wird dagegen in sehr viel geringerem Maße abgeschwächt, da die Flüssigkeitsmenge eine viel größere ist, und gewöhnlich das Silberbad auch einmal gewechselt wird. So überwiegt nach einiger Zeit doch die Konzentration des letzteren, und es kann nun eindringen.

Zwischen der exogenen und endogenen Fällung steht diejenige, bei welcher der Niederschlag allein auf eine sehr dünne Oberflächenschicht beschränkt ist. Diese perigene Imprägnation wurde zuweilen bei Gehirnschnitten erhalten, welche nach einer Modifikation des Cajalschen Verfahrens[1] behandelt wurden. Es waren 10 μ dicke Gefrierschnitte eines mit Formol gehärteten Gehirns, welche erst einige Zeit mit Silbernitratlösung behandelt worden waren, und welche dann in eine mit Gummiarabikum versetzte Hydrochinonlösung kamen. Der Gummizusatz verhinderte dabei, daß sich während der Entwicklungszeit das exogen gebildete metallische Silber zu größeren Teilchen zusammenballe und so die Oberfläche der Schnitte verschmutze. Gewöhnlich färbten sich die Fibrillen durch die ganze Dicke des Schnitts hindurch. Aber zuweilen beschränkte sich die Färbung auf beiden Seiten des Schnitts nur auf die oberste Lage. Für gewisse Zwecke dürfte diese Erscheinung, welche man zuerst als Fehler anzusehen geneigt ist, gerade erwünscht sein. Man kann nämlich auf diese Weise in sehr viel dickeren Schnitten eine nur etwa 1 μ dicke Lage färben.

---

[1]) Liesegang, Kolloidchem. Beih. Bd. 3. 1911, p. 1.

[Eingegangen am 6. Januar 1915.]

[XIII. Mitteilung aus der Biologischen Station Aneboda in Südschweden[1].]

Über die Mikrophotographie auf Gaslichtpapiere in negativen Bildern.

Von

Einar Naumann

in Lund (Schweden).

Hierzu zwei Mikrophotographien (Tab. XII und XIII).

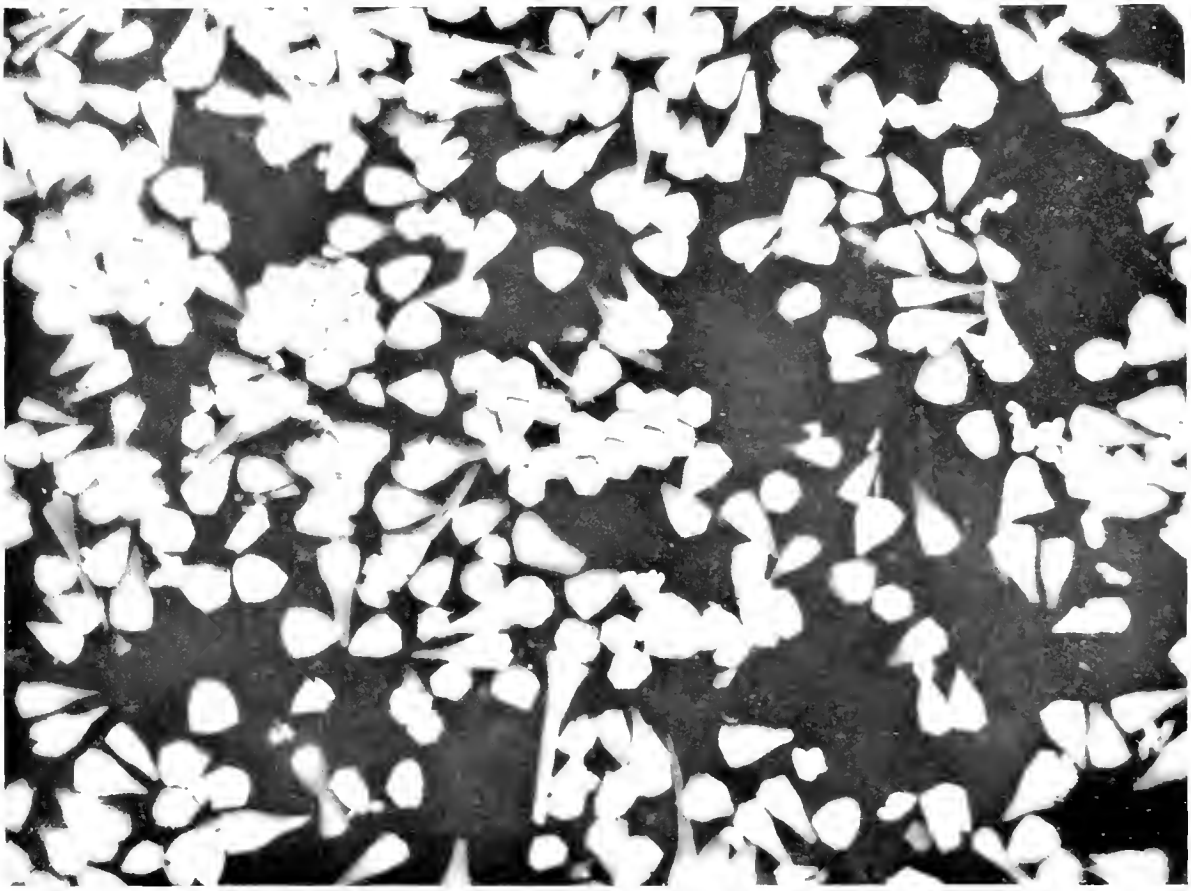
Die Mikrophotographie, wie sie gewöhnlich ausgeübt wird, ist bekanntlich ein ziemlich kostspieliges Verfahren. Daran ist auch nichts zu ändern, solange es sich um die höchsten Aufgaben handelt: aber es gibt ganze Reihen einfacherer Aufgaben, wo die kostspielige Plattenmethode eigentlich gar nichts zu tun hat. Zwar sind verschiedene Verfahren mit Negativpapieren in Gebrauch; scheinen aber niemals besonders gelobt, wohl aber oft als unbrauchbar erklärt.

Seit einigen Jahren arbeite ich selbst gern mit Mikrophotographieren auf Gaslichtpapieren. Das Material ist billig zu haben und erfordert weder der großen Apparatur noch der durchgeführten Methodik des Plattenverfahrens, leistet aber bei geringeren Vergrößerungen ganz besonders gute Ergebnisse. Ursprünglich bediente ich mich der Methode nur für die photographische Darstellung der Planktonformationen[2], begann aber danach dieselbe auch für verschiedene Aufnahmen pflanzen-anatomischer Art zu brauchen. Da sie möglicherweise jemandem von Nutzen werden kann, sei es mir gestattet, hier auf dieselbe in aller Kürze hinzuweisen.

Das Gaslichtpapier zeigt seinen besten Erfolg bei geringeren Vergrößerungen, weshalb es sich hauptsächlich für allerlei Über-

[1]) Die XII. Mitteilung erscheint in der Int. Revue der Hydrobiologie. — Leipzig 1915.

[2]) Vgl. meinen Aufsatz hierüber in der Int. Revue der Hydrobiologie. — Leipzig 1915, p. 56—60.

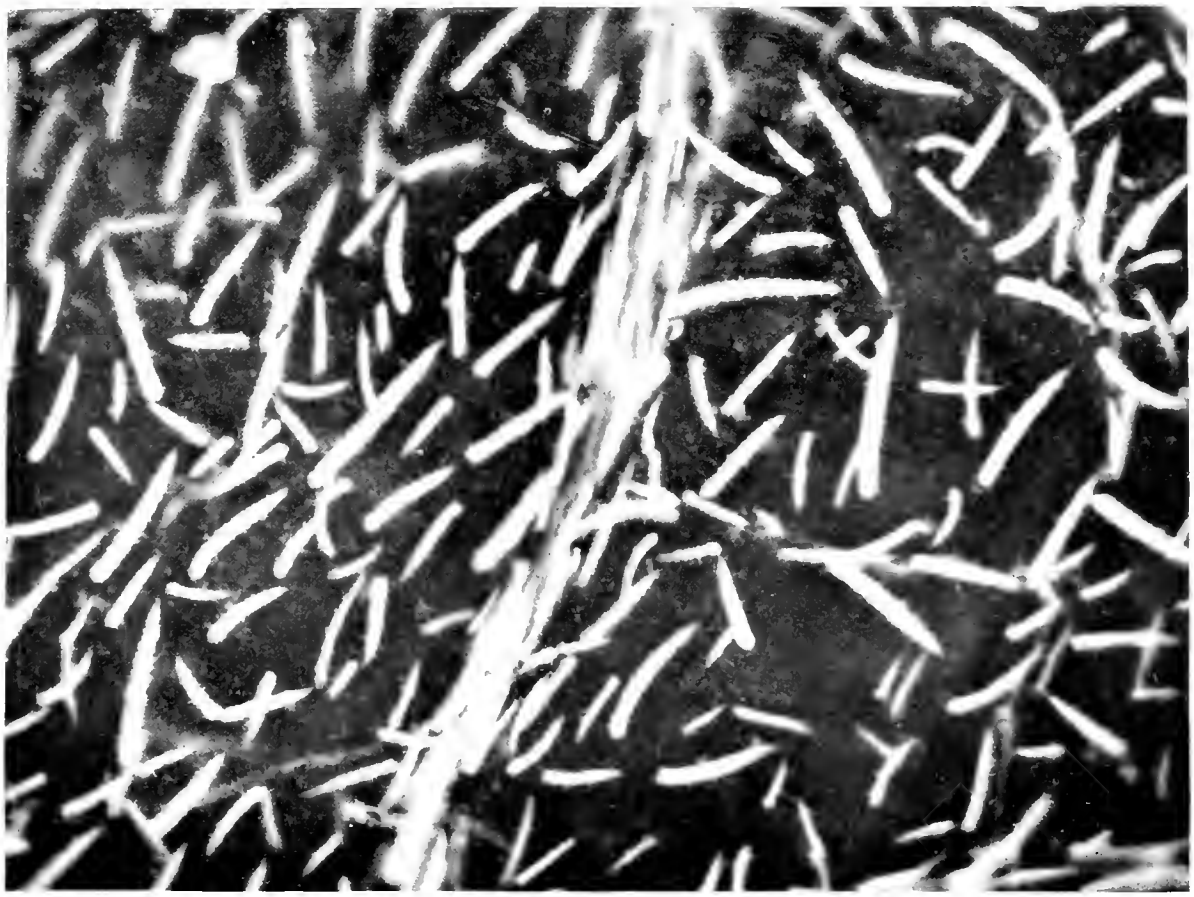


Naumann.

Mikrophotographie I.

Isolierte Kieselkörper von der Fruchtwand eines Phytelephas.
Negativbild auf Gaslichtpapier.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.



Naumann.

Mikrophotographie II.

Verteilung der Cystolithen im Blatt von Strobilanthus sp.
Negativbild auf Gaslichtpapier.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

sichtsbilder — besonders von größeren Schnitten usw. — eignet. Dazu sind mit großem Vorteil verschiedene Mazerationspräparate und Glührreste auf diese Weise zu photographieren. Als Beleg füge ich zwei Mikrophotographien bei: die eine ein Isolationspräparat der Kieselkörper von der Fruchtwand eines Phytelephas, die andere der Glührest des Blattes eines Strobilanthus (Verteilung der Cystolithen) zeigend. Die Präparate sind in Kanadabalsam montiert.

Die Bilder sind negativ; hat man sich aber nur mit dieser Dunkelfeldmanier vertraut gemacht, so ist es gar keine Schwierigkeit, derartige Bilder zu entziffern[1]. Im Gegenteil, sie sind im Original — dank des glänzenden Kontrastes in schwarzweiß — von besonderer Schönheit. Selbstverständlich gehen sie bei Reproduktion auf gewöhnlichem Textpapier sehr zurück, was aber eigentlich nur feinere Strukturen beeinträchtigt[2]; größere Objekte können ohne Gefahr auf diese Weise reproduziert werden.

Betreffs der Technik des Photographierens auf Gaslichtpapier sei nur bemerkt, daß die Exposition schon bei etwa 100facher Vergrößerung beim Arbeiten mit Sonnenlicht [Mattscheibe in Blendenöffnung!] zu etwa 30 Sekunden steigt. Die Methode arbeitet somit ziemlich langsam; aber eben dadurch erzielt man mit einfachen Hilfsmitteln sehr vorzügliche Ergebnisse: denn es ist eine alte Erfahrung, daß die langsamen Chlor-Bromsilberemulsionen immer bei geschickter Arbeit Bilder von sonst nur sehr schwierig zu erzielender Klarheit leisten.

Für Institutionen ist das Arbeiten mit Mikrophotographien auf Gaslichtpapieren sehr billig: die teueren Glasplatten sind ja eliminiert. Was hierbei auch an Zeit und Arbeit erspart wird, versteht jeder, der ein wenig mikrophotographisch gearbeitet hat.

Selbstverständlich sind die Glasplatten niemals zu entbehren: bisweilen leisten aber die Papiere ebenso gute Dienste. Somit will ich mit diesem Aufsatz nur darauf hingewiesen haben, daß es auf

---

[1]) Übrigens scheinen derartige Darstellungsmethoden mehr und mehr in Gebrauch zu kommen. Vgl. z. B. die schönen Bilder bei Lindner, P., im Ber. d. Deutschen bot. Ges. 1914, p. 257—261; vgl. auch Lindner, P., im Mikrokosmos 1914, p. 89—90.

[2]) Vgl. hierzu die Mikrophotographien in meiner angeführten Mitteilung in der Int. Revue der Hydrobiologie, 1915. Besonders die dritte Abbildung ist wegen der Reproduktionstechnik ebenso schlecht wie unsauber geworden.

dem Gebiete der mikrophotographischen Technik Aufgaben gibt, für deren zweckmäßige Ausführung nicht immer die teuersten und am langsamsten zum Ziele führenden Methoden die allerbesten sind, wenn sie auch immer praktisiert und empfohlen werden.

Lund, Januar 1915.

[Eingegangen am 14. Januar 1915.]

[XIV. Mitteilung aus der Biologischen Station Aneboda in Südschweden[1].]

Über das Mikrophotographieren mit Gaslichtpapieren in direkt positivem Bild.

Von

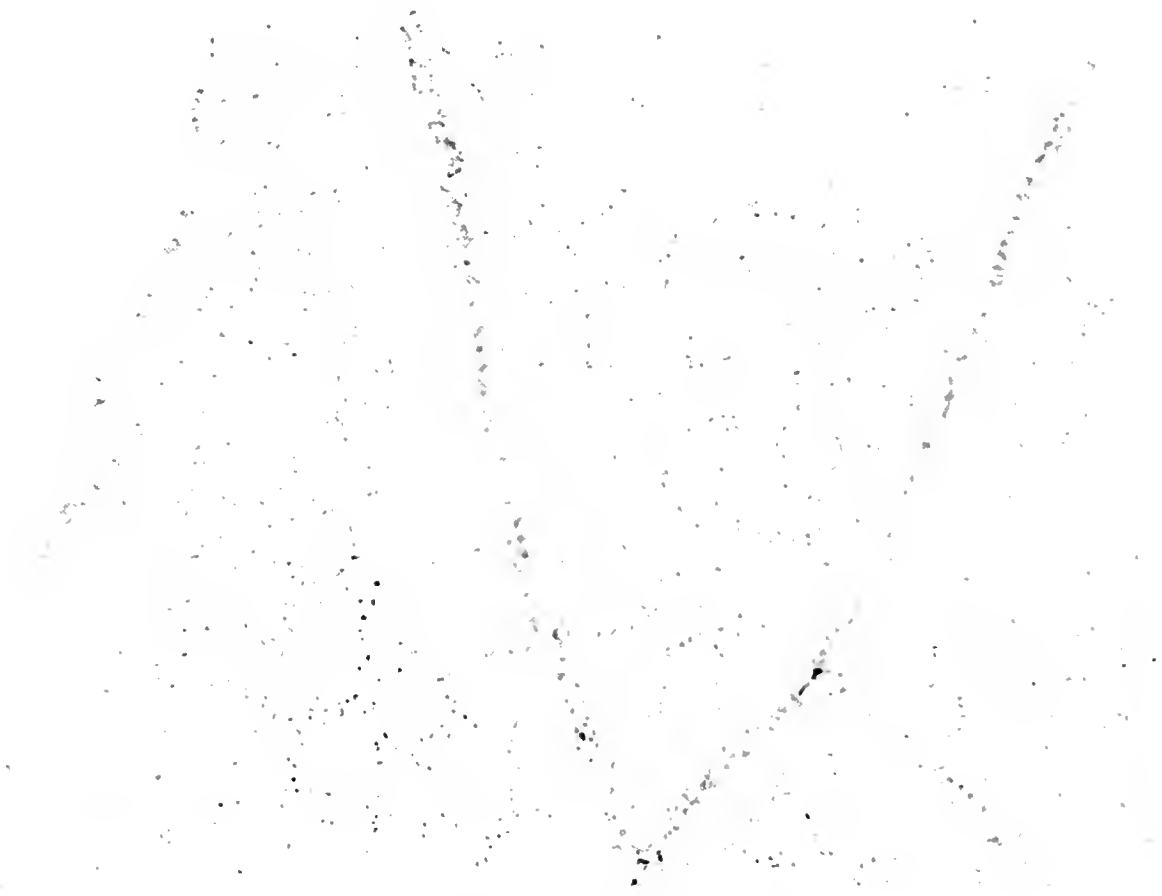
Einar Naumann
in Lund (Schweden).

Hierzu eine Mikrophotographie (Tab. XIV).

Die Gaslichtpapiere eignen sich für Mikrophotographieren bei schwachen Vergrößerungen sehr gut[2]; das Bild wird aber ein negatives. Zwar kann es zum Positiv kopiert werden; dabei gehen aber immer einige feinere Details verloren und somit ist eigentlich nicht so viel durch die Papiermethode gewonnen, wenn man nur zum Positiv anzulangen wünscht. Als Negativbilder sind sie aber vorzüglich und dürften als solche sehr wohl das gewöhnliche Platten-Verfahren bei geringerer Vergrößerung oft ersetzen können.

Wünscht man indessen nur mit Positiven zu arbeiten, so muß man — in allen den Fällen, da das Kopieren eines Papiernegativs nicht hinreichend gut ausfällt — entweder mit Platten arbeiten oder auch im direkten Positiv auf Papieren photographieren. Die letztgenannte Methode ist in der Tat bisweilen sehr einfach

[1]) Die XIII. Mitteilung erscheint gleichzeitig in dieser Zeitschrift.
[2]) Vgl. meinen Aufsatz in dieser Zeitschrift 1915, p. 472—474.



Naumann.

Kristallwege im Blatt von Abutilon sp.
Papierpositiv in Dunkelfeldbeleuchtung aufgenommen.

Verlag von S. Hirzel in Leipzig. Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

durchzuführen und läßt sich beim Arbeiten mit Gaslichtpapier für kleinere Vergrößerungen (bis zu etwa hundertmal) auf diese Weise brauchen: Nachdem das Mattscheibenbild (bei scharfer Beleuchtung!) genau eingestellt worden ist, wird eine Sternblende in die Blendenöffnung eingelegt, das Dunkelfeld hierauf auf der Mattscheibe kontrolliert, worauf die Exposition folgt. Sie beträgt ungefähr das vierfache der Expositionszeit bei normaler Beleuchtung; nach dem Entwickeln erhält man aber unmittelbar das Bild im Positiv.

Das Verfahren, das sich zwar auf die Dunkelfeldbeleuchtung gründet, gibt indessen ein Bild in Hellfeldmanier. Ursprünglich bediente ich mich desselben nur für die mikrophotographische Darstellung der Planktonformationen[1], habe es aber danach auch für verschiedene Präparate u. a. aus dem Gebiete der Pflanzenanatomie versucht. Es gilt hierbei als eine allgemeine Regel, daß alles, was in Dunkelfeldbeleuchtung (bei geringer Vergrößerung einfach durch Sternblende realisiert!) gut hervortritt, sich auch für diese Photographie in direktem Positiv eignet. Sie ist demgemäß besonders für allerlei Übersichtsbilder von Schnitten — mit und ohne kristallführende Idioblasten — usw. mit großem Vorteil zu verwerten; als ein Beispiel füge ich eine Mikrophotographie des Blattes eines Abutilons bei (Kanadabalsam-Präparat!), wo die Kristallwege sich in direktem Positiv gut ausprägen.

Zwar kann es bisweilen — und besonders betreffs Planktonformationen — von Interesse und Bedeutung sein, derartige Positivbilder darzustellen; ich muß indessen gestehen, daß ich persönlich lieber mit Bildern im Negativ — also eine Art Dunkelfeldmanier — arbeite. Sie sind hinreichend scharf, bisweilen schärfer als die Positive; dazu sind sie aber noch schneller fertigzustellen. Indessen kann das Verfahren, direkte Positive auf Gaslichtpapiere darzustellen, auch für das direkte Herstellen von Diapositiven in dem mikrophotographischen Apparat verwertet werden, worauf ich später etwas ausführlicher hinzuweisen denke.

[1]) Vgl. meinen Aufsatz hierüber in der Int. Revue der Hydrobiologie. — Leipzig 1915. (Im Erscheinen.)

Lund, Januar 1915.

[Eingegangen am 14. Januar 1915.]

Ein neues Färbeverfahren für Kartoffelstärke.

Von

Gustav Blunck

in Mirow.

Bei den jetzt täglich vorkommenden Untersuchungen von Mehl und Brot auf Kartoffelzusatz ist ein mikroskopisches Färbeverfahren sehr erwünscht, da sich trotz aller Kenntnis der Zellstruktur, namentlich bei zerrissenen Stärkezellen, erhebliche Schwierigkeiten bieten. Es sind nun allerdings einige Methoden zur Unterscheidung der Arten veröffentlicht worden, doch habe ich mit keiner derselben ein günstiges Resultat erzielen können. Die Anfärbung ist bei den meisten organischen Farbstoffen zu ungleichmäßig; teils werden nicht alle Kartoffelstärkezellen angefärbt, oder Getreidestärke wird teilweise mitgefärbt. Nachgeprüft habe ich folgende Methoden, die von Bleichr (1) angegebene Anfärbung mit Joddämpfen; Färbung mit Jodparaffin nach C. O. Harz (2), Jodzuckerlösung nach O. Tunmann (3) und die von Gastine angegebenen Farbstoffe (Anilinblau, Lichtblau, Baumwollblau, C_4B-Blau, Meldolablau, Benzoazurin, Anilingrün, Methylgrün, Anilinbraun, Bismarckbraun, Anilingelb, Chrysoidin, Chrysanilin, Safranin, Magdalarot, Phenolsafranin, Dinitronaphtol, Magdalaviolett). Scheffer (5) gibt zur Unterscheidung eines Gemisches von Getreide- und Kartoffelstärke Methylviolett an, das Kartoffelstärke dunkler anfärbt als Roggen usw. Für Mehl ist dies Verfahren ganz gut anwendbar, obwohl der Helligkeitsunterschied teilweise wenig verschieden ist, für Brotuntersuchungen versagt der Farbstoff ganz. Die gleiche Wirkung hat Kristallviolett, das ich für Mehluntersuchungen verwende.

Nachdem ich noch eine Reihe von Farbstoffen vergeblich zu verwenden versucht hatte, unterzog ich die neueren Chromfarben einer genauen Musterung. Hierunter erwiesen sich die Metachromfarbstoffe der „Agfa“ als brauchbar, besonders das Metachromrot G „Agfa“, welches in einem Getreide- und Kartoffelstärkegemisch bei geeigneter Anwendung nur die Kartoffelstärke (auch Kleisterzellen) intensiv goldgelb, Getreidestärke nicht anfärbt. Gewebselemente werden

mitgefärbt. Aus Mangel an Zeit habe ich andere Stärkearten noch nicht geprüft, werde aber darüber demnächst berichten. Die Farblösung stellt man wie folgt her: Metachrom G „Agfa“ (z. Z. noch nicht chemisch rein erhältlich) wird in 30prozentigem Alkohol kochend bis zur Konzentration gelöst, die Lösung nach dem Erkalten filtriert und mit 25 Prozent Wasser verdünnt. Die Farblösung ist in gut verschlossenen Gefäßen längere Zeit haltbar, scheidet aber in offenen Gefäßen schon nach einigen Stunden einen flockigen Niederschlag ab und wird dadurch unbrauchbar. Gefärbt wird das auf einen Objektträger in einem Tropfen Wasser fein zerteilte Präparat nach dem Trocknen entweder im Färbebecher nach Zeit (genau 8 Minuten) oder mit einem Tropfen Farblösung unter dem Mikroskop.

Hiernach wird mit destilliertem Wasser rasch abgespült und bei 20 bis 30° oder bei Zimmertemperatur getrocknet. Wie schon oben erwähnt, werden bei dieser Arbeitsweise nur die Kartoffelstärke und Gewebefetzen intensiv goldgelb gefärbt. Auch für Brot ist die Färbung geeignet, nur muß die etwa vorhandene Säurebildung neutralisiert werden, da bei Gegenwart von Säuren auch Getreidestärke gefärbt wird (ein Vorgang, der für die Theorie der Färbung überhaupt sicher von Beachtung ist). Man kann dies mit einem größeren Stückchen (etwa 1 g Krume) im Reagensglase mit verdünnter Ätzalkalilösung und Auswaschen der Probe vornehmen, oder nach der Präparation (nach dem Trocknen) den Objektträger 2 bis 5 Minuten in sehr verdünnte alkoholhaltige Kalilauge stellen, dann das Präparat gründlich abspülen bis das Spülwasser neutral reagiert, trocknen und dann anfärben.

Literatur.

1) König, Dr. J., Die tierischen und pflanzlichen Nahrungsmittel. 2. Teil. p. 556.
2) Bot. Zentralbl., Beiheft, Bd. **12**, 1902, p. 226.
3) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **21**, 1904, p. 25.
4) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. **14**. 1907, p. 717.
5) Technische Rundschau Bd. **51**, 1914.

[Eingegangen am 31. Januar 1915.]

Neue Studien zur Darstellung der Reduktions- und Sauerstofforte der Pflanzenzelle.

Zugleich eine

Antwort an Herrn Professor Unna.

Von

Hans Schneider

in Bonn.

Auf meine in dieser Zeitschrift[1] veröffentlichte Arbeit über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktionsorten im Gewebe ist eine Entgegnung von seiten Unnas[2] gefolgt. Das gibt mir Gelegenheit, noch einmal auf den Gegenstand zurückzukommen. Mit der Unnaschen Antwort halte ich ihn nicht für erledigt.

Ehe ich in sachliche Erörterungen eintrete, muß ich auf einige ungerechtfertigte Bemerkungen Unnas eingehen. Unna vermutet, es sei mir nur seine „Biochemie der Haut" zu Gesicht gekommen; in den nächsten Sätzen scheint ihm diese Vermutung bereits zur Gewißheit geworden. Er übersieht ganz, daß die von ihm besonders genannte Arbeit in Waldeyers Archiv[3] in meiner Veröffentlichung an zwei Stellen[4] angeführt wird. Es lag für mich kein Grund vor, die neueren Arbeiten Unnas heranzuziehen, da sie in methodischer Hinsicht trotz Unnas Versicherungen keinen Fortschritt bringen.

---

[1]) Schneider, Über die Unnaschen Methoden zur Feststellung von Sauerstoff- und Reduktionsorten und ihre Anwendung auf pflanzliche Objekte. — Benzidin als Reagens auf Verholzung (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 31, 1914, p. 51).

[2]) Unna, Brief an den Herausgeber (Diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 296).

[3]) Unna, Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Arch. f. mikr. Anat. Bd. 78, 1911, p. 1).

[4]) Schneider, l. c., p. 57 u. 63.

Unverständlich ist die Behauptung Unnas, „die" Pyrogallolversuche mit nachträglichem Zutritt von Sauerstoff, d. h. also doch meine Pyrogallolversuche, bereits vor mir angestellt zu haben. Tatsächlich handelt es sich um ganz verschiedene Methoden. Unna behandelt seine Objekte mit Pyrogallolwasser; ich benutze Pyrogallol zur Entfernung des Luftsauerstoffs, ohne es mit den Objekten in Berührung zu bringen[1]. Unna gibt ferner an, nie behauptet zu haben, „daß der durch Peroxydase abgeschiedene freie Sauerstoff zur Bläuung der Objekte durch Rongalitweiß erforderlich sei". Ich verweise dieserhalb auf die in meiner ersten Arbeit[2] zitierten Sätze aus der „Biochemie der Haut". Eine klare Darstellung seiner Ansicht von der beschränkten Bedeutung der Oxydationsfermente für die Atmung hat Unna erst 1913[3] gegeben. —

Als Ausgangspunkt für die folgenden Erörterungen und Versuche sollen die Unnaschen Reduktionsfärbungen dienen. Unna sagt gelegentlich selbst[4], „daß den festen Punkt in der ganzen Sauerstofffrage die Reduktionsbilder darstellen, die ebenso eindeutig als leicht verständlich sind. Alles, was mit ihnen nicht harmoniert, muß genau auf irgendwelche besonderen Einflüsse untersucht werden." Um so mehr muß es verwundern, daß Unna in seiner Kritik den Abschnitt meiner Arbeit, der sich mit der Reduktionsfärbung mittels Kaliumpermanganat beschäftigt[5], gar nicht erwähnt. Dieser Abschnitt nimmt nur wegen der Eindeutigkeit der Ergebnisse einen bescheidenen Raum ein, und ich habe auf ihn bei Begründung des Satzes, daß Unnas Sauerstofflehre für Pflanzenzellen nicht zutreffe, besonderen Wert gelegt. Neuerdings habe ich außer der Kaliumpermanganatfärbung auch die chemisch einwandfreiere Eisen-Cyan-Methode[6] auf Schnitte durch Wurzelspitzen von Pisum sativum und Phaseolus vulgaris sowie Epidermiszellen von Allium cepa angewandt und wiederum festgestellt, daß das Reduktionsvermögen der Elemente pflanzlicher Zellen in folgender Reihe zunimmt: Plasma,

---

[1]) Schneider, l. c., p. 61.

[2]) l. c., p. 64.

[3]) Unna, Tatsachen über die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes (Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 13, p. 2 d. Sep.).

[4]) Unna, Chemiker und Biologe (Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 17, p. 4; vgl. ebenda, p. 1).

[5]) l. c., p. 54—55.

[6]) Unna u. Godoletz, Zur Chemie der Haut III (Monatsh. f. prakt. Dermatol. Bd. 48, 1909, p. 149).

Kern, Kernkörperchen. Der pflanzliche Zellkern ist also ein Reduktionsort im Sinne Unnas. Aus dieser Tatsache ziehe ich den berechtigten Schluß, daß die Unnasche Theorie höchstens für tierische Zellen gilt[1]. Es ist mir wohlbekannt, daß Unna einen wenn auch geringen Grad von Reduktionsvermögen jetzt allen Zellelementen zuerkennt[2]. Das ist aber etwas ganz anderes als meine Feststellung, daß sich das von Unna für tierische Gewebe postulierte Verhältnis von Kern und Plasma zum Sauerstoff bei Pflanzenzellen genau umkehrt.

Was folgt nun daraus für die Rongalitweiß-Methode? Mit der erwähnten Aussage, daß alle Zellelemente reduzieren, hat Unna seine Ansicht von dem Ausschlußverhältnis zwischen Reduktions- und Sauerstofforten[3] nicht aufgegeben, sondern nur ihres extremen Charakters entkleidet. Unser obiges Ergebnis schließt die Annahme eines solchen Ausschlußverhältnisses für Pflanzenzellen nicht aus, zeigt aber, daß es sich bei ihnen umkehren müßte. Mit anderen Worten: Der pflanzliche Zellkern müßte sich gegenüber Rongalitweiß wie das Spongioplasma (Unna) der tierischen Zelle verhalten; er dürfte sich in dem Reagens nicht oder nur unauffällig bläuen. Hierauf werden wir noch zurückkommen. —

Der zweite Abschnitt meiner Arbeit über die Unnaschen Methoden beschäftigt sich mit der Rongalitweiß-Methode. Ich erinnere zunächst nur an den Schluß dieses Abschnittes, wo gezeigt wird, daß peroxydasefreie und jeglicher Oxydation an sich unfähige Objekte sich in Rongalitweiß bläuen können. Die Versuche Oelzes (l. c.) mit Filtrierpapier haben dies Ergebnis völlig bestätigt, und es ist somit einwandfrei erwiesen: der Luftsauerstoff bläut das Unnasche Reagens und vermag es ohne Mitwirkung des Objektes zu bläuen. Unna ist also in einem Irrtum befangen, wenn er meint, das Rongalitweiß stelle ein Reagens auf aktiven Sauerstoff dar; es ist nur ein Reagens auf Oxydation, das nichts über die Natur des oxydierenden Agens aussagt.

---

[1]) Wenn sich die Ergebnisse Oelzes (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 31, 1914, p. 43), die mit den von mir publizierten in der Hauptsache übereinstimmen, bestätigen, so muß die Theorie Unnas für ganz verfehlt erklärt werden.

[2]) Vgl. z. B. Unna, Chemie der Zelle (Festschr. d. Eppendorfer Krankenhauses, Leipzig 1914, p. 252).

[3]) Unna u. Golodetz, Zur Chemie der Haut IX (Dermatol. Wochenschr. Bd. 54, 1912, p. 2 u. 4).

Nehmen wir vorläufig die Existenz von Sauerstofforten im Gewebe (im Sinne Unnas) an. Wir müssen dann mit Unna zwischen primären und sekundären Sauerstofforten unterscheiden. Über ihren Nachweis sagt er[1]: „Für die primären Sauerstofforte ist der Sauerstoffzutritt die notwendige Bedingung, daß sie aktivieren können; ganz unabhängig davon können sie noch einen beliebig hohen Rest von früher aktiviertem Sauerstoff besitzen, da sie natürlich auch Sauerstoff zu speichern vermögen. Schließt man daher den Luftsauerstoff ab, so können die Kerne entweder Sauerstoff in ganz verschiedenem Grade anzeigen oder nicht. Schließt man aber den Luftsauerstoff von den sekundären Sauerstofforten ab, so müssen dieselben . . . unter allen Umständen Sauerstoff besitzen und anzeigen, denn darin besteht ihre einzige Funktion.“ Es folgt daraus: 1) Schließt man den Luftsauerstoff von den Präparaten ab, so werden die primären Sauerstofforte nicht mit Sicherheit angezeigt; 2) schließt man den Sauerstoff nicht ab, so ist nach dem oben Gesagten nicht zu entscheiden, ob die eintretende Bläuung der Kerne unmittelbar durch Luftsauerstoff oder mittelbar durch aktivierten Sauerstoff bewirkt wird. Mithin ist ein sicherer Nachweis von primären Sauerstofforten im Sinne Unnas durch die Rongalitweiß-Methode gänzlich unausführbar.

Immerhin wäre die Methode wertvoll, wenn das Rongalitweiß die sekundären Sauerstofforte mit Sicherheit nachwiese. In einer kleineren Arbeit[2] untersucht Unna die zur Bläuung der Sauerstofforte in Rongalitweiß notwendigen Bedingungen. Diese Bläuung setzt voraus, daß der Leukofarbstoff ins Gewebe eindringt „und daß er in denjenigen Gewebselementen, welche ihn zu oxydieren vermögen, gespeichert wird“. Unna sagt weiterhin (p. 5): „Das Färbeergebnis ist in jedem Falle die Resultante zweier Affinitäten, der Affinität der Leukobase zu dem Gewebebestandteil und der Affinität des Sauerstoffes in demselben zur Leukobase.“ „Dieser Einfluß der Gewebeaffinität zur Leukobase nötigt uns zu einer vorsichtigen Deutung der Färbungsresultate. Wo wir eine Färbung konstatieren, ist sicher Sauerstoff vorhanden; wo aber die Färbung ausbleibt, wie vielerwärts im Protoplasma bei der RW II-Methode[3], kann ihr

[1]) Unna, Berl. klin. Wochenschr. 1913, No. 17, p. 3 d. Sep.

[2]) Unna, Die Darstellung der Sauerstofforte im tierischen Gewebe (Med. Klinik 1912, No. 23, p. 1).

[3]) Bei dieser Methode wird statt Methylenblau das ebenfalls basische Blau 1900 verwandt.

Ausbleiben an mangelnder Affinität der Gewebselemente zum Leukoblau 1900 beruhen, obwohl freier Sauerstoff vorhanden ist. Die RW-Methoden geben also — mit allen Kautelen ausgeführt — nur das Minimum freien Sauerstoffs an, diesen aber sicher und in der richtigen Verteilung." Das Moment der Speicherung spielt bei der Rongalitbläuung gewiß eine wichtige Rolle. Ich habe in meiner Arbeit bereits kurz darauf hingewiesen[1] und werde weiterhin noch einmal diesen Punkt berühren müssen. Hier interessiert uns jedoch vor allem das Zugeständnis Unnas, daß unter Umständen auch die sekundären Sauerstofforte durch Rongalitweiß nicht nachgewiesen werden.

Wenn also wirklich Sauerstofforte (im Sinne Unnas) im Gewebe existierten, so würde die Rongalitweiß-Methode doch nicht das leisten, was Unna von ihr erwartet, da sie weder primäre noch sekundäre Sauerstofforte mit Sicherheit darzustellen gestattet. —

Ich bin in meiner ersten Arbeit weitergegangen und habe behauptet, die Rongalitbläuung rühre vom Sauerstoff der Luft her, mit andern Worten: es sei dort, wo Bläuung des Rongalitweiß eintritt, nicht etwa freier Sauerstoff vorhanden, sondern, allgemeiner gesprochen, Sauerstoff tätig gewesen. Unna bestreitet das; er verwirft die von mir angewandte Methodik mit der Begründung, einwandfreie Ergebnisse könnten nur erzielt werden, wenn die Präparate nach Behandlung mit Rongalitweiß von Rongalit befreit würden. Für selbstverständlich erachtet er es, daß der aufgenommene Leukofarbstoff sich nicht bläuen könne, ehe nicht mit abgekochtem Wasser abgespült worden sei. Wenn Unna sich davon überzeugen wollte, wie schnell und intensiv sich Schnitte durch Pflanzengewebe färben, die man, nach anfänglicher Absperrung des Sauerstoffs, in Rongalitweiß liegend der Luft aussetzt, würde er das weniger selbstverständlich finden. Ich gebe aber gerne zu, daß sich „Sauerstofforte" in der Pflanzenzelle finden könnten, deren schwaches Oxydationsvermögen durch das reduzierende Rongalit verdeckt oder doch abgeschwächt werden möchte. Um daher festzustellen, ob nicht doch Unna mit seiner Methode auf dem rechten Wege sei, habe ich mich bei neuen Versuchen der Forderung Unnas, es müßten die Präparate nach der Behandlung mit Rongalitweiß ausgewaschen werden, unterworfen.

[1]) Schneider, l. c., p. 67.

In meiner ersten Arbeit habe ich bereits angegeben[1], daß Unna die Objekte, ehe er sie unbedeckt auf dem Objektträger untersucht, sukzessive in drei Glasröhrchen mit abgekochtem Wasser schüttelt. Die einwandfreie Methode, von der Unna in seinem „Brief an den Herausgeber" spricht, verläuft ebenso; nur wird nach ihr das Wasser im letzten Gläschen mit Paraffinum liquidum überschichtet. Ob die Untersuchung dann auch frei auf dem Objektträger stattfindet, wird bei der Beschreibung der Methode[2] nicht angegeben; in diesem Falle könnte von einer Verbesserung der ursprünglichen Methode keine Rede sein. Es scheint aber, als ob Unna die Bläuung der Schnitte im letzten Gläschen abwarte. Ist damit ein Fortschritt erzielt? Das ist eine Frage, die Unna sich nicht gestellt oder aber voreilig bejaht hat. — Ich habe nach der neuen Methode Unnas zahlreiche Präparate angefertigt, wobei mir als Objekte meist embryonale, bzw. epidermale Zellen von Phaseolus, Vicia, Pisum, Allium und Hyacinthus dienten. Das Resultat war, kurz gesagt, folgendes: Kern und Plasma färbten sich kräftig. Am schnellsten und auch intensivsten tingierten sich die Kerne, vor allem die Kernkörperchen; das Plasma bläute sich stets, manchmal in erheblichem Grade, schwächer und langsamer. Das Ergebnis dieser Versuche stimmt im allgemeinen mit dem von Unna für normale tierische Zellen angegebenen überein.

Somit scheint alles in Ordnung zu sein, ist es aber nicht. Ich will es dahingestellt sein lassen, ob, wenn wir die Sachlage vom Boden Unnascher Anschauungen aus betrachten, die Annahme gemacht werden dürfe, daß das Plasma kein Sauerstoffort sei bzw. keine diskreten Sauerstofforte enthalte. Die im Vergleich zur Kernfärbung schwache Bläuung des Plasmas stände ihr nach den Erklärungen Unnas und den Bemerkungen Godoletz'[3] über die Bedeutung der Kontraste in der Histologie nicht im Wege. Der unbefangene Beobachter würde aber vielleicht die Bläuung stärker finden, als nach jener Annahme zulässig wäre. Jedenfalls muß der Kern nach obigen Versuchen unbedingt als Sauerstoffort angesprochen werden, und zwar, da er immer energische Bläuung verrät, als ein solcher, der auch Sauerstoff zu speichern versteht, mithin die Eigenschaften

---

[1]) Schneider, l. c., p. 63, Anmerkung.

[2]) Unna, Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 17, p. 3 d. Sep.

[3]) Godoletz, Die Darstellung der Reduktionsorte und Sauerstofforte der Gewebe. Eine Antwort an F. W. Oelze. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. **31**, 1914, p. 300.)

primärer und sekundärer Sauerstofforte in sich vereinigt. Doch dem stellt sich ein unüberwindliches Hindernis entgegen: der Ausfall der Reduktionsfärbungen, der uns den pflanzlichen Zellkern als ausgesprochenen Reduktionsort kennen lehrte und zeigte, daß sich der Kern in Rongalitweiß nicht oder nur schwach bläuen dürfe. Unna wird nicht annehmen wollen, daß der Kern zugleich starker Reduktionsort und ebenso starker Oxydationsort sei, denn das würde den Ruin seiner Sauerstofflehre bedeuten. Auch wäre es gerade für ihn, der, sei es nun zu Recht oder Unrecht, die Sauerstoffbewegung in der Zelle mit der Eiweißlehre in engste Beziehung bringt, ein unzulässiges und mißliches Unternehmen, seine Theorie, soweit Pflanzenzellen in Betracht kommen, umzukehren durch die Annahme, daß hier das Plasma primärer, der Kern sekundärer Sauerstoffort sei, womit freilich die Schwierigkeiten zum großen Teil beseitigt wären; die sich aus dem Verhalten gegen basische und saure Farben und gegen Lösungsreagenzien ergebende prinzipielle Gleichheit des Aufbaues von pflanzlichen und tierischen Kernen träte ihm dabei hindernd in den Weg. In einer ähnlichen Verlegenheit befand sich übrigens Unna, als er mit sauren Leukofarben, Leukosäuregrün und Leukooreeïn, gearbeitet und dabei gefunden hatte, daß sich mit ihnen nicht der Kern, sondern das Plasma färbte. Er sagte damals[1]: „Man hat aber kein Recht, diese beiden Färbungen mit sauren Leukofarben auf besondere Sauerstofforte des Gewebes zurückzuführen. Sind es doch dieselben Orte, welche bei den Reduktionsfärbungen einen hervorragenden Grad von Reduktionsvermögen erkennen lassen.“ Nach Unnas Meinung lag also wohl Oxydation, nicht aber Oxydation durch die angefärbten, reduzierenden Orte vor. Wenden wir Unnas Schlußweise auf unseren Fall an, so müssen wir sagen: Die Färbung der Kerne pflanzlicher Zellen beruht nicht auf ihrer eigenen oxydativen Tätigkeit. Und es erhebt sich für uns von neuem die Frage: Wie kommt die Kernfärbung durch Rongalitweiß zustande?

Zu ihrer Beantwortung verlassen wir die Methode immanenter Kritik, die wohl Widersprüche zwischen den Ergebnissen Unnascher Methodik und Unnaschen Lehren aufzudecken, die Methode als solche aber nicht in ihrer Gültigkeit zu erschüttern vermag, und wenden uns den Tatsachen zu. Sobald man nicht mehr lediglich das Resultat,

[1]) Unna, Med. Klinik 1912, No. 23, p. 3; vgl. auch Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 17, p. 4 u. 5.

sondern die Genese der Bläuung, die die Objekte bei Anwendung der Rongalitweiß-Methode erfahren, näher ins Auge faßt, wird es schwer begreiflich, wie Unna eine Methode für einwandfrei halten und zur Grundlegung weitreichender Hypothesen verwenden kann, die ihre Unsicherheit so offen zur Schau trägt. Wenn man einen Schnitt aus Rongalitweiß in eine Schale mit gut abgekochtem Wasser überträgt und in ihr hin und her bewegt, sieht man alsbald eine sich mehr und mehr vertiefende Bläuung sowohl des Schnittes, als auch des abgekochten Wassers eintreten. Taucht man den Schnitt in der Absicht, seine Bläuung zunächst, vor völligem Auswaschen des Rongalit, möglichst hintanzuhalten, nur einen Augenblick in die erste und dann gleich in die zweite Schale, so tritt in dieser dieselbe Erscheinung in etwas abgeschwächtem Maße ein. Aber auch in der ersten Schale bläut sich das Wasser, trotz Entfernung des Schnittes, und beweist damit, daß es selbst zur Reoxydation des Leukofarbstoffs befähigt ist. Daß diese Bläuung nicht mit der anderen, die die Objekte beim Eintauchen in Rongalitweiß erleiden, in Beziehung steht, läßt sich leicht nachweisen. Man braucht dazu nur nach Unnas Verfahren die Schnitte im Gefäß mit Rongalitweiß einige Zeit zu bewegen und so die primäre Bläuung zum Verschwinden zu bringen. Bei Pflanzenschnitten, die sich oft energisch bläuen und nur langsam völlig entfärben, ist es zweckmäßig, zuvor die Luft durch Eintauchen der Objekte in abgekochtes Wasser und schnelles Evakuieren zu entfernen. Verfährt man so, dann bleibt zur Erklärung der in abgekochtem Wasser eintretenden Bläuung keine andere Annahme übrig, als daß in solchem Wasser noch Sauerstoff enthalten ist, der die Leukofarbe reoxydiert. Es ist mir nicht bekannt, ob sich durch Abkochen aller Sauerstoff aus Wasser vertreiben läßt; mir ist es jedenfalls nicht gelungen. Man kann aber, im Anschluß an eine unten zu erwähnende, von Unna herrührende Methode die Bläuung zunächst durch Auswaschen der Schnitte in Rongalitwasser verhindern. Am zweckmäßigsten schien es mir, die Schnitte zunächst in zwei Schalen mit $^1/_2$- bis 1prozentiger Rongalitlösung, die durch Zusatz von etwas HCl auf eben merklich saure Reaktion gebracht worden war, gründlich abzuspülen, dann einen Augenblick in etwas angesäuertem abgekochtem Wasser umzuschwenken und hierauf in reines abgekochtes Wasser zu bringen. Auf diese Weise vermag man die Schnitte ungebläut bis in das letzte Gefäß hinein zu übertragen, sieht aber in diesem dann doch Bläuung eintreten. Sie fällt schwächer aus als bei der Unnaschen Methode,

offenbar, weil die Wirkung des überschüssigen Leukofarbstoffs durch das Rongalitwasser verhindert wird. Doch tritt die Färbung, die zunächst nur die Kerne und in diesen vor allem die Kernkörperchen betrifft, nach einiger Zeit auf das Plasma über und vertieft sich auch noch.

Erst diese, das Unnasche Verfahren an Vorsicht in der Sauerstoffabsperrung übertreffende Methode verläuft bei pflanzlichen Objekten so, wie es Unna für seine Methode und seine Objekte angibt, und es lag mir deshalb daran, zu zeigen, daß auch bei dieser verbesserten Technik der von außen zutretende Sauerstoff die Bläuung der Objekte herbeiführt. Dazu mußte sie auf peroxydase- und sauerstofffreie Objekte angewandt werden. Zur Prüfung gelangten einerseits Stückchen von Filtrierpapier und anderem geleimtem Papier, die durch Abkochen bzw. durch Einlegen in absoluten Alkohol möglichst luftfrei gemacht worden waren, anderseits Schnitte von Pflanzenteilen (Phaseolus, Vicia Faba, Prunus Lauroceresus usw.), die ich durch abwechselnde längere Alkoholhärtung und kurzes Aufkochen von Peroxydasen und jeglichem freien Sauerstoff befreit hatte. Die Papierstückchen bläuten sich deutlich, aber nicht sonderlich tief, blau. Kräftiger war die Färbung der Schnitte, in denen sich die Kernkörperchen hervorragend und auch die Kerne deutlich stärker als das Plasma tingierten. Es ist hiermit erwiesen, daß die bei der Rongalitweiß-Methode in Pflanzengeweben erfolgende Bläuung durch von außen zutretenden Sauerstoff bewirkt wird.

Wenn auch das bisher dargestellte Ergebnis meiner Versuche schon zur Beurteilung der Rongalitweiß-Methode Unnas ausreicht, schien mir doch die Frage der Prüfung wert, ob denn das Objekt selbst nichts zur Förderung der Bläuung leiste oder, mit anderen Worten, ob bei vollkommenem Abschluß der Luft keine Bläuung eintrete. Nach der erforderlichen Methode brauchte ich nicht zu suchen. Unna hat, wie schon erwähnt, auch saure Leukofarben in den Kreis seiner Untersuchungen einbezogen und einen prinzipiellen Unterschied zwischen der Reoxydation der sauren und basischen Leukofarben feststellen zu können geglaubt. „Bei ersteren ist die Reoxydation im Gewebe sehr energisch und nur durch die allerstärksten reduzierenden Mittel zu verhindern. Sie findet im ausgekochten Wasser, ja selbst in Pyrogallol- und Phosphorwasser statt . . . Es werden offenbar alle Spuren von Sauerstoff aus der Umgebung mit großer Energie zur Reoxydation herangezogen und benutzt. Nur in Rongalitwasser

hält sich Leukoorceïn und ebenso Indigweiß unverändert[1]." Unsere obigen Feststellungen zeigen, daß kein prinzipieller, sondern höchstens ein gradueller Unterschied in der Leichtigkeit der Oxydation von Rongalitweiß und sauren Leukofarben besteht. Die am angeführten Orte[1] geschilderte Methode, welche Unna festzustellen erlaubte, daß die sauren Leukofarben sich ohne Zutritt von Luft nicht bläuen, ihre Bläuung also vom Außensauerstoff herrührt und mithin keine Sauerstofforte anzeigt, wird sich daher auch zur Untersuchung der mit Rongalitweiß behandelten Objekte bei Luftabschluß eignen. Sie verläuft folgendermaßen: Die, wie oben geschildert, in zwei Gefäßen mit $^1/_2$prozentigem Rongalitwasser abgespülten Schnitte kommen, ohne in reines Wasser getaucht worden zu sein, in ein etwa 10 cm hohes Gefäß, das bis zur Hälfte mit reinem abgekochtem Glyzerin, zur andern Hälfte mit Rongalitwasser gefüllt ist. Sie werden mit einer Glasnadel in das Glyzerin hinabgedrückt und dort beliebig lange festgehalten.[2] — Behandelt man Schnitte durch Pflanzengewebe in dieser Weise[3], so zeigt sich keine Spur von Bläuung, ob man nun Schnitte durch Stengel, Blätter und Wurzeln oder durch Fruchtknoten und junge Antheren (Magnolia, Ilex, Mahonia, Cornus mas usw.) zur Prüfung wählt. Auch einige Algen, deren ich trotz der Ungunst der Jahreszeit und der, wissenschaftliche Untersuchungen erschwerenden Zeitumstände habhaft werden konnte, habe ich nach der ursprünglichen Unnaschen und nach der zuletzt geschilderten Methode behandelt. Auf Verschiedenheiten ihres Verhaltens im Rongalitweiß, die meiner ersten Untersuchung den Tadel, „bunte" Ergebnisse gezeitigt zu haben, eintrugen und zuletzt doch auf einfache Unterschiede im Eindringen und in der Speicherung der Leukofarbe zurückgeführt werden können, gehe ich hier nicht ein; genug, daß auch sie sich ausnahmslos einer Bläuung unzugänglich zeigten, wenn gleichzeitig beide Bedingungen, Abschluß des Sauerstoffs und Entfernung des Rongalit, erfüllt wurden. — Es steht also fest, daß pflanzliche

[1]) Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 17, p. 5.

[2]) Über die Löslichkeit des Sauerstoffs in Glyzerin scheinen keine Bestimmungen vorzuliegen. Der Verlauf meiner Versuche zeigt, daß die geschilderte Unnasche Methode wirklich besseren Luftabschluß gewährleistet als das Eintauchen in abgekochtes Wasser.

[3]) Ich habe das zum Abspülen der Schnitte in der ersten Schale dienende Rongalitweiß stets vorsichtshalber auf eben merklich saure Reaktion gebracht.

Zellen sich in Rongalitweiß nur bei Zutritt von Sauerstoff bläuen. Es gibt in ihnen keine Sauerstofforte im Sinne Unnas. Damit ist die Unrichtigkeit sowohl der Unnaschen Methodik, als auch der durch sie begründeten Theorie, soweit pflanzliche Objekte in Betracht kommen, dargetan. Ich mache kein Hehl aus meiner Überzeugung, auch auf tierischem Gebiete werde sich die von Oelze bereits behauptete Unzulänglichkeit Unnascher Lehren weiterhin bestätigen lassen. Es bedürfte hierzu nur der von mir vorgenommenen, von Unna, soviel mir bekannt, noch nicht ausgeübten Übertragung der für saure Leukofarben bestimmten Methode der Luftabschließung auf basische.

Über den Verlauf der Bläuung von Zellen durch Rongalitweiß lassen unsere Versuchsergebnisse nur folgende Vorstellung zu: Das in die Schnitte eingedrungene Reagens wird durch von außen zutretenden Sauerstoff verküpt. Die entstehende, in unserm Falle basische Farbe findet in den Objekten Substanzen vor, die sie zu speichern vermögen. Sie schlägt sich am stärksten in den Elementen nieder, welche die größte Affinität zu ihr haben. So ist es leicht verständlich, warum bei Anwendung von Rongalitweiß vor allem die Kerne, d. h. die sauren Eiweiße in ihnen, gefärbt werden, während die Reoxydation saurer Leukofarben hauptsächlich Protoplasmatinktion ergibt. Wo die Verküpung des Leukofarbstoffs stattfindet, ist nicht bestimmend für den Ort der Speicherung der entstehenden Farbe. Beiläufig gesagt würde das selbst dann gelten, wenn es Sauerstofforte im Gewebe gäbe. Wäre der Kern von Sauerstofforten umgeben, so würde doch das dort reoxydierte Methylenblau mit Sicherheit auch, und zwar vorwiegend, an die sauren Eiweiße des Kerns gehen, falls nicht die an den Sauerstofforten lokalisierten Eiweiße eine noch stärkere Affinität zu ihm hätten. Es könnte also Bläuung eintreten an Stellen, die selbst nicht zur Oxydation befähigt wären, und von „richtiger Verteilung“ (s. p. 482) bei dem Nachweis des Sauerstoffs dürfte nicht die Rede sein. Aber ich brauche hierauf nicht mehr einzugehen. — Abgetötetes Protoplasma speichert Farben, die wir ihm darbieten, bekanntlich weit energischer als lebendes. Deshalb ist der Hinweis nicht unnütz, daß Rongalitweiß auf die lebende Zelle giftig wirkt. Es tötet Flagellaten und Protozoën sofort ab. Die von Membranen umgebenen Zellen höherer Pflanzen widerstehen ihm länger, lassen sich aber doch nach einiger Zeit nicht mehr plasmolysieren.

Unna stellt in einer seiner Schriften[1] einige Befunde zusammen, die nach seiner Ansicht gegen die Küpentheorie, die ich hier vertrete, sprechen. Am meisten Gewicht scheint er darauf zu legen, daß mit Zyankalium vergiftete Schnitte das Bild der „Sauerstofforte" nur noch schwach, das der Säureorte dagegen stark zeigen. Für Pflanzenzellen muß ich nun gerade dies bestreiten: Schnitte, die tagelang mit Zyankalilösung behandelt und dann in Wasser gut ausgewaschen worden sind, färben sich noch immer intensiv bei Anwendung der Unnaschen Methode. Aber wenn auch tierische Zellen sich so verhalten, wie es Unna angibt, ist damit doch noch nicht der Unterschied zwischen Sauerstofforten und Säureorten bewiesen. Zwei Bedenken sind dagegen zu äußern: 1) Unna weist die Säureorte mit polychromem Methylenblau nach. Ist man aber berechtigt, bei Anwendung dieser Farblösung dieselben Resultate zu verlangen wie bei Benutzung des ganz anders zusammengesetzten Rongalitweiß, bzw. des aus ihm in allmählicher Steigerung entstehenden „Rongalitblau"? Sicherlich nicht. Es dürfte sogar nicht leicht sein, eine mittlere Konzentration des Rongalitblau zu finden, deren Wirkung streng vergleichbar wäre der des allmählich aus Rongalitweiß sich bildenden Farbstoffs. 2) Unnas Folgerungen aus den an der genannten Stelle beschriebenen Versuchen setzen voraus, daß zuvor das Vorhandensein von Sauerstofforten unmittelbar erwiesen sei. Der direkte Nachweis solcher Orte ist aber gescheitert. Es liegt daher Unna ob, eine andere Erklärung der von ihm angegebenen Differenzen der Färbung mit Polychromblau und Rongalitweiß zu suchen. — An anderer Stelle[2] gibt Unna an, nach tagelanger Behandlung mit Rongalitlösung, mit Alkohol und Formalin ließen sich die Objekte nicht mehr nach seiner Methode bläuen. Bei pflanzlichen Geweben setzt die lange Einwirkung von Rongalitlösung die Färbbarkeit herab; über diese Tatsache gilt das oben Gesagte. Alkoholmaterial von Pflanzen bläut sich in Rongalitweiß dagegen sehr energisch und unterscheidet sich in dieser Hinsicht kaum von frischem Material. — Eine kritische Nachuntersuchung der Unnaschen Befunde an tierischen Zellen müßte den Einfluß der Reagentien auf die Eiweißkörper berücksichtigen. Für pflanzliche Objekte ist sie, nach unsern obigen Resultaten, überflüssig. —

Ich gebe zum Schluß eine Zusammenstellung der bewiesenen Sätze:

---

[1]) Unna, Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 13. p. 14.
[2]) Unna, Berlin. klin. Wochenschr. 1913, No. 17. p. 6.

1) Die Rongalitweiß-Methode Unnas könnte selbst bei der Annahme von besonderen Sauerstofforten im Gewebe nicht als zuverlässige Methode zu deren Nachweis gelten.

2) Die Reduktionsfärbungen, auf Pflanzenzellen angewandt, weisen die Ungültigkeit der Unnaschen Sauerstofftheorie auf pflanzlichem Gebiete nach; sie zeigen ferner, daß die Blaufärbung der Kerne durch Rongalitweiß nicht auf Oxydation des Reagens durch die Kerne selbst beruhen kann.

3) Durch Behandlung von Objekten, die frei von Oxydationsfermenten und freiem Sauerstoff sind, nach der Unnaschen Methode ergibt sich, daß von außen zutretender Sauerstoff die Bläuung bewirkt.

4) Durch Versuche mit frischem Material, bei strengerem Luftabschluß durchgeführt, ist klar erwiesen, daß **nur** von außen zutretender Sauerstoff die Reoxydation des Reagens besorgt und, zumindest bei pflanzlichen Zellen, Sauerstofforte im Sinne Unnas gar nicht existieren.

Die in meiner ersten Arbeit ausgesprochenen, die Unnasche Methodik und Sauerstofflehre verwerfenden Sätze haben sich demnach völlig bestätigt. Ich möchte übrigens nicht die Meinung aufkommen lassen, als ob ich dem Zellkern jegliches Oxydationsvermögen abstritte. Es lassen sich ja im Kern oxydierende Fermente feststellen, und auch die indirekten Methoden von Loeb, Spitzer u. a., mittels deren sich oxydative Fähigkeiten des Kerns erschließen ließen, mögen auf solche hinweisen. Zunächst aber: Daß Oxydationsfermente in den Prozeß der Bläuung durch Rongalitweiß eingreifen, war mir schon früher nicht sicher und scheint mir nach den hier beschriebenen Versuchen ausgeschlossen zu sein. Ferner hatte ich nur die Aufgabe, zu prüfen, ob die Rongalitweiß-Methode die an saure Eiweiße geknüpften „Sauerstofforte“ Unnas nachzuweisen imstande sei und ob es solche Sauerstofforte überhaupt gäbe. Keiner wird mehr als ich die Bemühungen Unnas anerkennen, eine Methode zu begründen, durch die sich die Orte in Zelle und Gewebe, wo Oxydationsprozesse stattfinden oder stattfinden können, nachweisen ließen, und nicht leicht wird es jemanden geben, der einem solchen Unternehmen nicht günstig gestimmt wäre. Ich meine aber bewiesen und hoffe selbst Unna zu der Überzeugung gebracht zu haben, daß bei der Ausarbeitung der Rongalitweiß-Methode nicht jenes Maß strenger, vor-

urteilsfreier Kritik zur Anwendung gelangt ist, welchem genügt zu haben eine Methode erst zu einer wissenschaftlichen macht, und daß die auf diese Methode gegründete Sauerstofftheorie für Pflanzen nicht gilt und auf tierischem Gebiete mindestens einer gründlichen Nachprüfung unterzogen werden muß.

[Eingegangen am 24. Februar 1915.]

Referate.

1. Lehr- und Handbücher.

Meyer, A., Erstes mikroskopisches Praktikum. Eine Einführung in den Gebrauch des Mikroskops und in die Anatomie der höheren Pflanzen. 3. Aufl. 255 pp. u. 110 Abb. Jena 1915. 6·50 M., geb. 7·50 M.

Diese neue Auflage des bekannten Meyerschen Praktikum ist gegen die vorige um 34 Seiten und fast ebenso viele Figuren vermehrt worden, kann sich also mit Recht eine „vervollständigte" nennen. Manche Erörterungen der früheren Auflagen sind jetzt zu selbständigen Abschnitten herangewachsen, wie die Besprechung des Velamen an Orchideenwurzeln, des Baues der Achse von Triticum und Foeniculus, der Kambiumentwicklung bei Clematis vitalba und Pisum sativum (Wurzel). Mehrere Abschnitte haben starke Erweiterungen erfahren; zu ihnen gehören alle das Laubblatt betreffenden Kapitel und die Besprechung des Zellkerns und seiner Teilung. Ganz neu sind Abschnitte über die Anordnung der Zellarten in den Organen, über den Vegetationspunkt der Wurzel und über das Mikrotom und die Färbetechnik. Dieser letzte, umfangreiche Abschnitt ist als zeitgemäß zu begrüßen. Er bespricht das Mikrotom (Schlittenmikrotom, Minotsches Mikrotom), die Herstellung von Membranpräparaten und von Präparaten zur Untersuchung der Protoplasten und das Studium der allotypischen Kernteilungen in Pollenmutterzellen. Mit Recht beschränkt sich Verf. dabei auf wenige Fixierungsmethoden, auf die Paraffin-Einbettungsmethode und auf eine geringe Zahl von Färbungen. Von den Protoplasmafärbungen werden das Heidenhainsche Eisenhämatoxylin-Verfahren und die Flemmingsche Dreifarben-Methode näher besprochen. Wie die früheren Auflagen, so bringt auch diese in einem besonderen Kapitel „Erläuterungen, kritische Anmerkungen und neue Tatsachen",

die mehr den Fortgeschrittenen als den Anfänger angehen. Der Standpunkt des Verf. kommt hier kräftig zum Ausdruck, besonders in Fragen der Terminologie. Auch enthält dieses Kapitel die Literaturangaben. Mit einer Zusammenstellung der Objekte, der Reagentien und einem guten Inhaltsverzeichnis schließt das empfehlenswerte Buch.

Hans Schneider (Bonn).

Höber, R., Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe. 4., neubearb. Aufl. Leipzig u. Berlin (W. Engelmann) 1914. XVII und 808 pp. geb. 20 M.

Die neue Auflage des vortrefflichen Handbuchs ist aus der 1911 erschienenen dritten durch wesentliche Umarbeitung hervorgegangen. Für den Mikroskopiker werden namentlich diejenigen Abschnitte, die über Permeabilität des Plasmas, Vitalfärbung usw. Auskunft geben, von Interesse sein.

Küster (Bonn).

Schmid, B., Biologisches Praktikum für höhere Schulen. 2. Aufl. Leipzig 1914. 2 M., geb. 2·50 M.

Wir beschränken uns auf eine kurze Anzeige des Büchleins. Den breitesten Raum nimmt die makroskopische Anatomie der für den Unterricht in Betracht kommenden Tiere ein. In dem botanischen Abschnitt, der den Wunsch nach besserer Abrundung rege macht, kommt das mikroskopische Moment mehr zur Geltung. Beide Teile schließen mit physiologischen Schulversuchen.

Hans Schneider (Bonn).

2. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Legendre, R., Simple tour de main pour obtenir une chambre microscopique (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **76,** 1914, no. 6, p. 265—266 av. 1 fig. dans le texte).

Verf. gibt eine sehr einfache Methode an, um sich eine feuchte Kammer zu mikroskopischen Beobachtungen herzustellen. Man faßt mit einer Pinzette ein Deckgläschen und hält nacheinander die vier Ecken in die Flamme eines Bunsenbrenners. Infolge der Erhitzung schmelzen diese Ecken schnell zu kleinen Kügelchen, die als Füßchen auf dem Objektträger aufruhen. Nach der Größe der Kügelchen richtet sich die Höhe der Kammer. Hält man alle vier Ecken während der gleichen Zeit in die Flamme, so werden die Kügelchen auch annähernd gleich groß.

Schiefferdecker (Bonn).

Arnold, J., Bemerkungen über intravitale, supravitale und postvitale Granulafärbung (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. **25**, 1913, No. 19, p. 849—853).

Die „intravitale Färbung" hat die Zufuhr der Farbstoffe in den lebenden Körper auf dem Blut- oder Lymphwege, in das Unterhautzellgewebe oder mittels Fütterung zur Voraussetzung. Die Beantwortung der Frage, ob lebende Bestandteile der Zelle mit bestimmten Farben sich färben, bietet wegen des komplizierten Sachverhaltes große Schwierigkeiten. Verf. bespricht dann die wesentlichsten hierauf bezüglichen Anschauungen. Nach seinen eigenen Erfahrungen erscheint es ihm fraglich, ob eine intravitale Färbung der gemeinen Mikrosomen, Plasmosomen im strengsten Sinne des Wortes angenommen werden darf. Bei der Neutralrotfärbung ist Verf. zu der Vorstellung gekommen, daß Plasmosomen erst bei ihrer Reifung und Umwandlung in Granula den Farbstoff annehmen. Hierbei spielt wahrscheinlich das Auftreten lipoider Substanzen eine Rolle. Die Bedingungen bei der Färbung mit sauren und basischen Farbstoffen sind wohl sicher verschieden, fraglich ist es dagegen, ob die Färbung mit basischen Farbstoffen, besonders Neutralrot, als eine postmortale aufgefaßt werden muß. Es ist sehr schwer, sicher nachzuweisen, ob die in Granula umgewandelten Plasmosomen abgestorben sind oder nicht, doch sprechen die Beobachtungen im allgemeinen für das letztere. Der Nachweis, daß Fett, Glykogen, Eisen, Hämoglobin bzw. Pigment und wahrscheinlich noch andere Substanzen, z. B. albuminöse, durch die Granula umgesetzt werden, ist deshalb besonders wichtig, weil diese Vorgänge von den vitalen und funktionellen Eigenschaften der Plasmosomen bzw. Granula Zeugnis ablegen. Außer den Prozessen der Synthese mag dabei auch eine granuläre Adsorption eine Rolle spielen. — Als „supravitale Färbung" bezeichnete man ursprünglich die Methode, bei der man die dem eben getöteten Tiere entnommenen kleinen Gewebsteilchen sofort in isotonische Salzlösungen, welche möglichst wenig Farbstoff enthielten, einlegte. Man hoffte auf diese Weise, Giftwirkungen und sonstige Veränderungen möglichst auszuschalten, überhaupt den bei der intravitalen Färbung vorhandenen Bedingungen nahe zu kommen. Bei beiden Methoden ergaben sich auch weitgehende Übereinstimmungen. Bei manchen Zellen trat eine ausgiebigere Granulafärbung als bei dem intravitalen Verfahren ein, vielleicht waren bei der supravitalen Färbung dadurch günstigere Bedingungen geschaffen worden, daß die Farbstoffe unmittelbar und in größerer Ausdehnung der Gewebsoberfläche einwirken konnten. Bei der Fortdauer der Lebensäußerungen der Zellen ist es nicht wahrscheinlich, daß diese Färbung erst durch eine tiefgreifende Veränderung der Granula ermöglicht wird. — „Postvitale Färbung." Neuerdings werden vielfach Verfahren, bei denen ganz andere Bedingungen als bei den supravitalen geschaffen werden, mit diesem Namen belegt. Von einem Überleben der Gebilde kann da nicht mehr die Rede

sein. Die große Bedeutung dieser Methoden rechtfertigt eine besondere Namengebung, Verf. möchte sie daher als „postvitale" bezeichnen. Oxydase-Färbungen würde er zu den postvitalen zählen, nicht zu den supravitalen. *Schiefferdecker (Bonn).*

3. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

A. Niedere Tiere.

Rosen, K. v., Studien am Sehorgan der Termiten nebst Beiträgen zur Kenntnis des Gehirns derselben (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 625—664 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Bei der Fixierung wurden die besten Resultate mit dem Gemisch von Carnoy erhalten und fast ebenso gute auch mit der Perényi-schen Flüssigkeit. Um ein besseres Eindringen der Fixierungsflüssigkeit zu ermöglichen, wurde fast immer der Kopf vom Thorax abgetrennt. Alle Schnitte wurden mit Boraxkarmin vor- und meist mit Methylenblau nachgefärbt. Die Färbungen mit letzterem wurden in stark verdünnten Lösungen in der Wärme vorgenommen.

E. Schoebel (Neapel).

Ramme, W., Die Bedeutung des Proventriculus bei Coleopteren und Orthopteren (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 419—456 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.).

Die zur Untersuchung gelangenden Tiere wurden teils zu Fütterungsversuchen verwendet, teils in Chloroform abgetötet, behufs Herauspräparierung des gesamten Darmtraktus. Es hat dies mit großer Vorsicht zu geschehen, damit der meist prall gefüllte Kropf und Mitteldarm nicht angeschnitten werden. Man öffnet Dytisciden und Carabiden am vorteilhaftesten auf der Dorsalseite, nachdem man die Flügeldecken abgehoben hat. Alle übrigen Insekten wurden auf der Ventralseite aufgeschnitten. Speziell für Locustiden empfiehlt sich folgende Präparationsmethode: Man schneidet das letzte Abdominalsegment ab, um den Enddarm vom After zu lösen. Während man nun das Tier am Halsschild festhält, faßt man mit einer Pinzette den Kopf desselben und zieht vorsichtig, bis sich dieser loslöst, und der mit ihm verbundene Darmtraktus in seiner ganzen Länge folgt. Außer Totalpräparaten vom Proventriculus wurden vor allem aber Schnittserien durch den gesamten Darmtraktus von fixiertem Material angefertigt. Zur Fixierung diente fast durchweg Sublimat-Eisessig (95 Teile konzentrierte Sublimatlösung, 5 Teile Eisessig) bei einer Einwirkungsdauer von 24 Stunden. Es empfiehlt sich, den zu fixieren-

den Darmtraktus an den Enden zwischen zwei Pinzetten zu fassen und, ehe man ihn losläßt, in ausgestrecktem Zustande etwa eine Minute im Fixierungsgemisch festzuhalten. Ohne diesen Kunstgriff krümmt er sich meist derart zusammen, daß es fast unmöglich ist, gut orientierte Schnitte zu erhalten. Nach der üblichen Weiterbehandlung wurde durch Chloroform in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die Schnittserien wurden durchweg mit Delafields Hämatoxylin gefärbt, dann nach van Gieson mit wässeriger Pikrinsäurelösung und Säurefuchsin nachbehandelt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

E. Schoebel (Neapel).

Loele, K., Beiträge zur Kenntnis der Histologie und Funktion des Hymenopterendarms (Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. **16**, 1914, H. 1, 2, p. 1—36 m. 1 Tfl. u. 10 Figg. im Text).

Zur Untersuchung kamen Vertreter der Familien der Apiden, Formiciden, Vespiden, Sphegiden, Chrysididen, Pompiliden, Ichneumoniden und Tenthrediniden. Abgetötet wurde teils mit heißem Wasser, teils wurden die Tiere im Cyankaliglase betäubt, worauf nach Wegnahme des Kopfes die möglichst rasche Auspräparierung des Darmkanales erfolgte. Für den Nachweis von Fett wurde fixiert mit starker Flemmingscher Flüssigkeit, die im allgemeinen leidliche Bilder lieferte. Zur histologischen Untersuchung erwies sich die von Frenzel und Semichon empfohlene Sublimat-Alkohol-Salpetersäure am vorteilhaftesten, da sie bessere Resultate als die zuerst angewendete Formol- oder Sublimat-Alkohol-Essigsäure ergab. Die meist 5 μ dicken Schnitte wurden bei osmiertem Materiale mit Hämalaun oder Hämatoxylin (Delafield) gefärbt, im übrigen auch in dieser Weise und außerdem hauptsächlich mit dem Eisenhämatoxylin von Heidenhain. Andere ebenfalls versuchte Fixierungs- und Färbungsmethoden zeigten keine besonderen Vorteile. *Schiefferdecker (Bonn).*

Caesar, J., Die Stirnaugen der Ameisen (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 161—240 m. 29 Figg. u. 4 Tfln.).

Zur Untersuchung kamen Vertreter der Camponotinen, Myrmicinen und Dolychoderinen. Die Tiere wurden dekapitiert und die Köpfe allein hauptsächlich mit dem erwärmten Sublimatgemisch von Gilson-Petrunkewitsch fixiert. Eingebettet wurde in Celloïdin-Paraffin, und die Schnitte erhielten meist eine Färbung mit Delafields Hämatoxylin kombiniert mit Eosin. Für das Studium der feineren histologischen Verhältnisse und vor allem für die Erkennung der Stäbchen erwies sich Heidenhains Eisenhämatoxylin bei Vorfärbung mit Bordeauxrot als die brauchbarste Färbung. Zur Entfernung des Pigmentes dienten die Gemische von Grenacher (1 Teil Glyzerin, 2 Teile 80prozentiger Alkohol und 2 bis 3 Prozent Salzsäure) und von Seiler (70 Teile

1prozentige Chromsäurelösung, 3 Teile Salpetersäure, 200 Teile Wasser). *E. Schoebel (Neapel).*

Kühn, A., Die Sonderung der Keimesbezirke in der Entwicklung der Sommereier von Polyphemus pediculus de Geer (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 243—340 m. 14 Figg. u. 7 Tfln.).

Unter den Cladoceren ist Polyphemus sicher eines der günstigsten Objekte für die entwicklungsgeschichtliche Forschung. Infolge ihrer Dotterarmut sind die lebenden Eier sehr durchsichtig; nicht nur die Kerne, sondern häufig auch die Strahlungen der Furchungsspindeln sind zu erkennen. Die Entwicklung verläuft ziemlich rasch, so daß sich an einem Ei mehrere Stadien verfolgen lassen. Leider läßt sich aber der Vorteil der Lebendbeobachtung wegen der großen Empfindlichkeit der Muttertiere nicht voll ausnützen. Da die heranwachsenden Jungen im Brutraum der letzteren die für die Entwicklung nötige Nahrung erhalten, beeinflußt jede Schädigung des Elternorganismus auch ihre Entwicklung störend. Aus diesem Grunde mußte die Untersuchung hauptsächlich an fixiertem Material ausgeführt werden. Fixiert wurde immer gleich nach dem Fang an Ort und Stelle, und zwar in erster Linie mit Sublimat-Eisessig. Ganze Embryonen mit Alaunkarmin oder Hämalaun gefärbt ergeben gute Totalbilder der frühen Stadien und auch Oberflächenansichten der späteren, die beide als Ergänzungen zu den Schnitten wichtig sind. Die geringe Größe der Eier von Polyphemus hat für die Untersuchung Vorteile und Nachteile. Sie macht eine Einzelbehandlung, Einbetten, Orientieren der jungen Embryonen unmöglich, so daß man die zufällige Lage der Schnittrichtung mit in den Kauf nehmen muß. Da aber in jedem Brutraum mehrere Eier sich befinden, die auf gleicher Entwicklungsstufe stehen, erhält man immer in einer Serie verschieden orientierte Schnitte durch dasselbe Stadium. Die geringe Größe der Eier erlaubt anderseits die Vorteile des Totalpräparates mit denen der Schnittbehandlung zu verbinden, wenn man nämlich eine verhältnismäßig große Schnittdicke wählt, so daß ein junger Embryo nur auf 4 bis 6 Schnitte sich verteilt. Die Schnitte wurden entweder mit Delafields Hämatoxylin oder Hämateïn und dann mit Eosin, Orange G oder Pikrokarmin gefärbt, zum größten Teile aber mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain unter Nachfärbung mit Lichtgrün oder Eosin.

E. Schoebel (Neapel).

Schaefer, R., Die Entwicklung der Geschlechtsausführwege bei einigen Cestoden mit besonderer Berücksichtigung der Epithelverhältnisse (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 583—624 m. 2 Figg. u. 6 Tfln.).

Fixiert wurde meistens mit konzentrierter Sublimatlösung oder Sublimat-Eisessig und nur in einzelnen Fällen mit Flemmingscher Lösung. Um die Tiere gut gestreckt zu erhalten ist folgendes Verfahren zu empfehlen. Auf eine Glasplatte wird ein Streifen Filtrierpapier gelegt, der mit Fixierungsflüssigkeit getränkt ist. Dann faßt man den lebenden Wurm am hinteren Ende, so daß der Kopf nach unten hängt, legt den Kopf auf das Papier, streckt das ganze Tier, sobald es mit seinem Kopf festhängt, auf dem Papier aus und deckt es mit einem zweiten ebenfalls mit Fixierungsflüssigkeit durchtränkten Papierstreifen zu. Die Färbung der Schnitte wurde mit Hämatoxylin-Eosin, Eisenhämatoxylin-Fuchsin und mit den Methoden von Mallory und Blochmann für Bindegewebe ausgeführt. Bei der Mallory-Färbung wurde die Behandlung mit Phosphormolybdänsäure weggelassen und direkt von Säurefuchsin in das Gemisch von Anilinblau, Orange G und Oxalsäure übergegangen. Bei der Blochmannschen Methode überfärbt man die Schnitte sehr stark mit Eosin und läßt sie dann so lange in der Lösung von Wasserblau in gesättigter Pikrinsäure, bis sie braun erscheinen. *E. Schoebel (Neapel).*

Schaxel, J., Versuch einer cytologischen Analysis der Entwicklungsvorgänge. 1. Die Geschlechtszellenbildung und die normale Entwicklung von Aricia foetida Chap. (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **34**, 1912. p. 381—472 m. 10 Figg. u. 13 Tfln.). 2. Die abnorme Furchung von Aricia foetida Chap. (ibid. Bd. **35**, 1913, p. 527—562 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.).

Während bei den Eizellen die Genese einem eingehenden Studium unterworfen wurde, beschränkte sich dieses bei den Spermatozoën auf ihren Bau im ausgebildeten Zustand. Da infolge der Kleinheit der jüngeren und der Undurchsichtigkeit der älteren Stadien mit der Lebendbeobachtung nicht viel zu erreichen ist, wurden die Untersuchungen an fixiertem Material ausgeführt. Zur allgemeinen Orientierung genügen Schnitte durch ganze Segmente. Für die feinere Cytologie ist aber der Erhaltungszustand der Eibildungszellen in solchem Material unzureichend. Es wurden deshalb durch Anschneiden des lebenden Tieres, dessen Kontraktionen in einem trocknen großen flachen Uhrglas infolge Haftenbleibens durch klebrige Sekrete unmöglich gemacht waren, die Eibildungszellen in Blut oder Leibeshöhlenflüssigkeit zum Ausfließen gebracht und sofort mit der Pipette in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. Nach vielerlei Versuchen wurde das Material immer behufs Kontrolle in drei Portionen fixiert: in 6prozentiger Sublimatlösung mit einem minimalen Zusatz von Essigsäure, in Flemmings starkem Gemisch und in Hermanns Flüssigkeit. In der Sublimatlösung verblieben die Objekte 12 Stunden und wurden dann mit einer Lösung von 10 Prozent Jodkalium und

10 Prozent Jod in 35prozentigem Alkohol behandelt. Das Flemming- und Hermann-Material wurde nach 24stündigem Fixieren etwa 3 Stunden in fließendem Wasser ausgewaschen. Ferner kamen das Bendasche und Altmannsche Verfahren zur Verwendung. Zu Totalpräparaten wurde immer Sublimatmaterial benutzt. Sie wurden mit verschiedenen Karminfarben oder Hämalaun tingiert und in Nelkenöl untersucht. Für Schnittpräparate wurden die Objekte unter Vermeidung einer längeren Aufbewahrung in Alkohol nach Xylol-, Chloroform- oder Terpineoldurchtränkung in Paraffin eingebettet, wobei der Aufenthalt im Wärmeschrank so kurz wie möglich bemessen wurde. Gefärbt wurden die Schnitte teils mit den verschiedensten Karmin-, Hämatoxylin- und Anilinfarben, und zwar meist progressiv, teils für elektive Färbungen mit Farbgemischen. Die Spermatozoën wurden auf dieselbe Weise wie das Eimaterial gewonnen und fixiert und dann zur Untersuchung durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Nelkenöl-Kollodium gebracht. Von der an Spermatozoën überreichen Masse wurde dann ein Tropfen auf einen Objektträger übertragen, der nach Art eines Ausstrichpräparates an einem anderen abgestrichen wurde. Das Präparat konnte dann unter Vermeidung von absolutem Alkohol beliebig weiter behandelt werden. Durch die Verwendung von Terpineol wurde auch das Auflegen eines Deckglases mit Kanadabalsam ermöglicht. — Fixierung, Anfertigung von Total- und Schnittpräparaten und Färbung für die Untersuchung der Entwicklung wurden in derselben Weise, wie für die Eibildung angegeben, ausgeführt.

E. Schoebel (Neapel).

Young, R. T., The histogenesis of the reproductive organs of Taenia pisiformis (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 355—410 m. 4 Tfln.).

Das für vorliegende Untersuchungen gebrauchte Fixierungsmittel war hauptsächlich starke Flemmingsche Lösung, die entschieden bessere Resultate als Sublimatlösungen gab. Die nach Paraffineinbettung hergestellten Schnitte wurden mit Heidenhains Eisenhämatoxylin und hinterher schwach mit Eosin gefärbt. Totalpräparate isolierter Eier, die für manche Zwecke recht brauchbar sind, wurden mit Delafields Hämatoxylin und Eosin tingiert. Bei der Herstellung der Mikrophotogramme erwies sich die Nernst-Lampe dem Bogenlicht überlegen.

E. Schoebel (Neapel).

B. Wirbeltiere.

Rio Hortega, P. del, Investigations sur le tissu musculaire lisse (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **11**, 1913, fasc. 3, p. 177—185 c. 6 figg.).

Die Methoden von Achúcarro und von Bielschowsky lassen das interfibrilläre Bindegewebe gut hervortreten im Darme, im Magen, im Uterus, die klarsten Bilder aber wurden erhalten in der Harnblase, die parallel zu ihrer Oberfläche geschnitten und gefärbt wurde mit der Methode von Bielschowsky in der folgenden Modifikation: 1) Die Schnitte, an denen noch Spuren von Formol haften müssen, kommen in eine 2prozentige Lösung von Silbernitrat. 2) Die Einwirkung der ammoniakalischen Silbernitratlösung muß so lange dauern, bis die Schnitte dunkelbraun geworden sind. 3) Reduktion in einer 20prozentigen Formollösung. 4) Entfärbung in Eisenalaun und Ammoniakalaun, 3prozentig. Die Entfärbung darf nicht zu stark sein. 5) Auswaschen in reichlichem Wasser. 6) Entwässerung, Nelkenöl, Xylol, Balsam.

Schiefferdecker (Bonn).

Arnold, J., Über die Granula der eosinophilen Zellen und der Mastzellen (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. **24**, 1913, No. 15, p. 673—682).

Bei seinen Untersuchungen über eosinophile Zellen hat Verf. gefunden, daß die eosinophilen Granula unter sich durch Zwischenglieder und mit den fadignetzförmigen Gerüstsubstanzen in Beziehung stehen. Sie konnten daher nicht Sekrettropfen oder Erythrozytentrümmer sein, sondern mußten als Strukturbestandteile des Zellplasmas, als „Fadenkörner" angesehen werden. Der sichere Nachweis hierfür ist schwierig an konservierten Objekten, um so sicherer gelingt er bei der Isolierung der Granula: man trägt beim Frosche am Femur die Gelenkenden ab, sprengt den Knochenmarkkanal auf und entnimmt diesem mit der Nadel vorsichtig kleine Teilchen des Markes. Bei Kaninchen, Meerschweinchen usw. trägt man einen kleinen Sektor mit der Säge ab und schiebt den Knochenmarkzylinder mittels eines Stäbchens heraus. Die frischen Knochenmarkstückchen werden unmittelbar in eine 10prozentige Jodkalium-Eosinmischung oder in eine 0·2- bis 0·5prozentige Osmiumsäurelösung für 6 bis 12 bis 24 Stunden eingelegt, in der Suspensionsflüssigkeit zerzupft und eingedeckt. Bei Anwendung der Jodkaliummischung beginnt die Isolierung früher; die Zwischenglieder verändern sich aber bald, werden ausgezogen und schließlich gelöst. Die Isolierung mittels der Osmiumsäurelösung erfolgt langsamer, aber auch schonender; die Zwischenglieder und die Gerüstsubstanzen bleiben besser erhalten. Es gelingt ferner an solchen Präparaten besser, Einzelheiten über die feinere Struktur beider zu ermitteln. Manche Granula und Fäden scheinen von einer meistens sehr dünnen Lage einer mit Osmium sich leicht schwärzenden Substanz überzogen zu sein.

Schiefferdecker (Bonn).

Torraca, L., Alcune osservazioni sui condriosomi delle cellule cartilaginee nella coda del tritone rigenerante (Anat. Anzeiger Bd. **45,** 1914, No. 18/19. p. 459—474 m. 5 Figg. im Text).

Als Untersuchungsobjekt wurde der Triton gewählt wegen der großen Regenerationsfähigkeit seiner Gewebe, der Größe seiner Zellen, der Leichtigkeit, mit der an ihm die Versuche auszuführen und die Resultate zu beobachten waren, und dann weil das neugebildete Knorpelskelett bei diesen Tieren provisorisch ist und dazu bestimmt, teilweise zu verknöchern. Verf. hat versucht, das Schicksal der Chondriosomen in den Knorpelzellen desjenigen Teiles des Gewebes festzustellen, das in Knochen umgewandelt wird. Bei einer Anzahl von Exemplaren von Triton cristatus wurde der Schwanz etwa in der Mitte seiner Länge abgeschnitten. Man wartete die Regeneration ab und die neugebildeten Schwänze wurden in verschiedenen Entwicklungsstadien fixiert. Technik: 1) Fixierung in der Flüssigkeit von Regaud (Kaliumbichromat, 3prozentige Lösung, 8 Teile, Formol 2 Teile) während 3 bis 4 Tagen. Bei der geringsten Trübung wurde die Flüssigkeit erneuert, im Durchschnitte ein paarmal. 2) Entkalkung in einer 3prozentigen wässerigen Lösung von Salpetersäure (4 Tage), oder in einer 1prozentigen wässerigen Lösung von Chromsäure (5 bis 6 Tage) oder einer Mischung dieser beiden Lösungen zu gleichen Teilen (4 bis 5 Tage), alle drei Methoden ergaben gute Resultate. 3) Längeres Auswaschen in fließendem Wasser. 4) Chromierung in einer 3prozentigen Lösung von Kaliumbichromat (10 Tage), wobei die Flüssigkeit mehrmals erneuert wurde. 5) Auswaschen in fließendem Wasser. 6) Entwässerung in Alkohol, Einschluß in Paraffin, Serienschnitte von 5 μ Dicke. Färbung (nach Heidenhain): 1) Beizung für 24 Stunden in einer 2·5prozentigen Lösung von Eisenalaun. 2) Färbung in einer 1prozentigen Hämatoxylinlösung 24 Stunden. 3) Schnelles Auswaschen in fließendem Wasser. 4) Entfärbung in derselben Eisenalaunlösung, die zur Beizung benutzt worden war. 5) Längeres Auswaschen in fließendem Wasser, bis das Präparat gut blau geworden ist. Entwässerung, Einschluß in Kanadabalsam.

Schiefferdecker (Bonn).

Mironesco, Th., Préparations permanentes d'amyloïde par la méthode de Hottinger et Renaut (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **76**, 1914, no. 5, p. 215—216).

Zur histopathologischen Diagnose des Amyloids wird gewöhnlich verwendet die Jodreaktion und die Färbung mit Methylviolett oder Gentianaviolett. Die so erhaltenen Präparate sind wenig dauerhaft, da der Alkohol die Farbe auszieht. Man kann indessen auch haltbare Präparate gewinnen auf dem Prinzipe der zuerst von Hottinger für die Fettfärbung mit Scharlach angegebenen Methode, die sich

wieder auf dasselbe Prinzip gründet wie die von Renaut: man vermeidet hierbei den Alkohol. Methode: die mit dem Gefriermikrotom angefertigten Schnitte kommen in Wasser und werden dann in der folgenden Weise behandelt: 1) Färbung mit einer 1prozentigen Lösung von Methylviolett (1 bis 2 Minuten). 2) Auswaschen in einer 2prozentigen Essigsäurelösung (2 bis 3 Minuten). 3) Auswaschen in destilliertem Wasser. 4) Man läßt das Wasser abtropfen und setzt 1 bis 2 Tropfen einer konzentrierten und ziemlich durchsichtigen 30- bis 40prozentigen Lösung von Gummi arabicum zu. 5) Man bringt das Präparat für kurze Zeit in den Thermostaten, bis der Gummi auf der Oberfläche getrocknet ist. 6) Aufheben in Kanadabalsam. So erhält man schöne und dauerhafte Präparate. Der schwierigste Teil der Behandlung ist der mit Gummi arabicum. Die Austrocknung des Gummi darf nicht zu weit gehen, sonst verliert das Präparat seine Durchsichtigkeit. Ist sie nicht hinreichend, so kann das dünne Oberflächenhäutchen durch den Kanadabalsam zerrissen werden.

Schiefferdecker (Bonn).

Gottlieb, B., Die vitale Färbung der kalkhaltigen Gewebe (Anat. Anzeiger Bd. **46**, 1914, No. 7, 8, p. 179—194).

Verf. bespricht genau die Literatur und teilt eine Reihe von eigenen Untersuchungen über die Krappfärbung mit. Er kommt zu den folgenden Schlüssen: viele Punkte sind noch nicht sichergestellt, da die betreffenden experimentellen Untersuchungen noch ausstehen. Nach dem, was heute bekannt ist, ist 1) das Alizarin der wirksame Bestandteil im Krapp. 2) Ist der Krapp und in ihm das Alizarin ein vitaler Farbstoff für die kalkhaltigen Gewebe, sowohl bei der Darreichung per os als auch bei der parenteralen Anwendung, und zwar handelt es sich dabei um die Bildung der Kalkalizarinverbindung. 3) Färben sich bei Krappfütterung in erster Reihe die während der Fütterung abgelagerten Kalksalze. Ob überhaupt und in welchem Maße die alten Kalksalze per os gefärbt werden können, muß noch unentschieden gelassen werden. 4) Ist man imstande, durch parenterale Einverleibung eines Alizarinsalzes (alizarinsulfosaures Natrium) das ganze Knochensystem elektiv zu färben. — Über die Wirkung dieser vitalen Färbung auf das Zahngewebe will Verf. demnächst genauer berichten.

Schiefferdecker (Bonn).

Deineka, D., Beobachtungen über die Entwicklung des Knochengewebes mittels der Versilberungsmethode. I. Die Entwicklung der Knochenzellen in perichondralen Prozessen (Anat. Anzeiger Bd. **46**, 1914, No. 5, 6, p. 97—126 m. 16 Figg.).

Beim Studium des Binnennetzes in den Zellen der verschiedenen Gewebe, so auch des Knochengewebes der Säugetiere, mittels des

Versilberungsverfahrens von Golgi (Arch. ital. de Biol. t. 49, 1908), fand Verf., daß dieses Verfahren in einigen Fällen nicht nur das Binnennetz, sondern auch das Chondriom deutlich macht, was übrigens auch schon bekannt ist. Die Bilder, welche Verf. in den Zellen verschiedener sich entwickelnder Gewebe von Säugetierembryonen erhielt, indem er die Fixierungsdauer in dem von Golgi empfohlenen Gemische, die Konzentration sowie die Einwirkungsdauer des salpetersauren Silbers abstufte, stimmen so vollständig mit den bekannten Bildern des Chondrioms nach den anderen Methoden überein, daß die Identität derselben zweifellos ist, es geht hieraus sicher hervor, daß das Silbernitrat auch die Elemente des Chondrioms unter diesen Bedingungen zu imprägnieren vermag. Diese treten intensiv dunkel hervor auf dem hellen Grunde des bisweilen völlig ungefärbten Cytoplasmas. Die Versilberungsmethode wirkt in diesem Falle als echte Mitochondriamethode. Im Knochengewebe werden außerdem dabei die Fortsätze der Knochenzellen (Knochenkanälchen), zum Teile auch die Knochengrundsubstanz gefärbt, wobei das Verfahren ausgezeichnet mit dem Entkalkungsprozesse zu verbinden ist. Verf. hat weiter einige andere Modifikationen des Versilberungsverfahrens ausprobiert, welche zum Studium des Nervensystemes vorgeschlagen worden sind (die verschiedenen Formeln von Cajal), und konnte sich davon überzeugen, daß einige derselben, indem sie die Knochenkanälchen und zum Teile die Grundsubstanz imprägnieren, nicht nur ein hübsches Bild des Baues des erwachsenen und des sich entwickelnden Knochens ergeben, sondern auch zur Klarstellung der aufeinander folgenden Veränderungen der Osteoblasten, der Knochen- und Knorpelzellen im Verlaufe des Entwicklungsprozesses des Knochens angewandt werden können. Zur Imprägnierung des Chondrioms in den verschiedenen Zellen des sich entwickelnden Knochens wurde das Golgi-Verfahren folgendermaßen angewandt: 1) Fixierung in der Mischung von: Alkohol, 96prozentig, 30 cc, gesättigte Lösung von arseniger Säure 30 cc, Formol, 20prozentige Lösung, 15 Minuten bis 1 Stunde. 2) Salpetersaures Silber, 0·25- bis 0·75prozentige Lösung, 1 bis 3 Tage. 3) Abspülen in destilliertem Wasser. 4) Übertragen in die Reduktionsflüssigkeit: Hydrochinon 2·0 g, Natrium sulfurosum 0·5 g, Formol 5 cc, destilliertes Wasser 100 cc, 24 Stunden. 5) Abspülen in destilliertem Wasser. 6) Steigender Alkohol bis zu absolutem Alkohol im Verlaufe von 24 Stunden. 7) Alkohol abnehmender Stärke bis 50prozentig im Verlaufe von 24 Stunden. 8) Destilliertes Wasser 1 Stunde. 9) Salzsäure, 2prozentige Lösung, 1 bis 3 Tage. 10) Abspülen in destilliertem Wasser, steigender Alkohol, Einbettung in Celloïdin. 11) Die Schnitte (5 bis 10 μ dick) werden für 20 bis 30 Minuten in destilliertes Wasser gebracht, das mehrfach gewechselt wird. 12) Vergoldung: zu einer Lösung von 3·0 g Ammoniumrhodanat in 100 cc einer 3prozentigen Hyposulfitlösung werden 10 cc einer 1prozentigen Goldchloridlösung zugesetzt. Hierin bleiben die Schnitte

5 bis 15 Minuten, wobei das Gefäß geschüttelt werden muß. 13) Abspülen in fließendem Wasser 20 bis 30 Minuten. 14) Destilliertes Wasser 15 Minuten. 15) Überführen der Schnitte in ein Gemisch von 100 cc destillierten Wassers, dem eine 1prozentige Lösung von Kalium hypermanganicum bis zur Rotfärbung und 2 bis 3 Tropfen Schwefelsäure zugesetzt sind, 2 bis 3 Minuten. 16) 1prozentige Oxalsäurelösung 1 bis 2 Minuten. 17) Destilliertes Wasser, Färben der Schnitte in einer gesättigten wässerigen Lösung von Cochenille 30 Minuten bis 1 Stunde, Wasser, Alkohol, Xylol, Xylol-Damarlack. — Die größte Bedeutung für eine gelungene Imprägnation des Chondrioms hat die Fixierungsdauer: für kleine Stücke junger Embryonen darf dieselbe nicht mehr als 15 bis 20 Minuten betragen, wobei das Gefäß mit den Stückchen geschüttelt werden muß, verhältnismäßig große Stücke der Extremitäten oder des Kopfes größerer Embryonen können in dem Fixierungsgemische über 1 Stunde, aber nicht länger als 2 bis 3 Stunden verbleiben. Von den Methoden von Cajal war die geeignetste für eine Imprägnation der Knochenkanälchen die folgende: 1) Fixierung in Formol, 12prozentige Lösung, 2 bis 3 Stunden. 2) Salpetersaures Silber, 1·5- bis 2prozentige Lösung, 3 bis 4 Tage. 3) Destilliertes Wasser, Reduktionsmischung usw. — Als Material für die Untersuchung des Knochengewebes dienten Extremitäten und verschiedene Teile von Köpfen von Embryonen verschiedener Säugetiere: Schwein, Rind, Hund, Katze, Meerschweinchen, menschliche Embryonen. In allen Fällen wurde das Material unmittelbar nach dem Tode des Tieres fixiert, das menschliche Material eine halbe bis 1 Stunde nach dem Abort. *Schiefferdecker (Bonn).*

Lapinsky, M., Zur Innervation der Hirngefäße (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1913, Anatomische Abteil., Suppl.-Bd., p. 163—171).

Verf. färbte die Hirngefäße bei Hund und Kaninchen nach dem von Leontowitsch modifizierten Verfahren von Ehrlich-Bethe. Technik: In die Carotis des entbluteten Tieres wurde eine 0·5prozentige oder 0·25prozentige Lösung von Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Es wurden drei Injektionen in Abständen von je 5 Minuten gemacht. Nach der dritten Injektion wurde der Schädel des Versuchstieres mittels starker löffelförmiger Zangen rasch eröffnet und dem Großhirne wurden Teile, in denen man Gefäße vermuten konnte, entnommen. Diese Stückchen wurden auf kleinen, gitterförmigen Unterlagen ausgebreitet und in die feuchte Kammer gebracht. Gewöhnlich handelte es sich hierbei um Abschnitte der weichen Hirnhaut aus der Konvexität oder der Basis cerebri, um Teile des Plexus chorioideus aus dem 3. Ventrikel, um Stückchen aus der Hirnrinde und dem Centrum Vieussenii. Der feuchten Kammer wurde von Zeit zu Zeit frischer Sauerstoff zugeführt. Die der Wirkung

der Farbe ausgesetzten Objekte wurden alle 2 bis 3 Minuten unter dem Mikroskope bei schwacher Vergrößerung besichtigt. Konnte man in den den Gefäßen anliegenden Gewebeteilen oder in den Wandungen der Gefäße eine Nervenfaser erkennen, so wurde das Objekt nach nochmaligem kurzem Aufenthalte im Sauerstoffe der feuchten Kammer in die Fixierungslösung gebracht: Ammonium picronitricum, Mischung von molybdänsaurem Ammonium mit Rubidiumchlorid, Platinchlorid, Palladiumchlorid, Eisalkohol usw. Eine Woche später konnte man die endgültig fixierten, aufgehellten und in Kanadabalsam eingeschlossenen Präparate unter starker Vergrößerung betrachten. An den so hergestellten Präparaten fanden sich innerhalb der Gefäßwandungen und an der äußeren Oberfläche Nervenfasern. *Schiefferdecker (Bonn).*

Szécsi, St., Eine neue Methode zur Untersuchung des Liquor cerebrospinalis (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39,** 1913, No. 52, p. 2558—2559).

Verf. hat sich bei seinen früheren Studien stets bemüht, die Zellen des Liquor cerebrospinalis nach einem hämatologischen Gesichtspunkte zu klassifizieren und sie auch mit hämatologischen Methoden zu untersuchen. Später hat Verf. zu diesen Untersuchungen empfohlen Modifikationen der Methylgrün-Pyronin-, der Leishman- und der May-Giemsa-(Pappenheim-)Färbung. Neben diesen Methoden hat er in letzter Zeit noch ein Verfahren für die Liquorzellen ausprobiert, das in der Hämatologie schon lange benutzt wird: die sogen. „Oxydasereaktion". Verf. hat nun gefunden, daß die Zellen des Liquor bei bestimmten Krankheiten die Oxydasereaktion geben, bei anderen nicht. Diese Reaktion ist daher unter Umständen eine sehr zuverlässige differentialdiagnostische Methode. Methode: Der noch feuchte Ausstrich wird mit der beschickten Seite nach unten auf eine Flasche mit Formol (40prozentig) gehalten und so durch die Dämpfe 5 Minuten lang fixiert. Die an der Luft getrockneten Ausstriche werden dann nach der Methode Schultze B weiter behandelt, d. h. sie kommen für 3 bis 5 Minuten in eine zu gleichen Teilen hergestellte Mischung von 2prozentiger wässeriger Lösung von β-Naphtholnatrium (= Mikroeidin von E. Merck) und einer 1prozentigen wässerigen Lösung von Dimethylparaphenylendiaminchlorhydrat. Das Präparat wird dabei fast dunkelblau, man untersucht es unter Wasser unter dem Mikroskop. In den positiven Zellen sieht man dabei kleinere und größere, blaue bis blaugrüne Granula. — Vielleicht ist die Methode nach Verf. geeignet, in differentialdiagnostisch schwierigen Fällen die sogen. „4 Reaktionen" günstig zu ergänzen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Mühlmann, M., Beiträge zur Frage nach der Ursache des Todes (Virchows Arch. Bd. **215**, 1914, H. 1, p. 1—76 m. 8 Figg. im Text u. 4 Tfln.).

Verf. hat die lipoiden Körner in den Nervenelementen untersucht, und zwar in drei Formen: Körnchenzellen, lipoides Pigment und Marchi-Schollen. Die reiche Pigmentbildung in der Nervenzelle des Erwachsenen macht die Untersuchung der frischen, unbehandelten Zellen schwierig: man kann unter solchen Umständen nur sehr unsicher beurteilen, ob die Menge des Fettes vermehrt oder vermindert ist. Der Pigmentgehalt der Nervenzellen bei Kindern ist zwar geringer, die Färbung auch spärlicher, aber die Fettkörnchen sind dort normalerweise diffus, über den ganzen Zellraum zerstreut, und eine Vermehrung oder Verminderung derselben kann besonders bei der Untersuchung der unbehandelten Zelle nur mit einer gewissen Subjektivität geschätzt werden. Die Untersuchung muß daher nach Behandlung der Nervenzellen mit Fettfärbemitteln geschehen: Osmiumsäure, Sudan und Fettponceau. Das erstere hat den Nachteil, daß es nur Neutralfette intensiv schwarz färbt, die beiden anderen Farbstoffe erlauben keine gute Fixierung der Zellen, sind nicht dauerhaft und färben das Fettpigment nicht gleichmäßig. Zieht sich die Arbeit länger hin, so blassen die Präparate ab und können nicht mehr zum Vergleiche mit den späteren benutzt werden. Aus diesem Grunde wurden die meisten Präparate doch mit Osmiumsäure gefärbt. Diese wurde hauptsächlich angewendet in Form von Flemmingscher Flüssigkeit oder noch besser nach der Marchi-Methode. Man kann so dünne Schnitte untersuchen, jedes Körnchen unterscheiden. Bei Embryonen, niederen Wirbeltieren, jungen Kindern können in den Nervenzellen minimale, auch bei den stärksten Vergrößerungen nur als feine Stäubchen sichtbare Fettkörnchen gesehen werden, die in der nicht behandelten Zelle unsichtbar sind. Die Marchi-Methode hat dadurch einen besonderen Wert, daß mit ihr Abbauprodukte unterschieden werden können. Wenn es auch zweifelhaft ist, ob die Marchi-Schollen als Fettsubstanz anzusehen sind, so steht doch fest, daß mit dieser Behandlung sowohl in den Nervenscheiden, wie in den Nerven-, Glia- und Hirngefäßwandzellen Körner geschwärzt werden, die nicht aus Myelin, also nicht aus Protagon und Lecithin, sondern aus Fett, Neurin, aus einem Abbauprodukte des Myelin bestehen. Durch die Marchi-Behandlung bekommen wir also Bilder vor Augen, welche bestimmte Schlüsse zulassen.

Schiefferdecker (Bonn).

Röthig, P., Über eine Nachfärbung bei Weigert-Pal-Präparaten (Neurol. Zentralbl. Jahrg. **33**, 1914, No. 4, p. 219—230).

Zur Nachfärbung von Weigert-Pal-Präparaten empfiehlt Verf. das von den Elberfelder Farbenfabriken hergestellte Vital-Scharlach VIII, das in folgender Weise angewendet wird: Herstellung einer bei Zimmertemperatur gesättigten wässerigen Lösung (destilliertes Wasser), die lange haltbar ist (jedenfalls mehrere Monate). Von dieser Lösung

bringt man 10 bis 20 cc auf 90 cc destillierten Wassers. In dieser Flüssigkeit bleiben die nach Weigert-Pal gefärbten Schnitte nach Auswaschen in Leitungswasser 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Sodann kommen sie nacheinander für 15 Minuten in Leitungswasser, dann für eine Stunde in 70prozentigen Alkohol und dann für eine halbe Stunde in neuen 70prozentigen Alkohol. Dann ist das Celloïdin der Schnitte und ebenso bei Obregia-Platten das Celloïdin zwischen den Schnitten meist völlig entfärbt. Ist dies noch nicht der Fall, so muß der 70prozentige Alkohol noch länger einwirken. Dann kommen die Schnitte zur Entwässerung in einmal erneuerten 96prozentigen Alkohol und dann, wie üblich, in Karbolxylol und Xylol. Man erhält eine intensive Rotfärbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer. Innerhalb des blauen Markscheidenringes sieht man den roten Achsenzylinder, und die Nervenzellen treten in den verschiedenen Gegenden des Zentralnervensystemes nach Form und Anordnung deutlich hervor. Versucht wurde die Färbung bis jetzt am Zentralnervensysteme von Acanthias niger, Canis und Homo, in allen Fällen mit gleich gutem Erfolg. Die Präparate haben nach mehreren Monaten keine Veränderung gezeigt. Das Vital-Scharlach VIII ist bei der Firma Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig käuflich zu haben. *Schiefferdecker (Bonn).*

Koch, K., Histologisch-Technisches zur Markscheiden- und Lipoidfärbung (Gesellsch. d. Charité-Ärzte, Sitzung 15. Januar 1914, Ber. i. Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, No. 9, p. 422).

Verf. hat Präparate nach einem neuen Verfahren in Gelatine eingebettet, in Gefrierschnitte zerlegt und mit Sudan III oder einer neuen Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung gefärbt. Diese Gelatineeinbettung wird empfohlen für Material, das sonst nicht oder nur sehr schwer auf dem Gefriermikrotome geschnitten werden kann. Die neue Modifikation der Weigertschen Markscheidenfärbung ergibt gute und haltbare Präparate, ohne vorherige Beizung nach Formolfixierung des Materiales, sowie auch nach Konservierung in der Kaiserlingschen oder Joresschen Flüssigkeit. Besonders instruktive Bilder ergibt bei Degenerationsherden im Zentralnervensystem eine Kombination dieser Markscheidenfärbung mit Sudanfärbung. Methode: A) Gelatineeinbettung: Fixierung in Formol, gründliches Auswässern, Übertragen der Stücke in 12prozentige Gelatinelösung auf 4 bis 12 Stunden bei 37°, dann Übertragen in 25prozentige Gelatinelösung auf die gleiche Zeit bei Brutschranktemperatur. (Die Gelatine wird hierzu am besten in 1prozentiger Karbolsäurelösung aufgelöst.) Herausnehmen der Stücke, Erstarrenlassen der Gelatine bei Zimmertemperatur, Übertragen in 10prozentige Formollösung auf 12 bis 24 Stunden, Wässern, Schneiden auf dem Gefriermikrotome. (Die Gelatineblöcke können in 4prozentiger Formollösung lange unverändert aufbewahrt

werden.) B) Markscheidenfärbung: Färben 30 Minuten bis 1 Stunde in Weigerts Eisenhämatoxylin, Wässern, Differenzieren in einer 0·5promilligen Lösung von Kalium hypermanganicum, Entfärben des bräunlichen Untergrundes in einer Löung von

Kalium sulfurosum	0·5 g
Acidum oxalicum	0·5 „
Destilliertes Wasser	200·0 cc

Übertragen in eine starke wässerige Lösung von Lithion carbonicum, Auswässern in destilliertem Wasser, Einschluß in Glyzerin-Gelatine. *Schiefferdecker (Bonn).*

Guitel, F., Recherches sur l'anatomie des reins du Cottus gobio (Arch. Zool. expér. et génér. t. **52**, 1913, fasc. 7, p. 447—471 av. 1 pl.).

Die Injektionen wurden an den fixierten Präparaten ausgeführt. Fixierung mit Essigsäure-Sublimat. Das Ausziehen des Sublimats mit Alkohol hat den Nachteil, die Bindegewebszüge, welche die Nieren fest an das Skelett anheften, stärker zu härten und daher die Herausnahme der Nieren zu erschweren. Anderseits, falls die Nieren dick sind, dringt die Fixierungsflüssigkeit niemals ganz in sie hinein bei der Fixierung in situ, und die Nieren, die dann an bestimmten Stellen nur durch den Alkohol fixiert worden sind, können die Injektion nicht vertragen. Um diesen beiden Nachteilen zu begegnen, wurden die Nieren nach einer Fixierung in situ während 20 bis 30 Minuten in Wasser ausgezogen und dann von neuem 15 bis 20 Minuten lang fixiert. Dann erst kamen sie in den Jodalkohol, dann in reinen Alkohol. Es würde sicher vorzuziehen sein, die Nieren zuerst herauszunehmen und sie dann zu fixieren, aber unter diesen Verhältnissen ist die Herausnahme oft sehr schwierig infolge der großen Brüchigkeit des Nierengewebes, das verzweifelt leicht zerreißt. Bei Cottus gobio dringen die Injektionen sehr schwer bis zum Glomerulus vor infolge der Dünne des Lumens des Kanales. Um auch von unvollkommen injizierten Stücken Vorteil zu ziehen, ist Verf. in folgender Weise verfahren: zeigte ein Stück, ohne vollständig injiziert zu sein, immerhin eine ziemlich große Durchdringung der blauen Masse (es wurde injiziert mit der Metagelatine von Fol mit löslichem Berlinerblau), so wurde sie völlig entwässert durch steigenden Alkohol, dann in Nelkenöl gelegt, das schnell aufhellte und die injizierten Teile hervortreten ließ. Dann wurde eine rasche Skizze der wesentlichen Punkte angefertigt, das Präparat in Alkohol zurückgebracht, gefärbt und in Schnitte zerlegt. Es war dann oft möglich, ohne eine mühsame Rekonstruierung unter dem Mikroskope das kleine nicht injizierte Stück des Kanales zu verfolgen und seinen Verlauf bis zum Glomerulus hin festzustellen. Die Aufhellung durch Nelkenöl schädigt allerdings die anatomischen Elemente, aber einmal dauert der Aufenthalt in dem Öle nur sehr kurze Zeit und dann handelte es sich bei dieser Unter-

suchung nur darum, den kontinuierlichen Verlauf des Segmentkanales festzustellen. *Schiefferdecker (Bonn).*

Liperovsky, L., Über das elastische Gewebe der menschlichen Milchdrüse (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1914, No. 20. p. 504—511 m. 7 Figg. im Text).

Verf. wünschte die Verteilung des elastischen Gewebes und dessen Beziehungen zur Drüse, die Verteilung der Muskelelemente und die sekretorische Tätigkeit der Drüse im höheren Alter zu untersuchen. Untersucht wurden die Milchdrüsen von 15- und 18jährigen Jungfrauen und von 20-, 39-, 42-, 68- und 70jährigen Frauen, außerdem die Milchdrüse einer 36 Jahre alten Frau, die infolge dauernder Krankheit einen Zustand höchster Erschöpfung aufwies, wobei auch die Milchdrüsen atrophisch erschienen. Fixierung der Präparate hauptsächlich in Flemmingscher Flüssigkeit. Kleine Stückchen wurden 1 bis 2 Tage lang fixiert und nach sorgfältigem Auswaschen in Wasser in steigendem Alkohol entwässert, dann Celloïdineinbettung. Färbung mit einer sauren Orceïnlösung, in der die Präparate 24 Stunden verblieben, dann Entfärbung (5 Minuten) in 96prozentigem Alkohol mit Zusatz einer geringen Menge starker Salzsäure. Bei diesem Verfahren war an allen Präparaten das elastische Gewebe vollkommen deutlich. Ferner wurde zur Färbung benutzt eine von Nowikoff empfohlene Methode: Zur Färbung dient hierbei eine 0·01prozentige Lösung von triphenylrosaninilintrisulfosaurem Natron in gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung. Hierin blieben die Präparate 24 Stunden, dann Differenzierung in 45- bis 50prozentigem Alkohol. In diesen Präparaten waren die elastischen Fasern gelb, die leimgebenden blau, die Muskeln grün. Das elastische Gewebe war in diesen Präparaten allerdings nicht so deutlich wie bei der Orceïnfärbung, die Färbung der Muskelfasern und der leimgebenden Fasern war aber sehr deutlich. Ein sehr klares Bild für die gegenseitige Beziehung der Muskelfasern und der elastischen Fasern bot ferner eine länger dauernde Safraninfärbung mit entsprechender nachfolgender Orceïnfärbung: Färbung der Celloïdinschnitte 12 bis 24 Stunden in Safranin, Auswaschen in Wasser und schwachem Alkohol, Färbung in schwachsaurer Orceïnlösung 6 Stunden, Differenzierung in Salzsäurealkohol oder in Pikrinsäure. Seltener wurde zur Fixierung benutzt die Müllersche Flüssigkeit allein oder mit Zusatz von 1- bis 1·5prozentigem Formol. Hiernach Färbung mit Safranin, Orceïn und Pikrinsäure. Diese Methode ergab keine so scharfen Bilder wie die oben erwähnten. *Schiefferdecker (Bonn).*

Poyarkoff, E., Solutions sucrées comme milieux physiologiques [observations sur les spermatozoïdes des mammifères] (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **76**, 1914, no. 2, p. 90—92).

Verf. hat untersucht, in welchen Lösungen sich die Spermatozoën des Pferdes am längsten lebendig erhalten. Die günstigste Lösung bestand aus 90 Prozent Glykoselösung und 10 Prozent Kochsalzlösung. In dieser Flüssigkeit lebten die Spermatozoën 2- bis 3mal solange wie in der Salzlösung allein. Vermehrt man die Salzmenge, so verringert sich die Lebensdauer. *Schiefferdecker (Bonn).*

Boring, A. M., a. **Pearl, R.,** The odd chromosome in the spermatogenesis of the domestic chicken (Journ. Exper. Zool. vol. **16**, 1914, no. 1, p. 53—70 w. 6 pl.).

Wie bei vielen Vertebraten so sind auch bei den Vögeln die Keimzellen schwierig zu untersuchen. Die Chromosomen verhalten sich so, als ob sie klebrig wären, und trennen sich auch in der Prophase nicht weit voneinander. Ausstrichpräparate und solche mit Essigsäure-Karmin ergeben die Möglichkeit, die Zellen auszubreiten und ergeben daher auch eine bessere Trennung der Chromosomen als Schnitte, ganz gleich, in welcher Weise diese fixiert sind. Das Material für gefärbte Schnitte wurde meist fixiert in den Lösungen von Gilson, Flemming oder Hermann. Es wurden die verschiedensten Versuche gemacht, um die Zellen so normal wie möglich zu erhalten. So wurde versucht, kleine Stückchen von den Hoden in die Flüssigkeiten von Gilson oder Flemming zu bringen, während der Hoden noch die Körpertemperatur des Vogels hatte. Einmal wurden die Flüssigkeiten von Flemming und Hermann auf 38° erhitzt, um die eingelegten Stücke bis zur Fixierung auf der normalen Temperatur des Vogelkörpers zu erhalten. In zwei anderen Fällen wurde der ganze Hoden noch körperwarm unmittelbar in die Flemmingsche Lösung bei 38° gebracht und innerhalb derselben in dünne Scheiben zerschnitten. Aber bei keinem von diesen Versuchen trat eine bessere Trennung der Chromosomen ein. Die Lösung von Gilson ergab klarere Präparate als kalte oder heiße Flemmingsche oder Hermannsche Lösung. Sehr kleine Stücke von den Hoden wurden in Essigsäure-Karmin gelegt und hierin unbegrenzt belassen. Wenn sie später in einer einzelligen Schicht unter dem Deckglase ausgebreitet wurden, waren die Chromosomen deutlicher als in irgendwelchen von den Schnitten. Am besten wirkte eine 45prozentige Essigsäure, die mit Karmin gesättigt war. Andere Säuren, wie Ameisensäure, Buttersäure und Chloressigsäure, sowie andere Konzentrationen der Essigsäure ergaben sämtlich weniger gute Resultate. — Ausstrichpräparate wurden fixiert in der Flüssigkeit von Bouin und mit Eisenhämatoxylin gefärbt.

Schiefferdecker (Bonn).

C. *Mikroorganismen.*

Gvenes, E., u. **Sternberg, F.,** Über eine neue und schnelle Methode zum Nachweise der Spirochaete pallida in den Geweben (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. **50**, 1913, No. 49, p. 2282—2283).

Die Spirochätenfärbung stößt zurzeit noch auf technische Schwierigkeiten, und daran liegt es wohl, daß man in vielen Fällen immer noch nicht den Nachweis führen kann. Die bisherigen Methoden haben Nachteile, welche durch die neue Methode der Verff. beseitigt werden sollen. Es handelt sich um eine Silberimprägnation, mittels deren sich die Spirochäten in Gewebsschnitten in 35 bis 40 Minuten nachweisen lassen. Die Methode ist eine Modifikation des rein histologischen, sich auf das Zentralnervensystem beziehenden Liesegangschen Verfahrens. (Die Kolloidchemie der histologischen Silberfärbungen [Kolloidchem. Beih. Bd. **3**, 1911, H. 1 u. 2].) — Methode: 1) Von den in 10prozentiger Formollösung gut fixierten Geweben werden möglichst dünne Schnitte (5 bis 8 μ) angefertigt, 10 μ dicke Schnitte sind jedoch auch gut verwendbar (die Gewebe werden in Celloïdin eingebettet oder mit dem Gefriermikrotome geschnitten). 2) Gefrierschnitte werden in destilliertem Wasser gut ausgewaschen (2 bis 3 Minuten), Celloïdinschnitte nach kurzer Behandlung mit Alkohol ebenfalls in destilliertes Wasser gebracht. Dann kommen die Schnitte in eine 1prozentige Lösung von Silbernitrat, in der sie 30 bis 35 Minuten im Brutschranke (37°) stehen bleiben („Bekeimung" nach Liesegang). Diese Bekeimung muß im Dunkeln vorgenommen werden, bei Zimmertemperatur dauert sie etwas länger. 3) Aus dem Brutschrank kommen die Schnitte in 10 cc einer 2·5prozentigen Lösung von Silbernitrat, dann wird dieser die gleiche Menge einer 5prozentigen Gelatinelösung und ebensoviel einer 50prozentigen Lösung von Gummi arabicum als Schutzkolloid zugesetzt. Nun wird tüchtig gemischt und dann werden 5 cc (d. h. immer die Hälfte der verwendeten Silbernitratlösung) einer 5prozentigen Hydrochinonlösung als Reduktionsmittel zugegeben. Die Schnitte bleiben so lange in dieser Mischung, bis sie dunkelbraun werden (1 bis 2 Minuten), müssen aber herausgenommen werden, bevor sich das reduzierte Silber niederschlägt. 4) Fixierung in 10prozentiger Lösung von Natriumthiosulfat 1 bis 2 Minuten. 5) Nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser die übliche Weiterbehandlung bis Kanadabalsam; Verf. empfiehlt die folgende Reihe: Alkohol 96prozentig, absoluter Alkohol, Chloroform-Alkohol (zu gleichen Teilen), Chloroform, Terpineol-Chloroform-Alkohol (zu gleichen Teilen), Kanadabalsam. Für das gute Gelingen des Spirochätennachweises ist das pünktliche Einhalten der angegebenen Bekeimungsdauer und der ver-

schiedenen Konzentrationen der zur Verwendung kommenden Reagenzien die Hauptsache. Die Verff. haben mit dieser Methode luetische Lebern und primäre Sklerosen auf Spirochäten geprüft. Diese erscheinen immer tief schwarz in typischer Größe und Gestalt. Silberniederschläge auf die nichtargentophilen Teile können noch nicht völlig vermieden werden, doch hoffen die Verff. das zu erreichen. Störend wirken diese aber schon jetzt nicht auf das leichte und sichere Erkennen der Spirochäten. *Schiefferdecker (Bonn).*

D. Botanisches.

Wisselingh, C. van, Über die Nachweisung und das Vorkommen von Karotinoiden in der Pflanze (Flora, N. F., Bd. **7**, 1914, p. 371).

Die Abhandlung ist eine auf Grund neuer Erfahrungen erweiterte Zusammenfassung dreier Arbeiten (On the demonstration of carotinoids in plants 1—3, Kon. Ak. van Wetensch. Amsterdam, Jahrg. 1912), über die in dieser Zeitschrift (Bd. **30**, 1914, p. 275—276) bereits berichtet worden ist, so daß jetzt nur des Neuen gedacht zu werden braucht.

Gewinnung von Kristallen. Die Kalimethode von Molisch, die bei manchen Objekten erst nach Wochen und Monaten zur Kristallbildung führt, arbeitet viel schneller, wenn man die Objekte in Molischs Reagens mehrere Tage hintereinander während einiger Stunden auf 70 bis 80° C erwärmt. Neue Methoden: 1) Bei Einwirkung von Pyridin, Picolin, Lutidin und Piperidin kristallisieren die Karotinoide (Arillus von Evonymus latifolius, Blüte von Narcissus pseudonarcissus) aus. 2) Erwärmung in 10prozentiger Lösung von KOH in Glyzerin bis auf 140° bewirkt in manchen Fällen Ausscheidung von gut ausgebildeten, rotvioletten, plättchenförmigen Karotinoidkristallen. Bei der Tomate führt schon Erwärmung in Glyzerin allein zu demselben Resultat.

Farbreaktionen. Salpetersäure von 50 Prozent Säuregehalt färbt die Karotinkristalle vorübergehend blau oder grünlichblau. „Nach der Einwirkung der Salpetersäure haben die Kristalle ihre ursprüngliche Farbe eingebüßt.“ Selensäure färbt die Kristalle (z. B. aus der Blüte von Narcissus) dauernd blau. (Die Selensäure des Handels muß unter Umständen durch Eindampfen konzentriert werden.) Aluminiumchlorid, als gesättigte Lösung des kristallwasserfreien Salzes in konzentrierter Salzsäure (von 37 bis 38 Prozent) angewendet, gibt mit den Karotinkristallen eine blaue Reaktion, wenn man die Präparate auf dem Objektträger erwärmt. Das Reagens besitzt aber keinen Vorzug vor Antimonchlorür und Zinkchlorid, die Verf. früher schon als Farbreagenzien empfohlen hat.

Aus dem stark erweiterten speziellen Teil sei hervorgehoben, daß in 10 Pilzarten Karotinoide nachgewiesen werden konnten, u. a. in Calocera viscosa, Dacryomyces stillatus, Monilia sitophila, Neetria cinnabarina, Torula rubra, Sphaerostilbe coccophila.

Wie früher Kohl, so findet jetzt der Verf., daß Blüten, Früchte und sonstige Pflanzenteile neben Karotinoiden andere, in Wasser lösliche, gelbe bis rote Farbstoffe enthalten können, die z. B. das Molischsche Reagens gelb bis orange färben. Die Blüten von Papaver cambricum führen nur solche Farbstoffe, keine Karotinoide. Sie lösen sich in kochendem Wasser und färben es schwach orange. Bei Zusatz von verdünnter Salzsäure wird die Lösung intensiv orangegelb oder orange, bei Zusatz von Kalilauge intensiv gelb. *Hans Schneider (Bonn).*

Wisselingh, C. van, On intravital preeipitates (Recueil d. trav. bot. néerlandais vol. **11,** 1914, fasc. 1, p. 14).

Mit der ihm eigenen methodischen Selbständigkeit und Gründlichkeit erörtert Verf. die strittigen Punkte in der Lehre von den Lebendfällungen, die durch basische Stoffe in Pflanzenzellen hervorgerufen werden können. Nach kurzer historischer Rückschau legt er sich zunächst die Frage vor: Wo entstehen die Lebendfällungen in der Zelle? Bokorny hatte mittels der anomalen Plasmolyse nachzuweisen versucht, daß sie sich sowohl im Cytoplasma als im Zellsaft bilden. Ruft man aber (Versuchsobjekt des Verf. ist Spirogyra maxima [Hass] Wittr.) durch 10prozentige Kalisalpeterlösung anomale Plasmolyse hervor und setzt dann die Objekte der Einwirkung der gleichen, aber mit 1 Prozent Antipyrin oder 0·1 Prozent Koffein versetzten Lösung aus, so bildet sich die Fällung nur in der Vakuole: und läßt man umgekehrt erst Fällung, dann anormale Plasmolyse eintreten, so sieht man bei dauernder mikroskopischer Beobachtung, daß sich die Präzipitate nur im Zellsaft bilden und bei der Kontraktion erst ins Plasma übertreten.

Handelt es sich um Eiweißfällungen? Verf. hat an den Lebendfällungen keine Eiweißreaktionen erzielen können. Er macht darauf aufmerksam, daß bei kleinen Objekten die Biuret-, die Xanthoproteïn- und die Millonsche Reaktion oft versagen. Bessere Resultate ergab ihm die Reaktion mit Zucker und Schwefelsäure, bei der nicht konzentrierte, sondern 85·5prozentige Schwefelsäure (9 Gewichtsteile konz. Säure, 1 Gewichtsteil Wasser) verwandt wurde. Als Hilfsreaktion benutzt Verf. die folgende Probe: Wird Eiweiß mit Tanninlösung behandelt, nach einiger Zeit mit Wasser ausgewaschen und in Jod-Jodkaliumlösung gebracht, hierauf wiederholt in Wasser ausgewaschen, so zeigt es sich violett gefärbt. (Bei Spirogyra ist die Tanninbehandlung überflüssig. Man braucht die Alge nur bis 60° zu erwärmen; das Tannin des Zellsaftes tritt dann ins Plasma über und verbindet sich teilweise mit dem Eiweiß desselben.) — Bei längerer Einwirkung der zur Lebendfällung verwendeten Basen werden die

Präzipitate unlöslich; auch dann geben sie keine Proteïnreaktionen. — Die von Löw und Bokorny für die Proteïnnatur der Fällungen ins Feld geführte Koagulierung der „Proteosomen" durch Hitze, Alkohol und Säuren ist nicht beweisend, da auch die Fällungen, die beim Mischen von Gerbsäure aus Galläpfeln oder aus Spirogyra mit einem gleichen Quantum 1prozentiger Koffeïnlösung entstehen, durch Einwirkung von Hitze oder Zusatz von 10prozentiger Salpetersäure teilweise unlöslich werden.

Ist die „Lebendfällung" eine Vitalreaktion? Verf. verneint die Frage. In abgestorbenen Zellen rufen Basen keine Fällung hervor, weil die Gerbsäure aus ihnen ausgetreten ist. Man kann diese Auswanderung des Tannins zeigen, indem man Spirogyra-Fäden auf dem Objektträger in 1prozentige Eiweiß- oder halbprozentige Gelatinelösung legt und dann vorsichtig erwärmt; das Tannin tritt aus den absterbenden Zellen aus und bildet mit dem umgebenden Kolloid einen Niederschlag, der leicht als Gerbsäurefällung erkannt werden kann. — Werden Spirogyra-Fäden im Reagensglas in sehr wenig Wasser auf 60° erwärmt, so sterben die Zellen ab, ohne daß viel Tannin austritt Extrahiert man das so behandelte und mit Filtrierpapier abgetrocknete Material 2- bis 3mal mit einer Mischung von Äther (4 Teile) und Alkohol (1 Teil), so ergibt der Auszug nach Filtrieren und Eindampfen einen Rückstand, der alle Tannin-Reaktionen zeigt und mit Basen (Antipyrin, Koffeïn, Pyridin usw.) Niederschläge bildet, die völlig den in der lebenden Zelle erzielbaren gleichen. Auch hieraus ergibt sich, daß die „Proteosomen" keine Proteïn-, sondern Tanninfällungen darstellen.

Pfeffer hatte die Meinung vertreten, die künstlichen Fällungen beständen aus Eiweiß und Tannin; beide Stoffe ließ er im Zellsaft gelöst sein, und die Säuren des Zellsaftes sollten die Fällung des Eiweißes durch das Tannin in normalen Zellen verhindern. Verf. findet nun, daß keine freien Säuren in Spirogyra-Zellen vorhanden sind: es wird kein Jod frei, wenn die Algen in eine Lösung von Jodkalium und Kaliumjodat (0·1 Prozent KJ; 0·025 Prozent KJO_3) gelegt werden. Auch ist Spirogyra gegen sehr verdünnte organische Säuren (0·1prozentige Lösungen von Zitronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure usw.) sehr empfindlich. Die Pfeffersche Ansicht ist also aufzugeben. Nach Verf. ist Tannin im Zellsaft, Eiweiß im Protoplasma gelöst. Die beiden Stoffe können erst dann aufeinander reagieren und Fällungen geben, wenn sie künstlich zusammengebracht werden. Dies erreicht Verf., indem er Spirogyra-Zellen in Ätherwasser (15 Gewichtsteile dest. Wasser, 5 Gewichtsteile Äther) legt. Dann fließt das Cytoplasma zum Kern hin und bildet um ihn herum ein Bläschen mit plasmatischer Wand und flüssigem Inhalt. Stirbt der Protoplast darauf ab, so kommt der Blaseninhalt mit dem Zellsaft in Kontakt. An den Stellen, wo das geschieht, bilden sich ziemlich große, kugelige Fällungen, die sowohl Eiweiß- als Tannin-Reaktionen geben. Mit den durch Basen

veranlaßten künstlichen Fällungen können sie also nicht verglichen werden.

Zuletzt bespricht Verf. die Pfeffersche Methode des Nachweises von Gerbstoffen durch Methylenblau. Nach seiner Ansicht wird sie überschätzt. Das Methylenblau fällt wahrscheinlich nicht die gesamte Menge des Tannins. Auch ist es nicht so harmlos, wie man allgemein glaubt. In einer dünnen Lösung (1 : 10·000) in Grabenwasser stirbt Spirogyra maxima innerhalb eines Tages ab; auch in noch stärker verdünnter Lösung (1 : 50·000) sind nach einem Tage viele Zellen tot. Von Wachstum der Zellen ist keine Rede mehr. — Die Methylenblau-Niederschläge können nach den obigen Erörterungen nicht, wie Pfeffer vermutet, Protein enthalten. Verf. macht noch darauf aufmerksam, daß eine sehr verdünnte Methylenblaulösung (1 : 500·000) in den Spirogyra-Zellen zuerst farblose oder fast ungefärbte Präzipitate erzeugt und diese dann nach und nach stärker anfärbt.

Hans Schneider (Bonn).

Åkerman, Å., Über die Konservierung plasmolysierter Protoplasten (Botan. Not. 1914, p. 299).

Die in Lösungen von Traubenzucker oder Kaliumnitrat plasmolysierten Schnitte werden in der von Lidforss beschriebenen Weise[1] mindestens 15 Sekunden in den Dämpfen einer nicht zu alten 3prozentigen Osmiumsäurelösung fixiert und hierauf wieder in das Plasmolytieum übertragen. Zu 10 cc des letzteren gibt Verf. unmittelbar hiernach 1 cc absoluten Alkohol und hiernach alle 5 Minuten unter Umrühren je weitere 0·5 cc absoluten Alkohol. Nachdem 4mal diese Dosis zugesetzt war, gab Verf. noch 3mal nach je 5 Minuten je 1 cc Alkohol zu. Dieser Lösung, die schließlich 37·5prozentigen Alkohol enthält, wird nach und nach noch 1 cc einer 50prozentigen wässerigen Alkohollösung zugesetzt. Die Schnitte kommen alsdann in ein neues Gefäß mit reinem 50prozentigem Alkohol, in dem sie einige Stunden liegen bleiben; dann wird der Alkoholgehalt vermindert. Mindestens 5 Minuten sollen die Schnitte in 40prozentigem und ebensolange in 20prozentigem Alkohol liegen. Dann können sie gefärbt werden.

Färben und Auswaschen der Farbe geschehen zwischen Objektträger und Deckglas, letzteres wird durch Kapillarsplitter gestützt. An den Rand des Deckglases setzt man nach Erledigung des Färbens einen Tropfen Glyzerin auf, das recht langsam in die Schnitte eindringen soll. Auch Glyzeringelatine läßt sich bei vorsichtigem Arbeiten verwenden.

Entwässerung in absolutem Alkohol und Einbettung in Kanada-

[1] Lidforss, Über kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Zellkern und Chromatophoren (Lunds Univers. Årsskrift. N. F. Afd. II. Bd. 4. No. 1).

balsam ließen sich oft durchführen; die Behandlung mit Alkohol und Xylol macht aber die Protoplasten sehr brüchig.

Verf. arbeitete mit Epidermiszellen (Zwiebelschuppen von Allium cepa, Tradescantia), Parenchym aus den Sprossen von Ranunculus und Alisma, Blättern von Mnium undulatum u. a. *Küster (Bonn).*

E. Mineralogisch-Petrographisches.

Leiß, C., u. **Schneiderhöhn, H.,** Apparate und Arbeitsmethoden zur mikroskopischen Untersuchung kristallisierter Körper. Mit 115 Abbild. X. Teil vom „Handbuch der mikroskopischen Technik", unter Mitwirkung zahlreicher Fachmänner herausgegeben von der Redaktion des „Mikrokosmos". Stuttgart (Franckhsche Verlagsbuchhandlung) 1914. 94 pp. 8°. 2·25 M., geb. 3 M.

Das Werk zerfällt in zwei Teile: der erste behandelt die wichtigsten Instrumente zur mikroskopischen Untersuchung kristallisierter Körper, der zweite die Methoden der Untersuchung. Die leicht faßliche Form der Darstellung ist in erster Linie auf den Liebhaber-Mikroskopiker zugeschnitten, dem ein derartiges Werk bis jetzt fehlte. Ich würde es aber auch dem Studierenden im mineralogisch-petrographischen Anfangspraktikum empfehlen: wer das Werk durchgearbeitet hat, tritt gut gerüstet an das Studium größerer wissenschaftlicher Werke auf diesem Gebiete heran. Auch zur Vorbereitung aufs Examen ist es geeignet.

V. Dürrfeld (Brake i. O.).

Neue Literatur.

1. Lehr- und Handbücher.

Höber, R., Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe. 4., neubearb. Aufl. Leipzig u. Berlin (W. Engelmann) 1914. XVII und 808 pp. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 493.) geb. 20 M.

Meyer, A., Erstes mikroskopisches Praktikum. Eine Einführung in den Gebrauch des Mikroskops und in die Anatomie der höheren Pflanzen. 3. Aufl. 255 pp. u. 110 Abb. Jena 1915. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 492.) 6·50 M., geb. 7·50 M.

Schmid, B., Biologisches Praktikum für höhere Schulen. 2. Aufl. Leipzig 1914. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 493.) 2 M., geb. 2·50 M.

Stöhr, Ph., Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie der Menschen mit Einschluß der mikroskopischen Technik. 16. verb. Aufl. bearb. von Osk. Schultze. 122 zum Teil farb. Fig. Jena (G. Fischer) 1915. XIV u. 515 pp.

2. Mikrophotographie und Projektion.

Linke, F., Eine neue Starklichtquelle für Projektionsapparate (Deutsche Mech.-Zeitg. 1914, H. 23, p. 239).

3. Präparationsmethoden im allgemeinen.

Arnold, J., Bemerkungen über intravitale, supravitale und postvitale Granulafärbung (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. **25**, 1913, No. 19, p. 849—853; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 494).

Hertwig, O., Die Verwendung radioaktiver Substanzen zur Zerstörung lebender Gewebe. Berlin (Reimer) 1914. 11 pp. 8°. 1 Taf. (Aus: Sitzungsber. d. K. Preuß. Akad. Wiss.) —·50 M.

Legendre, R., Simple tour de main pour obtenir une chambre microscopique (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. 76. 1914. no. 6, p. 265—266 av. 1 fig. dans le texte; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 493).

Reagan, Fr. P., A useful modification of Mann's Methyl-blue-eosin stain (Anat. Record. vol. 8, no. 7, p. 401—402).

Todd, T. W., Covers for dissecting tables (Anat. Record. vol. 8, no. 9, p. 441—443 w. 3 figg.).

Weese, A. O., A simple electrical heating device for incubators, etc. (Anat. Record. vol. 8, no. 9, p. 447—449 w. 4 figg.).

4. Präparationsmethoden für besondere Zwecke.

a. Niedere Tiere.

Caesar, J., Die Stirnaugen der Ameisen (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 35, 1913, p. 161—240 m. 29 Figg. u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 496).

Kühn, A., Die Sonderung der Keimesbezirke in der Entwicklung der Sommereier von Polyphemus pediculus de Geer (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 35, 1913, p. 243—340 m. 14. Figg. u. 7 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 497).

Loele, K., Beiträge zur Kenntnis der Histologie und Funktion des Hymenopterendarms (Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 16. 1914, II 1, 2, p. 1—36 m. 1 Tfl. u. 10 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 496).

Ramme, W., Die Bedeutung des Proventriculus bei Coleopteren und Orthopteren (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 35, 1913, p. 419—456 m. 1 Fig. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 495).

Rosen, K. v., Studien am Sehorgan der Termiten nebst Beiträgen zur Kenntnis des Gehirns derselben (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 35, 1913, p. 625—664 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 495).

Schaefer, R., Die Entwicklung der Geschlechtsausführwege bei einigen Cestoden mit besonderer Berücksichtigung der Epithelverhältnisse (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 35, 1913, p. 583—624 m. 2 Figg. u. 6 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 497).

Schaxel, J., Versuch einer cytologischen Analysis der Entwicklungsvorgänge. 1. Die Geschlechtszellenbildung und die normale Entwicklung von Aricia foetida Clap. (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. 34, 1912, p. 382—472 m. 10 Figg. u. 13 Tfln.). 2. Die abnorme Furchung von Aricia foetida Clap. (ibid. Bd. 35, 1913, p. 527—562 m. 10 Figg. u. 3 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. 31, 1914, p. 498).

Young, R. T., The histogenesis of the reproductive organs of Taenia pisiformis (Zool. Jahrb. Abt. f. Morph. Bd. **35**, 1913, p. 355—410 m. 4 Tfln.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 499).

b. Wirbeltiere.

Arnold, J., Über die Granula der eosinophilen Zellen und der Mastzellen (Zentralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. **24**, 1913, No. 15, p. 673—682; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 500).

Boring, A. M., a. **Pearl, R.**, The odd chromosome in the spermatogenesis of the domestic chicken (Journ. Exper. Zool. vol. **16**, 1914, no. 1, p. 53—70 w. 6 pl.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 510).

Busse, O., Züchtungsversuche tierischer Gewebe nach Carrel (Verh. d. Deutsch. Pathol Ges. 17. Tag., München 1914, p. 140—144).

Deineka, D., Beobachtungen über die Entwicklung des Knochengewebes mittels der Versilberungsmethode. I. Die Entwicklung der Knochenzellen in perichondralen Prozessen (Anat. Anzeiger Bd. **46**, 1914, No. 5, 6. p. 97—126 m. 16 Figg.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 502).

Gottlieb, B., Die vitale Färbung der kalkhaltigen Gewebe (Anat. Anzeiger Bd. **46**, 1914, No. 7, 8, p. 179—194; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 502).

Gnitel, F., Recherches sur l'anatomie des reins du Cottus gobio (Arch. Zool. expér. et génér. t. **52**, 1913, fasc. 7, p. 447—471 av. 1 pl.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 508).

Koch, K., Histologisch-Technisches zur Markscheiden- und Lipoidfärbung (Gesellsch. d. Charité-Ärzte, Sitzung 15. Januar 1914, Ber. i. Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. **51**, 1914, No. 9, p. 422; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 507).

Lapinsky, M., Zur Innervation der Hirngefäße (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1913, Anatomische Abteil., Suppl.-Bd., p. 163—171; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 504).

Liperovsky, L., Über das elastische Gewebe der menschlichen Milchdrüse (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1914, No. 20, p. 504—511 m. 7 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 509).

Mironesco, Th., Préparations permanentes d'amyloïde par la méthode de Hottinger et Renaut (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **76**, 1914, no. 5, p. 215—216; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 501).

Mühlmann, M., Beiträge zur Frage nach der Ursache des Todes (Virchows Arch. Bd. **215**, 1914, H. 1, p. 1—76 m. 8 Figg. im Text u. 4 Tfln.; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 505).

Poyarkoff, E., Solutions sucrées comme milieux physiologiques [observations sur les spermatozoïdes des mammifères] (Compt. Rend. Soc. Biol. Paris t. **76**, 1914, no. 2, p. 90—92; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 509).

Rio Hortega, P. del, Investigations sur le tissu musculaire lisse (Trab. Labor. Invest. Biol. Univ. Madrid t. **11**, 1913, fasc. 3, p. 177—185 c. 6 figg.: vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 499).

Röthig, P., Über eine Nachfärbung bei Weigert-Pal-Präparaten (Neurol. Zentralbl. Jahrg. **33**, 1914, No. 4, p. 219—230; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 506).

Szécsi, St., Eine neue Methode zur Untersuchung des Liquor cerebrospinalis (Deutsche med. Wochenschr. Jahrg. **39**, 1913, No. 52, p. 2558—2559; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 505).

Torraca, L., Alcune osservazioni sui condriosomi delle cellule cartilaginee nella coda del tritone rigenerante (Anat. Anzeiger Bd. **45**, 1914, No. 18/19, p. 459—474 m. 5 Figg. im Text; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 501).

c. Mikroorganismen.

Beintker, Über Trockennährboden nach Prof. Doerr (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 5/6, p. 499).

Dudtschenko, J. S., Über die Bedingungen welche Polfärbung, Polymorphismus und eine eigentümliche Art von Involutionsformen bei den pestähnlichen Bazillen hervortreten lassen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **75**, 1914, No. 3, p. 264).

Günther, K., Über das von Conradi angegebene Verfahren der elektiven Züchtung von Diphtheriebazillen durch Ausschütteln von Kohlenwasserstoffen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **75**, 1915, H. 5/6, p. 485).

Gvenes, E., u. **Sternberg, F.**, Über eine neue und schnelle Methode zum Nachweise der Spirochaeta pallida in den Geweben (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. **50**, 1913, No. 49, p. 2282—2283; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 511).

Hesse, Die neueren Methoden der bakteriologischen Wasseruntersuchung (Internat. Zeitschr. f. Wasserversorgung 1914, H. 4, p. 69—73).

Keins, M., Über neuere Methoden des Tuberkelnachweises (Diss. München 1914).

Kozewalow, S., Zur Technik der Färbung der Negrischen Körperchen (Zeitschr. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **74**, 1914, H. 7, p. 654—655).

Kraus, H., u. **Barbará, B.**, Zur Frage der Züchtung des Lyssa-Virus nach H. Noguchi (Deutsche mech. Wochenschr. Jahrg. **40**, 1914, No. 30, p. 1507—1508).

Saquépée, E., et **Delater**, Nouveau milieu de culture pour le méningocoque et les germes voisins (Compt. Rend. Soc. Biol. t. **77**, 1914, no. 23, p. 224—226).

Sowade, Über die Kultur der Spirochaeta pallida (Verh. Ges. deutscher Naturf. 85. Vers., Wien 1913 u. Leipzig 1914, p. 877—885).

Szasz, A., Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen (Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. 1, Orig. Bd. **75**, 1915, H. 5/6, p. 489).

d. Botanisches.

Åkerman, Å., Über die Konservierung plasmolysierter Protoplasten (Bot. Not. 1914, p. 299; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 515).

Testoni, G., Sull' analisi microscopica delle farine e del pane (Staz. sperim. agr. ital. vol. **48**, 1915, fasc 2, p. 143).

Wisselingh, C. van, Über die Nachweisung und das Vorkommen von Karotinoiden in der Pflanze (Flora. N. F., Bd. **7**, 1914, p. 371; vgl. diese Zeitschr Bd. **31**, 1914, p. 512).

Wisselingh, C. van, On intravital precipitates (Recueil d. trav. bot. néerlandais vol. **11**, 1914, fasc. 1, p. 14; vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**, 1914, p. 513).

e. Mineralogisch-Petrographisches.

Eddingfield, F. T., Microscopic study of the bulacan iron ores (Philippine Journ. of Sci. vol. 9, 1914, Sect. A. no. 3, p. 263).

Leiß, C., u. Schneiderhöhn, H., Apparate und Arbeitsmethoden zur mikroskopischen Untersuchung kristallisierter Körper. Mit 115 Abb. X. Teil vom „Handbuch der mikroskopischen Technik", unter Mitwirkung zahlreicher Fachmänner herausgegeben von der Redaktion des „Mikrokosmos". Stuttgart (Franckhsche Verlagsbuchhandlung) 1914. 94 pp. 8°. (Vgl. diese Zeitschr. Bd. **31**. 1914, p. 516.) 2·25 M., geb. 3 M.

Autoren-Register.

Achúcarro, N., 152, 166.
Ahrens, H., 153.
Åkerman, Å., 515.
Alexeieff, A., 138.
Anitschkow, N., 414.
Armbruster, L., 253.
Arndt, W., 139.
Arnold, J., 394, 494, 509.
Asai, T., 422.
Ask, Fr., 367.
Aunap, E., 156.

Becher, S., 103.
Bindewald, C. A. E., 167.
Biondi, G., 263.
Björkenheim, E. A., 155.
Blumck, G., 476.
Boresch, K., 177.
Boring, A. M., 510.
Brammertz, W., 246.
Braue, A., 404.
Brenning, Fr., 227.
Bruijning, F. F., 362.
Bullock, W. E., 166.
Burlend, T. H., 421.
Busacca, A., 66.

Caesar, J., 496.
Cajal, R., 421.
Calandre, L., 152.
Carpano, M., 172.
Casper, A., 252.
Champy, Ch., 135, 415.
Cramer, W., 166.

Deineka, D., 502.
Doinikow, B., 423.
Donau, J., 242.
Drasch, O., 193.
Dunzelt, H., 261.
Dupare, L., 276.

Edinger, L., 134, 400.
Elfving, T., 177.
Engel, A., 409.
Esmarch, F., 435.

Feiß, H. O., 166.
Fülleborn, F., 144.

Gelei, J., 249.
Gerwerzhagen, A., 247.
Givler, J. P., 246.
Göthlin, G. F., 162.
Golodetz, L., 300.
Gottlieb, B., 502.
Grengg, R., 70.
Greschik, E., 409, 412.
Guitel, F., 508.
Gvenes, E., 511.

Hartridge, H., 129.
Hayaski, A., 160.
Hegewald, C., 421.
Heldt, Th. J., 266.
Henningfeld, Fr., 170.
Herbers, K., 141.
Herxheimer, G., 391.
Heydenreich, L. v., 130.
Hilton, W. A., 140.
Höber, R., 131, 493.
Honigmann, H., 229.

Ijinsky, M. v., 224.
Isabolinsky, M., 172.

Jordan, K. H. Ch., 252.
Jurgewa, E., 423.

Kauffmann, H., 272.
Kemnitz, G. A., 142.
Kerschner, Th., 405.
Killian, K., 176.
Kindler, Th., 272.
Kleczkowski, T., 269.
Klein, St., 245.
Klinken, J., 175.
Klopstock-Kowarsky, 393.
Koch, A., 271.
Koch, K., 507.
Kozewalow, S., 271.
Krotkow, S. F., 257.
Krüger, P., 137.
Kühn, A., 497.
Kühnle, K. F., 405.
Kühtz, K., 143.
Kull, H., 243.
Kuntz, A., 161.
Kuschakewitsch, S., 140.

Lang, P., 250.
Lapinsky, M., 504.
Lebedkin, S., 114.
Lecha-Marzo, A., 417.
Legendre, R., 493.
Leiß, C., 516.
Levi, G., 158.
Levy, F., 99.
Levy, O., 121.
Liesegang, R. Ed., 466.
Linck, G., 276.
Liperovsky, L., 509.
Loele, K., 496.
Luna, E., 159.

Maneval, W. E., 174.
Marmier, L., 131.
Massont, P., 135.
Maximow, A., 154.
Mayer, L., 251.
Mayer, P., 211.

Maziarski, St., 254.
McKibben, P. S., 159.
Meßner, E., 408.
Meves, F., 248.
Meyer, A., 492.
Mironesco, Th., 501.
Möllendorf, v., 413.
Monnier, A., 276.
Mühlmann, M., 505.
Müller-Calé, K., 140, 406.

Nachtsheim, H., 253.
Nast, O., 131.
Naumann, E., 472, 474.

O'Donoghue, Ch. H., 157.
Oehler, R., 170.
Oelze, F. W., 73, 307.
Oppel, A., 121.
Oppermann, K., 158.
Ortner-Schönbach, P., 125.

Pascher, A., 128.
Pearl, R., 510.
Péterfi, T., 256, 409, 420.
Petrow, K., 277.
Plenk, H., 404.
Poyarkoff, E., 509.
Prell, H., 146.
Prowazek, S. v., 1.

Quack, M., 251.

Rachmanow, A., 423.
Rados, A., 269.
Ramme, W., 495.
Ranke, O., 402.
Reinhard, L., 150.
Reis, K., 255.
Reis, V., 255.
Reitz, A., 171.
Rio Hortega, P. del, 499.
Rösch, P., 404.
Röthig, P., 506.
Rohr, N. v., 129.
Romeis, B., 236.
Rosen, K. v., 495.
Rupp, C., 35.

Sagnchi, S., 151.
Salomon, H., 433.
Sánchez y Sánchez, D., 145, 146.
Schaefer, R., 497.
Schalk, A., 255.
Schaxel, J., 498.
Scheffer, W., 84, 368, 373.
Schellenberg, A., 149.
Scheurig, L., 150.
Schiassi, B., 400.
Schilling, V., 258.
Schmid, B., 120, 493.
Schnaudigel, O., 270.
Schneider, A. u. W., 393.
Schneider, H., 51, 478.
Schneider, O., 427.
Schneiderhöhn, H., 516.
Schröder, R., 419.
Schuch, K., 406.
Sheldon, R. E., 427.
Siedentopf, 129.
Simarro y Villaverde, 400.
Smoljan, L., 172.
Spalteholz, W., 398.
Stendell, W., 266.
Sternberg, F., 511.
Svedelius, N., 175.
Szécsi, St., 131, 505.
Szent-Györgyi, A., 23.
Szüts, A. v., 17.

Thurn, O., 173.
Torraca, L., 501.
Tschassownikow, S., 151.
Tswett, M., 174.

Unna, P. G., 122, 289, 296, 407.

Vance, B. M., 161.
Voß, G., 464.

Walsem, G. C. van, 40, 310.
Wand, A., 173.
Wassermann, F., 145.
Weill, P., 162.
Weinschenk, E., 178.
Weißenberg, R., 247.
Wilke, G., 149.
Wilschke, A., 338.
Wisselingh, C. van, 512, 513.
Wolff, M., 19, 202, 380, 384, 448.
Wülfing, E. A., 273, 278, 279.
Wychgram, E., 218, 441.

Young, R. T., 499.

Zimmermann, K., 148.
Zoth, O., 97.

Sach-Register.

Aceton-Lucidol, Fixiermittel 132.
Acetonmischung nach Szent-Györgyi. Fixiermittel 25.
Achsenzylinder, Granula 137.
Achúcarros Bindegewebsfärbung 402.
— Versilberungsmethode 152.
Ahrens' Celloidinschneideverfahren 153.
Åkermans Methode. Dauerpräparate von plasmolysierten Zellen anzufertigen 515.
Aktinien, Fett 139.
Alexeieffs Methode. Sarkosporidien zu untersuchen 138.
Alkohol-Formol, Fixierung der Mucingranula 410.
Altmann-Färbung, modifiziert von Kull 243.
— — nach Osmium-Jod-Natriumfixierung 136.
— -Gemisch, Fixierung von Phallusia-Eiern 249.
Amblystoma, Vorderhirn 167.
Ameisen, Stirnauge 496.
Ammoniummolybdat, Fixierung der Augenmuskelnerven 160.
Amnion, Huhn 420.
Amöben, Chromidien, Giemsa-Färbung 2.
Amyloid, Färbung nach Hottinger 501.
— — Mironesco 502.
— — Renaut 501.
Anilinschwarzfärbung nach Simarro-Villaverde 401.
Anodonta, Präparation 141.
Anthocyan. Chemisches 174.
— . Künstliches 174.
Anthrapurpurin, Ca-Nachweis 435.
Anuren, Mitochondrien 151.
Apáthysche Vergoldung, Amnion von Hühnerembryo 420.
Apiden, Spermatogenese 252.
Apis, Ei 253.
aplanatische Linsen. Mikroprojektion 219.
Arachnoiden, Augen 150.
Archoplasmen, Giemsa-Färbung 4.
Aricia, Fixierung und Präparation nach Schaxel 498.
—, Furchung, abnorme 498.
—, Geschlechtszellen 498.
Arnolds Methode, eosinophile Zellen zu untersuchen 500.
— Plasmauntersuchung 394.
Atemeles, Fixierung und Färbung 252.
Athanas, Markscheiden 165.
atrope Nerven 163.
Auge, Einbettung 26, 33.
— , Fixierung 25.
— , Schwein 269.
— , Versilberung nach Cajal-Lenhossék 31.
— , Vitalfärbung durch injizierte Farben 269, 270.
Augenmuskel, Nerven 159.
Aunaps Chondriosomenuntersuchung 158.
Aurantia, Färbung der Chondriosomen 244.
Axolotl, Schleimhaut 151.
Azokarmin-Mallory-Färbung des Amnion vom Huhnembryo 421.
— , Myofibrillen 256.
— — , Regeneration der Färbekraft 411.

Azurkarbonat, Färbung des Granoplasmas 126.

Bakterien, Färbung, Allgemeines 172.
—. — nach King 271.
—, Geißelfärbung und -versilberung 271.
—. Kapseln 171.
—, Kolonienfärbung nach Dodson 271.
—, Lebensfähigkeit 173.
—, Schleim, Giemsa-Färbung 4.
Basalkörper, Ciliaten, Giemsa-Färbung 3.
Becherepithelien, Axolotl 151.
Beleuchtungsapparat nach Bruijning 362.
Benzidin, Reagens auf Verholzung 51.
—, Wasserstoffsuperoxyd, Peroxydasenachweis 123.
Benzoylsuperoxyd, s. Lucidol
Beuteltiere, Corpus luteum 157.
Bielschowskys Versilberung, modifiziert von Rio Hortega 500.
— -Hörmannsche Färbung des Corpus luteum 419.
Biene, Pollensammelapparat 404.
Bindegewebe, Färbung nach Bielschowsky-Hörmann 419.
—. Mesenchym, Präparation nach Achúcarro 402.
—. Pigmente 126.
—, Reduktionskraft 123.
Bindesubstanzen, Färbung mit Krügers Hämatoxylin 137.
—. — nach Krüger 137.
—. Fixierung mit Sublimat-Eisessig 137.
Bindewalds Hirnfärbung 468.
— Modifikation der Bielschowskyschen Versilberung 469.
— — — Weigertschen Hirnfärbung 468.
Biondis Farbengemisch, Prosobranchier 140.
Methode, Degeneration der Nerven zu untersuchen 263.
Bleichen nach Veratti 156.
Bleu de Lyon, Färbung der Glaskörperfibrillen 29.
Blochmannsche Bindegewebsfärbung, Cestoden 498.
— — nach Schaefer 498.
Blut, Ausstrichtechnik 258.
—, Entnahme nach Walsem 311.
Blut, Färbung mit Polychrom 245.
—. — nach Schilling 260.
—. Fixierung mit Lucidol 132, 133.
—, Giemsa-Färbung 260.
—, Giemsa-Schnellfärbung 260.
—. Mastzellen 154.
—, Nativpräparat nach Walsem 316.
—. Verdünnung nach Krotkow 257.
—. Zentrifugiermethode nach Walsem 320.
Blutkörperchen, Fixierung mit Lucidol 132.
—. Zählung 257, 258, 261, 327.
Bordeauxrot-Lichtgrün, Kontrastfärbung für Hämatoxylin nach Champy 416.
Bouinsche Flüssigkeit, Fixierung des Enddarmes der Vögel 412.
— —. — von Pigmentkörnern 135.
— —. — Prosobranchiern 140.
— —. — Sarkosporidien 138.
— —. — Sclerostomum 143.
Brachycoelium, Ei 112.
Brasilsche Lösung, Fixierung von Petromyzon 255.
Brasilin, Färbung nach Champy 116.
Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin, Färbung der Myofibrillen 257.
—, Mucinfärbung 411.
Brot, Kartoffelzusatz 476.
Bruijnings Beleuchtungsapparat 362.
Bryozoën, Nervensystem 247.
Bufo, Ei und Larven 159.
—. Fixierung mit Regaudscher Flüssigkeit 159.
—, Plastosomen 159.

Cajals Gliafärbung 424.
— Versilberung, Amnion von Hühnerembryo 120.
— —, Glaskörperfibrillen 30.
— —. Golgischer Apparat 155.
— —, Kritisches 470.
— —. Modifikation von Deineka 503.
— —, Lenhossék, Versilberung des Auges 31.
— —. Muskelfasern 145.
— —. Nervenendigungen 146.
Carabiden, Präparation nach Rauine 495.
Carnoys Flüssigkeit, Fixierung von Nematoden 252.
— —, — — Termiten 495.
Carpanos Kapselfärbung 172.
Celloïdin, Schneiden nach Ahrens 153.
—, — — Edinger 168.

Celloïdinparaffineinbettung. Kopf von Lacerta 419.
Cephalodien. Flechten 178.
Cestoden. Geschlechtsausführwege 497.
, Glykogen 251.
Champys Brasilinfärbung 416.
Flüssigkeit. Fixierung von Chondriosomen 243.
, , , der Knochenfische 157.
Karbol-Formol-Trichloressigsäure 415.
Kontrastfärbungen mit Hämatoxylin 416.
Osminmsäure-Jodnatrium 136.
Chitin, Behandlung mit Formol-Eisessig 150.
Chlorophyll. Untersuchung mit dem Fluoreszensmikroskop 338.
Chondriosomen, Färbung nach Altmann-Kull 243.
, Fixierung nach Champy 157, 243.
, Knochenfische 243.
, Knochengewebe 503.
, Triton 501.
, Untersuchung nach Aunap 156.
Chordascheide, Cyclostomen und Fische 427.
Chromatin, basophiles und oxyphiles, Chemie 125.
Chromidien der Amöben, Giemsa-Färbung 2.
Chromochromator von Leitz 447.
Chromoskop von Aron 275.
Chromosomen, Fixierung 253.
Chrom-Salpetersäure. Entpigmentierung der Ameisenaugen 496.
Chrysemys. Embryo 421.
Ciliaten, Basalkörper, Giemsa-Färbung 3.
, Cilien, Giemsa-Färbung 3.
Cistella, Embryonen 404.
Coccothraustes, Unterkieferdrüse 409.
Coleopteren, Präparation nach Ramme 495.
, Proventriculus 195.
Corpus luteum, Beuteltiere 157.
, Färbung nach Bielschowsky-Hörmann 419.
Cottus, Niere 508.
Cowdrys Kaliumpermanganatbehandlung 157.
Crangon, Markscheiden 165.
Cristatella, Nervensystem 217.
Cumaceen. Schalendrüse und Geschlechtsorgane 106.
Cuscuta, Chlorophyll 344.
Cyanophyceen, Kultur 435.
Cyclostomen, Chordascheide 427.
—, Nerven 165.
Cylindrocystis, Fixierung, Färbung 272.
Cypris, Ei 406.
Cytose, Chemisches 126.
Cytostommembranellen. Giemsa-Färbung 3.

Darm, Coleopteren 495.
—, Hymenopteren 496.
—, Orthopteren 495.
Deinekas Knochenuntersuchung 502.
— Modifikation der Cajalschen Methoden 505.
— — — Golgi-Versilberung 503.
Delamination nach Drasch 193.
Dendrocoelum. Glykogen 249.
—, Ovogenese 249.
Diatomeen, Farbstoffe 349.
—, Schalenstruktur 129.
Diestrammena, Samenzellen 149.
Dixippus, Gehirn, Kopfdrüsen 405.
Dolleys Methode. Nisslkörper zu färben 268.
Draschs Delaminationsmethode 193.
Drehscheibenmikrotom von Leitz 103.
Dünnschliffe für petrographische Untersuchung 70.
Dunzelt, Blutkörperchenzählung 261.
Durchsichtigmachen von tierischen Präparaten 398.
Dytisciden, Präparation nach Ramme 495.
Dytiscus, Drüsen 252.
—, Körperdecke 252.

Ehrlich-Bethes Methode, modifiziert von Leontowitsch 504.
— -Biondi-Färbung, modifiziert von Krause 413.
Einbettung des Auges nach Szent-Györgyi 26.
— in Gelatine nach Koch 507.
Einschlußmittel, Gelatine 35, 134, 400.
Eisen-Cyanfärbung nach Unna 123.
, Nachweis nach Macallum, Kritisches 470.
Eisenhämatoxylin-Bordeauxrot, Färbung von Ameisenaugen 496.
, Färbung von Triton 501.
, Kontrastfärbungen nach Champy 416.

Eisenhämatoxylin, Kontrastfärbungen nach Dreyer, Hirnfärbung 169.
—, — — Rubaschkin, Färbung der Ovarien 158.
— -Thiazinrot, Färbung der Myofibrillen 257.
Elastin, Reduktionskraft 123.
elastische Fasern, Färbung mit Orcein 427.
— —, — — Resorcin-Fuchsin 427.
Elodea, Chlorophyll 343.
Entermes, Gehirn, Kopfdrüsen 405.
Entpigmentierung, Ameisenaugen 496.
Eosentomon, Chitin 146.
Eosinazur nach Giemsa, Wirkung auf verschiedene Zellenteile 2 ff.
eosinophile Zellen, Granula 500.
Epithel, Pigmente 126.
—, Reduktionskraft 123.
Euchaeta, Markscheiden 166.
exogene Fällungen in der histologischen Technik 466.

Fällungen in histologischen Präparaten 466.
Färbung, Allgemeines 5, 10 ff., 224.
—, Küpenfarbstoffe 224.
Fazettenaugen, Libelluliden, Mantiden, Phasmiden 148.
Fermentorte der Zelle 134.
Fett, Aktinien 139.
—, Nerven 167.
Fettsäuren, Darstellung nach Ciaccio 261.
feuchte Kammer Legendres 493.
Ficaria, Fruchtknoten 272.
Fische, s. auch Knochenfische.
—, Chordascheide 427.
Fixierungsmittel, vergleichende Beobachtungen 415.
Flagellaten, Geißeln, Giemsa-Färbung 3.
Flechten, Cephalodien 178.
—, Gonidien 177.
—, Mikrochemisches 433.
Flemmings Flüssigkeit, Fixierung des Enddarmes der Vögel 412.
— —, — von Nematoden 252.
— —, — — Taenia 499.
— —, Modifikation von Benda, Fixierung der Oligo- und Polychäten 251.
— —, — — Meves, Fixierung von Anuren 152.
Flimmerepithel, Axolotl 151.
Florideen, Kultur 176.
Fluorchrom, Beizen des Gehirnes 428.
Fluoreszenzmikroskop, Chlorophylluntersuchung 339.
Fontinalis, Filarbildungen des Plasmas 177.
Forelle, Ei 158.
Forficula, Gehirn, Nerven-, Kopfdrüsen 405.
Formol, Fixierung der Milz 414.
— -Eisessig, Fixierung von Arachnoideen 150.
—, Wirkung auf Chitin 150.
Frosch, Hoden 415.
—, Schleimhaut 151.
—, Spermatogenese 415.
Fucus, Farbstoffe 346.
Fülleborns Mikrofilarienfärbung 144.
Funaria, Chloroplasten 177.
— , Plasmatäden 177.

Ganglien, Zellkerne im Neurom 166.
Garneelen, Markscheiden 165.
Gaslichtpapiere, Verwendung nach Naumann 472.
Gehirn, Beizung nach Sheldon 428.
— , Fixierung und Färbung nach Sheldon 427.
— , Gefäße 504.
— , Neurom 166.
— , Schnittkonservierung in Gelatine 35.
— , Versilberung nach Cajal-Liesegang 471.
Gehirngang, Haussäugetiere 421.
Geigers Präpariertisch 461.
— Universaltischstativ 448.
Gelatine, Einbettung bei Untersuchung des Auges 33.
— — nach Koch 507.
— , Einschlußmittel 134, 100.
— , — für Gehirnschnitte 35.
—, optisches Verhalten 163.
Gerbstoff, Mikrochemisches 513 ff.
Gewebsstücke, Fixierung mit Lucidol 133.
Giemsa-Färbung, Blut 260.
— —, Grenzflächenphänomen 5.
— —, Theoretisches 5 ff.
— —, Wirkung auf verschiedene Zellenteile 2 ff.
Gilsons Flüssigkeit, Fixierung von Hoden der Vögel 510.
— -Petrunkewitschs Flüssigkeit, Fixierung der Bieneneier 254.
— — —, — von Cypriseiern 406.

Glaskörper, Fibrillenfärbung 29 ff.
—, Fixierung und Färbung nach Szent-Györgyi 23.
Glaucoma, Giemsa-Färbung 3.
gleitendes Wachstum 175.
Glia-Färbung nach Cajal 424.
Glührreste, mikrophotographische Aufnahmen 473.
Glugea, Fortpflanzung 247.
Glycerophosphatide, optisches Verhalten 163, 164.
Glykogen, Cestoden 251.
—, Dendrocoelum 249.
—, Eibildung 246.
—, Embryonen 246.
—, Färbung mit Bests Karmin 251.
—, — — Gallustinte 251.
—, Fixierung 249.
—, Trematoden 251.
Glyzerin-Alkohol-Salzsäure, Entpigmentierung 496.
Goldmanns Vitalfärbung, Untersuchung des Zentralnervensystemes 423.
— , — — peripheren Nervensystems 423, 424.
Golgi-Kopschscher Apparat, Schwärzung 255.
Golgische Methoden, Hirnfärbung 169.
— —, Kritisches 470.
—, modifiziert von Deineka 503.
—, Plazenten, Färbung 155.
Golgischer Apparat, Plazentarepithel 155.
Goniometer, Neukonstruktionen 273.
Gramsche Färbung, Sclerostomum 144.
Granoplasma, Chemie 126.
—, Färbung 126.
—, Reduktionskraft 123.
—, Sauerstoffort, sekundärer 124.
—, Untersuchung nach Unna 407.
Granula, Vital- und supravitale Färbung 191.
Grenachers Flüssigkeit, Entpigmentierung der Ameisenaugen 496.
Greschiks Mucinfärbungen 409.
Guitels Niereninjektion 508.
Gyenes-Sternbergs Spirochätennachweis 511.

Haarbalg, Reduktionskraft 123.
—, Sauerstoffort 121.
Hämateïn, Kernfärbungen nach Unna 292 ff.
— -Pikronigrosin, Färbung der Myofibrillen 256.
Hämatoxylin, Bestimmung nach Walsem 314.
— nach Heidenhain, Färbung des Enddarmes der Vögel 413.
— — Krüger 137.
— — Weigert, Färbung des Enddarmes der Vögel 413.
—, phosphorwolframsaures, Färbung der Gallenkanälchen 161.
— -Ammoniummolybdat, Färbung der Nervengewebe nach Szüts 17.
— -Eosin nach Krüger 137
— -Zinnammoniumchlorid, Färbung degenerierter Nerven 264.
Harnblase, intrafibrilläres Bindegewebe 500.
Haut, Biochemisches 122.
—, Karzinom, Kerne 126.
—, Kerne 293.
—, Pigmente 126.
—, Verhornung 126.
Hautfette, Chemie 127.
Heidenreichs Thermoregulator 130.
Heldts Modifikation der Londonschen Neurofibrillenfärbung 268.
Helly-Maximows Flüssigkeit, Fixierung der Milz 414.
Hennigfelds Trypanosomenisolierung 170.
Hermanns Flüssigkeit, Modifikation von Meves, Fixierung von Apiden 253.
Herpetomonaden, Giemsa-Färbung 3, 4.
Herz, Muskelfasern, Versilberung nach Achúcarro 152.
Hippolyte, Markscheiden 165.
Hoden, Anilinschwarzfärbung 402.
Hottingers Amyloidfärbung 501.
HonigmannsRekonstruktionsmethode 229.
— Schnittserienmethode 229.
Hornpigmente, Vorkommen 127.
Hornschicht, Reduktionskraft 123.
Huhn, Embryo 420.
—, Keimscheibe 193.
Hummer, Nerven 165.
Hydrometra, Spermatogenese 149.
Hydrurus, Chlorophyll 352.
Hymenopteren, Darm 496.
—, Fixierung 496.
Hypophyse, Fixierung und Färbung 266.

Insekten, Nervenendigungen 146.
Iynx, Unterkieferdrüse 409.

Jansco-Rosenbergsche Methode des Blutausstrichs 258.
Jodkalium-Eosin, Fixierung der eosinophilen Zellen 500.

Kaisers Sublimat, Fixierung der Thecaphoren 140.
Kalium, mikrochemischer Nachweis 434. 469.
Kaliumpermanganat, Beize für Chondriosomenuntersuchung 157.
Kalzium, Mikrochemisches 434.
—, Nachweis nach Salomon mit Anthrapurpurin 435.
Kanadabalsam, Lichtbrechung 278.
Karbol-Formol-Trichloressigsäure nach Champy, Fixierung von Batrachierhoden 415.
Karbolthionin-Pikrinsäure, Spirochätenfärbung 271.
Kardioid-Ultramikroskop, Hilfsobjektiv 129.
Karmin, Ausscheidung nach Injektion 269.
— -Essigsäure, Färbung der Spermatozoen 510.
Karotin, Nachweis 512.
Kartoffel, Zusatz zu Brot 476.
Karyosom, Sarkosporidien, Färbung 139.
Katalyosome, Fixierung nach Champy 137.
Keratin, Chemisches 127.
Kerne, Analyse, tinktorielle nach Unna 125.
—, Anilinschwarzfärbung 402.
—, Eiweiße 290.
—, Färbungen nach Unna 292 ff.
—, Giemsa-Färbung 1 ff.
—, Haut 289 ff.
—, Hautkarzinom 126.
—, Karzinom 291.
—, Kondylom 126, 294.
—, „Metachromasie des Chromatins" 10.
—, Neurom 166.
—, oberflächliche Farbauflagerung 1.
—, Reduktionskraft 123.
—, Sauerstofforte 123.
—, saure 126, 289.
—, Syphilide 293, 294.
Kerngrundsubstanz, Chemie 125.
Klappreflexkamera von Ernemann 205.
Kleins panoptische Färbung mit Polychrom 245.
Knäueldrüsen, Kerne 294.
—, Reduktionskraft 123.
—, Sauerstoffort 124.
Knochen, Chondriom 502 ff.
—, Krappfärbung 502.
—, Versilberung nach Deineka 502.
Knochenfische, Chondriosomen 156.
—, Fixierung nach Champy 157.
—, Gonocyten 156.
Knochenkanälchen, Imprägnation nach Cajal 504.
Knochenmark, Mastzellen 154.
—, Untersuchung nach Arnold 500.
Knorpel, Grundsubstanz, Sauerstoffort 124.
Kochs Einbettung in Gelatine 507.
— Lipoidfärbung 507.
— Markscheidenfärbung 507, 508.
Kollagen, Reduktionskraft 123.
Kondylom, spitzes, Kerne 126, 294.
Kongorot-Lichtgrün, Kontrastfärbung zu Hämatoxylin nach Champy 416.
Kopepoden, Markscheiden 166.
Kopschs Osmierungsmethode, Golgi-Apparat 255.
Krappfärbung, kalkhaltiges Gewebe 502.
Krotkows Blutuntersuchung 257, 258.
— Mischpipette für Blutkörperchenzählung 257.
Krügers Hämatoxylin, Färbung der Bindesubstanzen 137.
Kühler bei Projektion 97.
Kühlkammer nach Zoth 97.
Kühlung, „direkte" 97.
Kulls Modifikation der Altmann-Färbung 213.
Kuntz' Methode, Nerven des Magens zu untersuchen 162.
Kupferbichromat, Beizen des Gehirnes 428.

Lacerta, Kopf 410.
Leber, Anilinschwarzfärbung 402.
—, Gallenkanälchen, Untersuchung nach Vance 161.
Lecha-Marzos Spermanachweis 417.
Legendres feuchte Kammer 493.
Lenhosséks Gemisch, Fixierung der Darmzotten 412.
— Versilberung des Auges 32.
Leontowitschs Modifikation der Ehrlich-Betheschen Methode 504.

Leptomonaden, Giemsa-Färbung 4.
Lequeux-Marmiers Thermoregulator 131.
Leukocyten, Zählung 258, 261.
Levis Modifikation der Maximowschen Flüssigkeit 158.
Libelluliden, Fazetten 148.
Lichtgrün, Nukleolenfärbung 416.
Lieberkühnsche Drüsen, Fixierung 413.
Lipoidsubstanzen, Nachweis nach Biondi 264, 265.
, — — Ciaccio 263.
, — — Koch 507.
—, — — Lorrain Smith-Dietrich 263.
Liquor cerebrospinalis, Oxydasereaktion 505.
—, Untersuchung nach Szécsi 505.
— —, Zellen 505.
Liriodendron, Blüten 175.
Lithionkarmin, Injektion 269.
Lomechusa, Fixierung und Färbung 252.
Londons Neurofibrillenfärbung, modifiziert von Heldt 268.
Lucidol, Fixiermittel 131 ff.
Lymphocyten, Sauerstoffort 124.
Lyosome, s. Katalyosome.

Macallums Eisennachweis, Kritik 470.
— Phosphornachweis, Kritik 468.
Magdalarot-Kongorot, Färbung der Mitochondrien 416.
, Kontrastfärbung zu Hämatoxylin nach Champy 416.
Magen, Nerven 162.
, Salzsäureproduktion 470.
Magenta-Pikroindigokarmin, Prosobranchier 140.
Magnolia, Blüten 175.
Makronuclei, Giemsa-Färbung 2.
Mallory-Färbung, Cestoden 498.
— , Mucin 411.
— —, nach Schaefer 498.
— —, Nematoden 252.
Mantiden, Fazetten 148.
Marchi-Methode, Chemisches 167.
— —, Färbung degenerierter Nerven 263.
Markscheiden, Doppelbrechung 163 ff.
—, Färbung nach Koch 507.
Mastzellen, Granula 126, 500.
, Reduktionskraft 123.
, Sauerstofforte 123.
Maximows Flüssigkeit, modifiziert von Levi 158.
May-Grünwalds Lösung, Färbung der Mastzellen 155.
Meeresalgen, Kultur 176.
Mehl, Kartoffelzusatz 476.
Meßners Färbung der Nisslschen Schollen 408.
metatrope Doppelbrechung 163.
Methylblau Eosin, Färbung der Sarkosporidien 139.
Methylgrün, Färbung saurer Bestandteile der Zelle 123.
— -Pyronin nach Unna 408.
Methylenblau, Färbung von Bryozoën 248.
- -Borax, Färbung der Negrischen Körperchen 272.
-Natriumbikarbonat, Bakterienfärbung 271.
Mikrofilarien, Färbung 144.
Mikronuclei, Giemsa-Färbung 3.
Mikrophotographie bei auffallendem Licht 373.
Mikroprojektion, aplanatische Linsen 219.
— im polarisierten Licht 279.
—, Verwendung des Zeichenprismas 384.
Mikroskope, mineralogische Arbeiten 274, 275.
Mikroskopierlampen 99 ff.
für Mineralogen 275.
— nach Voß 464.
Mikroskopiertisch nach Scheffer 92.
Mikrosporidien, Fortpflanzung 247.
—, Kerne 247.
Milchdrüse, elastisches Gewebe 509.
—, Färbung nach Liperovsky 509.
—, — — Nowikoff 509.
Milz, Anilinschwarzfärbung 402.
, Fixierung 414.
—, Gitterfasern 160.
—, Lipoidsubstanzen 414.
—, Muskelgewebe 409.
—, Rachitis 160.
Mironescos Amyloidfärbung 501.
Mischpipette für Blutkörperchenzählung nach Krotkow 257.
Mitochondrien, Anuren 151.
, Färbung nach Benda 251.
—, Umwandlung in Katalyosome 137.
Möllgaardsches Reticulum, Fixierung und Färbung 266.
Molybdänhämatoxylin nach Held, Färbung der Glaskörperfibrillen 29.

Montis Salzsäurenachweis, Kritisches 470.
Moose, Filarstrukturen des Plasmas 177.
Mucingranula, Präparation nach Greschik 408 ff.
—, Unterkieferdrüse 408 ff.
Muskel, Anilinschwarzfärbung 402.
—, Frosch 256.
—, Lokalisation des Kaliums 469.
—, Maus 256.
—, Untersuchung nach Péterfi 256.
Muskelfasern, Färbung nach Unna 295.
Muskelgewebe, Reduktionskraft 123.
Mustelus, Riechorgan 422.
myelotrope Doppelbrechung 163.
Myofibrillen, Beziehungen zu Sehnenfibrillen 256.
—, Färbungen 256, 257.

Naumanns Gaslichtpapierverwendung 472.
Nebennieren, Anilinschwarzfärbung 402.
Necturus, Augenmuskelnerven 159.
—, Präparation 159.
Negrische Körperchen, Färbung 272.
Nematoden, Mitteldarm 251.
Neottia, Farbstoffe 356.
Nernstlampe, Mikrophotographie 499.
Nerven, atrope 163.
—, Chemisches 163 ff.
—, degenerierte, Marchi-Reaktion 167.
—, —, Untersuchung nach Biondi 263.
—, Doppeltbrechung 162.
—, Fett 167.
—, Mitochondrien 266.
—, Reduktionskraft 123.
—, Versilberung nach Ranson 162.
Nervenendigungen, Granula 137.
—, Insekten 146.
—, Zahnfleisch 423.
Nervenfasern, blaßrandige 165.
—, dunkelrandige 165.
—, Färbung nach London-Heldt 268.
—, „marklose" 165.
Nervengewebe, Färbung nach Szüts 17.
—, Lokalisation des Kaliums 469.
Nervenzellen, Anilinschwarzfärbung 402.
Nervenzellen, Fettkörnchen 506.
—, lipoide Kerne 506.
—, Marchi-Schollen 506.
—, Pigment 506.
Neurochorde der Schizopoden, Nervennatur 165.
Neurom, Ganglienzellkern 166.
Neutralrot, Vitalfärbung 494.
Niederschläge in lebenden Zellen 513.
Niere, Anilinschwarzfärbung 402.
—, Cottus 508.
—, Injektion nach Guitel 508.
Nisslsche Körper, Färbung nach Dolley 268.
— Schollen, Färbung mit Pikrokarmin nach Meßner 408.
Nitophyllum, Sporen 175.
—, Tetrasporangien 175.
Nitrochrysophan nach Unna 123.
Novikoffsche Färbung, Milchdrüsen 509.
Nuklein, Nukleolinmethode Unnas 108.
Nukleolen, Lichtgrünfärbung 416.
—, Reduktionskraft 123.
Nukleolin, basophiles, oxyphiles, Chemie 125.

Objekthalter für Zeißsche anastigmatische Doppellupen 380.
Oehlers Trypanosomenisolierung 170.
Oligochäten, Epithel 251.
Orcein, Färbung der elastischen Fasern 427.
—, Milchdrüsen 509.
Orthopteren, Proventriculus 495.
Osmia, Spermatogenese 252.
Osmium-Kaliumbichromat-Alkohol, Fixierung von Fett und Glykogen in Dendrocoelum 249.
Osmiumsäure, Fixierung von degenerierten Nerven 264.
—, — eosinophilen Zellen 500.
—, — Glykogen in Dendrocoelum 249.
—, — — Prosobranchier 140.
— -Jodnatrium, Fixiermittel 136.
Ovarien, Bielschowsky-Hörmannsche Färbung 419.
—, Corpus luteum 419.
—, Färbung mit Rubaschkins Eisenhämatoxylin 158.
—, Fixierung mit Maximows Flüssigkeit 158.
Oxydasenreaktion, Untersuchung des Liquor cerebrospinalis 505.

Palaemon, Markscheiden 165.
panarithmische Blutkörperchenzählung nach Walsem 328.
Pandalus, Markscheiden 165.
parasitologische Untersuchungen, Lucidolfixierung 132, 133.
Parmelia, Gonidien 178.
Perényische Flüssigkeit, Fixierung von Termiten 495.
perigene Niederschläge in histologischen Präparaten 471.
peripheres Nervensystem, Vitalfärbung nach Goldmann 423.
Periplast, Trypanosomen, Giemsa-Färbung 4.
Permanganat, Nachweis der Reduktionsorte der Zelle 123.
Peroxydasen, Nachweis durch Benzidinwasserstoffsuperoxyd 123.
Péterfis Methode, Muskelfibrillen zu untersuchen 256.
Petromyzon, Skelett 255.
Phallusia, Ei 248.
—, Spermien 248.
Phasmiden, Fazetten 148.
Phosphor, Mikrochemisches 433. 168.
—, Nachweis nach Macallum 434.
—, — — Weyland 434.
Phosphormolybdänsäure, Spermanachweis 417.
Physcia, Gonidien 178.
physiologische Lösung nach Schiassi 400.
Pigmentkörner, Versilberung 135.
Pikrinsäure, oxypolare Affinität 123.
Pikroindigokarmin, Färbung der Sarkosporidien 139.
Pikrokarmin-Färbung der Nisslschen Schollen 408.
Pistacia, Chlorophyll 344.
Plankton, Mikrophotographien 473 ff.
Plasmastrukturen, Untersuchung nach Arnold 394.
Plasmazellen, Färbung nach Unna 291.
, Herkunft 407.
, Rinderaktinomykose 291.
, Sauerstoffoct 124.
, Untersuchung nach Unna 407.
Plasmolyse, Dauerpräparate 515.
Plasmosomen, Vitalfärbung 491.
Plazenta, Cajals Uranmitratmethode 155.
, Epithelien 155.
, Golgi-Methode 155.
Polychäten, Epithel 251.
Polychrom nach Klein, Blut- und Gewebefärbung 245.
Polyphemus, Sommereier 497.
postvitale Färbung, Allgemeines 491.
Potamobius, Spermatogenese 150.
Präpariertisch nach Geiger 461.
Prenants Färbung, modifiziert von Champy 416.
Projektion, Kühler 27.
Prosobranchier, Geschlechtsorgane 140.
Proteïde, optisches Verhalten 163.
proteotrope Doppelbrechung 163.
Protoplasma, Analyse nach Unna 126.
Proventriculus, Coleopteren und Orthopteren 495.
Pyridin-Lucidol, Fixiermittel 132.
Pyronin-Färbung des Granoplasmas 126.

Radiumstrahlen, Wirkung auf Furchung 158.
Rammes Methode, Coleopteren und Orthopteren zu präparieren 495.
Ransons Versilberung 162.
Rasiermesser, neue Formen 246.
Reduktionskraft der Gewebe 123.
Reduktionsorte der Zelle, 43 ff., 51 ff., 478, s. auch Rongalitmethode.
Regaudsche Flüssigkeit, Fixierung von Bufo, Plastosomen 159.
— —, — — Triton 501.
Rekonstruktion 114.
— nach Honigmann 229.
Remaksche Fasern, Doppelbrechung 163.
Renauts Amyloidfärbung 501.
Resorcin-Fuchsin, Färbung der elastischen Fasern 427.
Reticulum Möllgaards, s. Möllgaard.
Rhacophorus, Larven 151.
Rinderaktinomykose, Plasmazellen 294.
Rio Hortegas Modifikation der Bielschowskyschen Versilberung 500.
Röthigs Nachfärbung der Weigert-Pal-Präparate 506.
Romanowsky-Färbung nach Lucidolfixierung 132.
Romeis' Wässerungsapparat 236.
Rongalitmethode Unnas 123.
— —, Kritisches 43 ff., 51 ff., 296 ff., 300 ff., 307 ff., 478 ff.
Rupps Methode, Gehirnschnitte in Gelatine auf Karton zu konservieren 35.

Salomons Kalziumnachweis 435.
Sarkosporidien, Färbung 139.
—, Karyosom 139.
—, Sporen 138.
Sauerstofforte der Zellen 43 ff., 51 ff., 123, 289 ff., 478, s. auch Rongalitmethode.
— — —, primäre, sekundäre 174.
Säurefuchsin-Pikrinsäure, Färbung der Reduktionsorte der Zelle 123.
Schaefers Modifikation der Mallory- und Blochmannschen Färbung 498.
Scheffers Mikroskopiertisch 92.
Schiassis physiologische Lösung 400.
Schillings Methoden der Blutuntersuchung 258 ff.
Schizopoden, Neurochorde 165.
Schleifapparate 276.
Schleimhaut, Epithel 151.
Schleimzellen, Darm 413.
—, Vitalfärbung nach Möllendorf 413.
Schleimzysten, Giemsa-Färbung 1.
Schnittserien nach Honigmann 229.
Schnittserienmethode nach Suzuki 367.
Schwein, Embryo, Schnerv 269.
Sclerostomum, Gramsche Färbung 144.
—, Präparation 143.
Seifen, Nachweis nach Ciaccio 264.
Selaginella, Einbettung 173.
—, Scheitelwachstum 173.
Simarro-Villaverdes Anilinschwarzfärbung 401.
Sjövalls Osmierungsmethode, Golgi-Apparat 255.
Sklerometer nach Pöschel 276.
Spaltholz' Methode, tierische Präparate durchsichtig zu machen 398.
Sperma, Nachweis mit Phosphormolybdänsäure 417.
—, Präparation 141.
—, Prosobranchier 141.
—, Reaktion nach Bokarius 117.
Spermatogonien, Chromosomen, Giemsa-Färbung 3.
Spermatozoën, Giemsa-Färbung 4.
—, Lebendbeobachtung 509.
—, Vögel 510.
Spiegelreflexkamera für Mikrophotographie 84.
Spirochaete, Färbung nach Dupérié 271.
Spirochaete, Nachweis nach Gvenes-Sternberg 511.
Spongioplasma, Chemie 126.
—, Reduktionskraft 123, 124.
Stärkekörner, Färbung 416.
Stentor, Giemsa-Färbung 3.
Stirnauge, Ameisen 496.
Strepsipteren, Entwicklungsgeschichte 404.
streuende Scheiben für Mikrobeleuchtung 368.
Sublimat-Alkohol-Salpetersäure, Fixierung des Hymenopterendarms 496.
— -Eisessig, Fixierung von Anodonta 142.
— —, — — Bindesubstanzen 137.
— —, — — Darm von Coleopteren und Orthopteren 495.
— —, — — Sarkosporidien 139.
— heiße Fixierung der Chromosomen 252.
— nach Gilson-Petrunkewitsch, Fixierung von Ameisen 496
— -Osmiumsäure, Fixierung der Mucingranula 110.
supravitale Färbung, Allgemeines 494.
— nach Arnold 394.
Suzukis Schnittserienmethode 367.
Symmetrieachsen, optische, Dispersion 277.
Syphilide, Kerne 293, 294
Szécsis Methode, Liquor cerebrospinalis zu untersuchen 505.
Szent-Györgyis Flüssigkeit, Fixierung des Glaskörpers 25.
Szüts' Hämatoxylin Ammoniummolybdat 17.
— Nervenfärbung 17.

Taenia, Fortpflanzungszellen 499.
Talgdrüsen, Reduktionskraft 123.
Talgzellen, Reduktionskraft 123.
Tannin, Versilberungsverfahren Achúcarros 152.
— -Pikrinsäure, Differenzieren nach Unna 293.
Tempax-Glas von Schott 441.
Tenebrio, männlicher Kopulationsapparat 405.
Termiten, Präparation nach Rosen 495.
—, Sehorgan 495.
Testudo, Nerven 266.
Thecaphoren, Fixierung und Färbung 140.

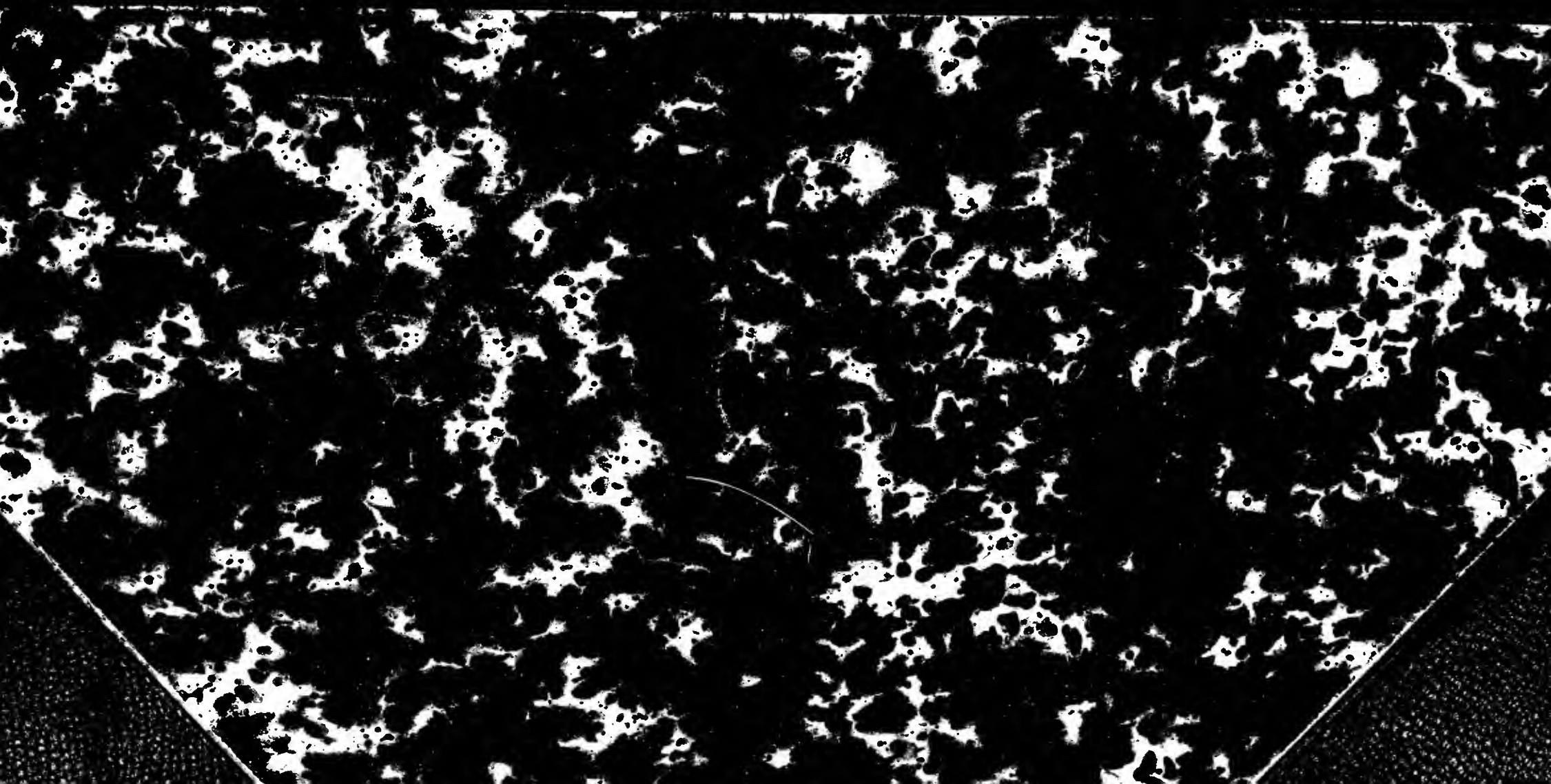
Thermoregulator nach Heydenreich 130.
– Lequeux-Marmier 131.
Thiazinbraun-Toluidinblau, Färbung der Myofibrillen 257.
Thiazinrot, Regeneration der Färbekraft 411.
Thionin, Färbung von Chondriosomen 241.
– – – Mastzellen 154.
Thymus, Färbungen 162.
Tornocerus, Gehirn, Kopfdrüsen 405.
Torracas Methode, Triton zu präparieren 501.
Trematoden, Glykogen 251.
Triacid, Färbung des Enddarmes der Vögel 413.
Trichochromidien, Giemsa-Färbung 3.
Trichozysten, Giemsa-Färbung 3.
Triton, Chondriosomen 501.
–, Fixierung und Färbung nach Torraca 501.
–, Knorpelgewebe 501.
–, Schleimhaut 151.
Trypanblau, Vitalfärbung nach Injektion 269, 270.
Trypanosomen, Einzellkultur 170, 171.
–, Fixierung mit Lucidol 132.
–, Giemsa-Färbung 3, 4.
Tunica, Zentralnervensystem 140.
Turbellarien, Fixierung und Färbung 250.
Tyrosin, Oxydation 124.

Übrichtsche Kugel, Verwendbarkeit 441.
Ulva, Chlorophyll 345.
undulierende Membranen, Randfäden, Giemsa-Färbung 3.
Universaltisch für Projektion und Photographie nach Geiger 448.
Unnas Hautuntersuchung 122ff.
– Methylgrün-Pyronin 408.
– Nuklein-Nukleolinmethode 408.
– Rongalitmethode s. diese.
– Tannin-Pikrinsäure 293.
Uranmitrat, Fixierung von Muskeln der Wirbellosen 145.
– Plazenten 155.

Vakuum, Fixierung und Einbetten 19ff.
Vances Methode, Gallenkanälchen der Leber zu untersuchen 161.
Veloxpumpe 21.
Verattis Bleichmethode 156.
Verholzung, Nachweis mit Benzidin 51.
Versilberung, Bakteriengeißeln 271.
– Eosentonnon 147.
–, Kritisches 470.
– nach Achúcarro 152.
– – Bielschowsky, Modifikation nach Bindewald 169.
– – Fontana 135.
– – Ranson, Nervenuntersuchung 162.
Versteinerungsmethode, Embryonenuntersuchung 153.
Vespa, Ovogenese 254.
Vitalfärbung, Allgemeines 494.
– nach Goldmann 413.
–, Neutralrot 494.
–, Plasmosomen 494.
– -Scharlach VIII, Nachfärbung der Weigert-Pal-Präparate 506.
–, Schleimzellen des Säugerdarms 413.
–, Theoretisches 131.
Vögel, Enddarm 412.
–, Keimzellen 510.
–, Unterkieferdrüse 409.
Volutin, Giemsa-Färbung 4.
Voß' Mikroskopierlampe 464.

Walsems Blutentnahme 311.
– Blutkörperchenzählung 327.
– Blutpräparate 316ff.
– Hämoglobinbestimmung 314.
– Zentrifugiermethode für Blutuntersuchung 320.
– Zentrifugierpipette 41.
Wasserblau, Färbung des Eosentonnon 147.
Wasserstrahlluftpumpe von Koellner 19.
Wässerungsapparat nach Romeis 236.
Weigertsche Färbung, modifiziert von Kopsch, Färbung des Golgi-Apparates 255.
– Methode, modifiziert von Bindewald 168.
– nach Paraffineinbettung 427.
– -Pal-Präparate, Nachfärbung nach Röthig 506.
Wisselinghs Karotinnachweis 512.
Wurzelscheide, Reduktionskraft 123

Zähne. Entwicklungsgeschichte 153.
Zahnfleisch, Nervenendigungen 423.
Zeichenprisma. Verwendung für Mikroprojektion 384.
Zellfette. Chemie 128.
Zenkers Flüssigkeit. Fixierung von Dendrocoelum 250.
— —. — — Enddarm der Vögel 412.
— -Präparate. Behandlung für Mallory-Färbung 411.
Zentralkörperchen. Schleimhautepithel 151.
Zentralnervensystem, Tunica 140.
—, Vitalfärbung nach Goldmann 423.
zentrifugale Aufbewahrung nach Walsem 40.
Zentrifugierpipette Walsems 41.
Zoogonus. Oogenese 145.
Zoths Kühlkammern 97.
Zucker, Lösung zur Beobachtung der Spermatozoën 509.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

MBL WHOI LIBRARY
WH 19M6 1
9388