

**Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen /  
[Arthur Bolles Lee].**

**Contributors**

Lee, Arthur Bolles, 1849-1927.  
Mayer, Paul.

**Publication/Creation**

Berlin : R. Friedländer, 1910.

**Persistent URL**

<https://wellcomecollection.org/works/faepyhbk>

**License and attribution**

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).



Wellcome Collection  
183 Euston Road  
London NW1 2BE UK  
T +44 (0)20 7611 8722  
E [library@wellcomecollection.org](mailto:library@wellcomecollection.org)  
<https://wellcomecollection.org>



LEE - MAYER  
—  
GRUNDZÜGE  
DER  
MIKROSKOPISCHEN TECHNIK  
IV. AUFLAGE

R. FRIEDLÄNDER & SOHN BERLIN



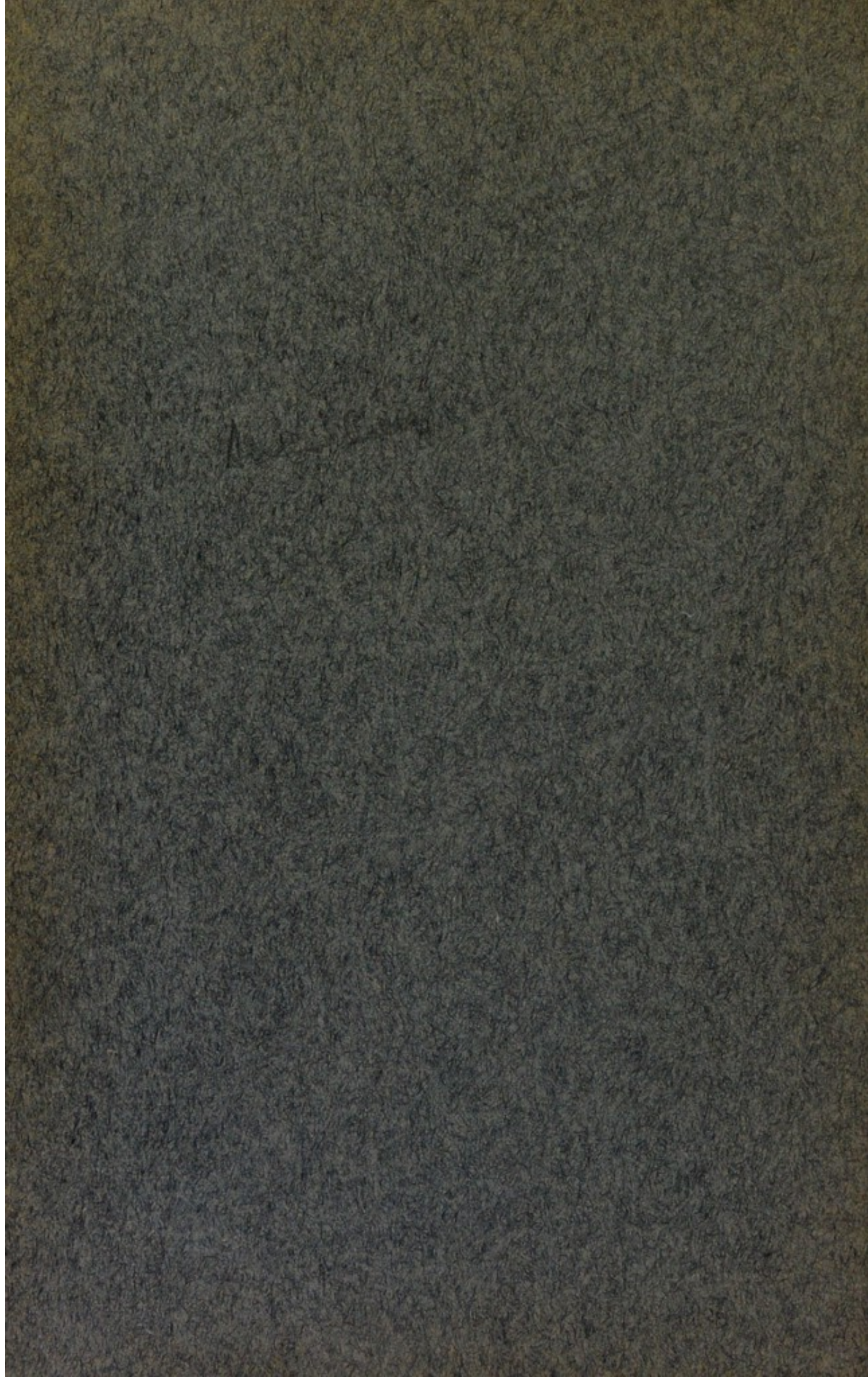


22102077122



**Med**  
**K3409**







Grundzüge  
der  
mikroskopischen Technik  
für  
Zoologen und Anatomen

von  
A. B. Lee                      Paul Mayer  
in                      und                      in  
Baugy-Clarens                      Neapel.

Vierte Auflage.

Berlin  
R. Friedländer & Sohn  
1910.



1302376

12346

|                               |          |
|-------------------------------|----------|
| WELLCOME INSTITUTE<br>LIBRARY |          |
| Coll.                         | weIMOmec |
| Call                          |          |
| No.                           | QH       |
|                               |          |
|                               |          |
|                               |          |



## Vorwort zur vierten Auflage.

Änderungen von Belang im Vergleiche mit der vorigen Auflage sind in der neuen nicht zu verzeichnen. Was mir aus der Literatur der letzten vier Jahre wichtig erscheint, habe ich getreulich aufgenommen; leider stand mir von den zahlreichen medizinischen Spezialzeitschriften kaum eine zur Verfügung, und so war ich da fast ganz auf die Referate in der Zeitschrift für wiss. Mikroskopie und andere ähnliche Quellen angewiesen. Wie das vorige so ist auch dieses Mal durch stilistische Kürzungen der Raum für die sehr zahlreichen neuen Daten und das Wenige, was ich aus Unpublizirtem hinzufügen konnte, gewonnen worden.

Nach wie vor erscheint es mir nicht unnütz, die bedenkliche Art hervorzuheben, wie manche Autoren ihre Methoden entweder gar nicht oder nur unvollkommen angeben. In den früheren Auflagen brachte ich als böse Beispiele das „Gemisch von 2 Theilen Jodgrün auf 1 Theil Säurefuchsin in 10% Glycerin gelöst“ und die „Lösung von gleichen Theilen Eosin und Alaun in 200 Theilen Alkohol“, ferner das „Gemisch von Pikrinsäure-Sublimat mit einem geringfügigen Zusatze von Essigbeziehungsweise Ameisensäure“, die „43%ige alkoholische Alaunkarminlösung“, die „alkoholische Sublimatlösung von 15—20%“, die „konzentrirte wässerige Lösung von einem Theil Quecksilberchlorid, 2 Theilen absolutem Alkohol und etwa  $\frac{1}{4}$ % Essigsäure“ und die „Chromsublimatmischung (1 pro mille)“. Diese Liste kann ich jetzt bereichern durch den „heißen Sublimat-Alkohol (zu gleichen Theilen) unter Beimischung von 1—2 Tropfen Eisessig“ sowie durch folgenden Satz: „Die mit Hämatoxylin gefärbten Schnitte kamen in eine schwach alkoholische Lösung von je 10 Tropfen Orange (ges. in 96-proz. Alk.) und einer wässerigen Bordeauxlösung auf 50 ccm Flüssigkeit.“

Eine Besserung ist hierin nur zu erreichen, wenn die Vorsteher von Instituten ihren Praktikanten nicht nur die Methoden der Forschung,



sondern auch die Art, ihre Resultate klar und doch kurz zu veröffentlichen, beibrächten; freilich scheinen manche von ihnen selbst in ihren eigenen Publikationen hierauf keinen Werth zu legen.

Die Abkürzungen der Zeitschriften sind fast genau wie die im Neapler Zoologischen Jahresbericht, wo sie sich seit langen Jahren bewährt haben. Die viel benutzten Lehrbücher aber seien hier besonders genannt, soweit ihr Titel abgekürzt citirt wird; es sind

Apáthy, S., Die Mikrotechnik der thierischen Morphologie [etc.] 1. Abth. Braunschweig 1896; 2. Abth. Braunschweig 1901.

Behrens, W., Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. 2. Aufl. Braunschweig 1892; 3. Aufl. Braunschweig 1898; 4. Aufl. (von E. Küster) Leipzig 1908.

Böhm, A., & A. Oppel, Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 3. Aufl. München 1896; 4. Aufl. München 1900; 5. Aufl. München 1904.

Carazzi, D., Manuale di tecnica microscopica [etc.]. Milano 1899.

Carnoy, I. B., La Biologie cellulaire. Etude comparée de la cellule dans les deux règnes. Lierre 1884.

Encyclopädie der mikroskopischen Technik. 2. Aufl. 2 Bde. Berlin u. Wien 1910. (Wo die 1. Aufl. (1903) citirt wird, ist dies besonders angegeben.)

Fischer, A., Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas [etc.]. Jena 1899.

Flemming, W., Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig 1882.

Fol, H., Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie [etc.]. 1. Liefg. Die mikroskopisch-anatomische Technik. Leipzig 1884.

Lee, A. B., & L. F. Henneguy, Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique. 2. Ed. Paris 1896.

Mann, G., Physiological Histology. Methods and Theory. Oxford 1902.

Ranvier, L., Traité technique d'histologie. 1. Ed. Paris 1875—1882; 2. Ed. Paris 1888.

Rawitz, B., Leitfaden für histiologische Untersuchungen. 1. Aufl. Jena 1889; 2. Aufl. Jena 1895.

—, Lehrbuch der mikroskopischen Technik. Leipzig 1907.

Squire, P. W., Methods and Formulae used in the Preparation of Animal and Vegetable Tissues for Microscopical Examination including the Staining of Bacteria. London 1892.

Whitman, C. O., Methods of Research in Microscopical Anatomy and Embryology. Boston 1885.



Ein \* vor einem Citat bedeutet, daß mir die Schrift nicht zugänglich gewesen ist.

Dem alphabetischen Register habe ich wie immer besondere Sorgfalt zugewandt, desgleichen den zahlreichen Verweisungen im Texte. Die unvermeidlichen Nachträge während des Druckes (§ 872—890) sind alle ins Register aufgenommen worden.

Neapel, Zoologische Station, im November 1910.

**Paul Mayer.**

---

### **Berichtigungen.**

---

✓ p. 355 Zeile 14 von unten statt Vastarrini lies Vastarini.



## Inhaltsverzeichnis.

|                                                                                                                              | Seite |                                                                                               | Seite |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Kapitel.                                                                                                                  |       | 11. Kapitel.                                                                                  |       |
| Einleitung . . . . .                                                                                                         | 1     | Färben mit Karmin, Karmin-<br>säure und Cochenille . . . . .                                  | 148   |
| 2. Kapitel.                                                                                                                  |       | A. Wässrige Gemische 149,<br>a) saure 149, b) basische und<br>sogenannte neutrale 152.        |       |
| Tödten . . . . .                                                                                                             | 14    | B. Alkoholische Gemische 155.                                                                 |       |
| Betäuben 15.                                                                                                                 |       | 12. Kapitel.                                                                                  |       |
| 3. Kapitel.                                                                                                                  |       | Färben mit Hämatoxylin- oder<br>Hämäteingemischen . . . . .                                   | 158   |
| Fixiren und Härten . . . . .                                                                                                 | 20    | A. Verbindungen des Hämäteins<br>mit Thonerde 161.                                            |       |
| 4. Kapitel.                                                                                                                  |       | B. Andere Verbindungen des<br>Hämäteins oder Hämatoxylin<br>166.                              |       |
| Fixirmittel und Härtmittel . . .                                                                                             | 27    | 13. Kapitel.                                                                                  |       |
| 5. Kapitel.                                                                                                                  |       | Färben der Kerne mit Theerfarb-<br>stoffen . . . . .                                          | 172   |
| Ersetzen des Alkohols durch<br>Intermedien . . . . .                                                                         | 65    | 14. Kapitel.                                                                                  |       |
| 6. Kapitel.                                                                                                                  |       | Färben mit Methylenblau . . .                                                                 | 184   |
| Allgemeines über das Einbetten.<br>Mikrotome . . . . .                                                                       | 75    | 15. Kapitel.                                                                                  |       |
| 7. Kapitel.                                                                                                                  |       | Färben des Plasmas mit Theer-<br>farbstoffen . . . . .                                        | 193   |
| Einbetten in Paraffin und andere<br>warme Massen . . . . .                                                                   | 82    | 16. Kapitel.                                                                                  |       |
| Paraffin 82, Seifen und Gelatine-<br>Massen 100.                                                                             |       | Färben mit anderen organischen<br>Farbstoffen; Färben und Im-<br>prägniren mit Metallen . . . | 211   |
| 8. Kapitel.                                                                                                                  |       | Kernschwarz etc. 211, Im-<br>prägnirung 212, Silber 214,<br>Gold 217, andere Metalle 224.     |       |
| Einbetten in Kollodium (Celloi-<br>din) und andere kalte Massen .                                                            | 103   | 17. Kapitel.                                                                                  |       |
| Kollodium (Celloidin) 103, an-<br>dere kalte Massen 114, Schleif-<br>massen 115, Gefriermassen 116.                          |       | Flüssige und feste Medien zum<br>Untersuchen und Einschließen<br>der Objekte . . . . .        | 226   |
| 9. Kapitel.                                                                                                                  |       |                                                                                               |       |
| Aufkleben der Schnitte . . . . .                                                                                             | 119   |                                                                                               |       |
| Methoden für Paraffinschnitte<br>119, für Schnitte, die nicht<br>entwässert werden sollen 127,<br>für Celloidinschnitte 128. |       |                                                                                               |       |
| 10. Kapitel.                                                                                                                 |       |                                                                                               |       |
| Allgemeines über das Färben . .                                                                                              | 132   |                                                                                               |       |



|                                                                                                                                                                       | Seite |                                                                                                                                                             | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Wässerige oder alkoholische Medien 226, Oele, Harze und Balsame 233.                                                                                                  |       | 26. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| 18. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | Methoden zur Untersuchung der Nerven: Vorbereitung der Objekte . . . . .                                                                                    | 325   |
| Kitte und Firnisse . . . . .                                                                                                                                          | 239   | Härten 327, Einbetten und Schneiden 332, Färben 334.                                                                                                        |       |
| 19. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | 27. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| Injizieren . . . . .                                                                                                                                                  | 244   | Methoden zur Untersuchung der Nerven: Cytologisches . . . . .                                                                                               | 336   |
| Warmflüssige Massen mit Gelatine 245, kaltflüssige Massen mit Gelatine, Glycerin etc. 249, rein wässerige Massen 251, Celloidin- und andere Massen 253.               |       | 28. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| 20. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | Methoden zur Untersuchung der Nerven: Färbung des Myelins und Axencylinders . . . . .                                                                       | 348   |
| Maceriren und Verdauen . . . . .                                                                                                                                      | 255   | a) Färbung des Myelins 348,                                                                                                                                 |       |
| Maceriren 255, Verdauen 261.                                                                                                                                          |       | b) des Axencylinders (und des Myelins) 356.                                                                                                                 |       |
| 21. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | 29. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| Korrodiren, Entkalken, Entkieseln, Bleichen . . . . .                                                                                                                 | 263   | Methoden zur Untersuchung der Nerven: Imprägnation nach Golgi und Anderen; Methoden für Neuroglia, Retina, inneres Ohr und elektrische Organe .             | 360   |
| Korrodiren 263, Entkalken 264, Entkieseln 267, Bleichen 267.                                                                                                          |       | Imprägnationen 361, Neuroglia 372, Retina 374, Inneres Ohr 376, Elektrische Organe 378.                                                                     |       |
| 22. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | 30. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| Methoden zu embryologischen Untersuchungen . . . . .                                                                                                                  | 271   | Andere histologische Methoden .                                                                                                                             | 379   |
| Säugethiere 275, Vögel 278, Reptilien 281, Amphibien 282, Fische, Cyklostomen, Akranier 286, Tunikaten 289, Bryozoen 290, Mollusken 290, Arthropoden 293, Würmer 299. |       | Bindegewebe 379, Knochen, Zähne und Knorpel 388, Blut 394, Drüsen und andere Organe 401.                                                                    |       |
| 23. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | 31. Kapitel.                                                                                                                                                |       |
| Methoden zur Untersuchung der Zelle . . . . .                                                                                                                         | 304   | Methoden zur Untersuchung wirbelloser Thiere . . . . .                                                                                                      | 411   |
| 24. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | Tunikaten 411, Bryozoen und Brachiopoden 412, Mollusken 413, Arthropoden 417, Würmer 424, Echinodermen 433, Cölenteraten 436, Poriferen 440, Protozoen 442. |       |
| Methoden zur Untersuchung der Haut . . . . .                                                                                                                          | 314   | Nachträge während des Druckes .                                                                                                                             | 450   |
| 25. Kapitel.                                                                                                                                                          |       | Register . . . . .                                                                                                                                          | 453   |
| Methoden zur Untersuchung der Muskeln und der Nervenenden darin und in den Sehnen . .                                                                                 | 320   |                                                                                                                                                             |       |
| Quergestreifte Muskeln 320, Sehnen 322, glatte Muskeln 322.                                                                                                           |       |                                                                                                                                                             |       |



1871

1872

1873

1874

1875

1876

1877

1878

1879

1880

1881

1882

1883

1884

1885

1886

1887

1888

1889

1890

1891

1892

1893

1894

1895

1896

1897

1898

1899

1900

1901

1902

1903

1904

1905

1906

1907

1908

1909

1910



## 1. Kapitel.

### Einleitung.

**1. Allgemeines.** Die Erforschung des Baues eines Thieres sollte, wenn irgend möglich, stets mit dem Studium des lebenden Organismus, oder falls dieser durch seinen Umfang dem Mikroskope auch bei schwacher Vergrößerung nicht zugänglich ist, seiner überlebenden (frischen) Theile beginnen, und hieran würde sich zur Kontrolle und Ausdehnung der Beobachtungen das Studium des konservirten Objektes anschließen. Dieser Weg ist besonders bei niederen Thieren, sofern sie durchsichtig genug sind — und das sind namentlich von den Wasserthieren recht viele —, der allein richtige, denn das lebende Thier zeigt Manches sofort, was sich am konservirten oft nur mühsam oder gar nicht ermitteln läßt; ferner hat man nur auf diese Weise die Sicherheit, daß nicht durch die Manipulationen beim Konserviren, Schneiden etc. Änderungen in den Geweben auftreten, deren Ausdehnung man nicht von vorne herein berechnen kann. Selbst wenn daher der Forscher auch nur über ein einziges Exemplar eines Thieres verfügt, so wird er am besten mit dem Studium des lebenden Organismus beginnen.

Ein Gleiches gilt, womöglich noch in höherem Grade, von der Erforschung der Ontogenese.

Ob es sich nun um Beobachtungen in morphologischer Hinsicht oder zu histologischen Zwecken oder für ontogenetische Probleme handelt, die optischen Hilfsmittel sind im Wesentlichen dieselben: ein gutes Mikroskop, womöglich mit Polarisationsapparat. Nicht absolut nothwendig, aber doch empfehlenswerth ist ein Präparirmikroskop: entweder ein Simplex mit recht großem Tische oder das binoculäre von Zeiß. Beide leisten zwar, besonders wenn ihr Stativ zweckmäßig eingerichtet ist, in mancher Beziehung mehr als bei gleicher Vergrößerung das zusammengesetzte Mikroskop, gestatten aber nicht den vielfachen Wechsel in der Beleuchtung, der letzterem durch Condensor und Irisdiaphragma eigen ist. Will oder muß man also diesen Vortheil aus-



nutzen, so bedient man sich am besten eines bildumdrehenden Oculars, das ebenso rasch aufgesetzt wie abgenommen werden kann. (Auch bei der Anfertigung von Dauerpräparaten ist dieses oft nützlich, s. MAYER in: Siboga Exp. Leiden 34. Monogr. 1903 p. 13.)

**2. Beobachtung lebender Thiere in toto für morphologische Studien.** Soweit es irgend thunlich ist, muß das Thier in seinem natürlichen Medium und in seiner normalen Lage untersucht werden. Jedoch genügt es in der Regel nicht, es auf einen Objektträger zu bringen und ein Deckglas darauf zu legen, vielmehr sind meist eigene Vorrichtungen erforderlich, um es in der gewünschten Position festzuhalten. Für kleine, zarte Thiere reichen zu diesem Zwecke oft die bekannten Wachsfüße (unten § 497) hin, die den Druck gradatim zu verstärken gestatten, ohne doch das Objekt zu beschädigen. Jedoch ist selbst für diese ein gutes Compressorium besser, da man mit ihm den Druck jederzeit wieder beliebig abschwächen kann. Zur Fesselung von Insekten und anderen kleinen Luftthieren ist zuweilen das Ankleben der Beine oder Flügel mit Gummi, Wachs, Mendelejefschem Kitte etc. an den Objektträger ein gutes Mittel. Ganz kleine Thiere kann man auch in der Art fesseln, daß man sie zwischen die Maschen eines Stückes Seidengaze oder Stramins bringt, das auf dem Objektträger liegt und durch Wachsfüße, die zugleich das Deckglas befestigen, an seinem Platze erhalten wird. Die gewöhnlichen hohlgeschliffenen Objektträger sind im Allgemeinen nicht empfehlenswerth, da die Höhlung als Calotte einer Kugel bei Beleuchtung von unten ungünstig wirkt.

Für Protozoen, aber auch Spermien, Blutzellen etc. empfiehlt APÁTHY (Mikrotechnik p. 233), auf dem Objektträger mit einem feinen Pinsel zwei concentrische Rahmen von Rizinusöl zu ziehen (den weiteren so groß wie das Deckglas) und den Tropfen mit den Objekten nicht zu groß zu wählen, daß er beim Auflegen des Deckglases nach außen hervortritt. So kann das Wasser nicht verdunsten. — Bei dickeren Objekten hilft man sich entweder mit den Wachsfüßen oder construirt aus Wachs oder Lack (ohne oder mit Hülfe von Papier- oder Glasstreifen) eine Zelle von den richtigen Dimensionen; temporär kann man sie mit Vaseline, weichem Paraffin etc. schließen. S. auch unten § 433 u. 434.

Luftthiere sind allermeist nicht durchsichtig genug, um diese Art der Beleuchtung zu gestatten. Manche von ihnen, besonders die dickhäutigen Arthropoden, vertragen einige Zeit den Aufenthalt im Wasser ohne Schaden, können also wie Wasserthiere behandelt werden; oder man untersucht sie in fettem Öl, das die Lichtbrechung des Chitins und seiner Anhänge in vortheilhafter Weise ändert.



Für die Wasserthiere ist, um sie während der Beobachtung am Leben zu erhalten, fast immer die Circulation des Wassers nöthig. Diese läßt sich, wenn das Präparat seinen richtigen Platz auf dem Mikroskoptische gefunden hat, gewöhnlich auf sehr einfachem Wege einrichten: aus einem höher stehenden Gefäße leitet man durch einen fein ausgezogenen Heber, einen Streifen Filtrirpapier, einen Baumwollfaden oder dergleichen das Wasser seitlich auf den Objektträger bis an das Deckglas und saugt es auf der anderen Seite durch eine ähnliche Vorrichtung wieder ab. Am besten ist diese Art der Circulation bei Zieglers Compressorium ausgebildet, das auch sonst vielfacher Verwendung fähig ist (s. unten § 4) und daher trotz seinem hohen Preise empfohlen werden kann.

APÁTHY (Mikrotechnik p. 249 ff.) beschreibt einen „Stufenobjektträger“, ein „Circulationskästchen“ und eine Modification der feuchten Kammer von Recklinghausen.

Natürlich sind, wenn der Kreislauf des Blutes oder der Lymphe studirt werden soll, mechanische Mittel zur Beruhigung des Thieres oft nicht erlaubt. Mitunter hilft dann, wenn man nicht mit Geduld den richtigen Augenblick abpassen kann, die Betäubung, die sich bei Wasserthieren meist leicht erzielen und durch Rückbringung des Objectes in frisches Wasser meist auch wieder aufheben läßt, ohne dem Thiere dauernd zu schaden. (S. hierüber unten § 16 ff.) Besonders einfach und sicher ist die Lähmung der Bewegungen durch Luftmangel oder vorsichtige Zuführung von Kohlensäure erreichbar.

Um die Bewegungen kleiner Thiere (z. B. Infusorien) in toto oder ihrer Theile (z. B. der Cilien) ohne weitere Schädigungen zu verlangsamen, kann man sich oft eines zähen Mediums, wie Gummilösung, bedienen; siehe hierüber unten § 863.

Bei Wasserthieren benutzt man zuweilen mit Vortheil die Linsen Planktensucher und D\* von Zeiß, da sie direkt in das Wasser tauchen und so ein Deckglas unnöthig machen, auch den gleich starken Trockenlinsen optisch überlegen sind. (S. hierzu MAYER in: Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 447.)

Auf die Froschhalter, d. h. Apparate zur Fesselung lebender Frösche, um Zunge, Schwimmhaut, Mesenterium etc. der mikroskopischen Beobachtung zugänglich zu machen, soll hier nicht eingegangen werden, ebenso nicht auf die analogen Vorrichtungen für Larven von Amphibien, kleine Fische u. dgl.

An durchsichtigen Thieren lassen sich während des Lebens außer der Circulation die Athmung, das Spiel der Körper- und Darmmuskeln, die Verdauung (eventuell nach Fütterung mit geeigneten



Farbstoffen) und Exkretion (ebenso) wenigstens in den groben Zügen beobachten. Mitunter führt sogar diese Art des Studiums rascher und besser zum Ziele, als die Untersuchung des fixirten Thieres. Sie sollte daher ja nicht vernachlässigt werden, sondern der anderen stets vorausgehen. Allerdings eignen sich von den Vertebraten nur sehr wenige dazu, und auch von den Invertebraten mehrere Gruppen so gut wie gar nicht.

Eine besondere Methode zur Erforschung mancher Drüsen etc., vor Allem aber der Nervenbahnen, ist die intravitale Färbung (unten § 209 und Kapitel 14).

**3. Beobachtung lebender Thiere in toto oder überlebender Theile davon für histologische Zwecke.** Das Studium lebender Thiere gestaltet sich ähnlich, wie in § 2 kurz geschildert; nur wird man hier mitunter bei Wasserthieren die intravitale Färbung mit Neutralroth etc. (unten § 209) erfolgreich anwenden, besonders um die feineren Vorgänge bei der Verdauung und Exkretion kennen zu lernen. Auch kann es nützlich werden, dem flüssigen Medium eine Aufschwemmung von Tusche oder anderen unlöslichen Farbstoffen zuzusetzen. S. auch unten § 627.

Handelt es sich um überlebende Theile, die sich leicht isoliren lassen, wie Blut, Sperma, Eier, so ist manchmal die Centrifuge (z. B. um die Arten der Blutzellen von einander zu trennen) nützlich, meist aber entbehrlich. Ferner kann ein heizbarer Objektisch oder ein Thermostat zur Erwärmung des ganzen Mikroskopes nöthig werden, besonders bei Warmblütern. Über das Blut s. unten § 783 u. 785.

Von Apparaten und Instrumenten zur Gewinnung brauchbarer Präparate von überlebenden Geweben seien außerdem genannt: das Gefriermikrotom (s. besonders § 181), die Doppelmesser von Valentin und Anderen, die Doppelsäge (unten § 768) und die Drüsen-Mühle von Erik Müller (Encyclop. 2. Bd. p. 25). Untersucht werden alle diese Präparate am besten im eigenen Gewebesafte, sonst aber in sogenannten indifferenten Gemischen (§ 376 ff.). Um die Verdunstung möglichst gering zu machen, umgibt man das Präparat mit einem Rande von Vaseline oder ähnlichen Stoffen. Speziell zum Studium der Nerven dient die intravitale Färbung mit Methylenblau (unten § 294 ff.).

**4. Beobachtung lebender Eier und Embryonen.** Hier ist besonders nützlich Zieglers Compressorium, das auch hinterher die Fixirung



des Materiales gestattet. Die früher viel ausgeübte Methode der Untersuchung kleiner Objekte im hangenden Tropfen, wobei das Deckglas allseitig gestützt ist, sodaß die Mitte nicht dem Objektträger aufliegt, sondern den Tropfen mit dem Material frei schwebend enthält, ist lediglich als Nothbehelf zulässig, da sie die Eier leicht in zu wenig normale Bedingungen versetzt. Die Linse D\* von Zeiß eignet sich bei empfindlichen Objekten nur, wenn die Fassung, so weit sie in das Wasser eintaucht, mit Paraffin umkleidet ist.

Über Öl als Medium für Eier von Arthropoden s. unten § 568.

**5. Vorbereitung des lebenden Objektes zur weiteren Untersuchung.** Ist das lebende Objekt in der oben kurz angegebenen Art zur Genüge untersucht worden, so schreitet man zur Anfertigung der Dauerpräparate. Diese können aber nur dann einen Erfolg versprechen, wenn sie von wirklich lebenden Objekten herrühren. Verfügt man nur über ein einziges Exemplar, so darf es durch die frühere Untersuchung nicht gelitten oder muß sich wenigstens davon ganz erholt haben. Besser ist es natürlich, wenn man andere Exemplare zu diesen Präparaten benutzen kann.

Eine kritische Darstellung der Geschichte der wichtigsten Methoden s. bei APÁTHY (Mikrotechnik p. 35—140).

Zunächst handelt es sich bei jedem Objekte um die Fixirung der histologischen Elemente, und dies gilt sowohl für den Fall, daß es später geschnitten werden soll, als auch für jedwede andere weitere Behandlung. Die Elemente sollen möglichst getreu in der Beschaffenheit erhalten bleiben, die sie im Momente der Fixirung besaßen; man nimmt also die Tödtung so rasch vor, daß sie keine Veränderung in den Elementen herbeiführt, und verwendet in der Regel das Fixirmittel selber direkt zum Tödten. (Über die Fälle vom Gegentheil s. im Kapitel 2.) Ferner hat die gute Fixirung oft zur Folge, daß die Objekte oder wenigstens ihre wesentlichen Elemente hart genug werden, um unverändert alle weiteren Operationen durchmachen zu können, die zur Herstellung der mikroskopischen Präparate erforderlich sind. Daher ist oft eine besondere Härtung unnöthig. (Über die Fälle vom Gegentheil s. im Kapitel 3.) Mithin wird nicht selten durch das Fixirmittel das Objekt zugleich getödtet, fixirt und gehärtet, und man redet daher auch wohl schlechtweg vom Fixiren, wenn man alle drei Vorgänge meint.



Ist das Objekt gut fixirt und nöthigen Falles besonders gehärtet worden — Genauerer s. hierüber in Kapitel 4 —, so wird es ausgewaschen, um es vom Überschusse des Fixirmittels zu befreien.

Es ist durchaus nicht einerlei, womit man auswäscht. Hat man z. B. mit wässerigen Lösungen von Osmiumsäure, Chromsäure oder chromsauren Salzen fixirt, so darf man mit Wasser auswachen. Hat man hingegen Pikrinsäure verwandt, so muß es mit Alkohol geschehen. Dieser Unterschied beruht darauf, daß die zuerst genannten Reagentien (überhaupt wohl alle Salze von Schwermetallen, die zum Fixiren gebraucht werden) mit den Geweben Verbindungen eingehen, die in Wasser un- oder wenigstens schwerlöslich sind, also auch durch Waschen mit Wasser nicht leicht entfernt werden; Pikrinsäure hingegen härtet die Gewebe nur wenig und geht keine dauerhafte Verbindung mit ihnen ein. Nimmt man also nach der Pikrinsäure Wasser zum Auswaschen, so bleiben die Gewebe weich und sind der schädlichen Wirkung des Wassers ausgesetzt; deswegen benutzt man Alkohol, der die Pikrinsäure entfernt und zugleich die Gewebe härtet. Winke über die Art des Auswaschens findet man, soweit nöthig, bei den Vorschriften über das Fixiren.

**6. Weitere Behandlung des Objektes.** Nach dem sorgfältigen Auswaschen wird das Objekt mit Alkohol von steigender Stärke entwässert; darauf wird es mit einem Mittel zur Entfernung des Alkohols (gewöhnlich einem ätherischen Öl oder einem Kohlenwasserstoff) behandelt und zuletzt entweder in ein Harz (s. Kapitel 5) gebracht oder zum Schneiden in Paraffin oder Celloidin eingebettet (§ 9).

Die ausschließliche Behandlung mit wässerigen Flüssigkeiten (Färbemitteln, Glycerin etc.) ist nur für specielle Zwecke im Gebrauch, und selbst die vorläufige Aufbewahrung des Objektes darin (s. § 7) bildet nur eine Ausnahme.

Falls zum Auswaschen Alkohol dient (s. § 5), so entwässert dieser die Objekte bereits zum Theil, braucht also nur noch durch ganz starken ersetzt zu werden.

Das Wegschaffen des Wassers aus den Objekten ist aus zwei Gründen nothwendig: 1. der Konservirung halber, da seine Gegenwart die Zersetzung des todtten Objektes begünstigt, und 2. weil es die Durchtränkung des Objektes mit der Einbettmasse (für das Schneiden) oder dem Harz (für den definitiven Einschluß) verhindern würde. Wässerige Medien dienen nämlich nur ausnahmsweise zum Einbetten oder Einschließen (s. hierüber Kapitel 8 und 17). Beim Entwässern muß natürlich das Objekt in dem erst schwachen, später stärkeren Alkohol jedesmal so lange bleiben, bis es völlig damit durchtränkt ist, und das dauert bei großen Objekten oder dichten Geweben meist viel länger, als man glauben möchte, besonders wenn man nicht durch



häufiges Umschütteln oder sonstwie nachhilft. Auch muß der Alkohol rein sein, namentlich darf er weder sauer noch alkalisch reagiren (§ 102).

Handelt es sich um äußerst zarte Objekte, so muß man zu besonderen Maßregeln greifen, um die heftigen Diffusionströme zu verhüten, die beim Übergang vom Wasser zum Alkohol oder vom schwachen zum starken Alkohol eintreten. In solchen Fällen sind Diffusionsapparate am Platz, z. B. der von SCHULZE (Sitzungsb. Ges. Nat. Freunde Berlin f. 1885 p. 175; Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 537) oder von KOLSTER (ibid. 17. Bd. 1900 p. 294): man bringt die Flüssigkeit mit den Objekten in ein Rohr, das an dem einen Ende zugestopft, am anderen durch eine thierische oder sonst brauchbare Membran verschlossen ist, versenkt das Rohr in Alkohol von der gewünschten Stärke und läßt es so lange darin, bis die Diffusion durch die Membran den Alkohol zu den Objekten befördert hat. — Auch der Differentiator von COBB (Proc. Linn. Soc. N.-S.-Wales Vol. 5 1890 p. 157) ist empfehlenswerth, oder der bequemere Apparat von HASWELL (ibid. Vol. 6 1891 p. 433). Letzterer besteht aus zwei durch ein Glasrohr verbundenen Waschflaschen, von denen die eine ein Rohr zum Abfluß des Wasser hat, die andere durch ein Rohr mit einem Hahn von einem höheren Behälter aus mit Alkohol von der gewünschten Stärke gespeist wird. Die Objekte kommen mit ihrem Medium in die zuerst erwähnte Flasche, in die andere dagegen gießt man etwas von diesem Medium; läßt man nun den Alkohol zufließen, so tritt er zunächst in die Flasche ohne Objekte, verdünnt sich dort und gelangt so nur allmählich durch das Verbindungsrohr zu den Objekten. Ähnlich ist der Apparat von KRAUSE (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 300).

Einen Capillarheber zum Absaugen der Flüssigkeiten beim Fixiren, Färben und Auswaschen suspendirter Blutzellen, Spermazellen, Epithelzellen, Infusorien etc. beschreibt EWALD (Zeit. Biol. 34. Bd. 1897 p. 253). Es ist ein Heber von etwa 1 mm Weite; das Ende, das eintaucht, ist wieder nach oben gebogen.

Die Siebdosen von STEINACH und SUCHANNEK (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 433 und 7. Bd. 1890 p. 159) bestehen aus einer Glasdose mit Deckel und einem hinein passenden Uhrglas voll Löcher, das auf Füßchen ruht, und sind recht bequem zum Färben, Auswaschen, Behandeln mit Dämpfen von Reagentien u. s. w., überhaupt für alle Operationen, wobei die Objekte in den oberen Schichten des Reagens schweben müssen. Zu haben bei Grübler & Hollborn in Leipzig. — Auch FAIRCHILDS Porzellancyylinder mit Löchern (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1896 p. 301) zum Auswaschen sind recht praktisch und noch dazu so klein, daß der Kork, womit sie oben verschlossen werden, sie schwimmend erhält. Ferner ist einfach, gut und ohne Mühe einzurichten der Waschapparat von SCHOEDEL (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1903 p. 168); er dient hauptsächlich für das Auswaschen mit Wasser. — S. auch EWALDS Apparate zum Auswaschen von aufgeklebten oder losen Schnitten mit fließendem Wasser (Zeit. Biol. 34. Bd. 1897 p. 264), den Trichter von CRUZ (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 29), das Platinsieb von SCHAFFER (ibid. 16. Bd. 1900 p. 422) und unten § 139.

Es wird angegeben, die Objekte müßten zuletzt in absoluten Alkohol gebracht werden. Das ist aber nicht unbedingt nöthig: oft genügt solcher von 95%, wenigstens so weit nur die Entfernung des Wassers in Frage kommt. Denn das



wenige Wasser, das dann noch in den Objekten bleibt, wird durch Einlegen in das sogen. Intermedium (§ 8) entfernt, falls dieses gut ist. So nehmen z. B. Cedernöl oder Petroläther das Wasser aus Objekten fort, die in Alkohol von 95 % gewesen sind; Terpeneol thut es schon bei 90 % igem und Anilin sogar bei 70 % igem Alkohol. Allerdings mögen besonders zarte Gewebe durch die Übertragung aus dem wasserhaltigen Alkohol in das Intermedium leiden. In solchen Fällen muß man bei der Verdrängung des Alkohols durch das Intermedium recht behutsam verfahren (s. § 8), und in der Regel nimmt man doch am besten den Alkohol möglichst stark.

Einstweilen ist keine Substanz bekannt, die beim Entwässern den Alkohol völlig ersetzen könnte. Zwar hat PARKER (Z. Anz. 15. Bd. 1892 p. 376) hierfür Aceton und Methylal angewandt, und man benutzt Aceton (s. § 107) sogar direkt zum Fixiren und Entwässern, aber ein vollgültiger Ersatz für den Alkohol bleibt noch zu finden. Über das Pyridin s. § 106.

**7. Vorläufige Aufbewahrung des Objektes.** Zwar ist als Agens zum Entwässern der Alkohol das beste Mittel, dagegen zum Aufbewahren, wenn es sich um histologische Feinheiten handelt, viel weniger gut. Läßt man die Objekte vor der weiteren Behandlung nur einige Tage lang darin, so treten die schlimmen Wirkungen noch nicht hervor. Bleibt er hingegen lange Zeit mit den Objekten in Berührung, so verändert er sie oft beträchtlich: sie werden gar hart, schrumpfen, brechen leicht und nehmen lange nicht mehr so gut Farbstoffe an wie zuerst. Jedenfalls sollte man den Alkohol nicht schwächer als 90 % ig wählen. FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 687) bewahrt die Objekte im Gemisch von Alkohol, Glycerin und Wasser zu etwa gleichen Theilen auf und findet, daß sie darin nicht so hart werden und schrumpfen wie in reinem Alkohol, auch länger färbbar bleiben. Ich (LEE) empfehle dies Verfahren warm und glaube, das Gemisch wird oft durch Hinzufügen von etwa  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  % Essigsäure noch besser.

Als rein wässeriges Mittel sei das Formol genannt, das auch den Vortheil gewährt, für manche Objekte direkt als Fixirmittel zu dienen. Näheres darüber in § 108 ff.

Material, das lediglich geschnitten werden soll, wird am besten gleich in Paraffin gebracht (§ 9). Dies gewährt eine absolut sichere Konservirung auf viele Jahre. Man kann jederzeit von dem Objekte einige Schnitte machen, muß aber hinterher die Schnittfläche wieder mit Paraffin überziehen. — Cedernöl ist zum Aufbewahren vielleicht eben so gut, aber weniger bequem. — Über Paraffinum liquidum s. § 635 (BÖHM & OPPEL).



**8. Entfernen des Alkohols durch Intermedien.** Ist das Wasser ordentlich aus den Geweben weggeschafft worden, so entfernt man ebenso sorgfältig den Alkohol durch eine Substanz, meist ein ätherisches Öl oder einen Kohlenwasserstoff, die sich mit dem Einbett- oder Einschließmittel klar mischen läßt. (Näheres im Kapitel 5.) Hat man mit zarten Objekten zu thun, so muß das gradatim geschehen, indem man das neue Medium (Intermedium) unter den Alkohol fließen läßt. Man gibt zunächst eine genügende Menge Alkohol in einen Glastubus (ein Uhrglas geht zur Noth auch) und läßt dann mit einer Pipette das Intermedium auf den Boden des Tubus gelangen. (Oder umgekehrt: zuerst das Intermedium in den Tubus und dann den Alkohol vorsichtig darüber!) Jedenfalls mischen sich beide Flüssigkeiten nur langsam. Läßt man nun die Objekte ruhig in den Alkohol hinein sinken, so schwimmen sie Anfangs auf der Grenzfläche zwischen beiden Medien und gerathen erst allmählich in die schwerere Flüssigkeit. Sind sie auf dem Boden des Tubus angelangt, so entfernt man den Alkohol mit einer Pipette und hat so die Objekte vom Intermedium durchtränkt; jedoch thut man gut daran, dieses abzugießen, da es ja noch Spuren von Alkohol enthält, und es durch ganz reines zu ersetzen.

Diese Methode der langsamen Überführung ist allgemein anwendbar, wenn Objekte aus leichteren Flüssigkeiten in schwerere gelangen sollen, z. B. aus Alkohol oder Wasser in Glycerin.

Zum Einbetten der Objekte in Celloidin wird als Intermedium ein Gemisch aus Alkohol und Äther genommen, das specifisch leichter als Alkohol ist.

Von hier ab trennen sich die Wege, die das Objekt einzuschlagen hat, je nachdem es ohne Weiteres in Harz gebracht (s. Kapitel 5) oder erst in Schnitte zerlegt werden soll (§ 9).

**9. Einbetten; Behandeln der Schnitte.** Zum Einbetten nimmt man die Objekte aus dem Intermedium heraus und läßt sie sich mit dem Einbettmedium gründlich durchtränken. Dieses besteht entweder aus geschmolzenem Paraffin oder aus Kollodium oder einer Lösung von Celloidin. Dann läßt man die Einbettmasse mit den Objekten darin hart werden (s. Kapitel 7 und 8) und schneidet sie mit dem Mikrotom. Die Schnitte klebt man auf den Objektträger (s. Kapitel 9), entfernt das Einbettmittel, wenn es Paraffin war, färbt sie, entwässert sie mit Alkohol und bringt sie durch ein Intermedium in Balsam



oder ein anderes Harz. Man kann sie auch unaufgeklebt färben, auswaschen, entwässern etc. (wobei man nöthigenfalls die Einbettmasse vorher auflöst), wird das aber nur ausnahmsweise thun, da es lästiger ist.

Bei Celloidinschnitten ist es nur selten nöthig oder vortheilhaft, die Einbettmasse aufzulösen: die Schnitte färben sich in der Regel ganz gut und werden meist sammt dem Celloidin entwässert und in Harz gebracht, weil darin das Celloidin ganz durchsichtig wird. Diese Methode ist für große Schnitte deswegen vorzuziehen, weil bei sämtlichen Operationen alle Theile des Schnittes vom Celloidin zusammengehalten werden.

Eine Methode, die zuweilen gute Dienste leistet, hat zuerst MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 320) angegeben. Die Paraffinschnitte werden vor dem Aufkleben gefärbt, indem man etwas von dem Färbgemisch auf den Objektträger gibt, die Schnitte darauf zum Schwimmen bringt und sich in der Wärme dehnen läßt. Hierbei färben sie sich zugleich, und man muß dann nur das Färbgemisch durch reichliches Wasser ganz entfernen, dieses selbst ablaufen und die Schnitte gut trocknen lassen. Da sie sich nun direkt in Xylol und von da in Harz überführen lassen, so bleiben manche zarte Färbungen, die sonst der Alkohol beim Entwässern ausgezogen hätte, erhalten. — Auch SCHMORL (Path.-hist. Untersuchungsmethoden Leipzig 1897 p. 38—39) und SMITH (Journ. Anat. Phys. London Vol. 34 1899 p. 151) wenden diese Methode an; Letzterer läßt die gestreckten Schnitte 12—24 Stunden auf der kalten Färbflüssigkeit schwimmen. — JACKSON (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1904 p. 41) behandelt die Schnitte, einerlei ob aufgeklebt oder nicht, erst mit Trypsin, färbt sie dann mit Eisenhämatoxylin (Beides geht wegen des Paraffins viel langsamer als sonst) und bringt sie noch im Paraffin in Balsam. (S. auch § 559 u. 629 MAYER, § 745 BARTEL und § 757 HEINRICH.)

Die besten Gefäße zum Färben etc. der aufgeklebten Schnitte sind wohl unten flache Glastuben, die mit Glasplatten oder übergreifenden Glasdeckeln (weniger gut mit Korken) geschlossen werden und so geräumig sind, daß man 2 Objektträger mit der freien Fläche gegeneinander hinstellen kann, sodaß die Schnitte nicht beschädigt werden. Diese Tuben — geeignete Maaße sind 9—10 cm äußere Höhe und 3—4 cm lichte Weite — gruppirt man zu 2 Reihen (jede von 6—8 Stück), indem man ihre Basen in passende, etwa 3—4 cm tiefe Löcher in einem dicken Brett versenkt. Die mannigfachen Vorkehrungen zur Unterbringung vieler Objektträger in einem und demselben Gefäße erscheinen uns als theils zu theuer, theils zu zerbrechlich oder sonst nicht praktisch genug und sollen daher hier nicht weiter besprochen werden. Das Gleiche gilt von APÁTHYS Serienklammer (Verh. 5. Internat. Z. Congress 1902 p. 277) und ihrer Modifikation durch KAPPERS (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 185).

Nach BIDDER (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 38 1895 p. 33 ff.) schrumpft das Volum der Zellen von Poriferen beim Überführen vom Fixirmittel (Osmiumsäure) durch Alkohol, Benzol und Paraffin in Balsam im besten Falle von 5 auf 4, im schlimmsten sogar von 5 auf 3. Besonders gefährlich ist der Übergang vom Alkohol in das Intermedium (und bei den zu färbenden Schnitten der umgekehrte Weg), indem hierbei die Zellen auch verzerrt werden. — BROMAN (Anat. Hefte



1. Abth. 11. Bd. 1899 p. 554) findet bei Embryonen von *Homo* die Schrumpfung durch das Einbetten in Paraffin 8—20% groß. — S. auch unten § 145 (SPALTEHOLZ).

**10. Stückfärbung.** Das Färben der Schnitte auf dem Objektträger ist ziemlich neuen Datums. Früher färbte man die Objekte in toto und schnitt sie dann. Soll das geschehen, so wird das fixirte und ausgewaschene Objekt direkt aus dem Wasser, bei Weitem besser jedoch erst nach der gebräuchlichen Überführung in starken Alkohol aus diesem in das Färbmittel gebracht; hat das Objekt darin die richtige Zeit verweilt, so wird es ausgewaschen (mit Alkohol oder Wasser etc., s. die Kapitel über das Färben), mit Alkohol ganz entwässert, in Paraffin oder Celloidin geschafft und geschnitten.

Die Ansichten der Forscher gehen darüber, ob man vortheilhafter das Objekt in toto oder die Schnitte färbt, weit auseinander. Eine allgemeine Regel läßt sich nicht geben, sondern es richtet sich ganz nach der Beschaffenheit der Gewebe (ob sie leicht durchdringbar sind oder nicht etc.) und dem Zweck der Untersuchung, wie man zu verfahren hat. In manchen Fällen ist die Stückfärbung viel bequemer, sicherer, rascher und den Geweben zuträglicher als die Tinktion der Schnittserien, die ja bei den vielen Manipulationen leicht etwas leiden. Aber manche vorzügliche Farbstoffe eignen sich zur Färbung in toto gar nicht, weil sie beim Entwässern des Objektes ausgezogen werden.

Auffrischen verblaßter Präparate. Nach LEE & HENNEGUY (Traité 2. Ed. 1896 p. 476) stellt man das Präparat in ein Gefäß mit Xylol oder Benzol; ist dann (nach 1—2 Tagen) das Deckglas zu Boden geglitten, so behandelt man das Präparat einige Stunden lang mit reinem Xylol und bringt es durch die Alkohole in das Färbmittel. Diese Methode taugt aber nur für Schnitte, die mit Wasser oder Eiweiß aufgeklebt sind. Bei den mit Schellack aufgeklebten hilft sich MEYER (Biol. Centralbl. 10. Bd. 1890 p. 509) damit, daß er Deckglas und Balsam durch Chloroform entfernt, rasch 2% ige Lösung von Celloidin aufgießt, einige Sekunden später den Objektträger in 70% igen, dann zur Lösung des Schellacks in 90% igen Alkohol bringt, darauf in 70% igem das Häutchen mit den Schnitten vom Glase ablöst und diese entweder nachfärbt oder direkt wieder in Balsam einschließt.

Reinigen von Objektträgern und Deckgläsern. Die vielen Vorschriften zur Reinigung (s. LEE, 5. Ed. § 888) laufen darauf hinaus, daß man neues Glas, wie man es vom Händler erhält, in konzentrierte Schwefelsäure, Salpetersäure, Chromsäure (oder Schwefelsäure, Wasser und Kaliumbichromat) legt, gut mit Wasser, darauf mit Alkohol von 90% abspült und mit einem reinen Lappen abtrocknet.

PEPPLER (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 29. Bd. 1901 p. 348) kocht die Objektträger erst mit 4% iger Lösung von Kaliumpermanganat, dann nach dem Abspülen in Wasser mit verdünnter Salzsäure, wäscht sie nochmals gut, bringt sie in Alkohol und brennt diesen auf jedem Objektträger einzeln ab.



Gebrauchte Objektträger und Deckgläser müssen, wenn sie noch das Präparat selber oder Reste davon (Lackränder etc.) enthalten, zunächst hiervon befreit werden, am einfachsten durch Erwärmen: der Balsam etc. wird weich, und nun schiebt man das Deckglas über den Rand des Objektträgers hinaus und läßt es in ein Gefäß mit gebrauchtem Xylol, Benzol etc. gleiten, worin sich der Balsam spätestens in einigen Tagen löst. Die Objektträger legt man ebenfalls in eine solche Flüssigkeit, aber nicht mit den Deckgläsern zusammen, um Bruch zu vermeiden. Das nächste Bad ist gebrauchter starker Alkohol; sollten sie aber noch nicht ganz rein sein, so bringt man sie nach flüchtigem Trocknen an der Luft in reines Xylol etc. oder eine der obigen Säuren.

Große Deckgläser legt man beim Putzen am besten auf eine ganz ebene, reine Glasplatte, kleine kann man vorsichtig zwischen den Fingerspitzen halten.

**11. Präparation von ganzen Objekten oder von Material, das nicht geschnitten werden soll.** Sie verläuft ähnlich wie bei den Objekten, die geschnitten werden sollen. In der Regel wird man also fixiren, auswaschen, theilweise entwässern, färben, ganz entwässern und in Harz bringen. In diesem als in einem stark lichtbrechenden Medium werden die Objekte durchsichtiger als z. B. in Glycerin, und das ist meist ein Vortheil.

Bei der Behandlung ganzer Objekte oder von Geweben mit einer nur schwer von Flüssigkeiten durchdringbaren Haut sind besonders zu vermeiden: 1. Quellungen bei der Überführung der Objekte von einer Flüssigkeit in eine andere weniger dichte, 2. Schrumpfung beim umgekehrten Vorgange. Dies ist vor Allem bei der Übertragung vom stärksten Alkohol in das Intermedium zu beachten. Wenn es angeht, so mache man in die Haut einen Schnitt, sodaß beide Flüssigkeiten sich direkt mischen können; jedenfalls aber Sorge man für ganz langsamen Übergang, indem man das Intermedium unter den Alkohol bringt (§ 8). Man verwende ferner stets Flüssigkeiten, die leicht eindringen, also zum Fixiren ein Gemisch mit Pikrinsäure oder alkoholische Sublimatlösung (§ 62 d), zum Auswaschen direkt Alkohol von zunehmender Stärke, Wasser aber nur dann, wo es durchaus nöthig ist. Ebenso färbe man lieber mit alkoholischen Gemischen, wie Boraxkarmin, Parakarmin etc., eventuell sogar in der Wärme. Theerfarbstoffe sind hier wenig angebracht, wässrige Färbelösungen im Allgemeinen ebenfalls.

**12. Präpariren kleiner Objekte mit Nadeln.** Feine Dissektionen kleiner ganzer Thiere oder Organe unter dem Mikroskope nimmt man oft am besten auf dem Objektträger in einem Tropfen eines Inter-



mediums vor. Hierzu eignet sich Cedernöl, denn es gibt den Geweben eine dafür sehr günstige Konsistenz und verleiht durch seine Zähigkeit zarten Membranen eine Stütze; allerdings darf man beim Präpariren nicht darauf hauchen, da es sehr empfindlich gegen Wasser ist. Dieser Übelstand ist bei Terpeneol, Linaloeöl und Nelkenöl nicht zu befürchten. Zwar werden in letzterem die Objekte nach einiger Zeit sehr brüchig, aber das ist mitunter gerade für das Präpariren ein Vorthail. Ferner fließt das Nelkenöl nicht leicht über den Objektträger hin, sondern bildet gerne Tropfen, und auch dies ist oft bei feineren Präparationen sehr erwünscht.

Sollen die präparirten Theile eine bestimmte Ordnung erhalten, die auch durch das Aufbringen des Balsams und Deckglases nicht gestört werden darf, so gibt man nach YATSU (Journ. Appl. Micr. Vol. 6 1904 p. 2672) vorher auf den Objektträger etwas Nelkenöl-Kollodium und klebt sie darauf durch vorsichtiges Übergießen mit Xylol fest.

Hat man, um die starke Lichtbrechung der Öle zu vermeiden, oder aus anderen Gründen in Glycerin (oder Kaliumacetat etc.) zu präpariren, und sollen die zerschnittenen oder zerzupften Theile, z. B. die Gliedmassen eines kleinen Arthropoden, in bestimmter Lage verharren, so muß man mit möglichst wenig Flüssigkeit operiren und diese auf dem Objektträger glatt ausbreiten, damit keine Tropfen entstehen. Man bestreiche daher das Glas ganz dünn mit Eiweiß-glycerin, bringe das Glycerin darauf, mache die Dissektion, ordne die Theile sauber an, lasse das Deckglas senkrecht von oben auf sie fallen und lege sofort mit der anderen Hand ein kleines Gewicht darauf. Nun kann man in Ruhe Glycerin nachfüllen (daß einige kleine Luftblasen unter dem Deckglas bleiben, schadet nicht), mit Wachs einen Rahmen ziehen (s. § 433) und ihn mit Firniß dicht abschließen. — Sind die präparirten Theile nicht sehr zart, so kann man sie durch Coagulation des Eiweißes auf dem Objektträger festkleben, sodaß die weiteren Manipulationen bequemer von Statten gehen.

S. auch unten § 873 (CHIARUGI).

---



## 2. Kapitel.

**Tödten.**

**13. Allgemeines.** In der Regel besteht der erste Schritt zur Präparation eines Organs oder eines ganzen Thieres darin, daß man es so rasch und vollständig wie möglich fixirt (s. Kapitel 4). Das Organ oder Thier muß also noch leben und in normaler Beschaffenheit sein, und das Fixirmittel soll mit ausreichender Geschwindigkeit zugleich den Organismus und seine histologischen Elemente tödten.

Indessen läßt sich diese Methode nicht immer anwenden. Viele Thiere nämlich, besonders manche weiche und skeletlose, aber sehr kontraktile Cölenteraten, Bryozoen, Serpuliden etc. kontrahiren sich bei solcher Behandlung heftig, ziehen ihre Tentakel oder Kiemen ein und sterben in einem Zustande, der sie fast unkenntlich macht. Im Allgemeinen lassen sich diese schwierigen Fälle auf zwei Weisen behandeln: man tödtet das Thier plötzlich, sodaß es sich nicht mehr zusammenziehen kann, oder man lähmt es zuvor durch Narcotica.

**Plötzliches Tödten.**

**14. Hitze.** Zum plötzlichen Tödten kleiner Objekte ist Hitze sehr brauchbar. Sie erlaubt hinterher eine gute Färbung und hindert weniger als andere Methoden die Prüfung der Gewebe mit Reagentien. Auch fixirt sie die Gewebe, während sie den Organismus tödtet. Die Schwierigkeit besteht nur darin, die richtige Temperatur zu treffen, die nach den Objekten verschieden ist. Meist reichen 80—90° C. aus, und oft wird man nicht über 60° zu gehen brauchen. In der Regel genügen einige Sekunden des Verweilens in solcher Temperatur.

Sehr kleine Objekte (Protozoen, Hydroiden, Bryozoen) bringt man mit einem Tropfen Wasser in ein Uhrglas oder auf einen Objektträger und erhitzt sie über einer kleinen Flamme. Bei größeren Objekten, z. B. Insekten oder ihren Eiern, erhitzt man das Wasser oder das Fixirmittel für sich und wirft sie



hinein. — Sobald man annehmen darf, daß das Protoplasma der Gewebe durch und durch coagulirt ist, muß man die Objekte, falls man sie in Wasser getödtet hat, in 30—70%igen Alkohol oder ein Härtgemisch bringen.

**15. Langsam kontraktile Thiere.** Thiere, die sich nur langsam kontrahiren, z. B. *Alcyonium* und *Veretillum*, ferner einige Tunikaten, wie *Pyrosoma*, tödtet man so, daß man sie in eine sehr rasch fixirende Flüssigkeit wirft, die je nachdem kalt oder heiß angewandt wird. Sehr gut ist hierzu starke Essigsäure, so z. B. für manche Medusen: je nach der Größe läßt man die Thiere einige Sekunden oder Minuten darin und bringt sie dann in Alkohol von wenigstens 50% (s. § 82 und 804). Auch Sublimat wirkt vorzüglich.

### Betäuben.

**16. Allgemeines.** Von allen Narcoticis gilt, daß man sie sehr allmählich und in sehr kleinen Dosen dem Wasser zusetzt, worin die Thiere sind, und ihre Wirkung mit Geduld abwartet.

**17. Nikotin.** LO BIANCO (Jena. Zeit. Naturw. 13. Bd. 1879 p. 465; Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 449) narkotisirt die Aktinie *Adamsia* mit Tabakrauch. Das Gefäß mit den Thieren kommt unter eine Glasglocke; dann bläst man durch eine Röhre oder einen Schlauch Tabakrauch in das Wasser und wiederholt diese Operation nach mehreren Stunden. Am nächsten Morgen prüft man mit einer Nadel, ob die Tentakel noch reizbar sind; sobald diese nicht mehr reagiren, ist die Betäubung stark genug. Man vollendet sie nun mit etwas Chloroform und gießt zuletzt die Fixirflüssigkeit in so reichlicher Menge hinzu, daß die Thiere sterben, bevor sie sich kontrahiren können. — ANDRES (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 131) bringt *Edwardsia* zur Betäubung in eine Schale mit  $\frac{1}{2}$  Liter Seewasser und setzt von einer schwachen Nikotinlösung ganz langsam so viel zu, daß in 12 Stunden etwa 1 g Nikotin auf das Thier eingewirkt hat.

**18. Chloroform** kann man entweder direkt oder als Dampf brauchen. KOROTNEFF (Mitth. Z. Stat. Neapel 5. Bd. 1884 p. 233) läßt Siphonophoren sich in Seewasser ausstrecken, bringt dann Chloroform in einem Uhrglase auf dem Wasser zum Schwimmen und deckt eine Glasglocke über das Ganze. Sobald die Thiere unempfindlich geworden sind, werden sie mit reichlichen Mengen von heißer Sublimat- oder von Chromsäurelösung getödtet. — Oder man spritzt das Chloroform in kleinen Mengen auf das Wasser mit den Thieren, oder setzt Wasser, das man tüchtig mit Chloroform geschüttelt hat, zu. Man muß aber jedesmal nur wenig nehmen und alle 5 Minuten die Dosis wiederholen, bis die Thiere betäubt sind. So habe ich (LEE) große Medusen in 1—3 Stunden aus-



gestreckt und völlig betäubt gefunden. Nach ANDRES (l. c.) schlägt das Mittel bei Aktinien nicht an, da ihre Gewebe schon vorher maceriren.

Nach brieflicher Mittheilung verwendet WADDINGTON zum Narkotisiren gleiche Theile 1%iger Lösung von Cocaïn (oder Eucain) und durch Schütteln hergestellter gesättigter Lösung von Chloroform in (je nach den Thieren Süß- oder See-) Wasser.

Chloroform (oder auch Bittermandelwasser, also ganz schwache Lösung von Blausäure) hat bereits REMAK (Arch. Anat. Phys. 1852 p. 153) dem Wasser hinzugefügt, um Larven von *Rana* zu betäuben. PREYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 7. Bd. 1886 p. 27) empfiehlt Chloroformwasser zur „Herbeiführung allgemeiner Ruhe“ der Seesterne.

**Äther** läßt sich ebenso anwenden. S. auch ÖSTERGREN (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 300).

**Acetonchloroform (Chloreton,  $C_4H_6Cl_3OH$ )** empfiehlt zum Narkotisiren (und Maceriren, je nach der Stärke der Lösung) von Evertibraten des Süßwassers und Larven von *Rana* RANDOLPH (Z. Anz. 23. Bd. 1900 p. 436). SULIMA (Zeit. Biol. Techn. Straßburg 1. Bd. 1909 p. 379) betäubt *Scyllium* und *Anguilla* im Gemisch von 99 Th. Seewasser und 1 Th. 10%iger Lösung von Chloreton in absol. Alkohol.

**19. Alkohol.** ANDRES (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 131) hat bei Aktinien gute Resultate mit dem von LO BIANCO erfundenen Gemisch aus 1 Theil Glycerin, 2 Theilen Alkohol von 70% und 2 Theilen Seewasser erhalten. Man gießt es auf das Wasser mit den Thieren und läßt es ruhig in die Tiefe diffundiren. — EISIG (Fauna Flora Golf. Neapel 16. Monogr. 1887 p. 293) betäubt die Capitelliden, um sie in Ruhe lebend untersuchen zu können, durch Einlegen in ein anderes Gemisch von LO BIANCO (1 Theil Alkohol von 70% und 9 Theile Seewasser); durch Zurückbringen in reines Seewasser werden die Thiere wieder munter. Ähnlich LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 463: 5% absol. Alkohol). — CORI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 438) findet aber die Mitosen schlecht konservirt und empfiehlt daher den Methylalkohol, der die Eiweißstoffe weniger angreife, je nach dem Medium der Thiere entweder mit dem 9fachen an Seewasser oder mit dem 9fachen an Salzwasser (für Süßwasserthiere: auf 90 ccm Wasser 0,6 g Kochsalz, um die Maceration zu verhüten) verdünnt; für *Cristatella* (s. Zeit. Wiss. Z. 55. Bd. 1893 p. 627) setzt er einige Tropfen Chloroform zu.



**20. Chloralhydrat.** FOETTINGER (Arch. Biol. Tome 6 1885 p. 115) wirft Kristalle davon in das Wasser zu den Thieren und hat günstige Resultate mit Bryozoen, Anneliden, Mollusken, Nemertinen, Aktinien und *Asteracanthion* erzielt, jedoch nicht mit Hydroiden; er hält die Procedur für unschädlich, da die Thiere, nach einiger Zeit in reines Wasser gebracht, wieder ganz munter werden. Nach CORI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 438) sollen jedoch manche Objekte dabei maceriren. — Ich (LEE) habe bei Nemertinen keine guten Erfolge gehabt. — LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 442) verwendet frische Lösungen in Seewasser ( $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$  %) für allerlei niedere Seethiere.

VERWORN (Zeit. Wiss. Z. 46. Bd. 1887 p. 100) bringt Süßwasser-Bryozoen (*Cristatella*) auf einige Minuten in 10%ige Lösung von Chloralhydrat, worin sie sich bald ausstrecken. — KÜKENTHAL (Jena. Zeit. Naturw. 20. Bd. 1887 p. 511) hat mit der Lösung von 1 Th. Chloralhydrat auf 1000 Th. Seewasser an einigen Anneliden gute Erfahrungen gemacht.

**21. Cocaïn** (Cocaïnhydrochlorid) gibt nach RICHARD (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 332) gute Resultate. R. bringt Bryozoen in ein Uhrglas mit 5 ccm Wasser, setzt allmählich  $\frac{1}{2}$  ccm 1%iger Lösung von Cocaïn in Wasser hinzu und nach 5 Minuten noch  $\frac{1}{2}$  ccm; 10 Minuten später sind die Thiere völlig ausgestreckt und todt. — Für Rotatorien ist diese Methode nach ROUSSELET (§ 836) und BEAUCHAMP die beste. S. ferner § 807 (ROBERT). — LO BIANCO betäubt (nach mündlicher Angabe) Hydroiden, Bryozoen, Mollusken und andere Seethiere, indem er zum Wasser mit den Thieren 1—2%ige Lösung von Cocaïn in Seewasser hinzufügt. — S. auch oben § 18 (WADDINGTON).

Nach CORI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 438) fällt Sublimat das Cocaïn als weißes Pulver aus. S. jedoch § 618 (EISIG).

Neuerdings wird auch **Eucaïn** (Beta-Eucaïn. hydrochlor. von Schering) verwandt. Es ist erheblich billiger als das Cocaïn, jedoch scheint zur Narkose relativ mehr davon nöthig zu sein. In Seewasser ist es nur zu etwa  $\frac{1}{2}$  % löslich.

**22. Von Hydroxylamin** hat HOFER (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 318) mit gutem Erfolg das Sulfat, besser noch das Chlorhydrat angewandt. Letzteres ist im Handel gewöhnlich mit Salzsäure verunreinigt; man neutralisirt daher die Lösung (in See- oder Süßwasser, je nach den Objekten) mit Soda und bringt die Thiere je nach Art und Größe in die Lösung (von  $\frac{1}{10}$ —1%) auf 10 Minuten bis sogar 20 Stunden. Da aber das Hydroxylamin ein stark reduzierendes Mittel ist, so darf man die betäubten Thiere nicht mit Osmiumsäure, Chromsäure, Sublimat, Gold- oder Platinchlorid behandeln, es sei denn, man habe jenes vorher tüchtig durch Wasser ausgewaschen.



**23. Menthol** verwendet SORBY (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1899 p. 103) zum Lähmen von *Synapta* und Aktinien (genauere Angaben fehlen); nachher Fixirung in 10%igem Formol. — Über **Stovaïn** s. unten § 836 (BEAUCHAMP), über **Eugenol** § 872 (SCHLEGEL).

**24. Mit Chlormagnesium** hat TULLBERG (Verh. Biol. Ver. Stockholm 4. Bd. 1891 p. 5; Arch. Z. Expér. (2) Tome 10 1892 Notes p. 12) einigen Erfolg gehabt. Für Aktinien setzt man im Laufe von 30 Minuten allmählich 33%ige Lösung dem Wasser mit den Thieren zu, bis das Gefäß 1% des Salzes enthält (also zu 1 Liter Seewasser braucht man 30 ccm Lösung); nach einer weiteren halben Stunde ist das Thier narkotisiert. Für Land- und Süßwasser-Evertebraten muß man mehr Salz verwenden. — MAYER (Biol. Bull. Woods Hole Vol. 17 1909 p. 341) bringt die Thiere direkt in die ( $\frac{3}{8}$  m starke) Lösung von  $MgCl_2$  oder  $MgSO_4$ . — Das von Tullberg ebenfalls zuerst gebrauchte **Magnesiumsulfat** setzt REDENBAUGH (Amer. Natural. Vol. 29 1895 p. 399) entweder in fester Form zu dem Seewasser mit den Thieren, bis dieses damit gesättigt ist, oder bringt die Thiere (Anneliden) in gesättigte Lösung. DUERDEN (Journ. Inst. Jamaica Vol. 2 1898 p. 449) empfiehlt es für Aktinien, GÉROULD (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 29 1896 p. 125) für Holothurien.

**25. Vergiften** mit kleinen Dosen eines Fixirmittels hilft auch zuweilen. So gießt LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 471), um *Ascidia* und *Rhopalaea* ausgestreckt zu erhalten, von 1%iger Chromsäure etwas auf das Wasser, worin die Thiere sind, und läßt die Säure langsam (in 12—24 Stunden) nach unten diffundiren. Ähnlich tödtet er *Ciona* mit seiner Chromessigsäure No. 2 (s. § 82). Auch Osmiumsäure oder Pikrinschwefelsäure läßt sich mitunter ebenso verwenden. Ich (LEE) habe Medusen befriedigend dadurch konserviren sehen, daß Kristalle von Sublimat dem Seewasser zugesetzt wurden.

**26. Ersticken.** Pulmonaten tödtet man zur Präparation der Organe, indem man sie in ein Gefäß voll ausgekochtes, also luftfreies Wasser bringt und dieses dicht schließt. Nach 12—24 Stunden sind die Thiere gewöhnlich todt und ausgestreckt. (Gibt man in das Wasser etwas Tabak, so geht es rascher.) Wasserthiere mag man in einer relativ sehr kleinen Menge Wassers so lange lassen, bis sie (durch den Verbrauch des Sauerstoffs oder die Ausscheidung ihrer eigenen Exkrete) darin betäubt werden; so ist es mir (LEE) mit Holothurien und anderen Echinodermen geglückt, WARD (Amer. Natural. Vol. 25 1891 p. 398) mit Hydroiden, Aktinien und anderen Thieren, und UEXKÜLL (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 463) mit Seeigeln. Waren die Thiere beim Beginn der Narkose nicht gut ausgestreckt, so bringt man sie auf kurze Zeit in reines Seewasser zurück und wirft sie, sobald sie sich darin ausgestreckt haben, in ein rasch tödtendes Fixirmittel. — Seethiere tödtet man mitunter befriedigend, indem man sie in Süßwasser



bringt. **Warmes Wasser** (§ 14) ist oft gut zum Lähmen und sogar zum Tödten von See- und Süßwasserthieren.

**27. Kohlensäure** ist von FOL (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 698) empfohlen worden: man sättigt das Wasser, worin die Thiere liegen, damit und hat bei den meisten Echinodermen und Cölenteraten Erfolg, nicht aber bei Mollusken oder Fischen. MIR (LEE) hat sie bei kleinen Anneliden und Hirudineen sehr gute Dienste geleistet. Man braucht aber keinen besonderen Gasapparat dazu, sondern kann eine Flasche Selterwasser in das Wasser mit den Thieren schütten. Die betäubten Thiere erholen sich rasch wieder, wenn man sie in reines Wasser legt.

UEXKÜLL (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 463) hat Seeigel durch Kohlensäure ungemein rasch gelähmt, ebenso einen kleinen Knochenfisch, während *Scyllium* und Krebse viel länger widerstanden, und eine Muschel gar nicht afficirt wurde. Neuerdings verwendet U. zur Produktion der Kohlensäure die sogenannten Sodor-Flaschen, die er aber mit Seewasser füllt. — Ebenso MAYER (Biol. Bull. Woods Hole Vol. 16 1908 p. 18).

**28. Wasserstoffhyperoxyd.** VOLK (Z. Anz. 19. Bd. 1896 p. 294) tödtet Rotatorien mit verdünntem Wasserstoffhyperoxyd (1 oder 2 Tropfen der 3%igen Lösung auf 1 ccm Wasser). Die Thiere sterben, wenn die Verdünnung richtig getroffen ist, ausgestreckt; man bringt sie gleich nach dem Tode in reines Wasser und von da in ein Fixirmittel.



## 3. Kapitel.

**Fixiren und Härten.**

**29. Nothwendigkeit und Zweck des Fixirens.** In § 5 ist bereits auseinandergesetzt worden, was Fixiren heißt. Hier nun soll die Nothwendigkeit des Fixirens an einem Beispiel kurz erläutert werden. Legt man ein Stück frischer Retina in Humor aqueus, Serum oder eine andere sogenannte indifferente Flüssigkeit oder direkt in eins von den Mitteln, die zum Aufbewahren der fertigen Präparate dienen, so wird man gewahr, daß die Stäbchen und Zapfen ihr Aussehen wie im Leben nicht lange behalten: schon nach einigen Minuten zerfallen ihre Außensegmente in Scheiben und werden zuletzt unkenntlich, wenn nicht gar völlig zerstört; die Nervenfasern werden varikös und scheinen dicht mit Knötchen besetzt zu sein; auch andere postmortale Veränderungen treten schnell ein. Bringt man dagegen die Retina in eine starke Lösung von Osmiumsäure, so sind auch nach 24 Stunden noch die Stäbchen und Zapfen völlig erhalten und die Nervenfasern nicht varikös geworden. Ja, nun kann man die Retina in Wasser legen (eine frische Retina würde das gar nicht vertragen) und Tage lang darin lassen; man darf sie färben, härten, einbetten, schneiden und in wässerige oder harzige Media einschließen, ohne ihr zu schaden.

Einer der Zwecke des Fixirens ist der, die Gewebe in einen solchen Zustand zu versetzen, daß vom Inhalt ihrer Elemente entweder überhaupt so viel wie möglich oder wenigstens das erhalten bleibt, worauf es bei der Untersuchung ankommt. Ferner wünscht man auch da optische Verschiedenheiten hervorzurufen, wo das lebende Gewebe keine aufweist; so z. B. genügt bereits die Fixirung mit Alkohol bei den vielen fast durchsichtigen Seethieren oder ihren Eiern, um an den nun opak gewordenen Objekten allerlei Einzelheiten hervortreten zu lassen, die vorher nur mühsam oder gar nicht sichtbar waren.



ΑΡΑΤΗΥ (Mikrotechnik p. 115) unterscheidet zwischen einer allgemeinen und einer differenzirenden Fixirung. Jene erhält alle oder fast alle Bestandtheile des Objektes so, daß sie durch eine allgemeine Färbung im fertigen Präparate deutlich hervortreten, dient also zur Orientirung. Die differenzirende hingegen soll nur bestimmte Elemente tingirbar machen, wobei andere Elemente schlechter wegkommen, ja unter Umständen sogar zerstört werden.

**30. Wirkung der Fixirmittel.** Die Fixirmittel wirken entweder bloß dadurch, daß sie den Geweben Wasser entziehen — dies thut z. B. der Alkohol — oder dadurch, daß sie mit Bestandtheilen derselben chemische Verbindungen eingehen. Von diesen sind manche wenig stabil und werden schon beim Auswaschen wieder zerlegt — z. B. läßt sich die Pikrinsäure aus den Geweben durch Wasser und Alkohol ganz entfernen —, manche hingegen sehr dauerhaft. Im letzteren Falle scheinen meist, wenn nicht immer, die Eiweißstoffe in den Geweben die Reagentien zu reduzieren und dann mit ihnen eine feste chemische Verbindung einzugehen, so z. B. die Osmiumsäure, Chromsäure und ihre Salze, sowie die Salze der schweren Metalle, wie Quecksilber, Eisen, Platin, Gold, Silber. Leider ist hierüber chemisch noch Nichts genau bekannt. Für die Praxis des Histologen steht jedoch so viel fest, daß die letzteren Mittel, abgesehen vom bloßen Fixiren, den Geweben Eigenschaften ertheilen, die für die weiteren Operationen meist nützlich sind. Nämlich 1. werden durch die Einlagerung anorganischer Bestandtheile die Gewebe hart, widerstehen daher dem Entwässern durch den Alkohol und dem Einbetten in Paraffin oder Celloidin weit besser als sonst; 2. treten manche histologische Elemente, indem sie die Reagentien anders an sich binden, als die übrigen, für das Auge besser hervor: sie werden optisch differenzirt (s. auch § 29); 3. bilden einige Chemikalien mit Stoffen in den Geweben chemische Verbindungen, die das Zustandekommen mancher Färbungen überhaupt erst ermöglichen und so als Beizen wirken.

Allerdings können durch die Fixirung auch Nachtheile hervorgerufen werden. So z. B. lassen sich die mit Chromsäure (oder ihren Salzen) oder Osmiumsäure fixirten Objekte mit Karmin und ähnlichen Farbstoffen meist nicht leicht, mitunter sogar durchaus nicht färben, falls man nicht vorher die Chrom- oder Osmiumverbindung eigens weggeschafft hat; fixirt man dagegen mit Sublimat oder einem Pikrinsäure-Gemisch, so kann man beliebig färben.

FISCHER (Fixirung etc.) macht mit Recht von Neuem darauf aufmerksam, daß jede Art der Fixirung Kunstprodukte schafft, sogar jedes Fixirmittel



ein anderes. Besonderes Gewicht legt er darauf, daß die Eiweißkörper in der Zelle je nach dem Fixirmittel verschieden ausgefällt werden. Er tritt daher für eine äußerst vorsichtige Deutung der Bilder ein, die man in den fertigen mikroskopischen Präparaten vor sich hat. Da er aber die Fixirmittel meist *in vitro*, d. h. an wässerigen Lösungen von Nucleinsäure, Peptonen, Albuminen, Hämoglobin etc., studirt hat, so sind seine Anschauungen nicht ohne Weiteres auf die Fixirung von lebenden Geweben übertragbar. — S. auch die Kritiken von BENDA (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. 1900 p. 173 ff.), BERG (Arch. Mikr. Anat. 62. Bd. 1903 p. 367 ff. und 65. Bd. 1904 p. 301 ff.) und VEJDOVSKÝ (ibid. p. 432 ff.).

Eine ausgedehnte Untersuchung der gebräuchlichsten Fixirmittel hat TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 202) angestellt. Er benutzte aber als Objekt nur den Hoden von *Salamandra*, und so können auch seine Schlüsse nicht für alle Gewebe gelten. Das Hauptresultat ist die Verwerfung einfacher Flüssigkeiten, da keine von ihnen in den Zellen zugleich das Plasma und den Kern gut konservirt. — S. auch RUBENTHALER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 133: über isothermische und isotonische Gemische, Betäubung der Gewebe vor dem Fixiren etc.) und TELLYESNICZKYs neueste Angaben (Encyclop. 1. Bd. p. 460 ff.); T. bringt unter Anderem eine graphische Darstellung der Diffusionsgeschwindigkeit von 26 Fixirgemischen in Leber, Milz, Niere und Hirn.

**31. Wahl der Fixirmittel.** Rathschläge bei der Wahl der Fixirmittel für die einzelnen Gewebe und Organe der Thiere finden sich in den Kapiteln 22—31 dieses Buches. Hier sollen nur einige allgemeine Punkte erörtert werden.

Ein gutes Fixirmittel muß wenigstens das leisten, daß es die Objekte oder die Elemente von ihnen, auf die es ankommt, möglichst treu konservirt. Das kann es aber in der Regel nur dann, wenn es rasch in die Objekte eindringt, da diese ja selten so dünn sind, daß es sofort mit allen Zellen in Berührung kommen wird. Von Nutzen ist ferner, wenn es alle oder mindestens die gewünschten Elemente optisch differenzirt und so unter Umständen die nachträgliche Färbung überflüssig macht. Leider sind beide Eigenschaften kaum in einem der so zahlreichen Mittel vereinigt. Z. B. fixirt Osmiumsäure zwar manche Elemente in den Zellen fast augenblicklich, ist aber selbst in 24 Stunden erst einige Zellschichten tief eingedrungen, und der Zusatz von gut penetrirenden Mitteln (Essigsäure etc.) hilft da nichts, denn letztere wandern allein in die Tiefe, nehmen aber die Osmiumsäure nicht mit.

Durch die Praxis hat sich herausgestellt, daß alle wirklich guten Fixirmittel sauer sind; man muß also, wenn sie nicht von selbst sauer reagiren, eine Säure hinzusetzen. Nach FISCHER (Fixirung etc. p. 10) reagirt der Zellinhalt meist alkalisch und hemmt so die Wirkung



der gebräuchlichen einfachen Fixirmittel (Osmiumsäure, Platinchlorid etc.) oder macht sie sogar unmöglich; daher diene die Essigsäure in den Fixirgemischen als „Ansäurer“.

Der Anfänger halte sich, wenn es ihm nicht auf specielle Punkte ankommt, an eine angesäuerte Lösung von Sublimat (§ 62 c); er wird dann viel seltener auf Schwierigkeiten stoßen als bei den anderen Mitteln. Auch wässrige Lösung von Pikrinsäure (§ 91) ist gut, desgleichen das Formol (§ 109), das meist an sich schon sauer genug ist. Alle diese Mittel erhalten die Form der Zellen und ihrer Kerne gut, sind aber für das Plasma weniger empfehlenswerth. Wird also mehr Gewicht auf letzteres gelegt, so nehme man das Gemisch von Tellyesniczky (§ 55), das aber die Färbbarkeit der Gewebe stark herabsetzt.

**32. Maaßregeln für das Fixiren.** In erster Linie achte man darauf, daß die Gewebe beim Fixiren lebensfrisch sind, sonst fixirt man nur postmortale oder krankhafte Zustände. Ferner Sorge man für rasches Eindringen des Fixirmittels: man schneide die Objekte in so kleine Stücke, wie das für die sonstigen Zwecke angeht; muß man aber Organe oder Thiere in toto konserviren, so mache man vorher einige Öffnungen hinein. Das Eindringen wird durch Hitze sehr erleichtert. Entweder also erwärmt man die Flüssigkeit vorher und stellt sie dann mit den Objekten in einen Brutschrank, oder man wendet sie heiß an, z. B. kochende Sublimatlösung für Korallen und Hydroiden, oder kochenden Alkohol absolutus für Arthropoden mit dicker Haut. Indessen wird dies immer eine Ausnahme bilden.

Das Fixirmittel muß an Volumen die Objekte beträchtlich übertreffen, sonst kann sich seine Zusammensetzung durch das Wasser oder die löslichen Substanzen in den Geweben bedenklich ändern. So braucht man z. B. von einem so langsamen und schwachen Mittel wie der gesättigten wässrigen Lösung von Pikrinsäure etwa 100 Mal so viel wie das Volumen des Objektes beträgt, dagegen von sehr energischen Gemischen, wie den Flemmingschen, erheblich weniger.

BRAUS & DRÜNER (Jena. Zeit. Naturw. 29. Bd. 1895 p. 435) fixiren Fische durch Injektion in den Bulbus aortae. Zunächst spülen sie die Adern mit Normalsalzwasser aus, injiziren dann das Fixirmittel, bis „alle sichtbaren Theile die mit der Wirkung des Fixirmittels verbundene Farbenänderung zeigen“, verdrängen es wieder durch Wasser, dieses durch Alkohol und legen das Thier in Alkohol. Nach Injektion von Chromgemischen bringt man den Fisch meist sofort in Müllers Gemisch. Die Leber wird ihres vielen Fettes halber nach der Injektion zum größten Theile entfernt. — MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894



p. 479) injiziert, um das Gehirn möglichst rasch zu fixiren, Säugethieren zuerst nur 20 Sekunden lang warmes ( $39^{\circ}\text{C.}$ ) Normalsalzwasser (0.75 %), dann sofort warme Sublimatlösung etwa 5 Minuten lang, präparirt es heraus und legt es auf 12 Stunden in die gleiche Lösung. Auswaschen direkt mit Alkohol von 50 %, der mehrere Male gewechselt wird, dann mit solchem von 80 %, 90 % und 100 %. Die Retina behandelt M. ähnlich, läßt sie aber nur 2 Stunden im Sublimat. — S. auch § 661.

Im Allgemeinen lasse man die Fixirmittel nicht länger wirken, als bis sie geleistet haben, was sie sollen. Sublimatlösung z. B. macht schon bald die Objekte brüchig. Aber unter Umständen mag zur Erzielung optischer Differenzirungen selbst wochenlanges Verweilen im Fixirgemisch (z. B. dem Flemmingschen) nöthig werden.

Fast stets muß man nach dem Fixiren den Überschuß des Fixirmittels, der noch in den Hohlräumen des Gewebes steckt, sorgfältig auswaschen. Denn wohl nur bei Fixirung in starkem Alkohol ist dies nicht nöthig, obwohl selbst da gut. Auch aus Formol, Pikrinsäure oder Essigsäure kann man zur Noth die Objekte direkt in die Färbgemische übertragen, wenn man diese danach auswählt; aber besser ist auch hier die Entfernung des Fixirmittels. Also mache man es sich zur Maxime, stets auszuwaschen, und verwende dazu ja die richtige Flüssigkeit. Oft ist es nämlich nicht einerlei, ob man Alkohol oder Wasser nimmt: zuweilen macht letzteres die ganze Fixation zu nichts (so bei Pikrinsäure), zuweilen fällt ersterer Substanzen aus, die die Präparate beschädigen. Näheres hierüber bei den einzelnen Fixirmitteln!

Die Waschflüssigkeit muß reichlich sein. Man wechsele sie, falls sie trübe wird. Auch das Waschen erleichtert Wärme oft, z. B. löst (nach Fol) Alkohol von  $40^{\circ}\text{C.}$  etwa doppelt so viel Pikrinsäure wie bei gewöhnlicher Temperatur.

**33. Fixiren von Seethieren.** Da bei diesen die Körpersäfte sehr viel Salze enthalten (s. § 377) und bei den Wirbellosen mit dem Seewasser geradezu isotonisch sind, so ergeben sich daraus einige Besonderheiten für die Fixirung.

Man muß von den ungeöffnet zu fixirenden Seethieren das Wasser so gut wie möglich ablaufen lassen, wenn man sie in Alkohol oder sonst ein Fixirmittel bringt, das die Seesalze niederschlagen kann. Denn sonst bilden diese auf den Objekten eine Kruste, die den Reagentien den Weg nach innen versperrt, sodaß Maceration eintreten kann, und später die Tinktion schlechter von Statten geht. Daher sind



in der Regel die Fixirmittel so zu wählen, daß sie die Seesalze in Lösung halten und wegschaffen. Diese Bedingung erfüllt z. B. die Pikrinsalpetersäure (§ 95). Nimmt man direkt Alkohol, so muß er mit Salzsäure oder sonst einer brauchbaren Säure angesäuert werden. Aber einige Fixirmittel wirken nur dann gut, wenn sie in Seewasser gelöst oder damit verdünnt werden; dies gilt vom Formol, unter Umständen von Osmiumsäure, Pikrinsäure und Sublimat. Dann muß man hinterher durch sorgfältiges Auswaschen mit schwachem Alkohol die Seesalze zu entfernen suchen, bevor sie sich in und auf den Thieren so fest niederschlagen, daß man sie kaum wieder los wird; oder man hilft sich, indem man die Objekte in Glycerin einschließt.

**34. Härten.** Wie in § 5 auseinandergesetzt, ist das Härten der Objekte vom Fixiren wohl zu unterscheiden: das Härten soll die Objekte gegen die etwaigen späteren Schädigungen beim Schneiden oder beim Einschließen in Harz etc. resistent machen. Gewöhnlich vollzieht man es durch vorsichtige Übertragung der regelrecht fixirten, aber noch ziemlich weichen Objekte in immer stärkeren Alkohol. Härtet das Fixirmittel bereits selber zur Genüge, so dient der Alkohol nur zur Entwässerung, indessen ist das selten. Dagegen lassen sich manche weiche Gewebe einfach durch Einlegen in die sogenannten Härtgemische direkt, d. h. ohne Einbettung in Paraffin etc., schneidbar machen; ja, man bezeichnete früher stets und auch jetzt noch oft ausschließlich diese Procedur als Härten. Jedoch wird sie nur in speciellen Fällen ausgeübt, und man sieht bei ihr nicht darauf, ob das Gewebe noch lebendig oder erst post mortem oder bereits fixirt in das Härtgemisch eingelegt wird.

In einer früheren Periode der Mikrotechnik kam es beim Härten der Objekte meist nur auf die Erhaltung der äußeren Form und der gröberen Bestandtheile an, und so genügte sorgfältiges Austrocknen bis zur richtigen Konsistenz, auch Kochen in Wasser, Einlegen in Essig oder Flüssigkeiten, die so langsam eindringen, daß die Objekte innen bereits etwas macerirt waren, bevor das Härtmittel zu ihnen gelangte. Diese rohen Mittel sind aber veraltet, da man jetzt in den Schnitten viel mehr zu sehen verlangt als damals.

Man nehme im Allgemeinen relativ viel Flüssigkeit und wechsele sie oft. Die richtige Menge muß man für jedes Objekt ausprobiren. Ist die Flüssigkeit nicht reichlich genug, so ändert sie sich schon bald dadurch, daß aus den Objekten die löslichen Substanzen hineindiffundiren, und dann kommt es leicht durch Stillstand der Diffusion im Objekte statt zur Härtung zur Maceration. Allerdings



mag eine geringe Menge von Colloiden im Härtgemisch die Gewebe vor dem Brüchigwerden bewahren, und dann wäre das Innehalten einer maximalen Proportion zwischen dem Volumen des Härtgemisches und des Objekts mitunter nützlich. Genauere Untersuchungen hierüber stehen aber noch aus.

Man verwendet speciell beim Härten in besonderen Härtgemischen am besten hohe Cylindergläser und hängt die Objekte mit einem Faden oben in der Flüssigkeit auf. So hat die Diffusion möglichst freies Spiel, und die etwaigen Präzipitate fallen harmlos zu Boden. Oder man legt die Objekte auf Watte, Glaswolle, Bäusche von Filtrirpapier etc. In solchen Fällen härtet man im Anfang stets mit einer schwachen Lösung und verstärkt sie allmählich erst dann, wenn die Gewebe schon konsistent genug geworden sind, um ein energisches Reagens zu vertragen. Sobald aber die Objekte die gewünschte Härte erlangt haben, müssen sie herausgenommen und weiter verarbeitet werden.

Handelt es sich um die Härtung fixirter, aber im Fixirmittel (Essigsäure, wässriger Lösung von Pikrinsäure etc.) weich gebliebener Gewebe durch Alkohol, so muß man beim Übertragen in diesen und beim Wechseln desselben behutsam sein, damit es nicht zu Schrumpfungen komme. Sind dagegen die Objekte im Fixirmittel (z. B. Flemmings Gemisch) bereits hart geworden, so ist meist keine große Vorsicht nöthig.

---



## 4. Kapitel.

**Fixirmittel und Härtmittel.**

Aus praktischen Gründen ist der Stoff in diesem Kapitel nicht nach den Leistungen, sondern nach der Zusammensetzung der Fixirmittel und Härtmittel angeordnet: zunächst werden die anorganischen Säuren (Osmiumsäure, Chromsäure etc.) und ihre Salze, dann die organischen Säuren (Essigsäure etc.) und ihre Salze sowie Alkohol, Formol etc. besprochen. Da aber die Fixirgemische, besonders die komplizirteren, diese Eintheilung nicht respektiren, so sind Inkonsequenzen nicht zu vermeiden gewesen und Verweisungen nöthig geworden.

**35. Osmiumsäure.** Das Osmiumtetroxyd ( $\text{OsO}_4$ ) wird gewöhnlich als Osmiumsäure oder Überosmiumsäure bezeichnet, obwohl es keine sauren Eigenschaften besitzt. Es läßt sich nur schwer lange gebrauchsfähig aufbewahren, denn es ist ungemein flüchtig und wird in wässriger Lösung durch organische Substanzen sehr schnell theilweise reduziert. Gewöhnlich glaubt man, das Licht allein bewirke dies, aber das ist nicht richtig: man kann die Lösung dem Licht ungestraft aussetzen, falls nur der Zutritt von Staub absolut verhindert wird.

Die Osmiumsäure wurde von M. SCHULTZE 1864 in die Mikrotechnik eingeführt, dann aber besonders durch F. E. SCHULZE (1871) in ihren Leistungen genauer bekannt. S. hierüber SCHULTZE & RUDNEFF (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 299) und MERK (Sitzungsb. Akad. Wien 108. Bd. 3. Abth. 1899 p. 358).

Die Autoren legen viel Gewicht darauf, daß die Dämpfe der Osmiumsäure die Schleimhäute stark reizen. Man bekomme ungemein leicht einen ersten Katarrh, Conjunctivitis etc. Ich (LEE) habe das nie an mir verspürt, aber bei manchen Personen ist es zweifellos der Fall, und dann sollten sie sehr vorsichtig mit der Osmiumsäure umgehen.

Der Kleinhandel liefert die Osmiumsäure meist in zugeschmolzenen Glasröhren zu 1 g. Daß diese die richtige Menge der Substanz enthalten, wurde früher ohne Weiteres angenommen. Indessen gab DEKHUYZEN (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 137 1903 p. 416) an, man könne sich auf die Lieferanten nicht immer verlassen; auch ich (MAYER) habe enorme Ungenauigkeiten gefunden: die Röhren zu nominell 1 g enthielten von 0,8 bis 1,5 g! Allerdings gilt das nicht von Heraeus in Hanau und Kahlbaum in Berlin; auch Grübler & Co. garantiren für die richtige Menge.



**36. Aufbewahrung der Lösungen von Osmiumsäure.** In der Praxis ist es kaum möglich, die Lösungen absolut vor dem Hineinfallen von Staub zu schützen und so vor der Reduktion zu bewahren. Da sie sich aber bei Gegenwart von Chromsäure halten, so mag man (nach LEE) 2%ige Lösung in 1%iger Chromsäurelösung herstellen und sowohl zum Fixiren mit Osmiumdämpfen (§ 37), als auch zur Bereitung der Gemische von Flemming benutzen.

Nach CORI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 442) halten sich die Lösungen in destillirtem Wasser, wenn man ihnen so viel Kaliumhyper-manganat zusetzt, daß sie hellrosa werden; sobald sie sich entfärben, muß man wieder ein wenig zugeben. — Im 1. Wiener Zool. Institute werden die Lösungen durch Zusatz einer ganz kleinen Menge Sublimat haltbar gemacht. Dies kann ich (MAYER) empfehlen: 100 ccm 1%iger Lösung, mit 10 Tropfen 5%iger Sublimatlösung vermischt, sind im hellsten Lichte fast 10 Jahre unverändert (nur leicht gelb geworden) geblieben. — Auch Natriumjodat ( $\text{NaJO}_3$ ) hindert nach BUSCH (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 476) die rasche Zersetzung der Lösungen. B. nimmt davon die dreifache Menge der Osmiumsäure.

Über die **Regeneration** reduzierter Lösungen, die in der Praxis wohl kaum noch nöthig wird, s. die Angaben in § 35 der 2. Auflage dieses Buches.

**37. Fixiren mit den Dämpfen von Osmiumsäure.** Osmiumsäure ist als Dampf mit Vortheil nur dann zu benutzen, wenn sich ihm die Gewebe direkt aussetzen lassen. Man spannt diese mit Nadeln auf einem Kork aus, der gut in eine weithalsige Flasche mit ein wenig Osmiumsäure (fest oder in Lösung) auf dem Boden paßt. Sehr kleine Objekte, wie isolirte Zellen, werden auf einen Objekträger gebracht, den man umgedreht auf der Mündung der Flasche so lange liegen läßt, bis sie sich bräunen; isolirte Zellen sind meist in  $\frac{1}{2}$  Minute gut fixirt, dagegen erfordern dichtere Objekte, z. B. die Retina, mehrere Stunden. Vor dem Färben wäscht man dann die Objekte mit Wasser ganz leicht ab. Zum Färben ist Methylgrün brauchbar, wenn man die Objekte gleich in einem wässerigen Medium studiren will, hingegen für Dauerpräparate Alaunkarmin, Pikrokarmin oder Hämatoxylin-gemische, ferner Safranin und andere kernfärbende Theerfarbstoffe.

Zum Studium der Spermatogenese räuchert GILSON (La Cellule Tome 1 1885 p. 96) auch mit einem frischen Gemisch von Osmiumsäure und Essigsäure. — STUHLMANN (Z. Anz. 8. Jahrg. 1884 p. 643) räuchert die aufgeklebten Schnittreihen zu optischen Differenzirungen. — Einen Apparat zum Räuchern beschreibt ANDREWS (Zeit. Wiss. Mikr. 14 Bd. 1898 p. 448).



Das Fixiren mit den Dämpfen von Osmiumsäure ist, wo es überhaupt angeht, deswegen gut, weil die Säure so besser als in wässriger Lösung eindringt und eine gleichmäßigere Wirkung ausübt, ferner, weil man so vor dem lästigen Auswaschen herkommt. Feine Elemente werden oft besser konservirt, da Veränderungen durch Osmose ja ausgeschlossen sind.

**38. Fixiren mit Lösungen von Osmiumsäure.** Reine Osmiumsäure in Lösung benutzt man ziemlich selten. In Wasser gelöst wird sie zu  $\frac{1}{20}$ —2% gebraucht; auch die Länge der Zeit, die man sie wirken läßt, schwankt je nach Objekt und Zweck von wenigen Sekunden bis zu Wochen.

Nach FLEMMING (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 181) muß man sie im Dunkeln auf die Gewebe wirken lassen; dagegen ist das nicht nöthig mit den Gemischen von Flemming oder Hermann. Wegen der Flüchtigkeit der Osmiumsäure sind gut verschließbare Gefäße nöthig. Für Seethiere empfiehlt sich oft die Lösung der Osmiumsäure in Seewasser oder wenigstens ein Zusatz von letzterem zur Lösung in destillirtem Wasser.

Da die Osmiumsäure nur ganz wenig in die Tiefe dringt, so muß man eventuell die Objekte vorher in kleine Stücke schneiden. BUSCH (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 476) verwendet aus dem gleichen Grunde das Gemisch von Osmiumsäure und Natriumjodat (Osm. 1, Natr. 3, Wasser 300), da letzteres die Reduktion in den Geweben verzögert, und läßt die Objekte (1 cm dicke Stücke des Nervensystems) 5—7 Tage darin.

Oft setzt man vortheilhaft den Lösungen unmittelbar vor dem Gebrauch  $\frac{1}{2}$ —1% Essig- oder Ameisensäure zu. FOL (Lehrbuch p. 99) nimmt das Gemisch von Osmiumsäure 1, Essigsäure 10 und Wasser 1000 Theilen, UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 26. Bd. 1898 p. 602) fügt der 1%igen Lösung von Osmiumsäure 1% Alaun zu. Über das Osmacet für Blut s. § 782, über KOLOSSOW's Gemische mit Uransalzen, Alkohol und Salpetersäure p. 28 der 2. Auflage dieses Buches.

Die Gemische von Osmiumsäure und Alkohol allein (RANVIER, VIGNAL) zersetzen sich so rasch, daß ihre Verwendung nicht rathsam ist. — S. auch PAAL & AMBERGER (Ber. D. Chem. Ges. 40. Jahrg. 1907 p. 1378 ff.).

MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 481; Methods p. 97) empfiehlt für die Nervencentren gleiche Volumina von 1%iger Osmiumsäure und gesättigter Lösung von Sublimat in Normalsalzwasser (0,75%), die aber erst unmittelbar vor dem Gebrauch zu mischen sind; so werde die Quellung der Gewebe verhindert und später die Färbung erleichtert.

**Nachbehandlung der Objekte.** Den Überschuß an Osmiumsäure muß man vor Allem auswaschen, z. B. mit Wasser. Indessen trotz



der größten Sorgfalt bleibt doch häufig etwas Säure in den Geweben zurück und schwärzt diese mit der Zeit zu sehr, verhindert oder erschwert auch die Färbung. Man mag daher die Objekte direkt aus der Osmiumsäure, wie FLEMMING empfiehlt, auf 24 Stunden in eine Lösung von Kaliumbichromat (z. B. die Müllersche) oder  $\frac{1}{2}$  %ige Chromsäure oder Merckels Gemisch bringen. Die Behandlung mit Bichromaten erleichtert die Färbung mit Karmin- oder Hämatoxylingemischen. Am besten aber bleicht man die Präparate vor dem Färben ordentlich, z. B. mit Wasserstoffhyperoxyd, das die reduzierte Osmiumsäure wieder regeneriert, falls es noch gut ist. Aber nicht viel komplizierter und wenigstens ebenso sicher im Erfolg ist die älteste dieser Methoden, nämlich die von MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 8) mit Kaliumchlorat und Salzsäure (Genaueres s. im § 560). — BINET (Journ. Anat. Phys. Paris Tome 30 1894 p. 470) wendet bei Schnitten Kaliumhypermanganat an. MANN (Methods p. 83) läßt es in  $\frac{1}{4}$  %iger Lösung wirken und entfärbt die braun gewordenen Schnitte durch schweflige Säure (gesättigte wässrige Lösung 1, Normalsalzwasser 9 Theile). S. auch § 562 (ALFIERI).

Nach OVERTON (Zeit. Wiss. Mikr. 7 Bd. 1890 p. 11) bleicht das Gemisch von 1 Theil käuflichen Wasserhyperoxyds und 10—25 Theilen 70—80 %igen Alkohols bereits in einigen Minuten. (Das käufliche ist leicht mit HCl angesäuert und hält sich im Dunkeln gut, aber mit Alkohol muß man es jedesmal frisch mischen.) Nach BRISTOL (Amer. Natural. Vol. 27 1893 p. 176) wirkt das Wasserstoffhyperoxyd besser in der Sonne.

MÖNCKEBERG & BETHE (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 140) suchen die von der Osmiumsäure oxydirten markhaltigen Nervenfasern durch Reduzierung wieder färbbar zu machen, legen sie deshalb auf 6—12 Stunden in 2 %ige Lösung von Natriumbisulfit, der sie unmittelbar vorher auf je 10 ccm 2—4 Tropfen Salzsäure zusetzen. Ich (MAYER) habe diese Methode an osmirtem Fett und Schnitten durch *Ciona* und *Batrachoseps* geprüft und gefunden, daß sie nicht allgemein anwendbar ist und besonders die Färbbarkeit der Zellkerne nicht regeneriert. — ALTMANN (Elementarorganismen Leipzig 1890 p. 33 und 35) empfiehlt 2 %ige Lösung von Goldchlorid zum Fortschaffen des Osmiums aus den Geweben. Ich (MAYER) habe auf Veranlassung von APÁTHY, der für Schnittserien ebenfalls Goldchlorid (nachher Übertragen in Jodtinktur) verwendet, letztere Methode versucht, bin aber nicht sonderlich davon befriedigt.

FOL (Lehrbuch p. 174) benutzt, um die Schwärzung zu verhindern, Beales Karmin oder Boraxkarmin, zum Bleichen aber eine schwache wässrige Auflösung des rothen Blutlaugensalzes. Auch das gelbe sei brauchbar. Ich (MAYER) habe allerdings mit dem rothen leidliche Resultate erzielt, mit dem gelben hingegen nicht, und muß ferner einwenden, daß das rothe nur in wässriger Lösung, nicht aber in Alkohol wirkt, was mir gegenüber meiner Bleichmethode



(§ 560) ein Nachtheil zu sein scheint. Wasserstoffhyperoxyd (§ 561) als leicht zersetzliche Flüssigkeit ist ebenfalls nicht besonders zweckmäßig, dagegen bildet Magnesiumhyperoxyd, aus dem man durch eine Säure den wirksamen Sauerstoff in Freiheit setzt, ein zwar langsam, aber sehr schonend wirksames Mittel. Die Oxydation durch Bergamottöl (nach Cox, s. unten § 693) habe ich auch versucht: zwar wurden Objekte, die zu lange in Hermanns Gemisch gelegen hatten, in 8 Tagen fast ganz entfärbt, aber in hartnäckigeren Fällen, wo meine Bleichmethode noch rasch half, versagte jenes Öl völlig. Dabei scheint auch die Qualität des Öles und sein Alter mitzuspielen. — CARAZZI (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1910 p. 528) empfiehlt Natriumhyperborat, gelöst in Wasser oder 50—70%igem Alkohol, angesäuert mit Wein- oder Citronensäure.

Ich (LEE) finde, daß die Schnitte in Benda's Eisensulfat erheblich gebleicht werden, etwas weniger auch in Heidenhain's Eisenalaun.

Die oben § 37 nach der Räucherung mit Osmiumsäure empfohlenen Färbemittel sind auch hier nützlich, wirken indessen auf ungebleichte Objekte ganz anders als auf gebleichte. S. auch unten § 819 (DUBOSCQ).

Nach HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 400) löst der Kanadabalsam reduziertes Osmium; H. bringt daher die osmirten Gewebe erst in 70%igen Alkohol mit etwas Schwefelnatrium, um Osmiumsulfid zu produzieren, und hofft auf bessere Haltbarkeit!

**39. Wirkung der Osmiumsäure.** Im Allgemeinen fixirt Osmiumsäure, namentlich als Dampf, das Zellplasma gut, die Kerne schlecht. Auch sind einige Nachtheile außer den schon im § 30 genannten damit verknüpft. Das Vermögen, in die Tiefe zu dringen, ist sehr gering; sind daher die Objekte nicht ganz klein, so werden die äußeren Schichten „überfixirt“, bevor noch die Säure zu den inneren gelangt ist. Die überfixirten Zellen sehen homogen oder glasig aus und färben sich nur schlecht oder gar nicht. Handelt es sich daher um feinere histologische Einzelheiten, so halte man sich an die Zellen, die einige Schichten tiefer liegen und daher gewöhnlich in der richtigen Weise fixirt sind.

RAWITZ (Lehrbuch p. 57) bringt ein sehr instruktives Beispiel von der verschiedenen Wirkung der Osmiumsäure aus der Peripherie und im Centrum eines Objektes; jene sei weder für Kern- noch für Plasma-studien zu gebrauchen. — TELLYESNICZKY (Encyclop. 1. Bd. p. 465) möchte die „homogenen Bilder der Osmiumsäure, des Kal. bichrom. und auch des Formalins“ darauf zurückführen, daß die Fettsubstanzen noch darin enthalten seien!

Nach FISCHER (Fixirung etc. p. 12 u. 25) ist die Osmiumsäure ein sehr schwaches, unvollständiges Fällungsmittel, und in den Schnitten hat man daher neben der Fixirung durch sie die kräftige durch Alkohol vor sich, besonders in alkalischen oder neutralen Geweben, während in sauren eine Gerinnung möglich ist. Daher wirkt der Zusatz von Essigsäure vortheilhaft. — Nach TELLYESNICZKY



(Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 228) erhält die Osmiumsäure das Plasma besonders gut, sodaß es den ihm zukommenden Raum in der Zelle auch in den Präparaten ausfüllt. So erklärt sich die homogene Beschaffenheit der Zellen. — Ähnlich günstig urtheilt MANN (Methods p. 82). — MÖNCKEBERG & BETHE (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 136) lassen die Osmiumsäure nur durch Oxydation wirken; da nun die Gerinnung ausgeschlossen ist, so entstehen im Plasma keine Lücken, und daher dringt jene schlecht ein, erhält aber dafür in den Zellen die dem Leben entsprechende homogene Beschaffenheit der Kerne.

Daß sich mit Osmiumsäure auch andere Substanzen als nur Fett schwärzen oder bräunen, wußten bereits SCHULTZE & RUDNEFF, aber mancher spätere Autor hat das nicht genug beachtet. Wirkliches Fett läßt sich auch nach der Osmirung durch fettlösende Mittel aus den Präparaten entfernen, wenn es für die Erforschung der übrigen Elemente hinderlich werden sollte. Andererseits wird durchaus nicht jede Art von Fett schwarz. (Näheres in § 760.)

**40. Chrmsäure.** Das Chromtrioxyd ( $\text{CrO}_3$ ) findet sich im Handel als rothe Kristalle, die sich in Wasser leicht unter Bildung von Dichromsäure ( $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) lösen. Die Kristalle sind leicht zerfließlich, und man hält daher am besten die Säure in 1%iger Lösung vorrätig. Auch dürfen jene nicht mit organischen Körpern in Berührung kommen, da sie sonst leicht zu Chromoxyd ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) reducirt werden.

Die Chrmsäure wurde von HANNOVER (Arch. Anat. Phys. 1840 p. 549) in die Mikrotechnik eingeführt. — Nach FISCHER (Fixirung etc. p. 21) wird ihre Wirkung vielleicht durch die geringen Mengen Schwefelsäure, die sie im Handel enthält, noch erhöht.

Zum Fixiren gebraucht man die Chrmsäure in wässriger, zuweilen auch in alkoholischer (§ 41) Lösung. Die wässrige ist am besten  $\frac{1}{10}$ —1% stark, und man legt die Objekte nur auf einige Stunden hinein; die 5%ige sollte man nur wenige Sekunden wirken lassen.

Allgemein wird angegeben, man müsse die Objekte nachher recht lange in fließendem Wasser auswaschen, bevor man sie in Alkohol oder ein Färbemittel überführe. Denn beim direkten Übertragen in den Alkohol bilden sich auf und in den Objekten Niederschläge. Indessen hat STIRLING (MANN, Methods p. 76) und nach ihm VIRCHOW (Arch. Mikr. Anat. 24. Bd. 1885 p. 117) gefunden, daß sie im Dunkeln nicht entstehen: zwar wird der Alkohol gelb, sollte daher auch oft gewechselt werden, aber kein Niederschlag tritt auf. So wird das Waschen mit Wasser unnöthig oder kann wenigstens stark abgekürzt werden. Ferner lassen sich nach MAYER (1. Auflage dieses Buches p. 28) die mit Alkohol im Dunkeln ausgewaschenen Objekte, die in der Regel ziemlich braun oder grün geworden sind, wieder so weit entfärben,



daß sie ziemlich leicht Farbstoffe annehmen. Die Schnitte behandelt man mit dem gebräuchlichen salzsauren Alkohol oder mit verdünnter Schwefelsäure (1 Vol. auf 20 Vol. Wasser): sie werden in kurzer Zeit fast weiß und färben sich nach der Entsäuerung meist auch mit den gewöhnlichen Färbmitteln. Will man jedoch in toto entfärben, so bringt man die Stücke in verdünnte Schwefelsäure oder Salpetersäure (1:10): sie werden in längstens einigen Stunden hell graugrün und färben sich nach der Entfernung der Säure gut durch. Zwar sind sie, da sie an anorganischer Substanz verloren haben, nicht mehr so hart wie früher, lassen sich aber z. B. unter 90 %igem Alkohol aus freier Hand mit dem Rasirmesser doch in dünne Schnitte zerlegen und haben histologisch wohl kaum gelitten.

Diese Art der Entchromung hat bereits EDINGER (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 126) angegeben: Salpetersäure 1:20 5 Minuten lang. — UNNA (Arch. Mikr. Anat. 30. Bd. 1887 p. 47) läßt in den Geweben das Chrom als chromsaures Chromoxyd vorhanden sein und entfernt es durch Behandlung mit Wasserstoffhyperoxyd; OVERTON (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 10) verwendet dazu (bei Algen) eine schwache wässerige Lösung von schwefliger Säure, die es zu Chromsulfat auflöst, GILSON (nach Mittheilung an LEE) diese Säure in alkoholischer Lösung. MANN (Methods p. 72) verfährt bei Geweben aus Flemmings Gemisch wie Overton und hält das Auswaschen mit Wasser für überflüssig.

Die Chromsäure dringt nicht leicht in die Tiefe und wird deshalb, aber auch aus anderen Gründen, zum Fixiren nur noch selten allein verwandt, spielt dagegen eine sehr bedeutende Rolle in vielen Gemischen, von denen die Flemmingschen (§ 45 u. 46) die wichtigsten sind.

Will man zu besonderen Färbungen Chrom in die Gewebe einführen, so kann dies auch nach der Fixirung (durch Salpetersäure, Formol, Alkohol, Flemmings oder Hermanns Gemisch) geschehen: Postchromirung nach BENDA (Verh. Anat. Ges. 15. Vers. 1901 p. 160). Hierzu eignen sich Chromsäure und Kaliumbichromat, aber stets nur bei sehr kleinen Objekten.

Zum gründlichen Härten braucht man die Chromsäure  $\frac{1}{5}$  bis  $\frac{1}{2}$  % stark einige Tage bis Wochen lang, je nach Größe und Art der Objekte. Man muß aber große Mengen der Lösung nehmen: wenigstens 200 ccm auf ein Stück von etwa 1 ccm (RANVIER).

Zur Erzielung von guten Resultaten sollte man keine größeren Stücke härten als etwa von 15 ccm. Das Rückenmark eines Menschen erfordert 2 Liter Lösung, und diese muß nach einigen Tagen gewechselt werden, auch dauert die Härtung 6—8 Wochen. Man beginne mit einer schwachen Lösung und verstärke sie erst nach einiger Zeit. Sobald die Stücke die richtige Härte erreicht haben, nehme man sie heraus, sonst werden sie brüchig. Man mag sie dann in Alkohol (von 95 %) aufheben, jedoch wäscht man sie am besten vorher 24 bis 48 Stunden lang in Wasser aus. Man setzt auch wohl der Härtslösung etwas



Glycerin zu; die Objekte scheinen dann weniger brüchig zu werden und weniger zu schrumpfen.

**41. Chromsäure in alkoholischer Lösung.** Da sich Chromsäure und Alkohol sehr rasch zersetzen, so kann in derartigen Gemischen, falls sie nicht unmittelbar vor dem Gebrauch angefertigt werden, die Chromsäure nicht mehr als solche wirken. Trotzdem seien hier einige, von ihren Erfindern und sogar von anderen Autoren sehr gerühmte Vorschriften der Vollständigkeit halber aufgeführt. KLEIN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 18 1878 p. 315) nimmt für Zellen und Kerne das Gemisch von 2 Theilen  $\frac{1}{6}\%$ iger Chromsäurelösung und 1 Theil Alkohol von 90%, LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) für Seethiere gleiche Theile 1%iger Chromsäure und Alkohol von 70%, PRITCHARD (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 13 1873 p. 427) für Retina, Cochlea etc. Chromsäure 1, Wasser 20, 84%igen Alkohol 180 Theile.

Zu diesen irrationellen Mixturen gehört das Gemisch von PERÉNYI (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 459) aus 4 Theilen 10%iger Salpetersäure, 3 Theilen Alkohol (Stärke nicht angegeben, wohl 90%) und 3 Theilen  $\frac{1}{2}\%$ iger Chromsäurelösung, das aber schon bald hellviolett wird. Es besteht dann (s. MAYER in der 1. Auflage dieses Buches p. 34) wesentlich nur aus Alkohol von höchstens 30% mit etwa 4% Salpetersäure. Macht man sich nun unter Ersatz der Chromsäurelösung durch Wasser ein analoges Gemisch, so fixirt es nach Mayer ganz so wie das Perényische, d. h. wie ein so schwacher saurer Alkohol überhaupt kann, und das ist eher schlecht als gut. Die Objekte schrumpfen darin allerdings nicht; eher quellen sie auf, mitunter beträchtlich. So wird es denn auch für die Fixirung von Eiern von einigen Forschern (MAYER, WHEELER, HEYMONS, s. 2. Aufl. dieses Buches p. 33; auch KERR in: Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1901 p. 4) verworfen; wenn also TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 237) die „aus unserer Anstalt herrührende Flüssigkeit besonders vorthellhaft zur Fixirung der Eier von Amphibien“ sein läßt, so ist das nicht ohne Weiteres zuzugeben; aber auch er läßt die günstige Wirkung auf der Salpetersäure beruhen. Jedenfalls nimmt man einfacher schlechtweg sauren Alkohol, wie ihn MAYER bereits 1880 (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. p. 7) empfohlen hat; und je nach den Objekten mag man ihn stärker oder schwächer wählen. Ferner haben zwei Forscher, die auf meinen Wunsch obiges analoge Gemisch in ihrer Praxis mit dem Perényischen verglichen, keinen Unterschied zwischen den Wirkungen beider gefunden. Auch MICHEL (Bull. Sc. France Belg. Tome 31 1899 p. 377) beurtheilt das P. G. in dieser Weise und empfiehlt statt dessen für Anneliden einen Alkohol mit reichlich 3% Salpetersäure. Ähnlich der Botaniker WASIELEWSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 329) und noch vor Kurzem GODLEWSKI (Arch. Entwicklungsmech. 26. Bd. 1908 p. 282). — Zum Konserviren von Thieren für Museen und zum Seciren eignet sich dagegen Perényis Gemisch oder saurer Alkohol recht gut.

Über ein ähnliches Gemisch s. unten § 821 (HENNINGS).

Ein noch irrationelleres Gemisch giebt GRAF (Contrib. Path. Inst. New York State Hosp. Vol.  $\frac{1}{2}$  1898 No. 15) an: 3 Vol. 1%iger Lösung von Chromsäure, 4 Vol. 8%iger Lösung von Oxalsäure und 3 Vol. Alkohol von 95%. Er schreibt



die Schwellung der Gewebe im Gemisch von Perényi auf Rechnung kleiner Explosionen, die der frei werdende Sauerstoff in den Objekten hervorrufe, und erklärt natürlich sein Gemisch für „the finest preparing fluid“ von allen!

**42. Chromessigsäure** nach FLEMMING (Zellsubstanz p. 382): Chromsäure 2—2 1/2 Theile, Essigsäure 1 Theil, Wasser 1000 Theile. — Nach EHLERS (in erster Linie für Anneliden): Chromsäure 1/2—1 g, Wasser 100 ccm, Eisessig 1 bis 5 Tropfen; dieser soll die Schrumpfung durch die Chromsäure verhüten. — Lo BIANCOS (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) Chromessigsäure No. 1 für Seethiere: 1. Theil 50%iger Essigsäure und 20 Theile 1%iger Chromsäure (über seine Chromessigsäure No. 2 s. § 82); nach mündlicher Angabe nimmt L. jetzt 2 Theile Essigsäure. — S. auch § 51 (BURCHARDT).

**43. Chromameisensäure.** RABL (Morph. Jahrb. 10. Bd. 1884 p. 215) setzt zu 200 ccm 1/3%iger Chromsäurelösung 4 oder 5 Tropfen konz. Ameisensäure, aber erst unmittelbar vor dem Gebrauch. Die Objekte bleiben 12 bis 24 Stunden darin und werden mit Wasser ausgewaschen.

**44. Chromosmiumsäure** nach FLESCH (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 300): Osmiumsäure 1, Chromsäure 2 1/2, Wasser 1000 Theile. Für das Gehörorgan der Vertebraten. — Lo BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) fixirte früher Seethiere im Gemisch von 1 Th. 1%iger Osmiumsäure und 50 Th. 1%iger Chromsäure.

**45. Chromosmiumessigsäure** nach FLEMMING (Zellsubstanz p. 381); **schwaches Gemisch:** Chromsäure 2 1/2 g, Osmiumsäure 1 g, Eisessig 1 g, Wasser 1 Liter. Dünne Membranen werden bereits in 1/2 Stunde gut fixirt, in der Regel aber müssen die Objekte mindestens einige Stunden oder Tage, ja (z. B. nach FLEMMING in: Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1897 p. 174) sogar Wochen oder Monate lang in dem Gemisch bleiben. Dann wäscht man sorgfältig mit Wasser aus und färbt entweder in toto mit Hämateinthonerde (s. auch § 819 DUBOSCQ) oder noch besser die Schnitte mit Safranin, Eisenhämatoxylin etc.

Ein ähnliches Gemisch, allerdings mit erheblich mehr Essigsäure, gewinnt man durch Verdünnen des starken Gemisches (§ 46) mit dem Doppelten an Wasser. — FOL (Lehrbuch p. 100) nimmt: 1%ige Chromsäure 25, 1%ige Osmiumsäure 2, 2%ige Essigsäure 5 und Wasser 68 Maaßtheile, also viel weniger Osmiumsäure als von Flemming vorgeschrieben. Noch schwächer an Osmiumsäure (nur 1 Vol. an Stelle der 2 Vol.) ist das Gemisch von CORI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 441); über das von WISTINGHAUSEN s. unten § 618.

Die Meinungen über Art und Erfolg der Wirkung dieses und des starken Gemisches (s. § 46) sind äußerst verschieden. Während z. B. Flemming die treue Fixirung der Zelltheilung auf die rasch tödtende Osmiumsäure, ihre Verdentlichung auf die beiden anderen Säuren zurückführt, kommt FISCHER (Fixirung etc. p. 27) ungefähr zum umgekehrten Resultate und meint, das Gemisch sei „erst recht geeignet, Artefakte zu erzeugen“ (p. 28).



Zu verwenden ist dieses Gemisch (ähnlich dem folgenden) nur bei sehr kleinen Objekten oder ganz kleinen Stücken größerer Objekte, da sonst die Resultate in den tieferen Schichten gar zu sehr von den normalen abweichen. Denn mehr als etwa 5 Zellschichten tief fixirt es selbst in lockeren Geweben die Elemente nicht mit guter Erhaltung der Struktur und starken optischen Differenzen, da die Osmiumsäure nur ganz langsam und in sehr geringe Tiefe vorgeht. Nach MEVES (Encyclop. 1. Bd. p. 476) dringt das schwache Gemisch in größere, festere Objekte nicht so gut ein wie das starke.

Auch zum Härten, z. B. von Nervengeweben, kann es dienen.

**46. Chromosmiumessigsäure** nach FLEMMING (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 349); **starkes Gemisch**: 1%ige Chromsäure 15, 2%ige Osmiumsäure 4, Eisessig 1 Maaßtheil (oder weniger), d. h. Chromsäure  $7\frac{1}{2}$  g, Osmiumsäure 4 g, Eisessig 50 g, Wasser 950 ccm.

Hat man 2%ige Osmiumsäure nicht zur Hand, so nehme man 10%ige Chromsäure 15, 1%ige Osmiumsäure 80, Eisessig 10 und Wasser 95 Maaßtheile.

Große Vorräthe von diesem Gemisch können mit der Zeit verderben, weil die Essigsäure allmählich die Osmiumsäure reduziert (MERK in: Sitzungsber. Akad. Wien 108. Bd. 3. Abth. 1899 p. 361). Man halte daher das Gemisch mit Ausnahme der Essigsäure fertig und setze vor dem Gebrauch 5% Eisessig hinzu.

Auch hier braucht man sich nicht genau an die von Flemming angegebenen Verhältnisse zu halten. So verwendet z. B. CARNOY (La Cellule Tome 1 1885 p. 211) ein noch stärkeres Gemisch. Nach MEVES (Encyclop. 1. Bd. p. 476) hat Fl. selber später die Osmiumsäure nur halb so stark genommen, und M. empfiehlt diese Modification auch für Evertibraten, sowie (Arch. Mikr. Anat. 72. Bd. 1908 p. 832) für die Chondriosomen das Gemisch von 15 ccm „ $\frac{1}{2}$ %iger Chromsäure (mit Zusatz von 1% Kochsalz)“, 3—4 ccm 2%iger Osmiumsäure und 3—4 Tropfen Eisessig. — PODWYSZOZKI (Beitr. Path. Anat. 1. Bd. 1886 p. 287) rühmt namentlich für Drüsen ein Gemisch mit Sublimat, nämlich Chromsäure zu 1% in  $\frac{1}{2}$ %iger Sublimatlösung gelöst 15 ccm, 2%ige Osmiumsäure 4 ccm, Eisessig 6—8 Tropfen.

An Volum braucht man vom starken Gemisch nur etwa 4 mal so viel, wie das der Objekte beträgt. Nach Flemming bleiben diese wenigstens 1, besser 2—3 Tage lang darin (auch wohl Monate lang); Nachbehandlung wie beim schwachen Gemisch.

Im starken Gemisch werden die Gewebe nicht tiefer braun, als im schwachen, eher weniger tief. Die Wirkung beider Gemische auf Fett etc. ist ähnlich wie bei der Osmiumsäure (s. oben p. 31).

Über Hermanns Modification von Flemmings Gemisch (**Hermanns Gemisch**) s. unten § 73, über ein Gemisch von Chromsäure mit Platin-



chlorid (**Merkels Gemisch**) § 72, mit Salzsäure § 805, mit Pikrinsäure § 93, mit Pikrinschwefelsäure § 94, mit Sublimat § 67.

**47. Phosphorwolframsäure.** RAWITZ (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 386) fixirt besonders den Darmkanal von Amphibien im Gemische von 4 Th. der Kahlbaumschen [10 %?] Ph. und 5 Th. Alkohol von 93—95 %, dem unmittelbar vor dem Gebrauch 1 Th. Essigsäure zugesetzt wird. Nach 24 Stunden in 70 %igen Alkohol. Die Paraffinschnitte werden in wässriger Lösung von Calciumacetat entsäuert, ausgewaschen und nun erst gefärbt.

**48. Salpetersäure.** ALTMANN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1881 p. 220) fixirt Embryonen mit verdünnter Salpetersäure (3—3½ % reiner Säure, spezif. Gew. etwa 1.02) aber nur ¼—4 Stunden lang; stärkere Gemische ergaben kein so gutes Resultat. Ich (LEE) finde die Altmannsche Säure zu schwach zum allgemeinen Gebrauch. Mir (MAYER) hat 5 %ige Säure bei den Eiern von Dekapoden gute Dienste geleistet. — BETHE (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 22) behandelt Nervengewebe von Wirbelthieren mit Salpetersäure von 3 bis 7½ % (die konzentrierte hat das spezif. Gew. von 1.40) absichtlich, damit nicht alles in den Zellen fixirt werde. Dies würde mit der Angabe von FISCHER (Fixirung etc. p. 9) harmoniren, die Salpetersäure sei, ob wässrig oder mit Alkohol verdünnt, ein unzuverlässiges Mittel. — TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 222) hat gerade von schwacher Säure (2—2½ %) günstige, von 5 %iger weniger gute Resultate gehabt.

Zum Auswaschen darf man kein Wasser, sondern nur Alkohol nehmen (schon von Altmann angegeben), am besten wohl 70 %igen.

BENDA (Anat. Anz. 3. Jahrg. 1888 p. 706) legt die Objekte auf 1—2 Tage in Salpetersäure von 10 % (also wie HIS, s. Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1877 p. 115), von da direkt auf wenigstens 2—3 Tage in ¼- bis ½-gesättigte Lösungen von Kaliumbichromat, wässert sie später gründlich aus und schneidet sie gefroren oder in Celloidin (für Paraffin werden sie zu hart). Die Schnitte sollen sich, wenn auch langsam, doch gut färben.

NICOLAS (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 8. Bd. 1891 p. 3) verwendet für den Darm der Wirbelthiere 3 %ige Salpetersäure mit ½ % Osmiumsäure und findet die Gewebe besser färbbar, als wenn sie mit Flemmings Gemisch fixirt werden. Ich (LEE) habe keine guten Resultate damit erhalten.

Über Salpetersäure und Alkohol s. oben p. 29, p. 34 und unten § 105.

**49. Schweflige Säure.** WADDINGTON (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 3 1883 p. 185) empfiehlt gesättigte Lösung von schwefliger Säure in Alkohol (hergestellt durch Einleiten des Gases) statt der Osmiumsäure zum Fixiren. — Ebenso OVERTON (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 9).

**50. Jod.** Es dringt sehr gut ein. Nach KENT (Manual of the Infusoria 1881 p. 114) wirkt es auf Infusorien fast genau so wie Osmiumsäure, mitunter besser: von einer tiefbraunen Lösung von Jod und Jodkalium in Wasser setzt man dem Wasser mit den Infusorien sehr wenig zu. Oder man nimmt Lugols Gemisch (Wasser 100, Jodkalium 6, Jod 4 Theile) oder für kleine Seethiere eine Lösung von Jod in Seewasser.



Jod tötet die Zellen sehr rasch, ohne ihre Form zu verändern. Mir (LEE) hat es beim Studium der Spermien sehr gute Dienste geleistet. Leider scheint es kein Färbgemisch zu geben, das sich mit Jod vertrüge.

Sehr kleine Objekte kann man nach OVERTON (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 14) durch **Joddämpfe** fixiren: man erhitzt Jodkristalle in einem Reagenrohr, bis Dämpfe aufsteigen, neigt das Rohr und läßt die Dämpfe über den Objektträger mit den Objekten darauf hinströmen, muß ihn dann aber 2—3 Minuten lang auf etwa 40° C. erwärmen, um das Jod wegzuschaffen, und kann nun die Objekte weiter behandeln. — Über **Jodalkohol** zum Fixiren von Radiolarien s. § 866, zum Härten des Gehirns § 666.

ARNOLD (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 135 u. 763) braucht Jodjodkalium in Wasser zur Darstellung seiner Granula, aber es handelt sich dabei offenbar mehr um eine Maceration als um eine wirkliche Fixirung.

**51. Allgemeines über die Bichromate.** BURCHARDT (La Cellule Tome 12 1897 p. 335) unterscheidet die kernzerstörenden (das Kalium-, Natrium-, Ammonium-, Magnesium-, Strontium- und Zinksalz) und die kern-erhaltenden (das Baryum-, Calcium- und Kupfersalz) Bichromate. In Müllers Gemisch scheint das Natriumsulfat die Wirkung des Bichromats auf den Kern abzuschwächen. Selbst die 2. Gruppe konservirt vom Kerne nur das Chromatin. Zum bessern Eindringen muß Essigsäure zugesetzt werden, und um deren schädliche Wirkungen auf das Cytoplasma abzuschwächen, ein Salz der 1. Reihe; daraus resultirt folgendes Gemisch zum Fixiren von Plasma und Kern: Bar. bichrom. 4%ig 12 Vol., Kal. bichrom. 5%ig 6 Vol. und Eisessig 1 Vol. (Das Baryumsalz kann durch 4%iges Calcium- oder 6%iges Kupferbichromat ersetzt werden.) Nimmt man Chromsäure 1%ig 12 Vol., Kal. bichrom. 5%ig 6 Vol., Eisessig 1 Vol., so wird auch die achromatische Figur gut erhalten.

Auch TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 229) erkennt das Kaliumbichromat nur in Verbindung mit Essigsäure als gutes Fixirmittel an (Genaueres in § 55). — FISCHER (Fixirung etc. p. 15) rechnet es ebenfalls zu den schwachen Fällungsmitteln; es bedürfe daher des Zusatzes einer freien Säure.

SONNENBRODT (Arch. Mikr. Anat. 72. Bd. 1908 p. 416) fixirt die Ovarien von *Gallus* im Gemische von 20 Theilen 2%iger Lösung von Calciumbichromat, 10 Th. 2%iger Lösung von Sublimat und 1 Th. Essigsäure.

**52. Kaliumbichromat.** Dies ist vielleicht das wichtigste aller Härtmittel sensu stricto. Es härtet zwar viel langsamer als Chromsäure, verleiht aber den Geweben eine viel bessere Konsistenz und macht sie auch bei langer Einwirkung nicht spröde.

Wie bei der Chromsäure, so muß man auch hier mit schwachen (2%) Lösungen beginnen und erst allmählich zu stärkeren (bis 5%) greifen. Für das Auge eines Schafes braucht man etwa 3 Wochen, für ein Rückenmark 3—6 Wochen, für ein Gehirn wenigstens ebenso viele Monate. — Über die Härtung nach Fixirung mit Salpetersäure s. § 48 (BENDA).



Nach der Härtung wäscht man die Objekte sorgfältig mit Wasser aus (s. jedoch § 40) und stellt sie dann mit dem Alkohol ins Dunkle. Will man aber eine gute Färbung mit Karmin erzielen, so darf man sie vor dem Färben auch nicht einen Augenblick in Alkohol bringen.

BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 3. Aufl. 1896 p. 22; 5. Aufl. 1904 p. 10) fixiren mit Kaliumbichromat oder Müllers Gemisch (§ 53) im Dunkeln.

Zum Fixiren ist das Kaliumbichromat allein nicht geeignet (s. § 51). Man ist daher schon lange, besonders durch Flemming, davon zurückgekommen. Dagegen wird es in Verbindung mit Essigsäure wieder mehr angewandt (s. § 55 und 68), ferner mit Formol (§ 111a).

**53. Müllers Gemisch** (bereits in: Verh. Physik. Med. Ges. Würzburg 10. Bd. 1859 p. 180 erwähnt, aber ohne genauere Angaben): Kaliumbichromat  $2-2\frac{1}{2}$  g, Natriumsulfat 1 g, Wasser 100 ccm. Es war früher ungemein beliebt. Man läßt es ebenso lange wirken, wie das reine Kaliumbichromat; auch die weitere Behandlung der Objekte ist die gleiche. Die Ansichten darüber sind getheilt, ob es besser oder schlechter wirke als das einfache Bichromat; jedenfalls ist für die meisten Objekte der Unterschied nicht bedeutend. Vielleicht macht das Sulfat etwas Chromsäure frei (LEE). S. aber oben p. 38 (BURCHARDT).

**54. Erlickis Gemisch.** (\*Warschauer Med. Zeit. 22. Jahrg. Nr. 15 und 18; \*Progrès médical 1877 Nr. 39): Kaliumbichromat  $2\frac{1}{2}$  g, Kupfersulfat 1 g, Wasser 100 ccm. Das Kupfersulfat härtet selber ziemlich energisch, mag daher das Bichromat verstärken. Jedenfalls härtet dieses Gemisch sehr viel rascher als das Müllersche oder die einfache Lösung des Bichromates: ein Rückenmark braucht bei gewöhnlicher Temperatur nur 10 Tage (FOL, Lehrbuch p. 106). Es ist wohl eins der besten Härtmittel für voluminöse Objekte, z. B. menschliche Embryonen von einigen Monaten. Über Artefakte bei der Härtung des Centralnervensystems s. p. 41 der 2. Auflage dieses Buches.

**55. Kaliumbichromat und Essigsäure** nach TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 242): Kaliumbichromat 3 g, Essigsäure 5 ccm, Wasser 100 cm. Kleine Objekte werden darin 1—2 Tage, größere länger gelassen, mit Wasser sehr gut ausgewaschen und in Alkohol von 15%, dann in immer stärkeren gebracht. Man braucht sich aber, wie T. selber angibt, nicht an obige Formel zu binden: wesentlich ist nur die Kombination des das Plasma gut fixirenden Bichromates mit der besonders den Kern erhaltenden Essigsäure. — Ein ähnliches, nur komplizirteres Gemisch hat bereits BURCHARDT empfohlen (§ 51); es ist aber gar nicht in Aufnahme gekommen.

Für Seethiere finde ich (MAYER) das Gemisch von T. nicht übel; auch nehmen die Gewebe, wenn sie nach flüchtigem Abspülen mit 30%igem Alkohol direkt im Dunkeln mit 70%igem ausgewaschen werden, das Hämaun gut an. (Das Kaliumbichromat ohne Essigsäure macerirt nur.)

**56. Kaliumbichromat und Osmiumsäure.** ALTMANN (Die Elementarorganismen, Leipzig 1890 p. 27 und 30) fixirt zur Deutlichmachung seiner Granula in den Zellen die Gewebe im Gemisch gleicher Theile 5%iger Lösung von



Kaliumbichromat und 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Osmiumsäure. Das Bichromat darf aber keine freie Chromsäure enthalten. S. hierüber die Kritik bei FISCHER (Fixirung etc. p. 16). — SCHULTZE (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 7) empfiehlt 3 Theile 3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung des Bichromates und 1 Th. 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Osmiumsäure (oder 25 Th. der 3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen Lösung und 1 Th. konzentr. Lösung von Pikrinsäure). — METZNER (Nagels Handb. der Physiol. 2. Bd. 1907 p. 915) fixirt Pankreas, Speichel-, Magen- und Darmdrüsen (meist von Säugethieren) im Gemisch von 1 Vol. gesättigter Lösung von Kaliumbichr. und 3 Vol. 4—5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Osm. (in 1½—3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Salzwasser) und bringt sie von da direkt in 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen Alkohol. — HOEHL (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1896 p. 32) nimmt zum Fixiren von Zähnen das Gemisch von 40 Vol. 3<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Kaliumbichromat, 10 Vol. 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Osmiumsäure und 1 Vol. Essigsäure.

**57. Kaliumbichromat, Osmiumsäure und Platinchlorid** nach JOHNSON (Vorschrift von 1895 nach Mittheilung an Lee): 2½<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Lösung von Kaliumbichromat 70, 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Lösung von Osmiumsäure 10, 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Lösung von Platinchlorid 15, Essig- oder Ameisensäure 5 Theile. HENNEGUY, der dies Gemisch sehr rühmt (Leçons sur la cellule Paris 1896 p. 61), fügt die Essig- oder Ameisensäure erst kurz vor dem Gebrauche zu, da sie sonst häufig das Osmium und Platin reduzire.

**58. Über Gemische von Kaliumbichromat und Sublimat, besonders über Zenkers Gemisch**, s. unten § 68, von K. und Formol § 111a.

**59. Die Gemische von Kaliumbichromat und Alkohol** sind, wenn auch nicht so sehr wie die der Chromsäure mit Alkohol, der Zersetzung unterworfen und daher nicht sonderlich rationell, wohl auch ziemlich überflüssig. Von ihren Erfindern werden folgende empfohlen.

KULTSCHITZKY (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 348) löst fein gepulvertes Kaliumbichromat und Kupfersulfat im Dunkeln bis zur Sättigung in 50<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Alkohol und setzt kurz vor dem Gebrauch auf je 100 ccm 5 oder 6 Tropfen Essigsäure hinzu. Auch die Objekte müssen im Dunkeln 12—24 Stunden lang in dem Gemisch bleiben, kommen dann auf 12—24 St. in starken Alkohol und sind nun schneidfähig. Später (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 8) hat K. das Gemisch von 2 Theilen Kaliumbichromat, ¼ Theil Sublimat, 50 Theilen 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Essigsäure und 50 Theilen Alkohol von 96<sup>0</sup>/<sub>0</sub> empfohlen. Da ein Theil des Bichromats ausfällt, so soll man die Flüssigkeit erst nach 24 Stunden filtriren.

HAMILTON nimmt zum Härten von Gehirnen 1 Theil 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen Alkohols und 3 Theile Müllers Gemisch (s. § 664). Während des Härtens müssen die Präparate im Dunkeln stehen. Der Alkohol soll die Härtung beschleunigen.

**60. Ammoniumbichromat.** Es härtet ähnlich wie das Kaliumsalz. Nach FOL (Lehrbuch p. 105) dringt es etwas rascher ein und härtet etwas langsamer. Es muß aber in etwas stärkeren Lösungen (bis zu 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>) gebraucht werden. — **Ammoniummonochromat** wird in der nämlichen Stärke wie das Bichromat verwandt. Nach KLEIN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 18 1878 p. 319) härtet die 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Lösung den Darm von Triton in 24 Stunden.



**61. Quecksilberchlorid** oder **Sublimat** ( $\text{HgCl}_2$ ). Es löst sich in etwa 15 Theilen kalten und in weniger als 3 Theilen kochenden Wassers. Sehr leicht löslich ist es auch in Alkohol (in absolutem etwa 1:3) und Äther (etwa 1:4). Die Löslichkeit in Wasser wird vermehrt durch Zusatz von Salzsäure oder Chlorammonium; mit letzterem und auch mit Chlornatrium bildet es leicht lösliche Doppelsalze, sodaß Seewasser bei gewöhnlicher Temperatur sogar über 20% löst.

Zum Lösen in Wasser verwende man nur destillirtes; alsdann sind die Lösungen bis auf die Bildung eines unbedeutenden Niederschlages (wahrscheinlich von Quecksilberchlorür) unbegrenzt lange haltbar. Da die Löslichkeit je nach der Temperatur sehr schwankt (s. oben), so können sich Kristalle von Sublimat, meist lange Nadeln, ausscheiden; es ist daher ungenau, wenn die Autoren in ihren Vorschriften schlechtweg von konzentrirten Lösungen reden.

Die Lösungen in destillirtem Wasser müssen auf Lackmuspapier deutlich sauer reagiren, die in starken Lösungen von Kochsalz sind neutral. Im ersteren Falle wird durch Hydrolyse (s. Chem. Centralbl. 1904 1. Bd. p. 571) das  $\text{HgCl}_2$  theilweise in Chlor, Wasserstoff und  $(\text{HgCl})_2\text{O}$  oder  $\text{HgClOH}$  zerlegt. Die Angaben bei MANN (Methods p. 22, 77 etc.) sind unrichtig.

Zum Fixiren werden sehr oft die Sublimatlösungen unvermischt gebraucht, und das geht auch an, aber meist wird die Fixirung besser, wenn man Essigsäure hinzusetzt, etwa 5%. VAN BENEDEN hat eine gesättigte Lösung von Sublimat in 25%iger Essigsäure empfohlen, und LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) verwendet für kontraktile Seethiere ein Gemisch von 2 Theilen gesättigter Sublimatlösung und 1 Theil Essigsäure von 50%, allerdings mehr zum rapiden Tödten als zum Fixiren. — Meist genügt eine kalt gesättigte (also von 6—7%) Lösung, aber bei sehr kontraktilen Thieren, wie Korallen und Planarien, braucht man eine warm oder sogar heiß gesättigte. Für Arthropoden ist oft eine Lösung in Alkohol gut (§ 62 d). Zarte Objekte hingegen erfordern unter Umständen schwächere Lösungen. Für einige Seethiere sind Lösungen in Seewasser unbedingt erforderlich, für andere wohl indiziert, indessen fehlen darüber vergleichende Versuche noch.

Nachbehandlung. Die Objekte müssen aus den Fixirlösungen genommen werden, sobald sie durch und durch opak geworden, d. h. von der Flüssigkeit ganz durchdrungen sind. (Für kleine Objekte genügen Minuten, ja, für die Speicheldrüsen der Larve von *Chironomus* schon Sekunden.) Man spült sie flüchtig mit Wasser ab, bringt sie in



Alkohol, etwa 70%igen, dem man nach MAYER (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 43) ein wenig Jodtinktur hinzufügt, und wechselt diesen, bis er nicht mehr durch die Objekte entfärbt wird. Bei großen Objekten mit voluminösen Lücken im Innern oder auch bei schwer durchdringlichen Geweben träufle man hingegen eine Lösung von Jodjodkalium (5 g Jodkalium, 5 ccm Wasser, 0,5 g Jod und 45 ccm 90%igen Alkohols) nach Bedürfnis in den Waschalkohol (s. MAYER in der 1. Auflage dieses Buches p. 38; ferner in: Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 383 und in: Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 28 Anm. 1; ähnlich APÁTHY in: Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 729 u. 730).

Natürlich kann man auch Lugols Gemisch zu diesem Zwecke brauchen: die Hauptsache ist, daß man Jod und Jodkalium zugleich verwendet. Die thierischen Gewebe reduzieren nämlich das Sublimat wenigstens zum Theil zu Quecksilberchlorür oder irgend einem Oxydulsalze; bringt man nun freies Jod (Jodtinktur) hinzu, so entsteht zwar Quecksilberjodid, aber dieses ist in Alkohol allein nicht so leicht löslich wie bei Gegenwart von Jodkalium. Setzt man andererseits nur Jodkalium zur Waschflüssigkeit, so bildet sich unlösliches Quecksilberjodür, das erst mit freiem Jod in das Jodid übergeht. Wenn also FISCHER (Fixirung etc. p. 23) Jodkalium allein für genug erklärt, so irrt er sich.

Es ist wichtig, das Quecksilber sorgfältig aus den Geweben durch Jod wegzuschaffen, denn sonst werden diese brüchig und färben sich nicht gut; auch bilden sich oft in den Balsampräparaten nach einiger Zeit undurchsichtige Gebilde (Stecknadeln oder nur die Köpfe davon etc.) mitten in den Geweben. Will man also absolut sicher gehen, so behandle man auch die aufgeklebten Schnitte vor dem Färben mit einer schwachen alkoholischen Lösung von Jodjodkalium.

MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 479; Methods p. 78) hält es für schädlich, die mit Sublimat fixirten Objekte vor dem Schneiden mit Jod zu behandeln, da sie dadurch weich werden und in Paraffin schrumpfen. Dies gilt nach mir (MAYER) jedenfalls nicht für die Eingeweide von *Squilla*, die ich daraufhin fixirte und schnitt. SCHAPER (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 463) zeigt, daß es sehr schädlich sein kann, wenn man die Behandlung mit Jod erst in den Schnitten vornimmt. Auch LOYEZ (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 8 1905 p. 71) räth dringend zur raschen Anwendung des Jods. HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 398) bringt das Jod aus den Schnitten durch Natriumthiosulfat fort.

Die Lösungen von Sublimat dürfen nicht mit Eisen- oder Stahlgeräthschaften in Berührung kommen, denn es bilden sich sonst Niederschläge, die den Objekten schaden könnten. Man nehme daher zum Anfassen und Bewegen Holz- oder Glasstäbe und zum Zerlegen und Feststecken Igelstacheln, Federkiele, am besten (mit EISIG) Kaktusstacheln.



Bei richtiger Anwendung ist Sublimat im Allgemeinen eins der besten Fixirmittel. Es läßt sich fast bei allen Arten von Thieren gebrauchen. Vielleicht empfiehlt es sich ohne weitere Zusätze nicht so sehr für Arthropoden, da es nicht leicht durch Chitin durchdringt. Für Zellenstudien hingegen steht es nicht auf der Höhe der Gemische von Flemming etc., bringt auch die Zellen leicht zum Schrumpfen. Dagegen ist es ein großer Vortheil der meisten Sublimatgemische, daß sie hinterher wohl sämtliche Färbungen zulassen.

Das Sublimat war bereits von GOADBY und Anderen als Zusatz zu Einschließmitteln für die mikroskopischen Präparate, dann gelegentlich von BLANCHARD (Ann. Sc. N. (3) Tome 8 1847 p. 274: für Planarien), REMAK (Arch. Anat. Phys. 1854 p. 99:  $\frac{1}{5}\%$ ; ebenso ibid. 1856 p. 468 für die elektrischen Organe von *Torpedo*), FREY (Mikroskop 1. Aufl. 1863 p. 99: zur „Erhärtung und Isolirung des Axencylinders“), KÖLLIKER (Icones histiol. Leipzig 1864 p. 12:  $\frac{1}{16}$ —1% für *Paramaecium*) benutzt worden; aber erst Lang empfahes als allgemeines Fixirmittel. LANG (Z. Anz. 1. Jahrg. 1878 p. 14) nimmt für Planarien: Wasser 100 ccm, Chlornatrium 6—10 g, Essigsäure 6—8 g, Sublimat 3—12 g (zuweilen Alaun  $\frac{1}{2}$  g). — Zweite Vorschrift (ibid. 2. Jahrg. 1879 p. 46): konzentrirte Lösung von Sublimat in Pikrinschwefelsäure, der vorher 5% Essigsäure zugesetzt wurde.

**62.** Von den überaus zahlreichen Gemischen des **Sublimates** mit Chlornatrium oder Essigsäure, Alkohol, Pikrinsäure etc. seien zunächst folgende relativ einfache angegeben:

a) mit **Chlornatrium**. Die Lösung von 5 Theilen Sublimat und  $\frac{1}{2}$  Theil Chlornatrium in 100 Theilen Wasser wird wohl als Gaules Gemisch bezeichnet. — HEIDENHAIN (Festschrift Kölliker Leipzig 1892 p. 109) empfiehlt  $\frac{1}{2}\%$ ige Lösung von Chlornatrium heiß mit Sublimat gesättigt, SOBOTTA (Arch. Mikr. Anat. 50. Bd. 1897 p. 21) aber warnt nachdrücklich vor der „kolossal schrumpfenden Wirkung namentlich der konzentrirten Kochsalzsublimatlösung“. — In 0,75%iger Kochsalzlösung lösen sich bei 20 °C. reichlich 11% (MAYER). — S. auch den vorigen § (LANG) und unten d).

b) mit **Seesalz**. Die konzentrirte (also über 20%ige!) Lösung von Sublimat in Seewasser dient zur Fixirung mancher Seethiere und ist nach mündlicher Angabe von GIESBRECHT für zarthäutige Crustaceen (Copepoden etc.) der gewöhnlichen Sublimatlösung überlegen, da in dieser die ungeöffnet fixirten Thiere stets platzen. Nach meinen (MAYER) Erfahrungen wirkt 5%ige Lösung von Sublimat in Seewasser geradezu schlecht. — S. auch unten p. 44 (EISIG).

c) mit **Essigsäure** (mit oder ohne Chlornatrium etc.). Die konzentrirte (also 6—7%ige) oder 5%ige Lösung von Sublimat in destill.



Wasser, mit 5 % Essigsäure versetzt, wirkt besser als ohne diese Säure. — KAISER (Bibl. Z. 7. Heft 1891 p. 4) verwendet 10 g Sublimat, 3 g Eisessig und 300 Wasser; ähnlich GOTO (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 10 1898 p. 239): 16 Theile konzentr. wässriger Sublimatlösung, 3 Th. Glycerin, 1 Th. Eisessig und 50 Th. Wasser. Hingegen DAVIDOFF (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1889 p. 118); 3 Theile konzentrierter wässriger Sublimatlösung und 1 Theil Eisessig; EISIG (ibid. 13. Bd. 1898 p. 89) nimmt zwar dieselben Mengen, aber das Sublimat zu 5 % in Seewasser gelöst. Die relativ starke Essigsäure scheint die Färbbarkeit der Kerne stark herabzusetzen. S. auch oben p. 41 und p. 43 sowie unten d) und § 66.

d) mit **Alkohol** (mit oder ohne Essigsäure, Chlornatrium etc.). Zuerst wohl von Frenzel angewandt (s. § 63) später von MINGAZZINI (Ricerche Lab. Anat. Roma Vol. 3 1893 p. 47): 2 Vol. konz. wässriger Sublimatlösung, 1 Vol. Eisessig und 1 Vol. absol. Alkohol; von APÁTHY (Mikrotechnik p. 111): 3—4 g Sublimat und  $\frac{1}{2}$  g Kochsalz in 100 ccm 50 %igen Alkohols; von CARAZZI (Manuale p. 28): 8 g Sublimat, 50 ccm Alkohol (von 90 %), 100 ccm  $\frac{1}{2}$  %iger Lösung von Kochsalz in destill. Wasser, 5 ccm Eisessig; von OEHLMACHER (Journ. Exper. Med. Vol. 3 1897 p. 671): absoluter Alkohol 80, Chloroform 15, Eisessig 5 ccm, darin Sublimat bis zur Sättigung gelöst (etwa 20 g). S. ferner § 84 und § 833 (RIBAUCCOURT).

e) mit **Formol**. S. unten § 111 e.

f) mit **Aceton**. HELD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1897 p. 227) verwendet für Nervengewebe „1 proc. Lösung von Sublimat in 40 proc. Aceton“ und wäscht die Objekte „durch langsam steigende Acetonlösungen“ aus.

g) mit **Phenol**. PAPPENHEIM (Arch. Path. Anat. 157. Bd. 1899 p. 23): wässrige Sublimatlösung mit Phenol (Karbolsäure) geschüttelt und filtriert.

h) mit **Zucker**. STOELTZNER (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 25) empfiehlt „mit Sublimat gesättigte 4  $\frac{1}{2}$  %ige Rohrzuckerlösung“ als isotonisch für Warmblüter (*Mus*), weil darin das Volumen der Organe „so gut wie unverändert“ bleibe.

i) mit **Borsäure**. S. unten § 871 (ZACHARIAS).

k) mit **Jod**. CIACCIO (Arch. Ital. Anat. Embr. Firenze Vol. 6 1907 p. 486): wässrige Sublimatlösung, Jodtinktur und Formol. Die Vorschrift ist thöricht, da das allermeiste Jod ausfällt.

Außerdem existiren viele zum Teil äußerst komplizirte und wohl auch auf gut Glück zusammengebraute Gemische. Die wesentlichsten seien in § 63—69 aufgeführt.

**63. Sublimat und Salpetersäure.** FRENZEL (Arch. Mikr. Anat. 26. Bd. 1886 p. 232) gibt zu halbgesättigter Lösung von Sublimat in 80 %igem Alkohol auf je 1—2 ccm 1 Tropfen Salpetersäure, läßt die Objekte 5—10 Minuten darin, bringt sie in die nicht angesäuerte Lösung und von ihr in 90 %igen Alkohol.



GILSON (La Cellule Tome 14 1898 p. 374) nimmt das Gemisch von: Salpetersäure von 46° (also etwa 1.456 p. sp. oder 80%) 15 ccm, Eisessig 4 ccm, Sublimat 20 g, 60%igem Alkohol 100 ccm, Wasser 880. — Ich (LEE) finde, daß es (nach der älteren Vorschrift, s. 1. Auflage dieses Buches p. 40) im Allgemeinen gut fixirt und sehr leicht eindringt; die Objekte können ohne Schaden lange darin bleiben, färben sich auch hinterher sehr gut. Legt man Eier von Batrachiern einige Tage hinein, so läßt sich die Gallertschicht leicht entfernen. Für einige Objekte verstärkt man besser den Gehalt an Sublimat. — CARAZZI (Manuale p. 29) gibt folgende Modifikation: 800 ccm 4%iger Lösung von Chlor-natrium in destill. Wasser, 200 ccm 80%igen Alkohols, 40 g Sublimat, 15 ccm Salpetersäure, 5 ccm Eisessig.

PETRUNKEWITSCH (Z. Jahrb. Abth. Morph. 14 Bd. 1901 p. 576) benutzt für die Eier von *Apis* das Gemisch von: Wasser 300, absol. Alkohol 200, Eisessig 90 und Salpetersäure 10 ccm, Sublimat bis zur Sättigung (wie viel?). Mir (MAYER) hat es beim Vergleich nicht besser geschienen als die gewöhnliche wässerige, mit 5% Essigsäure versetzte Sublimatlösung; auch verstehe ich nicht, warum GILSON und CARAZZI relativ so gar wenig Alkohol und Essigsäure nehmen.

KOSTANECKI & SIEDLECKI (Arch. Mikr. Anat. 48. Bd. 1896 p. 184) empfehlen für *Ascaris* das Gemisch gleicher Theile von 3%iger Salpetersäure und konzentr. wässriger Sublimatlösung, dem sie auch wohl die Hälfte an absolutem Alkohol zusetzen.

**64. Sublimat und Pikrinsäure.** RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 165) verwendet: gesättigte wässerige Lösung von Sublimat und von Pikrinsäure je 1 Theil, Wasser 2 Theile (s. § 569.)

MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 480) löst in gesättigter Lösung von Sublimat in Kochsalzlösung (von 0,75%) 1% Pikrinsäure und nach Belieben auch 1% Tannin. Ferner braucht er (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 441) das Gemisch von 100 ccm absol. Alkohol, 4 g Pikrinsäure, 15 g Sublimat und 6—8 g Tannin; letzteres soll die zu starke Härtung verhüten. — Über noch drei Sublimatgemische von Mann s. unten § 111e.

PACAUT (C. R. Ass. Anat. 7. Réun. 1905 p. 47; Arch. Anat. Micr. Paris Tome 8 1906 p. 438) empfiehlt für Vertebraten und Invertebraten das Gemisch von 200 Th. gesättigter Lösung von Sublimat und Pikrinsäure, 6 Th. 3%iger Lösung von Platinchlorid und 5 Th. 16½%iger Lösung von Chromsäure.

**65. Sublimat, Pikrinsäure und Essigsäure.** VOM RATH (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 286) nimmt von kalt gesättigter Lösung von Pikrinsäure und heiß gesättigter Lösung von Sublimat (beide in Wasser) gleiche Theile, dazu ½—1% Eisessig, fixirt die Objekte darin mehrere Stunden lang und bringt sie direkt in Alkohol. — Das **Pikrin-Sublimat-Osmium-Gemisch** desselben Autors wird aus dem vorigen durch Zusatz von 10% 2%iger Osmiumsäurelösung hergestellt.



FISH (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 143, 293) nimmt auf 1 Liter Wasser 1 g Pikrinsäure, 5 g Sublimat und 10 g Eisessig, LENHOSSÉK (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 24. Bd. 1907 p. 293): gesättigte Sublimatlösung 75 ccm, Essigsäure 5, 50%igen Alkohol 25, darin Pikrinsäure bis zur Sättigung aufgelöst.

S. auch unten § 111 e (BRANCA).

**66. Sublimat und Osmiumsäure.** DRÜNER (Jena. Zeit. Naturw. 28. Bd. 1894 p. 294) fixirt die Hoden von *Salamandra* in Sublimat-osmiumessigsäure (Eisessig, Sublimat und 1%ige Osmiumsäure je 1, Wasser 20) oder in diesem Gemisch ohne Osmiumsäure.

S. auch p. 29 (MANN), § 65 (VOM RATH) und § 368 (APÁTHY).

**67. Sublimat und Chromsäure.** MANN (Verh. Anat. Ges. 12. Vers. 1898 p. 39) empfiehlt für Nervenzellen das Gemisch gleicher Theile von 5%iger wässriger Sublimatlösung und 5%iger Chromsäure. — Lo BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443): 2 Theile konzentr. wässriger Sublimatlösung und 1 Theil 1%iger Chromsäure. — S. auch § 64 (PACAUT) und § 111 a (NOWAK).

**68. Sublimat und Kaliumbichromat.** In Verbindung mit Essigsäure als **Zenkers Gemisch** bekannt. ZENKER (\*Münchener Med. Wochenschr. 24. Jahrg. 1894 p. 534; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 472) löst 5% Sublimat und 5% Eisessig in Müllers Gemisch, fixirt darin die Gewebe mehrere Stunden, wäscht sie mit Wasser aus und behandelt entweder die Stücke in toto oder die Schnitte mit Jodalkohol. — S. auch RETTERER in: Journ. Anat. Phys. Paris 33. Année 1897 p. 463 und ibid. 37. Année 1901 p. 480.

HELLY (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 414) läßt die Essigsäure fort, setzt aber unmittelbar vor dem Gebrauche 5% Formol (von 40%) zu und läßt das Gemisch höchstens 6 Stunden wirken. Für lymphoide Organe von Vertebraten. MAXIMOW (ibid. 26. Bd. 1909 p. 179) setzt 10% Formol zu, eventuell (p. 181) auch 10% 2%iger Osmiumssäure (und fixirt damit im Dunkeln).

DRZEWINA fixirt das Lymphöidgewebe von Fischen in „liquide de Zenker jodé“ (9 Th. gesättigter Sublimatlösung, 1 Theil Jodtinktur, nach dem Filtriren dazu 10 Th. 2½%iger Kaliumbichromatlösung). S. hierzu oben § 62 k.

FOÀ (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 37 1895 p. 287) nimmt gleiche Theile gesättigter Lösung von Sublimat in Normalsalzwasser und von Müllers Gemisch oder von 5%iger Lösung von Kaliumbichromat, HOYER (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 97) 1 Theil 5%iger Lösung von Sublimat und 2 Theile 3%iger Lösung von Kaliumbichromat, KOHN (ibid. 70. Bd. 1907 p. 273) 5 Th. 5%iger Sublimatlösung, 15 Th. 3½%iger Lösung von Kaliumbichromat und 1 Th. Eisessig. Auswaschen in fließendem Wasser, dann 95%iger Alkohol. — Über das Gemisch von KULTSCHITZKY s. oben § 59. — Eine „Mischung von doppelchromsaurem Kali und Sublimat“ diente bereits REMAK (Arch. Anat. Phys. 1856 p. 468) zum Aufbewahren der „in Sublimatlösung 0,2% oder in Chromsäure 0,2% macerirten“ elektrischen Organe von *Torpedo*.



**69. Sublimat und Platinchlorid.** RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 165) benutzt für Wirbelthiere das Gemisch von 1 Vol. konzentr. Sublimatlösung, 1 Vol. 1%iger Platinchloridlösung und 2 Vol. Wasser. Genaueres s. in § 569. — LENHOSSÉK (Arch. Mikr. Anat. 51. Bd. 1898 p. 220) empfiehlt für den Hoden von *Mus* das Gemisch von 20 Theilen 5%iger wässriger Sublimatlösung, 20 Th. 1%iger Platinchloridlösung und 1 Th. Essigsäure. S. auch § 64 (PACAUT), § 73 (NIESSING), § 571 (WINIWARTER) und § 819 (TOWER).

**70. Sublamin** (Quecksilbersulfat-Äthylendiamin) wird von KLINGMÜLLER & VEIEL (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 58) in 5%iger wässriger Lösung statt des Sublimates verwandt und sehr gerühmt. Die Objekte kommen von da direkt in 70%igen Alkohol.

**71. Platinchlorid** (wasserfrei =  $\text{PtCl}_4$ , im Handel als Platinchlorwasserstoff  $\text{H}_2 \text{PtCl}_6$ ). Es ist sehr zerfließlich und wird daher zweckmäßig als Lösung in destill. Wasser vorrätig gehalten, etwa zu 10%. (Solche und 1%ige sind bei Grübler & Hollborn zu haben.)

In der Mikrotechnik wurde es bereits von MERKEL 1870 mit Chromsäure zusammen verwandt. RABL (Morph. Jahrb. 10. Bd. 1884 p. 216) empfahl es speziell zum Studium der Karyokinese: er läßt die Objekte 24 Stunden lang in einer wässrigen Lösung von 1:300, wäscht sie aus und härtet sie in Alkohol.

Über Platinchlorid, Osmiumsäure und Kaliumbichromat s. § 57, über Pl. und Iridiumchlorid § 75, über Pl. und Pikrinsäure § 100.

**72. Platinchlorid und Chromsäure oder Merckels Gemisch** (MERKEL, Macula lutea d. Menschen, Leipzig 1870, p. 19): je 1 Theil Platinchlorid und Chromsäure auf 800 Theile Wasser. Da es nur langsam wirkt, so müssen die Objekte mitunter Tage lang darin bleiben. Auswaschen mit Alkohol von 50—70%. Trotz der Chromsäure färben sich die Objekte vorzüglich. Legt man mit Osmiumsäure fixirte Thiere auf einige Stunden hinein, so wird die Schwärzung verhindert.

Merkel läßt sein Gemisch auf Retina 3—4 Tage einwirken; EISIG (Mitth. Z. Stat. Neapel 1. Bd. 1878 p. 341) schreibt für die Seitenorgane der Capiteliden 5—6 Stunden vor (dann direkt in Alkohol von 70%); für kleine Hirudineen findet WHITMAN (Methods p. 23) 1 Stunde genug (dann Alkohol von 50%).

WHITMAN (Methods p. 153) empfiehlt zur Härtung von Fischeiern ein anderes Gemisch nach EISIG, nämlich gleiche Theile von  $\frac{1}{4}$ %igem Platinchlorid und 1%iger Chromsäure. Die Eier bleiben 1—2 Tage darin.

**73. Platinosmiumessigsäure oder Hermanns Gemisch.** HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 34. Bd. 1889 p. 59) ersetzt in Flemmings starkem Gemisch (§ 46) die Chromsäure durch 1%iges Platinchlorid und läßt



die übrigen Bestandtheile entweder unverändert oder nimmt von der Osmiumsäure nur die Hälfte. Also: 15 Theile 1%iger Platinchloridlösung, 1 Theil Eisessig und 4 (für Säugethiere, für *Salamandra* nur 2) Theile 2%iger Osmiumsäure. Haltbarkeit, Nachbehandlung und Tinktion wie bei Flemmings Gemischen.

RENGEL (Zeit. Wiss. Z. 63. Bd. 1898 p. 454) behandelt die Schnitte, um die Färbbarkeit (besonders die der Kerne) zu erhöhen,  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang mit konzentr. wässriger Lösung von Pikrinsäure.

Nach meinen (LEE) Erfahrungen erschwert Hermanns Gemisch die Färbbarkeit der Objekte mit sauren Theerfarbstoffen sehr und bringt das Chromatin stark zum Schrumpfen. Das Zellplasma wird viel feinkörniger als durch Flemmings Gemisch, zuweilen sogar in einem der Beobachtung nicht förderlichen Grade.

Nach FISCHER (Fixirung etc. p. 29) hat Hermann's Gemisch die Eigenschaften des Flemmingschen in erhöhtem Maaße.

NIESSING (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 147) gibt zwei Modifikationen von Hermanns Gemisch an: 1) Platinchlorid in 10%iger Lösung 25, Osmiumsäure in 2%iger Lösung 20, Eisessig 5, Wasser 50 Theile; 2) dasselbe, aber statt Wasser gesättigte Sublimatlösung. — S. auch unten § 111f (BOUIN).

Borrels Gemisch besteht nach CAULLERY & MESNIL (Arch. Protistenk. Jena 6. Bd. 1905 p. 281) aus Osmiumsäure und Platinchlorid je 2 g, Chromsäure 3 g, Eisessig 20 und Wasser 350 ccm.

**74. Palladiumchlorür** ( $\text{PdCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ) wurde in Lösung von 1:800, mit Salzsäure etwas angesäuert, von SCHULZE (Arch. Mikr. Anat. 3. Bd. 1867 p. 477) empfohlen, weil es die Gewebe besser härte als Chromsäure oder Müllers Gemisch und in verschiedenen Tönen von Braun färbt. — CATTANEO (Boll. Sc. Pavia 1883 No. 3 und 4) verwendet es für Infusorien in Lösungen von 1:300 oder 600 oder 800 nur 1—2 Minuten lang. — FRENKEL (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 539) nimmt für Bindegewebe 15 Theile 1%iger Lösung von Palladiumchlorür, 5 Th. 2%iger Osmiumsäure und einige Tropfen Essigsäure.

Das Salz ist bei Grübler & Hollborn auch in 10%iger Lösung zu haben.

**75. Iridiumchlorid** wird von EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 195) für die Gewebe oder Embryonen und Larven von Salamandern empfohlen:  $\frac{1}{2}$ %ige Lösungen von Platinchlorid und Iridiumchlorid je 50 Theile, Eisessig 1 Theil; noch besser: Iridiumchlorid in  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{5}$ %iger Lösung 100 Theile, Eisessig 1 Theil. Auswaschen in destillirtem Wasser einige Stunden lang.

Ich (LEE) finde, das I. fixirt (natürlich für sich allein, ohne Platinchlorid) die Keimdrüsen von *Helix* überhaupt nicht, den Hoden von *Triton* nur mäßig. Ich (MAYER) habe damit an Batrachierlarven traurige Erfahrungen gemacht.

**76. Eisenchlorid.** FOL (Zeit. Wiss. Z. 38. Bd. 1883 p. 491) fixirt mit der Tinct. ferri perchlorati (Eisenchlorid in Alkohol von etwa 60%) der englischen Pharmakopoe, mit Wasser auf etwa 2% verdünnt, Medusen, Salpen, Hetero-



poden etc. Er wäscht mit neutralem, dann zur Auflösung des Eisensalzes mit saurem 70%igem Alkohol aus (oder läßt das Eisen in den Geweben und bringt es durch eine Spur von Gallussäure im Alkohol erst recht zur Geltung). — Später (Lehrbuch p. 102) empfiehlt FOL für Cilien und Pseudopodien, sowie für kleine pelagische Seethiere, die obige Tinktur mit dem 5—10fachen an 70%igem Alkohol zu verdünnen (falls ein Niederschlag auftritt, etwas Salzsäure hinzufügen!); zum Auswaschen dient 50%iger Alkohol mit  $\frac{1}{2}$ —1% Oxalsäure.

Den Liquor ferri sesquichlorati der deutschen Pharmakopoe, mit der 3—4fachen Menge von Alkohol oder Wasser verdünnt, nimmt PLATNER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 187) zum Fixiren markhaltiger Nerven.

**77. Eisenalaun** (Ammoniumferrisulfat) wird von STRONG (Journ. Comp. Neur. Granville Vol. 13 1903 p. 296) zum Fixiren und gleichzeitigen Entkalken des Kopfes junger *Acanthias* benutzt: 5%ige Lösung 9 Theile und Formol 1 Theil, etwa 2 Wochen lang. Die Objekte werden etwas brüchig.

**78. Zinkchlorid.** GILSON (La Cellule Tome 6 1890 p. 122) empfiehlt für die Spinndrüsen der Lepidopteren ein complicirtes Gemisch: je 5 Theile Eisessig und Salpetersäure, 20 Theile Chlorzink, 100 Theile Alkohol von 80% und 300 Theile Wasser. — Über Zinkchlorid zum Härten von Gehirnen s. § 665 und 666, über Zinksulfat in Verbindung mit Kupfersulfat § 856.

**79. Über Kobaltchlorid** s. in der 2. Aufl. dieses Buches § 877 (PIANESE), über Kupferchlorid und Kupferacetat oder -nitrat s. § 86, über Kupferbichromat § 51 und § 111d.

**80. Kupfersulfat.** LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 442, 443) fixirt Seethiere in 5—10%iger Lösung oder im Gemisch von 10 Theilen 10%iger Lösung mit 1 Theil gesättigter Sublimatlösung. Man muß aber die Thiere mit Süßwasser gut auswaschen, sonst treten in ihnen Niederschläge auf. — S. ferner § 856. — Über Kupfersulfat mit Kaliumbichromat s. § 59, mit Osmiumsäure für elastisches Gewebe GARDNER (Biol. Centralbl. 17. Bd. 1897 p. 398).

**81. Alaun** ist auch zum Fixiren verwandt worden. Nach ausgedehnten Versuchen muß ich (LEE) aber dringend davor warnen.

**82. Essigsäure.** Als Fixirmittel für die Zellkerne wirkt sie nach FLEMMING (Zellsubstanz p. 183) am besten in einer Stärke von  $\frac{1}{5}$ —1%. Ein gutes Fixirmittel für das Zellplasma ist sie hingegen nicht, am ehesten noch, wenn man sie halb oder sogar ganz konzentriert verwendet; so nach VAN BENEDEN für sehr kontraktile Würmer, Cölenteraten und Nudibranchier, die sie äußerst rasch und meist auch völlig ausgestreckt tödtet.

Man gießt Eisessig in reichlicher Menge über die Thiere, läßt sie davon durchdringen — das ist in einigen Minuten geschehen — und wäscht sie sofort in immer stärkerem Alkohol (von 50%igem an) unter häufigem Wechsel aus. Hierbei besorgt der Alkohol die Härtung, kann also Schrumpfungen veranlassen. Besser ist deswegen der Zusatz eines härtenden Mittels, z. B. der Osmium- oder Chromsäure.



JOHNSON (in litt.) fixirt die Retina im Gemisch gleicher Theile Eisessig und 2%iger Osmiumsäure. — LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) fügt zur 50%igen Essigsäure den 10. Theil 1%iger Chromsäure; sogar diese geringe Menge arbeitet erheblich der erweichenden Essigsäure entgegen (seine Chromessigsäure No. 2; s. auch § 42).

Am besten verwendet man die Essigsäure nur zur Fixirung der Kerne für temporäre (etwa mit Methylgrün zu färbende) Präparate. In vielen Fixirgemischen spielt sie eine wichtige Rolle, freilich oft wohl nur durch Hervorbringung einer sauren Reaktion. (S. hierüber FISCHER, Fixirung etc. p. 9—11.)

Die Autoren sind bei der Angabe ihrer Vorschriften nur selten präcis genug; so auch bei der Essigsäure. Eisessig ist die 100%ige Essigsäure, während die konzentr. Essigsäure der deutschen Pharmakopoe nur 96% enthält; letztere kann natürlich den Eisessig fast immer vertreten. — LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 441) bezeichnet als konzentrierte Essigsäure die nahezu 50%ige mit dem spez. Gewicht von 1.060. — Eisessig muß beim Vermischen mit dem gleichen Volumen Terpentinöl klar bleiben.

**83. Essigsäure und Alkohol.** CARNOY (La Cellule Tome 3 1887 p. 6, 276) gibt zwei Formeln an: Eisessig 1 Theil, absoluter Alkohol 3 Theile; und: Eisessig 1 Theil, absol. Alk. 6 Theile, Chloroform 3 Theile. Das Chloroform soll die Wirkung beschleunigen. — VAN BENEDEN & NEYT (Bull. Acad. Belg. (3) Tome 14 1887 p. 218) nehmen gleiche Theile absol. Alk. und Eisessig, ZACHARIAS (Anat. Anz. 3. Jahrg. 1888 p. 24) Eisessig 1, absol. Alk. 4 Theile, und auf je 10 ccm des Gemisches 2—3 Tropfen 1%iger Osmiumsäure (VAN GEHUCHTEN, ibid. p. 237, findet den Zusatz überflüssig). — STRAUSS (Wiss. Ergeb. D. Tiefsee-Exp. 20. Bd. 1909 p. 3) fixirt die Gammariden der Augen wegen in 96%igem Alk. plus 3% Eisessig.

Essigsäure und Alkohol bilden ein sehr rasch eindringendes Gemisch. Es fixirt die Kerne gut (LEE) und erlaubt Färbungen jedweder Art. Man wäscht die fixirten Gewebe mit Alkohol aus und behandelt sie nach Belieben weiter; jedoch vermeide man dabei Wasser. Um die Quellung der Gewebe durch die Essigsäure ganz zu verhindern, fügt man dem Gemische Sublimat zu (§ 84).

Carnoy's Gemisch von Essigsäure, Alkohol und Chloroform fixirt nach meinen (MAYER) Erfahrungen die Gewebe von Selachiern im Allgemeinen gut. Jedoch ist aus der Leber selbst nach 24 Stunden das Fett erst bis zu einer Tiefe von etwa 1 mm ganz extrahirt. Man sieht hieraus, wie langsam solche Prozesse vor sich gehen. Die eigenthümliche Wirkung des Alkohols auf die Kerne (s. unten § 102) wird durch die beiden anderen Reagentien nicht völlig aufgehoben, auch sind in den Gefäßen die Erythrocyten schlecht erhalten.

**84. Essigsäure, Alkohol und Sublimat.** CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 13 1897 p. 64) verwenden für *Ascaris* auf Veranlassung von Gilson konzentrierte Lösung von Sublimat in gleichen Maaßtheilen von Eisessig, absolutem Alkohol und Chloroform. Genaueres s. in § 625; s. auch oben § 62 d.

**85. Ameisensäure** läßt sich verdünnt ebenso gebrauchen, wie Essigsäure (§ 82). — Über ihr Gemisch mit Chromsäure s. § 43.



**86. Kupferacetat und Kupferchlorid** oder Gemisch von Ripart & Petit (CARNOY, Biol. cellulaire 1884 p. 94): Kampherwasser 75, dest. Wasser 75, Eisessig 1, Kupferacetat und Kupferchlorid je 0,30 g. — Ähnlich ist das Gemisch von Tempère (s. Behrens, Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 72): Wasser 99, Eisessig 1 ccm, Phenol 1 g, Kupferchlorid und Kupfernitrat je 0,2 g.

Von diesen Gemischen dient das zweite ausschließlich, das erste ursprünglich für zarte niedere Pflanzen. Offenbar eignen sie sich nur für temporäre Präparate in wässerigen Medien; solche färben sich vorzüglich mit Methylgrün. Der Kampher kann durch einen Kristall von Thymol ersetzt werden. — Warum statt des einen Kupfersalzes zwei genommen werden müssen, ist unklar.

DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 484) fixirt, färbt und untersucht das Blut von Chilopoden im Gemisch gleicher Theile von 1%iger Osmiumsäure, 1%iger wässriger Lösung von Thionin und 1%iger Essigsäure; in letzterer sind aber vorher je 1% Kupferacetat und Kupferchlorid zu lösen.

**Kupfernitrat.** GELDERD (La Cellule Tome 25 1909 p. 12) fixirt *Mysis* im Gemische von Gilson (20 g Kupfernitrat, 50 Formol, 20 Seewasser; hiervon werden 7 Th. mit 100 Th. Seewasser verdünnt). — S. auch § 820 (STAPPERS).

**87. Kupferacetat und Osmiumsäure.** DE WAELE (Livre jubil. Ch. van Bambeke Bruxelles 1899 p. 40) legt zum Nachweis von Zucker den Darm von *Rana* bei 65° C. auf 1/2 Stunde in das Gemisch von 10 Theilen 5%iger Kupferacetatlösung und 1 Theil 2%iger Osmiumsäure, dann in Hermanns Gemisch. (Die schwarzen Kügelchen, die sich auf den Schnitten im Epithel zeigen, sollen durch das Kupfer reduzierter Zucker sein).

**88. Bleiacetat** dient zum Härten von Gehirnen. S. § 663.

**89. Uranacetat** nach SCHENK (Mitth. Embr. Inst. Wien 2. Bd. 1882 p. 95; GILSON in: La Cellule Tome 1 1885 p. 141). Es fixirt zart, dringt gut ein und giebt mit Methylgrün keinen Niederschlag. — Über U. mit Osmiumsäure s. p. 28 der 2. Aufl. dieses Buches. — FRIEDENTHAL (Sitzungsber. Ges. Nat. Freunde Berlin f. 1907 p. 209) rühmt sehr ein Gemisch gleicher Theile gesättigter Lösung von U. und 50%iger Trichloressigsäure und preist es nach dem Zusatz von Osmiumsäure, Platinchlorid und Chromsäure als Universalfixirmittel an, das zugleich rasch entkalke. Mir (MAYER) hat jenes bei *Amphioxus* und Embryonen von *Aplysia* schlechte Resultate ergeben, und TELLYESNICKY (Encyclop. 1. Bd. p. 472) bezeichnet es als „theoretisch ganz unverständlich“.

**90. Trichloressigsäure.** HOLMGREN (Anat. Hefte 1. Abth. 18. Bd. 1901 p. 297) benutzt sie 2—5% stark zum Fixiren von Spinalganglien (8—24 St. lang, dann in Alkohol von 40% sehr allmählich bis zu 96%). Noch besser sei **Trichlormilchsäure** (Anat. Anz. 20. Bd. 1902 p. 435; Arch. Mikr. Anat. 60. Bd. 1902 p. 669) in 2 1/2—5%iger Lösung (Nachbehandlung ähnlich). Jedoch giebt H. später (Anat. Hefte 1. Abth. 25. Bd. 1904 p. 102) selbst an, die letztere Säure versage oft ganz und verursache starke Quellungen. — Nach HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 321) dringt die Trichloressigsäure rasch ein, hat keine Schrumpfungen im Gefolge, wohl aber Quellung des Bindegewebes, falls man die Objekte nicht direkt in absol. Alkohol sehr lange auswäscht. (6%ige Sublimatlösung mit 2% Trichlor. und 1% Essigsäure bezeichnet H.



(ibid. 25. Bd. 1909 p. 405) als „Subtriessig“. — FLEISCHER (Anat. Hefte 1. Abth. 26. Bd. 1904 p. 104) verwendet sie in 10%iger Lösung für die Thränendrüse (1—2 Tage lang, dann direkt Alkohol von 96%). — S. auch unten § 111 b (MOREAUX).

**91. Pikrinsäure** (Trinitrophenol). Die Pikrinsäure in wässriger Lösung muß stark angewandt werden, wenn man die Elemente in situ erhalten will, da schwache Lösungen maceriren; schwache sind also gut für Dissoziationen oder zum Fixiren isolirter Zellen. Nach FLEMMING (Zellsubstanz p. 380) erhalten aber beiderlei Arten die Kernfiguren gleich gut. Gewöhnlich nimmt man die kalt gesättigte Lösung (etwa 1 : 80, bei 100° jedoch 1 : 25) und läßt die Objekte je nach der Größe einige Minuten bis 24 Stunden oder sogar länger darin.

In Übereinstimmung mit Anderen finde ich (MAYER), daß bei 20° Wasser über 1% Pikrinsäure löst. Der größeren Genauigkeit wegen habe ich vorgeschlagen, eine Lösung von bestimmtem Gehalte ( $1\frac{1}{2}\%$ ) zu verwenden (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 24). 100 ccm Alkohol lösen bei 25° C. reichlich 7 g, 100 ccm Xylol etwa 14 g. — Wasserfreier Äther löst nach BOUGAULT (Chem. Centralbl. 1903 2. Bd. p. 565) bei 13° nur 1%, wasserhaltiger 4%; mithin läßt sich durch Pikrinsäure der Wassergehalt des Äthers bestimmen.

Die Säure muß stets mit Alkohol ausgewaschen werden, denn Wasser schadet. Deswegen färbe man in alkoholischen Flüssigkeiten (Parakarmin, Boraxkarmin etc.) oder in solchen wässrigen, die selber etwas härten, wie Hämalun, Karmalaun u. s. w. Dagegen ist einer der Vortheile der Pikrinsäure der, daß sie mit Alkohol sicher entfernt werden kann, wenn man nur lange genug damit wäscht.

Bei Färbung mit Karmalaun und Parakarmin ist die völlige Entfernung der Pikrinsäure vorher nicht nöthig. — FOL (Lehrbuch p. 102) wäscht mit Alkohol von 60—70% bei 40° C. aus. — JELINEK (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 242) gibt einige Tropfen konz. wässriger Lösung von Lithiumcarbonat zum Alkohol; ein Präzipitat entsteht. Bringt man nun in den trüben Alkohol die Objekte, so wird er in dem Maße, wie die Pikrinsäure ausgezogen wird, klar und gelb; man setzt dann wieder etwas Carbonat zu, etc.

Sehr oft, ja vielleicht sogar immer, verwendet man vorthellhaft die Pikrinsäure nicht allein, sondern im Gemisch mit stärkeren Säuren (s. § 93 ff.).

In Alkohol gelöst braucht die Pikrinsäure GAGE (Proc. Amer. Soc. Micr. Vol. 12 1890 p. 120): Alkohol von 95% und Wasser je 250, Pikrinsäure 1 Theil. Er fixirt darin etwa 24 Stunden lang. — ANILE (Glandole duodenali Napoli 1903 p. 50) fixirt den Darm von Säugethieren im Gemisch von 100 ccm gesättigter Lösung von Pikrinsäure in 75%igem Alkohol und 5—10 ccm Formol 24—48 Stunden lang. — Nach DEGENER (Z. Jahrb. Abth. Morph. 27. Bd. 1909 p. 634) besteht Zimmers Gemisch aus wässriger Lösung von Pikrinsäure 10, absol. Alkohol 9, Essigsäure 1 Theil. — S. auch § 64 und § 819 (VAN LEEUWEN).



Über Pikrinsäure mit Sublimat s. § 64 u. 65, mit Kaliumbichromat § 56.

**92. Pikrinosmiumsäure.** Nach FLEMMING (Zellsubstanz p. 381) läßt sich die Chromsäure in den Chromosmiumgemischen (§ 45 und 46) durch Pikrinsäure ersetzen, nur färben sich dann die Kerne schwieriger. — VOM RATH (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 289): 100 ccm gesättigter wässriger Lösung von Pikrinsäure, 6 ccm 2% iger Lösung von Osmiumsäure und 1 ccm Eisessig. Nachbehandlung mit Alkohol von 75%.

**93. Pikrinchromsäure** nach FOL (Lehrbuch p. 100): gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser 10, 1% ige Chromsäurelösung 25, Wasser 65 Theile. Unmittelbar vor dem Gebrauch mag man „noch etwa 0.005 Osmiumsäure“ zusetzen. Auswaschen mit heißem Wasser, danach Alkohol.

**94. Pikrinschwefelsäure.** Dieses vor 2 Dezennien sehr gerühmte Fixirmittel existirt in mehreren Varianten. KLEINENBERG (Foster & Balfour, Elements of Embryology London 1874 p. 246; Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 19 1879 p. 208) nämlich fügt zu 100 Vol. gesättigter Pikrinsäurelösung in Wasser 2 Vol. Schwefelsäure, filtrirt vom reichlichen Niederschlag ab und verdünnt dann mit dem dreifachen Volum Wasser. Ferner setzt er, um Schwellungen zu verhüten, so viel Kreosot aus Buchenholztheer zu, wie sich lösen will, und (Zeit. Wiss. Z. 44. Bd. 1886 p. 25) um Schrumpfungen zu vermeiden, auch 2% Chlornatrium. FOL (Lehrbuch p. 100) setzt gegen die Schwellung  $\frac{1}{3}$  Volum 1% iger Chromsäure zu. — WISTINGHAUSEN (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 47) hingegen fügt zu 100 Vol. gesättigter Lösung von Pikrinsäure 300 Vol. Wasser und 2 Vol. Schwefelsäure, behält also alle Pikrinsäure im Gemisch. — MAYER (ibid. 2. Bd. 1880 p. 2; Amer. Natural. Vol. 16 1882 p. 698) sättigt das Gemisch von 100 Vol. destill. Wasser und 2 Vol. konzentr. Schwefelsäure mit Pikrinsäure (etwa  $\frac{1}{4}$  %). Dies ist die konzentrierte Pikrinschwefelsäure, und aus ihr wird durch Verdünnen mit dem dreifachen Quantum Wasser die gewöhnliche erhalten. — LANGENBECK (Journ. Morph. Boston Vol. 14 1898 p. 303) endlich nimmt zur Herstellung von „Kleinenberg's picro-sulphuric solution“ Seewasser, hat also wohl noch weniger Pikrinsäure darin.

Von obigen Gemischen wird gewöhnlich das von Kleinenberg angewandt, das starke Mayersche besonders für Arthropoden. Man läßt die Objekte 3 oder mehr Stunden darin, bringt sie dann auf 5—6 Stunden in Alkohol von 70%, endlich in solchen von 90%, der so oft gewechselt wird, bis die gelbe Farbe verschwunden oder wenigstens viel heller geworden ist. Warmer Alkohol zieht die Säure viel rascher aus als kalter. Das Auswaschen mit Wasser ist zu verwerfen. — HELD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1897 p. 227) dagegen wäscht die Pikrinschwefelsäure aus Nervengewebe mit Wasser, Alkohol von 20, 30 etc. % oder Aceton „von gleicher prozentiger Stufe“ aus; in letzterem schrumpfen die Objekte weniger als in Alkohol.

Die Vorzüge der Pikrinschwefelsäure bestehen darin, daß sie die Gewebe sehr rasch tödtet, sehr gut eindringt, sich aus den Geweben mit Alkohol völlig entfernen läßt (viel leichter als die reine Pikrinsäure) und diese auch für die



Färbung in geeignetem Zustande läßt. Sie hat aber wohl noch größere Nachteile (die Schwefelsäure bringt bei Vertebraten das Bindegewebe zum Quellen; aus Geweben mit viel Kalk löst sie diesen und schlägt ihn dann als Gips darin nieder, etc.) und ist daher für feinere Untersuchungen nicht empfehlenswerth.

Über den „Alcool picrosulfurique“ s. § 819 (BRUCKER).

**95. Pikrinsalpetersäure** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 5): Wasser 100, Salpetersäure von 25%  $N_2O_5$  5 Volumina, dazu Pikrinsäure bis zur Sättigung. Wirkt ähnlich der Pikrinschwefelsäure, bildet keinen Gips, läßt sich aber mit Alkohol nur langsam auswaschen. LIST (Arch. Entwicklungsmech. 8. Bd. 1899 p. 623) setzt daher zum 90% igen Alkohol 2% Salpetersäure zu: die P. geht nun rasch aus den Geweben heraus.

Nach MAYER (Whitman, Methods p. 22) fixirt die P. Eier mit viel Dotter, z. B. von *Palinurus*, besser als Salpetersäure, Pikrinsäure oder Pikrinschwefelsäure es thun. Sie ist hierin der Pikrinschwefelsäure weit überlegen.

**96. Pikrinchromsalpetersäure** nach RAWITZ (Leitfaden 2. Aufl. p. 24): 1 Vol. Pikrinsalpetersäure und 4 Vol. 1% ige Chromsäure. Nach 24 Stunden mit 70% igem Alkohol auszuwaschen. Für Zelltheilungen bei *Salamandra*.

**97. Pikrinosmiumsalpetersäure** nach RAWITZ (Leitfaden 1. Aufl. p. 16; 2. Aufl. p. 24): 6 Vol. (in der 1. Aufl.: 3 Vol.) Pikrinsalpetersäure und 1 Vol. 2% iger Osmiumsäure. Nach  $\frac{1}{2}$ —3 Stunden auswaschen in 70% igem Alkohol.

**98. Pikrinsalzsäure** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 5): Wasser 100, Salzsäure von 25%  $HCl$  8 Volumina, dazu Pikrinsäure bis zur Sättigung. Wirkt ähnlich der Pikrinsalpetersäure.

**99. Pikrinessigsäure.** Nach BOVERI (Jena. Zeit. Naturw. 21. Bd. 1887 p. 433): konzentr. Lösung von Pikrinsäure 100, Wasser 200, Eisessig 3 Vol. Für die Eier von *Ascaris*. Auswaschen mit Alkohol von 70%. — Nach DAVIDOFF (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1899 p. 118): 3 Theile konzentr. Lösung von Pikrinsäure, 1 Theil Eisessig. Für die Eier von Tunikaten. Nachbehandlung ebenso. — Nach BIGELOW (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 40 1902 p. 66): gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 5% iger Essigsäure. Für die Eier von *Lepas*. — S. auch § 840 (LÜHE) und über Pikrinessigsäure mit Osmiumsäure § 92, mit Formol § 111 b.

**100. Pikrinplatinchlorid und Pikrinosmiumplatinchlorid** nach vom RATH (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 282, 285): 200 ccm gesättigter Lösung von Pikrinsäure, 1 g Platinchlorid und 2 ccm Eisessig; eventuell dazu 25 oder 12 ccm 2% iger Lösung von Osmiumsäure. Dann 75% iger Alkohol, bei den Osmiumgemischen auch wohl Holzessig oder 20% ige Lösung von Tannin.

**101. Salicylsäure.** Die konzentrierte Lösung in Drittelalkohol soll nach HHEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 186) im Darm von *Rana* das Mucin fällen und die Zellen „glänzend konserviren“.

**102. Alkohol.** Zum Fixiren wird der Alkohol im Allgemeinen nur in 2 Stärken mit Vorthail gebraucht: als sehr schwacher und als absoluter. Der absolute tödtet und härtet so rasch, daß die Gewebe



trotz der energischen Entwässerung ihre Form nicht mehr ändern können, falls er sofort an alle Zellen herantreten kann. Daher kommt er nur für lockere oder ganz kleine Objekte in Betracht. Das gilt auch vom schwachen Alkohol: dieser koagulirt gerade noch energisch genug und entwässert in Folge seines Wassergehaltes langsam und unschädlich. Die Stärken dazwischen (90 %, 70 %, 50 %) erfüllen diese Bedingungen nicht, sind daher zum Fixiren weniger geeignet, werden aber in Verbindung mit Sublimat, Salpetersäure, Essigsäure etc. dadurch nützlich, daß sie deren Vermögen, in die Gewebe einzudringen, erhöhen. Hierfür ist wohl 70 % iger am besten.

TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 219) und FISCHER (Fixirung etc. p. 18) urtheilen Beide über den Alkohol ungünstig. Jener betont, ohne damit etwas Neues zu sagen, die Erscheinung, daß Kerne (und in ihnen wieder das Chromatin) und Plasma sich von der Peripherie des fixirten Objectes — des Hodens von *Salamandra*! — nach dem Centrum zu gedrängt haben, gerade als wollten sie sich vor dem Alkohol flüchten. Indessen muß T. gleich zugeben, daß die „auffallende Zerstörungskraft“ des Alkohols sich bei anderen Organen und anderen Thieren nicht zeige. Und damit trifft T. das Richtige: wenn der Alkohol nicht rasch überall eindringt, so verursacht er Verzerrungen; sonst jedoch fixirt er, besonders wenn die Gewebe nicht excessiv wässerig sind, die Form der Zellen und Kerne sehr getreu. Dies thut sogar der 30 % ige, wenn er z. B. auf dünne Membranen angewandt wird. Wie viel er vom Inhalte der Zellen niederschlägt oder gelöst läßt oder gar erst auflöst, das hängt in erster Linie von der Art des Inhaltes ab, kann daher nur von Fall zu Fall entschieden werden. Hier nun betont mit mehr Recht Fischer, daß der Alkohol, da er die meisten Eiweißkörper koagulire, wohl „dauerhafte Artefakte liefert“, dagegen die im Leben ganz oder halb gelösten Verbindungen der Nucleinsäure mit Albumosen nicht erhält.

Wie zum Fixiren, so ist auch zum Härten der Alkohol für sich allein nicht sonderlich geeignet; braucht man ihn aber mit Verstand, um die Wirkung eines guten Fixirmittels zu vervollständigen, so leistet er sehr gute Dienste. Man beginne mit schwachem (in der Regel 70 % igem) und verstärke ihn allmählich, nehme große Mengen und wechsle ihn häufig oder hänge das Object oben in der Flüssigkeit auf, sodaß es stets von reinem Alkohol umgeben bleibt. Zum Härten großer Stücke braucht man oft viele Wochen, während kleine, leicht durchdringbare schon in 24 Stunden hart genug werden. — Auch wenn er schon ganz klar und farblos bleibt, wechsle man ihn nochmals, ehe man die Objekte längere Zeit darin aufhebt.

Es wird lange nicht genug darauf geachtet, ob der Alkohol auch rein sei. Für gewöhnliche Zwecke mag nicht viel darauf ankommen, wohl aber bei histologischen Feinheiten. Reiner Alkohol darf beim Abdampfen nur äußerst wenig



festen Rückstand liefern, zwischen den Händen verrieben nach seiner Verdunstung keinen starken Geruch hinterlassen, endlich weder sauer noch alkalisch reagiren. Man prüfe die Reaktion mit gutem Lackmuspapier, das man eventuell einige Stunden darin liegen läßt. Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 180) darf die Lösung von je 1 g Hämatein und Chloraluminium in 100 ccm Alkohol, im Verhältnis von etwa 1:100 dem zu prüfenden Alkohol zugesetzt, auch nach 24 Stunden noch nicht ausgefällt sein.

Der methyiated spirit der Engländer ist nicht etwa Methylalkohol, sondern Äthylalkohol plus wenigstens  $\frac{1}{10}$  Vol. „wood-naphta“ (Nature Vol. 71 1904 p. 206), scheint auch Pyridinbasen zu enthalten. Über den deutschen denaturirten Alkohol s. KITTSTEINER (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 191).

### Tabelle zum Verdünnen des Alkohols.

Sie gibt an, wie viele Raumtheile Wasser man zu 100 Raumtheilen Alkohol von der ursprünglichen Stärke (in der Tabelle rechts) setzen muß, um die gewünschte Stärke (in der Tabelle links) zu erhalten. Z. B. um Alkohol von 60 % zu machen, muß man zu 100 ccm von 90 %igem nahezu 54 ccm Wasser setzen, zu 100 ccm von 70 %igem nur reichlich 17 ccm. — Die Angaben von REDENBAUGH (Z. Bull. Boston Vol. 1 1898 p. 245) und BERGER (Science (2) Vol. 23 1906 p. 787) sind ungenau.

| Ge-<br>wünschte<br>Stärke in<br>Prozenten | Spezif. Gew.<br>bei 15° C. | Ursprüngliche Stärke in Prozenten |        |        |        |        |        |        |       |       |
|-------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
|                                           |                            | 90                                | 85     | 80     | 75     | 70     | 65     | 60     | 55    | 50    |
|                                           |                            | 0.833                             | 0.849  | 0.863  | 0.876  | 0.889  | 0.901  | 0.913  | 0.923 | 0.933 |
| 85                                        | 0.849                      | 6.56                              |        |        |        |        |        |        |       |       |
| 80                                        | 0.863                      | 13.79                             | 6.83   |        |        |        |        |        |       |       |
| 75                                        | 0.876                      | 21.89                             | 14.48  | 7.20   |        |        |        |        |       |       |
| 70                                        | 0.889                      | 31.05                             | 23.14  | 15.35  | 7.04   |        |        |        |       |       |
| 65                                        | 0.901                      | 41.53                             | 33.03  | 24.66  | 16.37  | 8.15   |        |        |       |       |
| 60                                        | 0.913                      | 53.65                             | 44.48  | 35.44  | 26.47  | 17.58  | 8.76   |        |       |       |
| 55                                        | 0.923                      | 67.87                             | 57.90  | 48.07  | 38.32  | 28.63  | 19.02  | 9.47   |       |       |
| 50                                        | 0.933                      | 84.71                             | 73.90  | 63.04  | 52.43  | 41.73  | 31.25  | 20.47  | 10.35 |       |
| 45                                        | 0.943                      | 105.34                            | 93.30  | 81.38  | 69.54  | 57.78  | 46.09  | 34.46  | 22.90 | 11.41 |
| 40                                        | 0.951                      | 130.80                            | 117.34 | 104.01 | 90.76  | 77.58  | 64.48  | 51.43  | 38.46 | 25.55 |
| 35                                        | 0.958                      | 163.28                            | 148.01 | 132.88 | 117.82 | 102.84 | 87.93  | 73.08  | 58.31 | 43.59 |
| 30                                        | 0.965                      | 206.22                            | 188.57 | 171.05 | 153.61 | 136.04 | 118.94 | 101.71 | 84.54 | 67.45 |



**103. Absoluter Alkohol.** Über seine Wirkung, besonders sein schnelles Eindringen in die Gewebe, s. oben p. 54. Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 7) bietet siedender absoluter Alkohol die einzige Möglichkeit, manche Arthropoden (speziell Tracheaten) so rasch zu tödten, daß die Maceration vermieden wird, die mit kaltem Alkohol eintreten würde. Ähnlich verfährt BRÜEL (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 569).

Wichtig ist es, zum Fixiren relativ viel Alkohol zu verwenden. Zum Aufbewahren nehme man Alkohol von 90 % oder weniger.

Der absolute Alkohol ist beim Gebrauch nicht leicht absolut zu halten, da er aus der Luft Wasser anzieht. (Nach WINKLER in: Ber. D. Chem. Ges. 38. Jahrg. 1905 p. 3616 ist diese Gefahr nicht so groß, wie meist geglaubt wird.) FOL thut (Lehrbuch p. 104) deswegen kaustischen Kalk in Stücken hinein. Nach CRISMER (Chem. Centralbl. 1904 1. Bd. p. 1479) wird aber der ganz absolute dadurch braun. — RANVIER läßt 95 %igen mit gebranntem Kupfersulfat unter öfterem Schütteln 1—2 Tage in Berührung, gießt dann ab, gibt wieder Kupfersalz hinzu und thut dies so oft, bis das Salz nicht mehr merklich blau wird, oder bis man beim Vermischen eines Tropfens Alkohol mit ebenso viel Terpentinöl unter dem Mikroskop keine Wassertheilchen mehr sieht. Das Kupfersulfat calcinirt man über einer Flamme und pulverisirt es (Proc. Acad. N. Sc. Philadelphia f. 1884 p. 27; Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 4 1884 p. 322, 984). Es ist aber im absol. Alkohol nicht ganz unlöslich.

Zur Erkennung des Wassers im Alkohol empfiehlt YVON (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 125 1897 p. 1181) den Zusatz groben Pulvers von Calciumcarbid: schon eine Spur Wasser ruft die Entwicklung von Acetylen hervor, und beim Umschütteln wird der Alkohol durch das entstandene Kalkhydrat trübe. — Mir (MAYER) ist diese Methode von mehreren, die ich prüfte, als die empfindlichste und einfachste erschienen.

**104. Drittel-Alkohol** (Ranviers Alkohol) besteht nach RANVIER (Arch. Phys. Norm. Path. Paris (2) Tome 1 1874 p. 782) aus 2 Theilen Wasser und 1 Theil Alkohol von 90 %. Man läßt die Objekte 24 Stunden darin, länger nur, wenn man die dann eintretende Maceration vernachlässigen darf. Der Drittel-Alkohol eignet sich nur selten für Objekte, die geschnitten werden sollen. Hauptsächlich dient er für rasche Macerationen, aber auch bei dünnen Membranen zum Fixiren der Form der Zellen und Kerne (s. p. 55). Solche Objekte bringt man später allmählich in starken Alkohol und erst von da in ein Färbgemisch. Bei Macerationen färbt man hingegen meist direkt, z. B. mit Methylgrün, ohne vorherige Härtung. — S. auch § 101.

**105. Saurer Alkohol** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 7) dient hauptsächlich zum Fixiren größerer Seethiere für Museen. Zu 97 Vol.



Alkohol von 90 % (weniger gut von 70 %) setzt man 3 Vol. reine Salzsäure oder Salpetersäure und löst etwas Pikrinsäure darin auf. In dem Gemisch läßt man die Objekte nur so lange, bis sie gut damit durchtränkt sind, und wäscht sie in 90 %igem Alkohol aus; dabei zeigt das Verschwinden der gelben Farbe an, daß alle Säure aus den Objekten entfernt ist.

Die Säure soll das Verkleben der Organe durch die Körpersäfte und die Bildung von Niederschlägen aus dem Seewasser auf und in den Objekten verhindern; sie verliert aber nach einiger Zeit merklich an Kraft, da sich auf ihre Kosten ein Äther bildet. — LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 443) verwendet 50 %igen Alkohol mit 5 % Salzsäure.

Über Alkohol mit Pikrinsäure, Essigsäure, Jod, Formol etc. s. dort.

**106. Pyridin.** Nach SOUZA (C. R. Soc. Biol. Paris (8) Tome 4 1887 p. 622) härtet, entwässert und hellt es zu gleicher Zeit auf. Nachher färbt man das Objekt mit Theerfarbstoffen, die in Pyridin gelöst sind, oder bringt es erst in Wasser und färbt es dann in gewohnter Art. — S. auch unten § 668 (GOODALL) und § 688 (DONAGGIO).

ANDRIEZEN (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 10. Bd. 1893 p. 533) verwendet als Intermedium nach Alkohol von 95 % ein Gemisch gleicher Theile von Pyridin und Xylol für fertige Celloidinschnitte oder uneingebettete Schnitte durch Gehirne. Jedoch zieht, wie ich (MAYER) finde, das Pyridin aus gefärbten Schnitten Safranin, Säurefuchsin etc. aus, ist also schon deswegen nicht allgemein verwendbar. Hauptsächlich spricht aber gegen seinen Gebrauch der auf die Dauer unerträgliche Geruch.

**107. Über Chloroform** als Bestandtheil von Fixirgemischen s. § 83 u. 84.

SCHOLZ (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 415) fixirt Objekte von nicht über 3 mm Dicke in **Aceton** warm  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang und bringt sie dann direkt oder durch Ätheralkohol in Celloidin. — FUSS (Arch. Path. Anat. 185. Bd. 1906 p. 5) fixirt  $\frac{1}{4}$ —5 St. lang darin kalt und bettet direkt oder durch Xylol in Paraffin ein. — S. auch § 161 (FISH).

Eine schwache Lösung von **Celloidin** in Äther und Alkohol empfiehlt RUDNEW (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 252) zum Fixiren kleiner Objekte.

**108. Formaldehyd** (Methylaldehyd) ist der Name des Gases  $\text{CH}_2\text{O}$ , das durch Reduktion aus Ameisensäure oder durch Oxydation aus Methylalkohol entsteht und im Großen auf letztere Art hergestellt wird. Die 40 %ige Lösung davon in Wasser geht im Handel als Formalin, Formol oder Formalose. Wie LEE (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 255) mit Recht hervorhebt, geben manche Autoren leider nicht an, ob sie Prozente von Formaldehyd oder von der 40 %igen Lösung meinen. Am besten bezieht man entweder die Stärke der Lösungen auf Formaldehyd oder man sagt: Formol, verdünnt mit so und so viel Wasser. Also: 4 %iges Formol = 1 Th. käuflichen Formols + 24 Th. Wasser, 4 %iger Formaldehyd (= 10 %igem Formol von 40 %) = 1 Th. käuflichen Formols + 9 Th. Wasser.



Die käuflichen Lösungen von Formaldehyd zersetzen sich zuweilen unter Bildung eines weißen Niederschlages von Paraformaldehyd ( $C_3H_6O_3$ ), jedoch wohl nur dann, wenn sie nicht sauer reagieren (s. NEUVILLE in: Bull. Soc. Philomath. Paris (9) Tome 1 1899 p. 108); dies läßt sich durch Zusatz von Glycerin verhüten. In der Regel sind sie aber sauer, oft sogar ziemlich stark; die Säure ist wohl immer Ameisensäure. Nach MERCK (Berichte 17. Jahrg. 1904 p. 78) enthält die 40%ige Handelsware bis zu 20% Methylalkohol. — Nach EULER (Ber. D. Chem. Ges. 38. Jahrg. 1905 p. 2551) ist Formaldehyd eine schwache Säure, die mit starken Basen Salze bildet. Zum Neutralisieren lassen sich Carbonate (s. unten p. 60 MANN) oder kaustische Alkalien verwenden.

Die Dämpfe reizen die Schleimhäute sehr, aber nicht so schlimm wie Osmiumsäure. Nach KENYON (Science (2) Vol. 6 1897 p. 737) hilft dagegen am besten Ammoniak, das man in offenen Schalen verdunsten läßt oder dem Wasser zusetzt, mit dem man die Objekte auswäscht. — Man benetze die Finger nicht mit den Lösungen, denn Formaldehyd härtet die Haut sehr rasch.

Für Museen bildet das Formol ein sehr brauchbares Mittel zum Präparieren und Konservieren (Näheres bei BLUM in: Verh. Anat. Ges. 8. Vers. 1895 p. 236 und in: Ber. Senckenberg. Ges. Frankfurt f. 1896 p. 285; ferner bei WELTNER in: Sitzungsber. Ges. Nat. Freunde Berlin f. 1898 p. 57). Immerhin ist es kaum ein Mittel zu dauernder Aufbewahrung der Objekte, wie es doch der Alkohol darstellt. Dagegen hat es vor diesem die Billigkeit und relativ geringe Flüchtigkeit voraus. — KAISERLING (Arch. Path. Anat. 147. Bd. 1897 p. 396) fixiert die Organe von höheren Thieren im Gemisch von 40 ccm Formol, 200 ccm Wasser, 3 g Kaliumnitrat und 6 g Kaliumacetat  $\frac{1}{2}$  bis mehrere Tage lang, bringt sie zur Wiederherstellung der Farbe des Blutes auf kurze Zeit in Alkohol von 80% und hebt sie im Gemisch von 20 g Glycerin, 10 g Kaliumacetat und 200 ccm Wasser auf. Sehr große Organe injiziert er mit dem Gemisch von 5 g Kaliumacetat, 3 g Kaliumnitrat, 40 ccm Formol und 100 ccm Wasser. Die Präparate sollen auch histologisch einigermaßen brauchbar sein. — Ähnlich MELNIKOFF-RASVEDENKOFF (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 124 1897 p. 238) und BURZYŃSKI (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 33). S. auch § 802 (POSO) und § 872 (SCHLEGEL).

In die histologische Technik wurde der Formaldehyd zugleich von BLUM (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 314) und HERMANN (Anat. Anz. 9. Bd. 1893 p. 112) eingeführt. — Nach SJÖBRING (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 274) besteht seine Wirkung auf die Gewebe in einer Oxydation der letzteren, wobei er selber in Methylalkohol umgewandelt wird. Nach BLUM (Encyclop. 1. Bd. p. 481) dagegen beruht die Härtung auf einer „Methylenirung der das Gewebe zusammensetzenden Eiweißkörper“.

Über Formaldehyd zum Fixieren s. § 109, zum Härten § 110, zum Hartmachen der Gelatine § 158, des Celloidins § 165 (BLUM), zum Reduzieren bei der Vergoldung § 368 (LEE).

S. ferner PLENKE (Arch. Path. Anat. 144. Bd. 1896 p. 409), GEROTA (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 13. Bd. 1896 p. 108), FISH (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 319) und STROUD (Amer. Natural. Vol. 31



1897 p. 92). Über die Wirkung des Formols auf Gelatine, Eiweiß etc.  
 8. BENEDICENTI (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. 1897 p. 219).

**109. Formaldehyd als Fixirmittel.** Die Stärke der Lösungen, die man bisher gebraucht hat, scheint meist zwischen  $\frac{1}{2}$  und 4 % Formaldehyd (=  $\frac{5}{4}$  und 10 % Formol) zu liegen. Nur HOYER (Ver. Anat. Ges. 8. Vers. 1894 p. 237) gibt an, daß sich im konzentrierten Formol (40 % igen Formaldehyd) die Gewebe besser halten als in schwachen Lösungen, ja sogar besser als in Sublimat. STRASSER (Anat. Hefte 1. Abth. 18. Bd. 1901 p. 115) benutzt für die Nase der Embryonen von Säugethieren 10 % igen Formaldehyd. Ähnlich CARAZZI für Muscheln (s. unten § 807). Auch mir (MAYER) haben sich die Eingeweide von *Squilla* in 35 % igem Formaldehyd (von Höchst) gut fixirt. Dagegen finde ich (LEE), daß in Präparaten mit  $13\frac{1}{3}$  % Formaldehyd (1 Vol. Formol und 2 Vol. Wasser) die Zellen so homogen aussehen wie osmirte Zellen (§ 39). Auch Lösungen von 2—4 % Formaldehyd verleihen dem Zellplasma ein homogenes, glasiges Aussehen, bringen außerdem die Gewebe zum Quellen. Bei 2 % ist die Vacuolisierung sehr stark. Darum erscheint mir der Formaldehyd allein als durchaus ungeeignet für cytologische Untersuchungen. Endlich ist nach FISCHER (Fixirung etc. p. 24) 4 % iger Formaldehyd zu schwach; eher eignet sich wohl 10 % iger, aber selbst der konzentrierte hat nur „mittlere Fällungskraft“.

Indessen hat man, was ich (MAYER) hervorheben möchte, bisher fast gar keine Rücksicht auf die Wirkung der Säure im käuflichen Formol und auf die Isotonie der Lösungen mit dem Saft der Gewebe genommen. MANN (Verh. Anat. Ges. 12. Vers. 1898 p. 39) braucht neutrales Formol (er läßt das gewöhnliche über Magnesium- oder Natriumcarbonat stehen). Nach KADYI (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 77) fixirt neutrales oder schwach alkalisches F. besser als saures. Nach HAMBURGER (Osm. Druck und Ionenlehre 3. Bd. Wiesbaden 1904 p. 408) quellen die Erythrocyten in neutralem Formol kaum, wohl aber in gewöhnlichem. Ferner hat HERBST (Arch. Entwicklungsmech. 9. Bd. 1899 p. 292) für marine Crustaceen Formol in Seewasser (die Stärke der Lösung sei unwichtig) mit Erfolg benutzt. Meine eigenen Versuche an allerlei Seethieren ergeben, daß der Unterschied zwischen gleich starken Verdünnungen mit See-, Süß- und destillirtem Wasser enorm ist, sodaß ich für Seethiere ausschließlich ein Gemisch von 1 Th. Formol und 9 Th. Seewasser (also 4 % igen



Formaldehyd) benutze. Hierin werden die Gewebe befriedigend fixirt, weniger gut dagegen, wenn das Formol eigens neutralisirt ist.

HEINZ (Arch. Mikr. Anat. 58. Bd. 1901 p. 567) gebraucht für die Leber von Säugethieren entweder reines 10—15%iges Formol oder „10% Formol-Kochsalzlösung (0,6%).“ — SJÖBRING (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 274) verwendet den Formaldehyd isotonisch (für Säugethiere 1 Theil Formol und 4 Theile Wasser). Die Stärke des Alkohols, in den die Objekte aus dem Fixirgemisch gebracht werden, sei für Säugethiere 95%, für *Anodonta* 50%, die Färbbarkeit der Gewebe aber viel geringer als nach Fixirung mit Sublimat oder reinem Alkohol. — Ich (MAYER) habe dies im Allgemeinen nicht gefunden, indessen weder dieselben Objekte wie Sjöbring noch eine so starke Lösung benutzt. Sehr viel wird auch von der Nachbehandlung mit Alkohol abhängen, die ja bei Seethieren anders sein muß als bei Landthieren. — HAMBURGER (l. c. p. 406) spricht sich gegen die Isotonie aus, soweit Erythrocyten in Betracht kommen.

HOYER (Verh. Anat. Ges. 9. Vers. 1894 p. 236) bringt die Objekte (1 ccm große Stücke) aus dem konzentr. Formol auf 12—24 Stunden in Alkohol, ALLEGER (Proc. Amer. Micr. Soc. Vol. 15 1894 p. 192) aus dem 2—10%igen (oder auch stärkeren) Formol in Alkohol von 50—70%.

Eine Nachfixirung der mit Formol fixirten Gewebe empfiehlt CARAZZI (unten § 807) mit Sublimat, ebenso KERR, der dadurch eine bessere Färbbarkeit der Gewebe hervorbringen will (s. § 585), und STRASSER (§ 572). S. auch § 807 (LIST).

SCHULTZE (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1899 p. 174) fixirt die Eier von *Rana* mit heißer Lösung (2% Formol von 75—80° C. 5 Minuten lang, dann Alkohol von 70%). Dämpfe von Formaldehyd zur Fixirung des Blutes wendet DEETJEN (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 23. Bd. 1898 p. 615) an. S. auch § 826 (FLOYD).

Über die Fixirung der Sekretgranula in den Zellen durch 10%iges Formol s. unten § 633 (BENDA). — S. ferner im § 111 die zahlreichen Gemische von Formaldehyd.

**110. Formaldehyd als Härtmittel.** Während über die Brauchbarkeit des Formaldehyds zum Fixiren die Ansichten der Forscher noch weit auseinander gehen, ist man sich von Anfang an über seine Verwendbarkeit zum Härten der Gewebe nicht im Zweifel gewesen.

So fand bereits HERMANN (Anat. Anz. 9. Bd. 1893 p. 112) ein Kalbherz in  $\frac{1}{2}$ —1%iger Lösung nach 12—24 Stunden hart; ganze Augen ließen sich in 1%iger Lösung nach 24 Stunden mit dem Messer halbiren. Allerdings litten die Gewebe, wenn sie zum Entwässern in Alkohol kamen.

Über Grad und Art der Härtung mit Formaldehyd drücken sich hingegen die Autoren nicht bestimmt aus. Nach unseren Versuchen



werden die Gewebe elastisch, nicht brüchig. Wahrscheinlich schwankt dies aber beträchtlich nach den Geweben.

Für lange Härtung muß man viel Flüssigkeit nehmen und sie von Zeit zu Zeit wechseln. Denn das Formaldehyd verbindet sich mit den Geweben, und so wird die Lösung schwächer. Ferner ist die Isotonie mit den Gewebesäften zu beachten (s. oben § 109); sie wird auch von HORNELL (Labor. et Museum Berlin Nr. 5 1900 p. 86) für wasserreiche Seethiere (Salpen, Medusen etc.) als unerläßlich bezeichnet.

Hornell, der die Seethiere nur für Museen oder zum Seciren konservirt, macht darauf aufmerksam, daß die Säure im Formol den Kalk ausziehe. Er verwendet Formol theils allein (5—8%), theils in Gemischen mit Alkohol.

Zur Schnellhärtung legt BLUM (Anat. Anz. 11. Bd. 1896 p. 724) kleine Objekte auf 6—8 Stunden in 1 Th. käuflichen Formols + 10 Th. Wasser, dann auf ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol, auf 1—2 Stunden in Alkohol mit Äther, endlich auf einige Stunden in Celloidinlösung; nun werden sie auf Kork aufgeklebt und, eben fest, in ein Gemisch von schwachem Spiritus und Formol gebracht, worin das Celloidin erhärtet. So kann man schon in 24 Stunden ein frisches Objekt schneidbar machen. Von der Verwendung des Formols zum rascheren Gefrieren nach PLENKE (Arch. Path. Anat. 144. Bd. 1896 p. 409) rät Blum ab. Noch rascher verfährt PICK (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 73): er legt Gefrierschnitte auf 4 Minuten in Formol 1:10, färbt sie 2—3 Minuten lang mit Alaunkarmin und hat sie bereits wenige Minuten später im Balsam. — S. auch GUTMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 55) und STEIN (ibid. p. 56).

Über die Härtung des Nervengewebes mit Formaldehyd s. § 663, 665 und 732, über die Enthärtung von Objekten s. § 874 (SCHMIDT).

**111. Gemische von Formaldehyd mit anderen Mitteln.** Viele sind insofern irrationell, als sie sich leicht zersetzen. Denn das Formaldehyd als reduzierendes Agens verträgt sich nur schlecht mit Chromsäure, Sublimat etc., und die Ameisensäure im käuflichen Formol wirkt ähnlich. Gerühmt werden die Gemische von ihren Autoren in der Regel sehr, ohne daß aber bei der oft großen Komplikation klar würde, welchen Bestandtheilen die Wirkung zu verdanken sei.

a) Formaldehyd mit Kaliumbichromat oder Chromsäure. MÖLLER (Zeit. Wiss. Z. 66. Bd. 1899 p. 85) fixirt den Darm von Säugethieren 1 Tag lang im Gemisch von 1 Vol. Formol und 4 Vol. 3%iger Lösung von Kaliumbichromat, härtet ihn in letzterer Lösung 3—4 Tage lang, wässert ihn einige Stunden lang aus und bringt ihn in Alkohol von 70%. — HELD (Abh. Sächs. Ges. Wiss. Math. Physik. Cl. 31. Bd. 1909 p. 196) benutzt für das innere Ohr von *Lepus*, *Gallus* und *Columba* das absichtlich bereits reduzierte Gemisch von 3%iger Bichromatlösung, der 4% Formol und 5% Eisessig zugesetzt sind. Das frische Gemisch sei ebenfalls brauchbar. — S. auch MOREL & BASSAL



(Journ. Anat. Phys. Paris 45. Année 1909 p. 632). — Andere Gemische dieser Art zur Fixirung des Nervengewebes s. § 732, des Knorpels § 778, der Nebennieren § 800.

ORTH (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 316) empfiehlt zum Härten das Gemisch von 1 Theil Formol und 10 Theilen Müllerschen Gemisches. Nach mehreren Tagen verdirbt es aber. (Dieses und ähnliche Gemische gehen leider unter dem scheußlichen Namen Formol-Müller.)

Das Gemisch von NOWAK (Anat. Anz. 20. Bd. 1901 p. 244) besteht aus je 30 Th. 1%iger Chromsäure und gesättigter Sublimatlösung, 27 Th. Wasser, 3 Th. Eisessig und 10 Th. Formalin. — LO BIANCO fixirt Seethiere im Gemisch von 10 Theilen 1%iger Chromsäure, 1 Th. Formol und 9 Th. Seewasser und bringt bereits nach  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde die Thiere gradatim in starken Alkohol. — Das Gemisch von Marchoux besteht nach PÉREZ (Arch. Z. Expér. (4) Tome 5 1910 p. 11) aus 11 Th. 1%iger Chromsäure, 1 Th. Eisessig, 4 Th. Wasser und (erst beim Gebrauche) 16 Th. Formol. — S. auch unten e) und § 794 (HARVEY).

b) Formaldehyd mit Pikrinsäure. GRAF (New York State Hosp. Bull. Vol. 2 1897 p. 35) empfiehlt besonders für Hirudineen das Pikro-Formalin, d. h. Gemische von Formol und Pikrinsäure (nachher Auswaschen mit Alkohol von 30%). — BOUIN (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 1 1897 p. 229) nimmt für die Hoden von *Cavia* 15 Theile gesättigter Pikrinsäurelösung, 5 Theile Formol und 1 Theil Essigsäure. Ich (LEE) habe damit sehr gute Präparate erhalten. — S. hierzu GARNIER (Bibliogr. Anat. Paris Tome 5 1898 p. 279).

Mir (MAYER) hat das Gemisch von 1 Th. Formol, 1 Th. 1%iger Lösung von Pikrinsäure und 8 Th. Seewasser für Seethiere manchmal gute Dienste geleistet. — MOREAUX (Bibl. Anat. Paris Tome 19 1910 p. 265) fixirt den Uterus von Säugethieren in „formol picro-trichloracétique“ (15 Th. Formol, 85 Th. 3%iger Trichloressigsäure, darin Pikrinsäure bis zur Sättigung gelöst).

Über ein Gemisch von Pikrinsäure, Platinchlorid, Formol und Ameisensäure s. BOUIN (Bibliogr. Anat. Paris Tome 6 1898 p. 54).

S. auch oben § 91 (ANILE) und unten e) und § 819 (VAN LEEUWEN).

c) Formaldehyd mit Alkohol. Zuerst von PARKER & FLOYD empfohlen, weil die Schrumpfung durch den Alkohol und die Quellung durch das Formol sich im Gemische (s. unten § 665) die Wage halten sollten.

GULLAND (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 222) braucht für Blut das Gemisch von 1 Theil Formol und 9 Theilen „Alkohol“, LAVDOWSKY (Anat. Hefte 1. Abth. 4. Bd. 1894 p. 361) zum Studium der Mitose die Gemische von 1 Th. Eisessig, 5 oder 6 Th. Formol und 45 oder 60 Th. 30%igen Alkohols. — BLES (Trans. R. Soc. Edinburgh Vol. 41 1905 p. 792) verwendet für Larven von Anuren, Fischen, Echinodermen etc. das Gemisch von 90 ccm 70%igen Alkohols, 3 ccm Eisessig und 1 ccm Formol. Nach 14 Tagen sei es aber nur noch zum Konserviren gut. — HORNELL (Labor. et Museum Berlin No. 5 1900 p. 86) konservirt in „Formalin-Alkohol“ (1 Th. Formol, 9 Th. Wasser und 10 Th. „Alkohol“) Seethiere für Museen und zu Secirübungen. — TELLYESNICZKY (Encyclop. 1. Bd. p. 472) benutzt „für Kurszwecke“ das Gemisch von 100 Th. 70—80%igen Alkohols, 5 oder mehr Th. Formalin und 5 Th. Essigsäure.

d) Formaldehyd mit Kupfersalzen. NELIS (Bull. Acad. Sc. Belg. f. 1899, 1900 p. 726) fixirt Spinalganglien 24 Stunden lang im Gemisch von 1 Liter



7<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen Formols und 5 ccm Eisessig, worin 20 g Kupfersulfat und dann Sublimat bis zur Sättigung aufgelöst sind. Es soll die Zellen nicht kontrahieren und alle Färbungen erlauben. — STAPPERS (La Cellule Tome 25 1909 p. 356) nimmt für Cumaceen das Gemisch von Gilson: 100 Th. 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen Formols und 2 Th. Kupfernitrat. — S. auch oben § 86 (GILSON).

STRONG (Journ. Comp. Neur. Granville Vol. 13 1903 p. 296) fixirt den Kopf von *Acanthias* durch Injektion des Gemisches gleicher Theile von Formol und 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Kupferbichromat.

e) Formaldehyd mit Sublimat. Gemische dieser Art geben, wie mir (MAYER) scheint, durch die Ameisensäure im Formol, bereits kalt, noch rascher heiß einen weißen kristallinischen Niederschlag wohl von Quecksilberchlorür (Kalomel).

MANN (Verh. Anat. Ges. 12. Vers. 1898 p. 39) verwendet für Nervenzellen das Gemisch von 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> g Sublimat, 1 g Pikrinsäure, 5 ccm Formol und 100 ccm Wasser; oder für alle Gewebe (Methods p. 97) dieses mit 15—25 ccm Formol; einfacher: 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> g Subl., 20 cm Formol und 80 ccm Wasser. — BRANCA (Journ. Anat. Phys. Paris 35. Année 1899 p. 767) nimmt für Wirbelthiere gesättigte wässrige Lösung von Sublimat, worin Pikrinsäure bis zur Sättigung aufgelöst ist, und setzt zu 60 Th. davon beim Gebrauch 10 Th. Formol und 1 Th. Eisessig.

BOUIN (Arch. Biol. Tome 17 1900 p. 211) fixirt die jungen Larven von *Rana* mit „formol sublimé“ (1 Th. Formol, 3 Th. gesättigter wässriger Sublimatlösung) 2—3 Stunden lang und bringt sie nach raschem Abspülen mit Wasser direkt in Alkohol von 70<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. — BRINKMANN (Mitth. Z. Stat. Neapel 16. Bd. 1903 p. 367): gleiche Theile gesättigter Lösung von Sublimat in Normalsalzwasser und 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igen neutralisirten Formaldehyds. Dann Alkohol von 50—90<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Für den Uterus von Selachiern. — Über Worcesters Gemisch s. § 587 (GUDGER).

HEINZ (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 s. 203) nimmt für Knochenmark körperlarmes Normalsalzwasser mit 8<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Formol, 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> <sup>0</sup>/<sub>0</sub> Sublimat und 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> <sup>0</sup>/<sub>0</sub> Essigsäure oder einfacher nur mit 10—15<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Formol; ersteres läßt er 2—3 Stunden bei 37<sup>0</sup> C., letzteres 12 Stunden lang wirken.

SCHLATER (Arch. Mikr. Anat. 66. Bd. 1905 p. 442) empfiehlt das Fixirgemisch von O. Hertwig: 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Chromsäure 30, gesättigte Sublimatlösung 30, Formol 10, Eisessig 3, Wasser 27.

S. auch oben a), d), § 62 k (CIACCIO) und § 68 (HELLY) sowie unten § 794 (HARVEY) und § 796 (BRAUS).

f) Formaldehyd mit Platinchlorid. BOUIN (Arch. Biol. Tome 17 1900 p. 211) ersetzt in Hermanns Gemisch die Osmiumsäure durch Formol. S. auch oben b) und unten § 778 (REITTERER).

g) BING & ELLERMANN (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. 1901 p. 260) fixiren markhaltige Nerven in 1 Th. Formol und 9 Th. Aceton.

h) WILHELMI (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 15) fixirt Tricladen nach Apáthy im Gemische gleicher Theile von 6<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Salpetersäure und 6<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Formol; von da direkt in starken Alkohol.

i) Über Formol und Eisenalaun s. oben § 77 (STRONG).



## 5. Kapitel.

**Ersetzen des Alkohols durch Intermedien.**

**112. Allgemeines.** Als Intermedien habe ich (MAYER) die Flüssigkeiten bezeichnet, die den Alkohol aus den Objekten entfernen sollen, damit entweder das Harz, worin die fertigen Präparate gewöhnlich aufbewahrt werden, oder beim Einbetten das Paraffin eindringen könne. Meist sind es ätherische Öle oder Kohlenwasserstoffe, und um obigen Ansprüchen zu genügen, müssen sie sich sowohl mit Alkohol als auch mit Harzen, Balsamen und Paraffin klar mischen. Sie machen meist in Folge ihrer starken Lichtbrechung die Gewebe durchsichtig, indem sie zwischen deren gleichfalls stark brechende Bestandtheile eindringen, heißen daher gewöhnlich Aufhellmittel. Indessen ist ein solches auch jedes Harz, ferner das Glycerin, und man darf daher beide Begriffe nicht miteinander verwechseln. Nicht alle Aufhellmittel sind Intermedien, nicht alle Intermedien hellen auf! So ist z. B. Chloroform zwar eins der besten Intermedien, bricht aber das Licht nicht stark genug, um die Präparate ganz aufzuhellen.

Man hielt es früher für nöthig, die Objekte vor dem Einschluß in Balsam aus dem Alkohol in ätherisches Öl zu bringen, um sie aufzuhellen, übersah aber dabei, daß das Aufhellen eine Nebenwirkung darstellt, und daß es nur darauf ankommt, das Objekt vom Alkohol zu befreien, der sich nicht mit dem Balsam klar mischt. (In venetianischen Terpentin und Euparal lassen sich die Objekte direkt aus dem Alkohol einschließen, s. § 421 und 422.) Es lohnte sich wohl, für das Verdrängen des Alkohols durch die Intermedien eine kurze Bezeichnung zu schaffen, etwa (nach Analogie von entwässern) entspritzen. APÁTHY (Mikrotechnik p. 74) nennt die Intermedien Vormedien.

**113. Entfernen des Alkohols aus den Objekten.** Nimmt man das Objekt aus dem Alkohol und bringt es auf dem Intermedium in einem Uhrglas zum Schwimmen, so entweicht der Alkohol in die Luft meist rascher, als das Intermedium eindringt, also schrumpft das Objekt.



Um dies zu vermeiden, ersetzt man gewöhnlich nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 23) oder GIESBRECHT (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 483) den Alkohol allmählich durch das Intermedium: man füllt in einen kurzen Glastubus so viel Alkohol, daß er die Objekte bedecken kann; mit einer Pipette läßt man dann unter den Alkohol sorgfältig die nöthige Menge des Intermediums fließen (oder man gießt umgekehrt den Alkohol sorgfältig auf letzteres) und gibt nun die Objekte in den Alkohol. Sie sinken darin sofort bis zur unteren Grenze des Alkohols und kommen erst nach einiger Zeit auf dem Grunde des Tubus an. Man glaube jedoch nicht, sie seien vollständig vom Intermedium durchdrungen, bevor sich nicht die Schlieren, die sich durch die Mischung der beiden Flüssigkeiten bilden, vollständig verzogen haben, und erst dann darf man den oben schwimmenden Alkohol absaugen.

Unbedingt nöthig ist ferner der Ersatz dieser ersten Menge des Intermediums, die ja etwas Alkohol aufgenommen hat, durch ein zweites und bei großen Objekten sogar durch ein drittes Quantum. Überhaupt kann man in dieser Beziehung nicht vorsichtig genug sein, besonders bei der Einbettung in Paraffin; und nur bei der in Celloidin, wo als Intermedium meist ein Gemisch von Alkohol und Äther dient, darf man viel einfacher verfahren (s. hierüber § 161).

Alle Intermedien dringen in der Wärme leichter ein.

Oft wird das Intermedium, womit die Objekte im Uhrglase oder auf dem Objektträger behandelt werden, nach kurzer Zeit trübe und wirkt dann nicht mehr gut. Es schlägt sich nämlich Wasserdampf aus der Luft darauf nieder. Diese Trübung läßt sich zwar meist durch Erwärmen entfernen (JACKSON in: Z. Anz. 12. Jahrg. 1889 p. 630), aber bei sehr feuchter Atmosphäre, namentlich am Meeresstrande, bleibt sie trotz langem Erwärmen bestehen. Deswegen bediene man sich stets gut verkorkter Tuben und athme ja nicht auf das Intermedium.

Bei zarten Objekten, namentlich solchen mit großen Höhlen im Inneren, empfiehlt es sich, den Alkohol gradatim durch das Intermedium zu verdrängen: man setzt von letzterem nur wenig zu, mischt es gut mit jenem und läßt das Gemisch in das Objekt hinein diffundiren, gießt dann etwas Flüssigkeit ab, gibt von Neuem etwas vom Intermedium hinzu, etc. Falls das Intermedium aufhellt, so erkennt man die völlige Entfernung des Alkohols an der Durchsichtigkeit des Objektes, sonst daran, daß in der Flüssigkeit keine Schlieren mehr auftreten. — Bei Objekten mit sehr undurchlässigen Wandungen, z. B. Pantopoden, *Chelifer* etc., diffundiren nicht selten beim Übertragen aus dem Intermedium in Balsam oder Paraffin diese Stoffe weniger rasch hinein, als das Intermedium heraus. Dann tritt Luft oder Gas in den Geweben auf; mitunter werden dadurch die Präparate unbrauchbar. Bei solchen in Balsam zeigt sich dies zuweilen erst nach Monaten oder selbst nach Jahren; hierüber s. unten



§ 415 und MAYER (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 593: Kieselnadeln von *Wagnerella*), sowie BORGERT (Z. Jahrb. Abth. Morph. 14. Bd. 1900 p. 208).

**114. Eintheilung der Intermedien.** Während früher fast nur ätherische Öle als Intermedien benutzt wurden, hat man jetzt die Wahl zwischen diesen, einigen Kohlenwasserstoffen und anderen Substanzen, z. B. Anilin und Phenol. Nach den Zwecken, denen die Intermedien dienen sollen, lassen sich diese ohne Rücksicht auf ihre chemische Beschaffenheit in folgender Weise eintheilen. Man verwendet:

1. beim Einbetten der Objekte in Paraffin: Benzol, Chloroform, Cedernöl, auch wohl Schwefelkohlenstoff. Genauerer hierüber und über die weniger brauchbaren Mittel s. in § 141.

2. beim Einbetten in Celloidin: ein Gemisch von Äther und Alkohol, auch wohl Aceton. Genauerer in § 161.

3. beim Einschließen der Paraffinschnitte in Harze: Xylol, Benzol, Chloroform etc. Genauerer in § 153.

4. beim Einschließen der Celloidinschnitte in Harze: Bergamottöl, Origanumöl, Karbolsäure, Xylol etc. Genauerer in § 170.

5. beim Einschließen ganzer Objekte in Harze: Nelkenöl, Cedernöl, Linaloeöl, Terpeneol, auch wohl Methylsalicylat.

6. beim Zerlegen ganzer Objekte und zum temporären Einschließen darin, z. B. um sie unter dem Deckglase umherrollen und allseitig beobachten zu können: Nelkenöl, Cedernöl, Terpeneol, Rizinusöl, Linaloeöl, auch wohl Xylol. S. auch § 12 und 423 ff.

**115. Optische Eigenschaften der Intermedien.** Wie schon im § 112 erwähnt, ist beim Gebrauch der Intermedien ihre Eigenschaft, die Objekte aufzuhellen, meist recht nebensächlich. Nur in den Fällen sub 114 No. 6 ist sie wichtig, und nur mit Rücksicht hierauf lohnt es sich noch, eine Liste der Brechungsindices zu bringen. Man ersieht aus ihr z. B., daß Cedernöl dem Crown Glas nahe kommt — allerdings nur das an der Luft eingedickte, nicht das frische dünne, das etwas schwächer bricht — daher beinahe so stark wie Kanadabalsam aufhellt. Zimmtöl hat einen höheren Index, hellt mithin stärker auf als Balsam. Terpeneol und Bergamottöl haben dagegen viel niedrigere Indices, und dies gilt erst recht vom Chloroform. Beim Kanadabalsam bezieht sich die Zahl 1.539 auf das feste Harz um Dünnschliffe, während sie beim flüssigen nur 1.524 beträgt.

Zum größten Theile sind die Indices nach BEHRENS, Tabellen zum Gebrauch bei mikr. Arbeiten (4. Aufl. Braunschweig 1908 p. 48 ff.) aufgeführt. Die Liste von M'CLUNG (Kansas Univ. Quart. Lawrence Vol. 7 A 1898 p. 197) weicht stark davon ab. — S. auch PARRY (Chem. Centralbl. 1910 1. Bd. p. 536: nur ätherische Öle) und HARVEY & WILKIE (ibid. p. 1358: ebenfalls).



|                                |       |                                 |             |
|--------------------------------|-------|---------------------------------|-------------|
| Luft . . . . .                 | 1.000 | Cedernöl . . . . .              | 1.510       |
| Methylalkohol . . . . .        | 1.330 | Gummi arabicum . . . . .        | 1.514       |
| dest. Wasser . . . . .         | 1.333 | Crownglas . . . . .             | 1.518       |
| Seewasser . . . . .            | 1.343 | Cedernöl, eingedickt . . . . .  | 1.520       |
| Eiweißlösung . . . . .         | 1.350 | Dammarharz . . . . .            | 1.520       |
| absol. Alkohol . . . . .       | 1.361 | Citronenöl . . . . .            | 1.527       |
| Kaliumacetat, konz. Lösung in  |       | Nelkenöl . . . . .              | 1.528—1.538 |
| Wasser . . . . .               | 1.370 | Kreosot . . . . .               | 1.538       |
| Glycerin 1 Th. u. Wasser 1 Th. | 1.397 | Kanadabalsam . . . . .          | 1.539       |
| Chlorcalciumlösung (90 %) . .  | 1.411 | Kolophonium . . . . .           | 1.545       |
| Chloroform . . . . .           | 1.449 | Karbolsäure (Phenol) . . . . .  | 1.550       |
| Bergamottöl . . . . .          | 1.464 | Anisöl . . . . .                | 1.557       |
| Paraffinum liquidum . . . . .  | 1.471 | Zimmtöl . . . . .               | 1.567       |
| Olivenöl . . . . .             | 1.473 | Anilin . . . . .                | 1.588       |
| Terpentinöl . . . . .          | 1.473 | Schwefelkohlenstoff . . . . .   | 1.628       |
| Glycerin (spez. Gew. = 1,262)  | 1.473 | Tolubalsam . . . . .            | 1.640       |
| Rizinusöl . . . . .            | 1.481 | Schwefel in Schwefelkohlenstoff | 1.644       |
| Terpineol . . . . .            | 1.484 | Monobromnaphthalin . . . . .    | 1.661       |
| Toluol . . . . .               | 1.496 | Methylenjodid . . . . .         | 1.743       |
| Xylol . . . . .                | 1.497 | Phosphor . . . . .              | 2.184       |
| Benzol . . . . .               | 1.501 | Diamant . . . . .               | 2.470       |

**116. Ätherische Öle.** Von ihnen sind am frühesten als Intermedien hauptsächlich gebraucht worden Terpentinöl und Nelkenöl, ersteres wird aber kaum noch angewandt.

Trübungen in den Ölen beruhen meist auf der Gegenwart von etwas Wasser und lassen sich dann entweder einfach durch Filtriren oder durch Schütteln mit entwässertem Natriumsulfat entfernen.

Bereits STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 431) prüfte 26 Öle auf ihre Brauchbarkeit; später untersuchten NEELSEN & SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 204) sowie JORDAN (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 50) etwa dieselben Öle (aus der bekannten Fabrik von Schimmel & Co. in Leipzig), allerdings vorwiegend auf ihre Verwendbarkeit für Celloidinschnitte.

Die Preise schwanken ungemein. So kosteten nach SCHIMMEL & Co. (Bericht vom Oktober 1896) 100 Kilo Nelkenöl im Großhandel 1875 M. 380, dagegen 1896 nur M. 38. In der Preisliste vom April 1906 setzen sie für das Kilo an: Bergamottöl M. 37, Cedernöl 2.40 und 10 (eingedickt), Nelkenöl 7.60, Origanumöl 9 (gall.) und 15 (cret.). (Terpineol kostet nur 3 Mark).

M'CLUNG gibt in der Liste der „clearing and mounting media“ (oben § 115) auch das Verhalten vieler Öle gegen Alkohol an. Leider geht aus den amerikanischen Namen für manche Öle nicht hervor, welche gemeint sind.

**117. Bergamottöl.** Bereits von STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 434) als brauchbar erwähnt. In guter Qualität ist es für Celloidinschnitte sehr verwendbar, aber es ist im Handel nicht stets



gleichmäßig vertreten. Gutes Öl muß nach APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 7. Bd. 1887 p. 745) grasgrün (höchstens mit gelblichem Ton) sein, sich mit 90 % igem Alkohol klar mischen und darf Celloidin nicht erweichen; leistet es das nicht, so soll man ihm 5—10 % absoluten Alkohol zusetzen (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 168). Nach SCHIMMEL & Co. (Bericht vom April 1908 p. 126) ist es nicht immer in Alkohol von 80 % klar löslich. — Nach SUCHANNEK (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 158) nimmt gebleichtes, farbloses nicht viel Wasser auf, grünes hingegen bis zu 10 Prozent. — Es bricht das Licht noch schwächer als Terpentinöl.

NEELSEN & SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 206) ziehen es für Celloidin dem Nelkenöl vor, stellen es aber hinter das Origanumöl und Cedernöl.

**118. Cedernöl** (Cedernholzöl). Dünnflüssig, hellgelb oder grünlich, riecht schwach nach Cedernholz, verdunstet langsam, ändert sich am Licht kaum, verdrängt bereits 95 % igen Alkohol aus den Objekten ohne Schrumpfung, zieht Theerfarben nicht aus. Celloidinschnitte werden aber erst in einigen Stunden frei von Alkohol.

Man achte genau auf die Qualität des Öles. Nach meinen (LEE) Erfahrungen ist es das beste Intermedium beim Einbetten in Paraffin; es schadet den Zellen und zarten Geweben weniger als irgend ein anderes Mittel. (S. auch unten p. 83.)

Das Cedernöl, besonders das dünnflüssige, scheidet mit der Zeit Wassertropfen aus, wird aber durch Filtriren wieder klar. S. auch § 116.

**119. Nelkenöl.** Es wurde von RINDFLEISCH (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 138) in die Mikrotechnik eingeführt. Frisch destilliert ist es hell, wird aber schon bald dunkel. Im Allgemeinen verwendet man besser helles.

Der hohe Brechungsindex (§ 115) macht es sehr verwendbar als temporäres Einschlußmittel. Auch verbreitet es sich nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 25) nicht leicht über den Objektträger hin, sondern bildet gern hohe Tropfen, eignet sich deswegen für feine Präparationen mit Nadeln; auch daß es die Objekte brüchig macht, ist bei solchen Präparaten oft nützlich. Man kann übrigens Beidem durch Zusatz von Bergamottöl entgegenwirken. — Nach BEHRENS (Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 33) mischt es sich bereits mit Alkohol von 74 % klar. Deswegen ist es von jeher beim Einschließen in Balsam benutzt worden. Man thut aber nach meinen (MAYER) Erfahrungen



gut daran, es bei dickeren Präparaten nachher durch Xylol zu ersetzen, sowohl um sicher zu gehen, daß das Objekt gar kein Wasser mehr enthält, als auch weil das Öl in den Objekten stark nachdunkelt.

Das Nelkenöl löst Celloidin, darf daher nicht ohne Weiteres für Celloidinschnitte angewandt werden. Frisches Öl zieht Theerfarben aus den Objekten leichter aus als altes.

Das Eugenol, der Hauptbestandteil des Nelkenöls, scheint als Intermedium bisher nicht angewandt worden zu sein; leider wird es ebenfalls mit der Zeit am Licht dunkel. — S. auch unten § 146 (MAYER).

**120. Origanumöl** (STIEDA in: Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 433; NEELSEN & SCHIEFFERDECKER in: Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 205). Dünn, hell, braun, verdunstet nicht sehr rasch, verändert sich nicht am Licht, mischt sich mit Chloroformbalsam, verdrängt schon 95%igen Alkohol rasch aus Objekten und Celloidinschnitten, zieht aber die Theerfarben etwas aus, ist also in erster Linie für Celloidinschnitte geeignet.

Obiges gilt nach VAN GIESON (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 482) nur für Ol. Origanum creticum (Spanischhopfenöl), nicht auch für Ol. Origanum gallici. Die Sorten wirken sehr verschieden auf Celloidinschnitte, daher sollte man für ein gutes Öl. — Nach SQUIRE (Methods p. 81) ist das Ol. Origanum des Handels nur verfälschtes Öl von weißem Thymus, und was man als Ol. Origanum creticum verkauft, wahrscheinlich Majoranöl. Ob das für England gilt, mag dahin gestellt bleiben, in Deutschland aber läßt sich beiderlei Öl unverfälscht haben. Der Geruch ist auch so verschieden, daß ich (MAYER) nicht begreife, wie Majoran-, Thymian- und Origanumöl mit einander verwechselt werden können.

**121. Cajeputöl.** Wird bereits von STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 434) erwähnt, aber erst seit NISSL (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 82) ernstlich als Intermedium für Balsam benutzt. Das grüne nimmt vielleicht mehr Wasser auf als das farblose. Der Geruch ist aber auf die Dauer nicht angenehm. — S. auch JORDAN in: Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 46.

**122. Linaloeöl** (von *Bursera aloëxylon*). Von JORDAN (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 51) als brauchbar für Celloidinschnitte empfohlen. Nach meinen (MAYER) Erfahrungen steht es aber hierbei gutem Bergamottöl nach. Als Intermedium für Balsam scheint es mir deswegen brauchbar, weil es stets ganz farblos bleibt; nur ist es empfindlicher gegen nicht wasserfreien Alkohol als z. B. Nelkenöl.

**123. Terpentinöl.** Bereits vor 1860 von CLARKE (Phil. Trans. Vol. 149 1860 p. 459) als Intermedium für uneingebettete Schnitte durch Rückenmark angewandt, wurde es später als Intermedium für Paraffin und zum Entfernen des Paraffins aus den Schnitten benutzt, aber Benzol, Xylol etc. sind hierfür im



Allgemeinen besser. Es wird auch hie und da (z. B. RAWITZ, Leitfaden 2. Aufl. p. 33) gebraucht, um aus den Objekten den Alkohol zu verdrängen, führt aber oft Schrumpfungen herbei. Als Intermedium für Paraffin scheint es (MAYER) mitunter gut zu sein (s. unten § 802 Poso).

**124. Thymianöl.** Nach dem Vorgange von BUMPUS (Amer. Natural. Vol. 26 1892 p. 80) meint FISH (Proc. Amer. Micr. Soc. Vol. 15 1893 p. 86), meist lasse sich das Origanumöl gut, wenn nicht besser durch Thymianöl ersetzen. Das rothe sei als Intermedium genau so gut wie das rectificirte farblose. — Nach BEHRENS (Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 33) dagegen ist Thymianöl noch empfindlicher gegen Wasser als Terpentinöl.

Nach SCHIMMEL & Co. (Bericht vom Oktober 1895 p. 69) wird das weiße Öl in Frankreich mit Terpentinöl (bis zu 50 %) verfälscht.

**125. Zimmtöl (Cassiaöl).** Ähnelte im optischen Verhalten dem Nelkenöl sehr, ist aber meist dünner. Da es sich schon mit Alkohol von 80 % klar mischt, so kann es als Intermedium beim Einbetten in Paraffin und für Celloidinschnitte dienen. Bereits STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 434) empfiehlt es.

**126. Anethol. Anisöl.** Anethol, ein ohne chemische Mittel gereinigtes Anisöl (SCHIMMEL'S Berichte April 1905 p. 10), wird bei etwa 20° C. fest. STEPANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 185) benutzt es daher zum Durchtränken von Celloidinblöcken, um sie auf dem Gefriermikrotom zu schneiden. KÜHNE (Centralbl. Bakt. 12. Bd. 1892 p. 28) empfiehlt dazu das Anisöl, das schon bei 15° C. zum Theil erstarrt ist, durchtränkt aber die Objekte ohne jegliche Einbettung mit dem Öl und bringt sie auf das Mikrotom.

**127. Gaultheriaöl. Methylsalicylat.** Das natürliche Öl (von *Betula lenta*) ist von STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 434) empfohlen und von UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. Ergänzungsh. 1885 p. 53) zum Verdünnen des Kanadabalsams benutzt worden; das künstliche (Methylsalicylat) wird von GUÉGUEN (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 5 1898 p. 285) als Intermedium für Balsam und beim Einbetten in Paraffin gerühmt. Brechungsindex fast wie bei Kanadabalsam.

Nach meinen (MAYER) Erfahrungen ist das Methylsalicylat recht brauchbar, da es farblos bleibt, ohne Rückstand verdunstet und auch die meisten Farben nicht angreift; allerdings löst es etwas Methylgrün auf. Leider ist es sehr empfindlich gegen Wasser. Ein mit Hämalun gefärbtes Präparat, das seit zwölf Jahren darin liegt (umrahmt mit Apáthys Gummisyrup), ist noch ganz unverändert.

**128. Terpeneol.** MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1910 p. 523) empfiehlt das flüssige T. von Schimmel & Co. wegen seines niedrigen Brechungsindex (ungefähr gleich dem des Glycerins) als temporäres oder definitives Einschlußmittel. Es reagirt nicht sauer, bleibt farblos, mischt sich schon mit Alkohol von 90%, ebenso mit Benzol, Xylol etc., riecht angenehm und ist äußerst billig, kann daher das Nelkenöl fast überall ersetzen, löst aber kein Kollodium auf. Über seine Verwend-



barkeit beim Schneiden in Gelatine oder Celloidin s. die Angaben von APÁTHY in § 157, 167 und 201.

**129. Karbolsäure (Phenol).** Wird am besten in konzentrierter Lösung in Alkohol angewandt und durchdringt sogar sehr wasserhaltige Objekte rasch. Man vermeidet sie besser bei weichen Objekten, die man in Balsam einschließen will, da diese nachher gewöhnlich schrumpfen. Dagegen ist sie für Celloidinschnitte gut (s. § 170).

Besonders in England wird die Karbolsäure noch viel von Liebhabern der Mikroskopie zum Entwässern ganzer Insekten benutzt, die auf diese Weise sehr rasch in Balsam gebracht werden können.

**130. Kreosot.** Zuerst 1863 von Kutschin angewandt, dann von STIEDA (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 431) empfohlen. Es hat fast die nämlichen Eigenschaften wie Karbolsäure (§ 129). Man nehme aber Kreosot aus Buchenholztheer.

**131. Anilin (Anilinöl).** Zuerst wurde es wohl von WEIGERT (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 491) im Gemisch mit Xylol für Celloidinschnitte gebraucht. Es ist ein ziemlich wichtiges Intermedium, da es viel Wasser aufnehmen kann: das gewöhnliche ist schon für Schnitte aus 70%igem Alkohol verwendbar, einerlei, ob es farblos oder durch Oxydation braun geworden ist. In schwierigen Fällen muß man aber ganz wasserfreies nehmen (seine Herstellung s. bei SUCHANNEK in: Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 156). Man verwendet Anilin hauptsächlich für Celloidinschnitte (s. § 170), kann es aber auch in derselben Art für Paraffinschnitte benutzen. S. ferner § 141 (CIAGLIŃSKI und SOMMER).

Über **Pyridin** s. oben § 106.

**132. Chloroform.** VON GIESBRECHT (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 483) als Intermedium beim Einbetten in Paraffin eingeführt, wird es in dieser Eigenschaft warm empfohlen, ist aber nicht ohne Kautelen zu gebrauchen. S. hierüber § 141. Auch für Celloidinschnitte ist es verwendbar (§ 170), noch mehr aber zum Härten der Celloidinblöcke (§ 165), ferner für Paraffinschnitte als Intermedium vor Balsam. Da es indessen sehr rasch verdunstet, so wird dabei leicht aus der Luft Wasser auf das Präparat niedergeschlagen (s. § 153).

**133. Benzol, Toluol, Xylol.** Von ihnen ist Benzol am flüchtigsten, dann kommt Toluol und zuletzt Xylol (im Verhältnis von 4:5:9, nach SQUIRE, Methods p. 20). Als Intermedium beim Einbetten in Paraffin ist deshalb nur Benzol mit Vortheil verwendbar (Genaueres in § 142). Umgekehrt dient Xylol als Intermedium für Celloidinschnitte (allerdings nicht allein, sondern mit Karbolsäure, Rizinusöl oder Anilin; s. § 170). Toluol scheint nur wenig benutzt zu werden.



Xylol wurde zuerst von MERKEL (Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 p. 621) angewandt, Toluol von HOLL (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 223), Benzol von BRASS (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 301).

Das käufliche Xylol und Toluol werden in nicht vollen Flaschen nach einiger Zeit sauer; bei Benzol habe ich (MAYER) dies nicht bemerkt.

Alle drei Kohlenwasserstoffe sind gegen Wasser ungemein empfindlich, man muß daher beim Übertragen von ganzen Objekten oder Schnitten aus dem Alkohol sehr darauf achten, daß dieser möglichst wasserfrei sei. Um dies zu umgehen, kann man Chloroform oder nach UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. 19. Bd. 1894 p. 231) ein Gemisch von Xylol und absolutem Alkohol zwischenschalten.

Nach WEIGERT (Centralbl. Allg. Path. 9. Bd. 1898 p. 291) ist es nur ein „sehr verbreitetes Vorurtheil“, daß zur „Aufhellung“ mit Xylol absoluter Alkohol nöthig sei. Weigert nimmt 94%igen, muß aber dabei die von „W. H. Welch im Jahre 1876 erfundene Abtupfungsmethode mit Filtrirpapierbüschen“ anwenden. Eine solche Behandlung vertragen natürlich lange nicht alle Präparate.

**Petroläther** (Naphtha, Ligroin) wurde von FIELD & MARTIN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 10), WLASSAK (Arch. Entwicklungsmech. 6. Bd. 1898 p. 466) und SAMASSA (ibid. 7. Bd. 1898 p. 2) in die Mikrotechnik eingeführt. Sein Kochpunkt liegt je nach der Qualität — es ist kein einheitliches Produkt, sondern ein Gemenge von Pentan, Hexan und Heptan — bei 18—100°, gewöhnlich bei 50—60° C. (der von Benzol bei 80—84°, von Xylol bei 137—140°).

Nach meinen (MAYER) Erfahrungen mit der gewöhnlichen Sorte ist der Petroläther zwar gegen das Wasser im Alkohol ebensowenig empfindlich wie Cedernöl man kann also die Objekte schon aus 95%igem hineinbringen. Aber er verdunstet ungemein rasch; wenn dies nun auch für kleine Stücke lockeren Gewebes beim Einbetten nicht schädlich, sondern unter Umständen sogar vortheilhaft sein mag, so hat es doch schon bei mittelgroßen Stücken zur Folge, daß sich das Intermedium in der Wärme des Thermostaten eher verflüchtigt, als das Paraffin an seine Stelle treten kann. So kommt es zu bedenklichen Schrumpfungen oder unvollständiger Ausfüllung der Hohlräume in den Objekten. Daher sind wenigstens die leicht siedenden Arten des Petroläthers nicht zu empfehlen. Er soll aber osmirtes Fett nicht auflösen, wäre also für diesen speziellen Fall brauchbar.

**134. Schwefelkohlenstoff** (CS<sub>2</sub>). Er wurde zuerst von HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 166) als Intermedium für Paraffin vorgeschlagen, da er mehrere werthvolle Eigenschaften haben soll: er löse ungemein viel Paraffin (schon bei 40° das 3—4fache an Volumen), schade den Färbungen nicht und mache die Objekte besonders gut schneidbar. H. bringt die Objekte in ein Gemisch gleicher Theile von absol. Alkohol und Schwefelkohlenstoff, dann in reinen Schw., von da in eine bei 30° gesättigte Lösung von Paraffin (55° Schmelzp.) in Schw., darauf in eine analoge bei 40 bis 42° hergestellte, endlich auf sehr kurze Zeit in reines Paraffin, das aber nochmals gewechselt wird. Den üblen



Geruch des Schw. verringert man durch möglichst seltenes Bewegen oder Umschütteln der Gefäße, die gut verschlossen sein müssen.

Wie ich (MAYER) finde, lösen bei  $17^{\circ}$  20 ccm  $\text{CS}_2$  über  $4\frac{1}{2}$  g Paraffin (von  $56^{\circ}$  Schm.), bei  $38^{\circ}$  dagegen über 18 g; für Chloroform sind die Zahlen  $1\frac{1}{2}$  und über  $6\frac{1}{2}$ . Dies würde für die Verwendung des Schwefelkohlenstoffes sprechen. Indessen ist er wegen seiner Feuergefährlichkeit und seines Geruches in der Praxis recht unbequem, auch haben mir sorgfältige Vergleiche an schwierigen Objekten (Uterus von *Homo*, Linsen von Fischen etc.) seine Superiorität über dem Benzol oder Chloroform durchaus nicht bewiesen.

**135. Tetrachlorkohlenstoff** ( $\text{CCl}_4$ ) wird von PLEČNIK (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 328) als Intermedium für osmirte Objekte empfohlen, da das osmirte Fett darin unlöslich sei. (S. auch PRANTER, ibid. p. 330.) Für diesen Zweck mag er gut sein, sonst aber habe ich (MAYER) keine Vorthelle an ihm entdeckt. Zwar verdunstet er so rasch wie Benzol (etwa bei  $80^{\circ}$  C.), geht aber in Folge seines sehr hohen spezifischen Gewichtes (1,63) noch schwerer als das Chloroform aus dem Paraffin heraus; auch schwimmen die Objekte, wenn man sie aus Alkohol hineinbringt, auf ihm.



## 6. Kapitel.

**Allgemeines über das Einbetten. Mikrotome.**

**136. Etwas über Mikrotome.** Obwohl es nicht unsere Absicht ist, die Instrumente zum Schneiden genau zu beschreiben, so sind doch vielleicht einige Worte darüber willkommen. Zunächst das Gefriermikrotom: so nützlich es dem Pathologen sein mag, so wenig ist es für den Zoologen von Bedeutung. Zwar lassen sich damit in kürzerer Frist als mit einem anderen Mikrotome ziemlich dünne Schnitte machen, aber sie sind meist nicht recht brauchbar: die Lage der Theile im Schnitte verschiebt sich beim Frieren und noch mehr beim Aufthauen, und Schnittreihen lassen sich gar nicht damit machen. In einigen Fällen mag es jedoch von Nutzen sein (Genaueres s. § 181 ff.).

Für die Zoologen und wohl auch die Anatomen handelt es sich also um ein Mikrotom zum Schneiden eingebetteter Objekte. Nun schneidet man bekanntlich die Objekte in Paraffin stets trocken und häufig mit quergestelltem Messer, die in Celloidin gewöhnlich naß und immer mit schrägem Messer. In der Regel sind daher die Mikrotome für Paraffinschnitte nicht recht geeignet für Celloidinschnitte, und umgekehrt. Ein Laboratorium sollte mithin beide Arten von Instrumenten besitzen. Kann man aber nur für eins die Mittel aufbringen, so sollte dieses jedenfalls beide Arten des Schneidens gestatten.

Als ein solches Universalinstrument möchten wir in erster Linie die Schlittenmikrotome von R. Jung in Heidelberg empfehlen, besonders das mittelgroße Modell (No. 4). Es ist zwar nicht billig, erlaubt aber das Schneiden von Paraffin mit querem und schrägem Messer, ebenso das Schneiden von Celloidin, da der Alkohol zum Befeuchten von Messer und Objekt dem Instrumente nicht schadet, wenn es nach dem Gebrauche wieder gut gereinigt wird. Für sehr große Objekte eignet sich das Tetrander (s. MAYER in Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 52).

Auch die Schlittenmikrotome von A. Becker in Göttingen sind zu empfehlen; wie sich mit ihnen Celloidin schneidet, ist uns nicht bekannt.

Eine andere Kategorie von Mikrotomen beschränkt sich auf die Produktion von Schnittbändern durch Paraffin, ist daher nur mit querem Messer zu brauchen, also nicht universell. Manches Objekt nämlich wird beim Einbetten in Paraffin stellenweise (je nach der Art des Gewebes) so hart, daß es sich zwar mit schrägem Messer noch ohne Mühe schneiden läßt, hingegen mit querem Messer nicht mehr: die Schnitte zerreißen da, wo die harten Massen liegen, oder die harten werden durch die dahinter befindlichen weicheren hindurchgedrückt, etc.



Allerdings arbeiten solche Instrumente sehr viel rascher als die Schlittenmikrotome. Verfügt man also über die Mittel, so kaufe man sich außer einem Schlittenmikrotom eins für Schnittbänder, z. B. das Schaukelmikrotom von Jung (oder von van der Stad in Utrecht). Es ist ein Cambridge Rocking Microtome mit manchen kleinen Verbesserungen, theilt jedoch mit dem englischen den prinzipiellen Fehler, daß es keine geraden Flächen schneidet, sondern Stücke eines Cylindermantels. Zwar darf bei kleinen Objekten, wie sie meist dem Zoologen vorkommen, die Krümmung vernachlässigt werden, indessen wer hierauf Werth legt, möge sich des von Minot angegebenen Instrumentes bedienen, und zwar nach meinen (MAYER) Erfahrungen des amerikanischen Modelles von Bausch & Lomb oder der Form, in der es A. Becker in Göttingen liefert.

Auf eine Besprechung der großen und theueren Instrumente von Giltay und von Strasser glauben wir verzichten zu dürfen. Auch auf die zahlreichen kleineren, wie das von Hatschek, Schaffer etc., wollen wir nicht näher eingehen, sondern verweisen den Leser auf die Beschreibungen in der Zeit. Wiss. Mikr.

Schneideapparate für uneingebettete Membranen, Keimscheiben etc. sind schon sehr früh von HENSEN (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 46), neuerdings von VIRCHOW (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1899 p. 295) und SCHAFFER (ibid. 1900 p. 417) empfohlen worden.

**137. Methoden zum Einbetten.** Man bettet gegenwärtig ein Objekt selten deswegen ein, um es nur mit einer unschädlichen plastischen Masse zu umgeben, sodaß man beim Schneiden durch die Einbettmasse zugleich Schnitte vom Objekt erhält. Sondern man füllt zugleich mit dieser Masse die Hohlräume im Objekte so gut aus, daß alle Organe, ohne Verschiebungen zu erleiden, auf dem Schnitte in situ erhalten bleiben; ja die Masse soll sogar alle Zellen oder sonstige kleinste Theilchen erfüllen, damit diese in den Schnitten ihre natürliche Lage beibehalten.

Dieses Ziel erreicht man gewöhnlich auf zwei Wegen: entweder wird das Objekt mit einer Masse durchtränkt, die in der Wärme flüssig ist, kalt hingegen hart; oder mit einer Substanz, die zwar in Lösung flüssig genug ist, um einzudringen, dagegen nach Entfernung des Solvens zugleich mit dem Objekte hart genug wird, um geschnitten werden zu können. In beiden Fällen heißt das Material zum Einbetten die Einbettmasse. Man unterscheidet also warme Massen (Paraffin etc.) und kalte Massen (Celloidin etc.). S. auch § 140.

Historisches über das Einbetten s. bei APÁTHY, Mikrotechnik 1. Abth. 1896. — Es scheint, als wenn zuerst gegen Ende der 70er Jahre in der Zool. Station zu Neapel die gründliche Durchtränkung der Objekte angestrebt worden sei, und zwar gleich mit Paraffin. Selbst KLEINENBERG (Übersetzung von Foster & Balfour, Grundzüge Entw. Thiere, p. 247) verfuhr 1876 in dieser Beziehung noch nicht rigoros genug.



**138. Gefäße zum Einbetten** und ihre Anwendung. Obwohl zum Einbetten in Paraffin oder Celloidin etc. ziemlich jede flache Glasschale, ein Uhrglas oder ein Gefäß aus einem Metall, das von den Massen nicht angegriffen wird, dienen kann, so hat man doch (besonders für Paraffin) auch eigene Behälter aus Papier oder Formen aus Metall in Gebrauch. In ein solches Papierkästchen (s. unten) gießt man etwas von dem flüssigen Paraffin; sobald dieses sich so weit abgekühlt hat, daß die Objekte nicht mehr hindurch zu Boden sinken würden, bringt man diese in das Kästchen und gießt so viel Paraffin hinzu, bis sie ganz davon umgeben sind. Sollen sie im Kästchen eine bestimmte Lage einnehmen, so gibt man sie ihnen, solange das Paraffin noch flüssig ist, möglichst rasch mit Hülfe genügend erwärmter Nadeln. (Vor dem Schneiden muß natürlich das Kästchen entfernt werden, um den Block frei zu bekommen.) Auch für Celloidin oder Gummi etc. sind diese Formen aus Papier verwendbar.

GIESBRECHT nimmt (nach mündlicher Angabe) zu den Kästchen Stücke dünner Filmrollen, deren Durchsichtigkeit das Orientiren der Objekte unter dem Präparirmikroskope erlaubt.

Papierkästchen macht man wie folgt. Ein Stück Papier  $ABCD$  (Fig. 1)

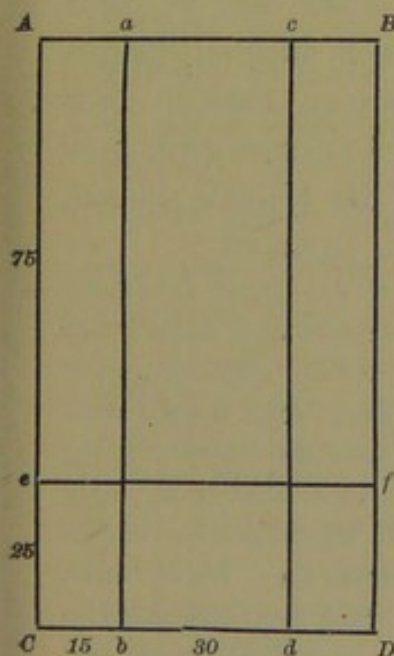


Fig. 1.

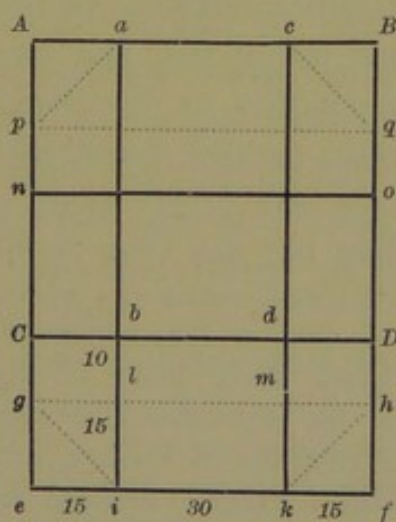


Fig. 2.

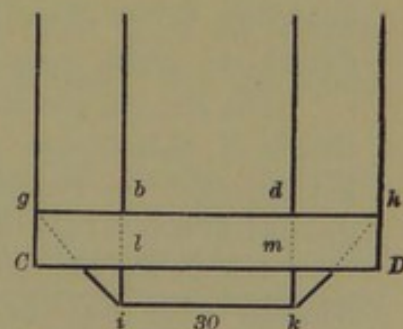


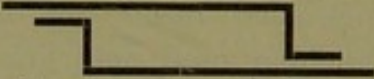
Fig. 3.

faltet es längs  $ef$ . Diese neue Falte läßt man aber bestehen (Fig. 2), schlägt das Dreieck  $egi$  längs  $gi$  so um, daß  $e$  nach  $l$  zu liegen kommt, verfährt mit dem Dreieck  $fhk$  ebenso und klappt zuletzt das Stück  $CDgh$  längs  $gh$  um



(Fig. 3). Nun macht man die nämlichen Operationen am anderen Ende des Papires, bildet also die Falte *no* (Fig. 2), die Dreiecke *Apa* und *Bqc* etc. Hebt man endlich die Falten *gh* und *pq* in die Höhe und drückt die Ecken *i* und *k* (nebst den entsprechenden am anderen Ende) etwas ein, so ist das Kästchen fertig. Ein Stück Papier von  $100 \times 60$  mm ergibt, wenn man die Wände 15 mm hoch macht, ein Kästchen mit einer Grundfläche von  $30 \times 50$  mm.

Zu Papierkapseln nimmt man einen guten Kork, windet einen Papierstreifen mehrere Male herum, aber so, daß er auf der einen Seite vorsteht, und steckt eine Nadel durch das Papier in den Kork. Hat man mit Celloidin oder ähnlichen Massen zu thun, so beschwert man den Kork unten mit Blei, damit er nicht schwimmt, wenn er später in eine Flüssigkeit gelegt wird.

Am bequemsten sind für Paraffin die **Formen aus Metall**: sie bestehen aus Messing, weniger gut aus Lettermetall, und haben die Form von zwei rechten Winkeln  ; als Boden

dient eine Glas- oder Metallplatte, die zuvor ganz dünn mit Glycerin bestrichen (man verreibt einen Tropfen darauf mit dem Finger) und etwas erwärmt wird. Durch Verschieben der beiden Metallstreifen aneinander läßt sich die Länge des Raumes für das Paraffin variiren, nicht jedoch Breite und Höhe; man kommt aber gewöhnlich mit einem Paar Streifen von 1 cm und einem von 2 cm Höhe aus; sie mögen 8 cm lang und 3 cm breit sein. Da sich das Paraffin beim Eingießen an den Metallstreifen abkühlt, so fließt, wenn man es nicht zu hoch erhitzt hat, nichts davon aus, und man kann doch mit heißen Nadeln in der Regel die Objekte in dem noch warmen Paraffin nach Wunsch orientiren (am besten parallel den Streifen). Auch hier gießt man zunächst etwas Paraffin ein und bringt dann erst die Objekte hinein, damit sie nicht unmittelbar auf das Glas zu liegen kommen.

Die Formen von Messing sind zuerst von ANDRES, GIESBRECHT & MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 436) beschrieben worden und haben sich gut bewährt. — FRANKL (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1897 p. 438) empfiehlt geschliffene Glasklötze, die recht praktisch sein mögen, aber theuer sind.

Um die Formen paraffindicht zu machen, sodaß man die Objekte darin beliebig lange Zeit im flüssigen Paraffin belassen kann, bestreicht man nach MAYER (l. c.) die Grundplatte dünn mit Glycerin, setzt die Metallstreifen darauf und gießt die Form voll Kollodium, leert sie aber sofort wieder. Dann bleibt nach dem Verdunsten des Äthers eine ganz feine Schicht von Schießbaumwolle zurück, die kein Paraffin durchläßt. Man darf aber ja die beiden Streifen nicht aus ihrer Lage bringen.

SELENKA (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 419) empfiehlt zum Einbetten unter dem Präpararmikroskop eine in der Mitte zu einem Nöpfchen vertiefte Glasröhre, durch die sich warmes oder kaltes Wasser leiten läßt; Paraffin und Objekte kommen in das Nöpfchen. — Besser ANDREWS (Amer. Natural. Vol. 21



1887 p. 101): eine Flasche von rechtwinkligem Querschnitt, mit Zu- und Ableitrohr für Wasser, liegt horizontal und trägt oben eine Form aus Glasstreifen aufgekittet, in die man das Paraffin gießt. Man läßt warmes Wasser durch die Flasche strömen, bis man das Objekt im flüssigen Paraffin orientiert hat, und kühlt dieses dann rasch ab, indem man kaltes Wasser durchlaufen läßt. — Im Principe den gleichen Apparat hat schon früher MAYER angegeben (s. unten p. 87).

**139. Einbetten sehr kleiner Objekte.** Hierzu dienen am einfachsten Uhrgläser mit stark konvexem Boden, sodaß die Objekte sich in der Mitte leicht ansammeln können. Handelt es sich um Einbettung in Paraffin, so schmilzt man dieses im Uhrglase und gibt dann die Objekte hinein, läßt später die Masse erkalten und schneidet mit einem dünnen, leicht erwärmten Messer das Stück heraus, worin die Objekte sitzen (geht natürlich auch mit Celloidin!). Oder man schiebt erst das ganze Paraffin aus dem Glase heraus und zerschneidet es dann; in diesem Falle reibt man das Uhrglas vor der Benutzung innen mit einem Minimum von Glycerin oder Nelkenöl ein.

MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 130) verwendet für Paraffin eine der überall käuflichen Gelatine kapseln, die er mit der convexen Basis in eine flache Korkscheibe gesteckt hat. Er bringt die Objekte aus dem absoluten Alkohol hinein und behandelt sie, als wenn sie in einem Glastubus wären, regelrecht weiter mit dem Intermedium und dem Paraffin (zuletzt im Thermostaten). Bei sauberem Arbeiten geht von den Objekten keins verloren, besonders da sie nicht mit einer heißen Pipette, in der sie leicht ankleben, übertragen werden müssen. Ist das Intermedium verdunstet und das Paraffin mit der Pipette durch das definitive ersetzt worden, so läßt man die Kapsel mit dem Inhalte erkalten und bringt sie in Wasser, wo sie quillt und sich leicht ablösen läßt.

Der Paraffinblock bildet natürlich einen Cylinder, an dessen convexem Ende die Objekte angehäuft sind. Will man Schnittbänder machen, so umgießt man vorher den Block in einer der gebräuchlichen Messingformen (s. oben p. 78) mit geschmolzenem Paraffin, sodaß er einen rechtwinkligen Querschnitt erhält. (Im Handel sind parallelepipedische Kapseln nicht zu haben.) Cylindrische Kapseln mit flachem Boden lassen sich durch Abschneiden des gewölbten Bodens und Aufkitten des nun offenen Rohres auf ein Stück Gelatineblatt (für Lithographen) leicht anfertigen.

BORGERT (Zeit. Wiss. Z. 63. Bd. 1897 p. 144) läßt Paraffin in einem Uhrglase erstarren, bohrt in der Mitte ein kleines Loch bis auf das Glas, gibt in diese Grube die Objekte mit etwas Benzol und setzt das Glas auf kurze Zeit in den Paraffinofen. Das Paraffin löst sich, wenn das Glas innen ganz sauber war, in kaltem Wasser los. — LEFEVRE (Journ. Appl. Micr. Vol. 5 1903 p. 2080),



benutzt einen Glastrog mit kleiner würfelförmiger Vertiefung in der Mitte, **MAYER** (l. cit.) statt dessen eine zweitheilige Messingform, **METCALF** (Arch. Protistenk. 13. Bd. 1909 p. 203) kombiniert L.'s Methode mit der obigen von Mayer. — **LAUTERBORN** (Zeit. Wiss. Z. 59. Bd. 1895 p. 170) bringt die Objekte aus dem Alkohol in ein sehr kleines Reagensglas, bettet sie in diesem durch Chloroform in Paraffin ein und zerschlägt zuletzt das Glas; er hat sie dann alle auf engem Raum beisammen eingebettet. — **MAIER** (Arch. Protistenk. Jena 2. Bd. 1903 p. 77) schafft Infusorien in ein Röhrchen, das oben und unten durch einen Pfropf von Farnkrautwolle verschlossen wird; darin härtet und färbt er sie, führt sie durch Chloroform in Paraffin (im Ofen nimmt er den oberen Pfropf fort), drückt den Paraffincylinder aus dem Rohre heraus und kittet ihn mit einem heißen Draht in eine Rinne des Blockes fest. — **CAULLERY & CHAPPELLIER** (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 58 1905 p. 454) verwenden ein oben rundes, unten vierkantiges, mit Gaze zugebundenes Rohr. S. auch **CAULLERY & LAVALLÉE** (Arch. Z. Expér. (4) Tome 8 1908 p. 437). — **ENTZ** (Arch. Protistenk. 15. Bd. 1909 p. 98) bringt Tintinnen aus absol. Alkohol ganz allmählich in Nelkenöl, von da in honigdickes Nelkenöl-Kollodium, endlich mit diesem in einen kleinen, senkrecht stehenden Trichter aus Paraffin; haben sie sich darin in der Spitze angesammelt, so wird der Trichter in Chloroform gestellt, das ihn auflöst und das Kollodium härtet. — S. auch § 569 (**BOVERI** etc.) und § 865 (**HOYER** und **SCHAUDINN**).

**SAMTER** (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 469) durchtränkt kleine ungefärbte Objekte, um sie beim Einbetten nicht zu verlieren, mit Paraffin, das mit Alkana-Extrakt stark roth gefärbt worden ist, und bringt sie beim Einbetten in ungefärbtes Paraffin. Die Objekte selber nehmen die Farbe nicht an. — **RHUMBLER** (ibid. 13. Bd. 1896 p. 303) färbt die Objekte schwach mit Eosin (in starkem Alkohol) vor und wäscht dieses aus den Schnitten mit schwachem Alkohol aus.

Über das Orientiren sehr kleiner Objekte s. unten § 146.

**140. Wahl der Methode.** Unter den Methoden für das Einbetten kommen nur zwei ernstlich in Frage: die Paraffinmethode und die Celloidinmethode. Über ihre Vorzüge oder Nachtheile ist viel debattirt worden. Indessen scheint die Sache einfach so zu liegen: Celloidin erlaubt in der Regel keine so dünnen Schnitte, wie der moderne Zootom sie braucht, und so muß man in solchen Fällen Paraffin nehmen. Auf der anderen Seite kann man in Paraffin sehr dünne Schnitte in der Regel doch nicht von großen Objekten gewinnen: haben letztere eine Schnittfläche von reichlich 1 cm Seitenlänge, so schneiden sie sich in Celloidin nicht viel weniger dünn; und wenn die Dimensionen über  $2\frac{1}{2}$  cm hinausgehen, so bekommt man in Paraffin dünne Schnitte lange nicht immer. Im Allgemeinen würde also für sehr große Objekte das Celloidin vorzuziehen sein. Jedoch dauert beim Celloidin das Einbetten, Schneiden und Behandeln der Schnitte viel länger und stellt größere Ansprüche an die Forscher als beim Paraffin;



wer sich also über den Bau eines Objektes rasch und relativ ohne Mühe durch Schnitte orientiren will, wählt ohne Zweifel das Paraffin.

Daß die Gewebe bei gleich sorgfältiger Behandlung im Celloidin weniger leiden als im Paraffin, wird zwar oft behauptet, ist aber nicht erwiesen. Auch hier gibt es natürlich Fälle, wo man nur die eine oder nur die andere Einbettmasse wählen darf; so z. B. ist Celloidin nicht rathsam für schwer durchdringliche Objekte, Paraffin nicht für solche, die leicht schrumpfen. Indessen hängt selbst hierbei so sehr viel — oder vielleicht Alles — von der Geduld und Fertigkeit des Operators ab, daß allgemein gültige Sätze kaum zu formuliren sind.

Daß sich riesige Schnitte auch durch Paraffin erhalten lassen, zeigt STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 7), der Serien von Frontalschnitten von 30  $\mu$  Dicke durch ein ganzes Menschenhirn (Blöcke von 10  $\times$  15 cm Fläche) macht (s. § 670). Es kann es nur nicht Jeder, auch gehören dazu besondere Einrichtungen. Neuerdings habe ich (MAYER) mit dem Jungschen Tetrander, das ein sehr sorgfältiges, langsames Schneiden gestattet, sehr große Schnitte durch Hirn, Placenta und Uterus von *Homo* erhalten: von Placenta bei einer Oberfläche von 6  $\times$  4 cm solche von 10  $\mu$ , bei 6  $\times$  5  $\frac{1}{2}$  cm von 12—15  $\mu$ , bei 4  $\frac{1}{2}$   $\times$  3 cm Serien von 7  $\frac{1}{2}$   $\mu$ ; ferner Längsschnitte durch den ganzen Uterus von 15—6  $\mu$ , aber auch bei anderer Einbettung solche von 30—150  $\mu$ . Die Hauptschwierigkeit bietet hierbei nicht das Schneiden selber, sondern das Hantiren mit den großen dünnen Schnitten, besonders wenn das Gewebe (Placenta) nur wenig inneren Zusammenhang hat: man athmet ordentlich auf, wenn es gelingt, sie unversehrt auf den Objektträger zu befördern. S. auch § 149.

In ganz speziellen Fällen leisten auch Gummi, Seife oder Gelatine gute Dienste. — Über das Einbetten zum Schleifen von Objekten s. unten § 177, für Eisschnitte § 181.



## 7. Kapitel.

**Einbetten in Paraffin und andere warme Massen.****A. Paraffin.**

**141. Durchtränken mit dem Intermedium.** Das erste Stadium im Einbetten besteht im Durchtränken des gut entwässerten Objektes mit einem Solvens des Paraffins. Es muß sorgfältig geschehen, wie in § 113 vorgeschrieben. Der Intermedien hierzu sind zahlreiche empfohlen worden: Terpentinöl, Kreosot, Benzol, Xylol, Petroläther, Cedernöl, Chloroform etc., nur sind sie nicht alle gleich brauchbar.

Terpentinöl dringt zwar gut ein und mischt sich leicht mit Paraffin, diffundiert aber aus großen Stücken nur schwer heraus. Nelkenöl mischt sich nur unvollkommen mit Paraffin und macht die Gewebe rasch brüchig. Benzol ist von BRASS empfohlen worden, Toluol von HOLL (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 223), Naphtha (Benzinum petrolei, Steinöl) von WEBSTER (Journ. Anat. Phys. London Vol. 25 1891 p. 278), Petroläther (s. § 133) von FIELD & MARTIN, WLASSAK und SAMASSA, Methylsalicylat von GUÉGUEN (s. § 127). Xylol soll nach HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker Leipzig 1892 p. 114) die Zellen zum Schrumpfen bringen; H. gebraucht Bergamottöl, das aber nach APÁTHY (Mikrotechnik p. 117) gar nicht zu empfehlen ist. Anilin benutzt CIAGLIŃSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 28) als Intermedium zwischen absolutem Alkohol und Xylol, SOMMER (Arch. Mikr. Anat. 62. Bd. 1903 p. 721) als solches zwischen Alkohol von 85 oder gar 70 % und Schwefelkohlenstoff. Ich (MAYER) habe keinerlei Vortheil davon bemerkt. Schwefelkohlenstoff wird von HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 166—170) ungemein gerühmt, nach meinen Erfahrungen ebenfalls ohne zureichenden Grund (s. § 134). Tetrachlorkohlenstoff (s. § 135) ist nicht besser als Benzol. STRASSER verwendet für seine Riesenschnitte (s. § 670) Karbolxylol; auch dies hat mir (MAYER) in analogen Fällen keinen Vortheil geboten. FEDERICI (Anat. Anz. 31. Bd. 1907 p. 602) braucht Äther.

Nach APÁTHY (s. Behrens, Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 28) lösen sich von Paraffin (Schmelzpunkt 57—58°) bei 20° C. in Benzol 8, Chloroform 10, Toluol 10, Xylol 12, Terpentinöl 8%, dagegen in Cedernöl nur 4—6 (in eingedicktem sogar



nur 1), Thymianöl 4—6, Bergamottöl  $\frac{1}{2}$ —3 % und in Kreosot und Nelkenöl fast gar nichts. Nach GRAEFE (Chem. Centralbl. 1906 1. Bd. p. 874) löst bei 20° 1 ccm Petroläther 200, Chloroform 246, Benzol 285, Tetrachlorkohlenstoff 317 mg Paraffin (Schm. 53 $\frac{1}{2}$ °). Dies giebt, obwohl ja bei höherer Temperatur die Zahlen anders sein werden, wenigstens einen Anhalt zur Beurtheilung der Intermedien.

Das Aceton, das hie und da empfohlen wird, löst so gut wie gar kein Paraffin (MAYER).

Ernstlich in Betracht kommen, wenn nicht ganz spezielle Anforderungen gestellt werden, z. B. daß das Intermedium das osmirte Fett nicht ausziehen oder zarte Färbungen nicht angreifen soll, von dieser großen Schaar nur drei: Benzol, Cedernöl und Chloroform.

Das Chloroform mischt sich gut mit Paraffin, dringt aber nicht leicht ein und erfordert deswegen bei etwas großen Objekten viel Zeit; auch muß man es äußerst sorgfältig entfernen, denn wenn selbst nur Spuren davon zurückbleiben, so schneidet sich das Paraffin nicht gut: die Entfernung kostet mitunter sogar Tage; APÁTHY hat dafür eigene Apparate gebaut (s. Mikrotechnik p. 150). In erster Linie eignet es sich daher für kleine, leicht durchdringbare Objekte.

Wie früher (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 563) halte ich (LEE) auch jetzt noch das Cedernöl im Allgemeinen für das beste Intermedium zur Einbettung in Paraffin. Es dringt sehr rasch ein, erhält die zarten Gewebe am besten von allen mir bekannten Mitteln, macht die Objekte nicht brüchig, auch wenn man sie Monate lang darin läßt, und schädigt selbst bei nicht vollkommener Entfernung aus den Geweben (§ 142) die Schneidfähigkeit des Paraffins nicht ernstlich: ja, ich glaube, es bessert sie mitunter, indem es die Brüchigkeit verringert.

Zwischen den beiden soeben erwähnten Arten der Einbettung bildet die Apáthysche gewissermaßen die Brücke. APÁTHY (Mikrotechnik p. 149) bringt die Objekte aus dem absol. Alkohol nach der Methode von Mayer oder Giesbrecht (§ 113) zum Aufhellen in reines Cedernöl, studirt, mißt und zeichnet sie darin, führt sie dann ebenso behutsam in eine kalt gesättigte Lösung von Paraffin (Schmelzpunkt 55° C.) in Chloroform über, erwärmt sie 1—3 Stunden später darin auf etwa 60°, legt sie auf mehrere Stunden in reines Paraffin von 55° C. und bettet sie zuletzt ein. Der Grund zu dieser Komplikation ist der, daß zum Zeichnen das Objekt wirklich aufgehellt werden muß.

Benzol hat BRASS (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 301) als gutes Intermedium empfohlen, und ich (MAYER) schließe mich ihm darin völlig an. Genauerer hierüber s. in § 142.

Die Methode von Carnoy & Lebrun, um das Brüchigwerden des Dotters beim Einbetten zu verhüten, s. § 580, die ähnliche von van der Stricht § 622.



**142. Überführen in Paraffin.** Einige Autoren verlangsamten absichtlich den Übergang vom Intermedium zum Paraffin: sie bringen das Objekt nach einander in verschiedene Gemische von beiden, die bei niedriger Temperatur (etwa  $35^{\circ}$  C.) geschmolzen bleiben. Das ist bei Cedernöl nicht nöthig; hier wird das Objekt einfach in Paraffin gebracht, das gerade am Schmelzen erhalten wird, und darin bleibt es so lange, bis es ordentlich durchtränkt ist. Jedoch muß man das Paraffin ein oder zwei Mal wechseln, wenn das Objekt so voluminös ist, daß es viel vom Intermedium mit sich geführt hat.

Verwendet man Chloroform, so bieten sich zwei Wege dar: entweder erwärmt man nach GIESBRECHT das Chloroform mit dem Objekte bis zum Schmelzpunkt des Paraffins, setzt dieses allmählich zu und hält die Masse in derselben Wärme solange, bis alles Chloroform entwichen ist; oder man bringt nach BÜTSCHLI (Biol. Centralbl. 1. Jahrg. 1881 p. 591) das Objekt vom Chloroform in warme ( $35^{\circ}$  C.) gesättigte Lösung von Paraffin in Chloroform, läßt es bis zur völligen Durchtränkung darin und treibt das Chloroform bei  $40\text{--}50^{\circ}$  C. aus; größere Objekte aber, wo das völlige Abdunsten sehr lange dauern könnte, gelangen direkt aus dem Gemisch in reines Paraffin.

Giesbrechts Methode (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 484) ist im Einzelnen wie folgt. Die Objekte kommen aus dem absoluten Alkohol in Chloroform, dem eventuell etwas Äther zugesetzt ist, um ihr Schwimmen zu verhüten. Sobald sie sich damit gut durchtränkt haben, wird Alles zusammen bis zum Schmelzpunkte des Paraffins erwärmt, und zugleich werden allmählich kleine Stücke Paraffin hineingeworfen. Sobald keine Gasblasen mehr aus den Objekten aufsteigen, hört man mit dem Zusatz von Paraffin auf, denn alsdann ist das Chloroform ganz durch Paraffin verdrängt. Da dies aber allmählich geschieht, so wird die Schrumpfung der Gewebe auf ein Minimum reduziert.

Ähnlich wie Bütschli verfährt HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker Leipzig 1892 p. 114), nur nimmt er Bergamottöl. RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 164) bringt das Objekt aus dem absol. Alkohol allmählich in Chloroform oder Bergamottöl, dann bei  $50^{\circ}$  C. in Paraffin von  $45^{\circ}$  Schmelzpunkt, bis das Intermedium ganz entfernt ist, endlich auf kurze Zeit in ein solches von  $56^{\circ}$ , das aber vorher auf  $80\text{--}90^{\circ}$  erwärmt worden ist.

Über Apáthys Methode mit Cedernöl und Chloroform s. oben p. 83.

Mit Benzol als Intermedium bettet MAYER (1. Auflage dieses Buches p. 78) seit vielen Jahren wie folgt ein. Die Objekte bringt er aus dem absol. Alkohol je nach ihrer Konsistenz rascher oder langsamer in Benzol, wechselt dieses 1 oder 2 Mal, um sicher allen Alkohol zu entfernen, gibt Stückchen des definitiven Paraffins hinzu



und läßt es sich bei gewöhnlicher Temperatur lösen. Nach mehreren (bis zu 18) Stunden stellt er Objekte und Flüssigkeit in einem offenen Gefäße in das kalte Wasserbad, erwärmt dieses in etwa 2 Stunden auf 60° C., gießt in dem Maße, wie das Benzol verdampft, geschmolzenes Paraffin nach und wechselt zum Schluß das Paraffin nochmals, ehe er zum Einbetten schreitet. Über Nacht läßt er nur ausnahmsweise ein Objekt im Wasserbade.

Letztere Bemerkung scheint mir (MAYER) nicht überflüssig, da in manchen Laboratorien das Wasserbad für das Paraffin Tag und Nacht geheizt bleibt. Dies verführt leicht dazu, auch die Objekte recht lange im geschmolzenen Paraffin zu belassen, in vielen Fällen wohl nur aus Bequemlichkeit.

Die Dauer des Bades richtet sich selbstverständlich nach Art und Größe des Objektes. Ein Embryo von 2—3 mm im Durchmesser kann in einer Stunde gut durchtränkt sein, oft auch schon eher, wenn er vorher in Cedernöl gewesen ist. Jedenfalls muß man die Objekte, sobald sie durchtränkt sind, rasch abkühlen (§ 145). Läßt man sie nämlich zu lange im Bade, so können durch die Wärme zarte Gewebe stark leiden. Daher sollte man nicht nur das weichste Paraffin nehmen, das gerade noch gute Schnitte gibt, sondern auch das Bad so kurz wie möglich dauern lassen.

Während SOBOTTA (Anat. Hefte 1. Abth. 19. Bd. 1902 p. 502) die jungen Embryonen von Salmoniden im geschmolzenen Paraffin „nur Sekunden“ verweilen läßt, müssen die Eier von *Gammarus* nach HEIDECHE (Jena. Zeit. Naturw. 38. Bd. 1904 p. 506), obwohl das Chorion bereits angeritzt ist, 3 Tage lang darin bleiben. Mir (MAYER) ist es nicht gelungen, die Ovarien von *Squilla*, trotzdem ich sie 4 Tage lang bei 60° in einem Gemisch von Benzol und Paraffin hielt, ganz zu durchtränken: zwischen den Eiern ist überall Paraffin vorhanden, in ihnen aber nur hie und da etwas. Bei Terpentinöl oder Schwefelkohlenstoff als Intermedium dasselbe Resultat! Zwar dringen alle diese Flüssigkeiten vollständig ein, aber das Paraffin geht nicht mit ihnen. Ebenso verhalten sich Fischlinsen, obwohl sie im Schwefelkohlenstoff so hell wie Glas werden. (S. auch p. 88 SPALTEHOLZ.)

BRINKMANN (Mitth. Z. Stat. Neapel 16. Bd. 1903 p. 367) hat den Uterus von Selachiern nur dann fein genug (5  $\mu$ ) schneiden können, wenn er ihn 3 bis 5 Tage lang im geschmolzenen Paraffin ließ; ähnlich verfährt MÜLLER (Arch. Mikr. Anat. 69. Bd. 1906 p. 3) mit kleinen Stücken von Säugerlungen. RETTERER (Journ. Anat. Phys. Paris 39. Année 1903 p. 196) dagegen bettet dichtes Bindegewebe, speziell von der Haut, möglichst rasch ein (Genaueres in § 757). METZNER (Encyclop. 1. Bd. p. 32) wieder tritt für das lange Verweilen der Organe mit vielem Bindegewebe in einem Gemisch von Xylol und Paraffin ein, weil sie dadurch leichter schneidbar werden. Die zahlreichen Versuche, die P. POSO und ich (MAYER) mit Scheiben des Uterus von *Homo* angestellt haben, ergeben mit Sicherheit nur, daß auch sehr langes Verweilen



dieses äußerst muskulösen Organs in geschmolzenem Paraffin (von 60°; Wärme des Wasserbades etwa 65°) weder eine besondere Härte noch auch nennenswerthe Schrumpfung zur Folge haben. — S. auch § 802 (Poso).

Über die Qualität des Paraffins s. unten § 154.

**143. Luft- und Wasserbäder.** Das Paraffin darf, während es flüssig ist, durchaus nicht mit Wasserdampf in Berührung kommen. Verwendet man ein Wasserbad beim Einbetten, so achte man hierauf!

In der Zeit. Wiss. Mikr. und anderswo werden allerlei Wasserbäder und Luftbäder für Heizung mit Gas, Alkohol, Petroleum etc. beschrieben. Von ihnen gilt, wie überall: je einfacher, desto besser! Auch hängt viel von der Geschicklichkeit des Forschers ab: man glaubt z. B. oft, ohne Thermostaten gehe es nicht, und doch läßt sich mit einer Spirituslampe, deren Docht man ganz niedrig schraubt und vor Zug schützt, die Temperatur des Paraffins konstant genug erhalten.

**144. Durchtränken bei vermindertem Luftdruck.** Für Objekte, die sich wegen ihrer Größe oder Konsistenz nicht auf die gewöhnliche Art mit Paraffin durchtränken lassen, mag das Einbetten bei vermindertem Druck wichtig sein, da es nicht nur das Eindringen des Paraffins schon in wenigen Minuten zu erlauben, sondern auch das Zusammenfallen der Gewebe zu verhindern scheint, wie es bei Objekten mit großen Hohlräumen im Innern beim gewöhnlichen Einbetten vorkommen kann. HOFFMANN (Z. Anz. 7. Jahrg. 1884 p. 230) bringt das Vacuum durch eine Wasserluftpumpe hervor; das Gefäß mit dem Paraffin steht in einem Exsiccator, der in einem Wasserbade warm erhalten wird und mit der Pumpe durch ein Rohr verbunden ist. — FOL (Lehrbuch p. 121) verfährt etwas einfacher: das Paraffin ist in einem weiten Reagensglase enthalten, durch dessen Kautschukpfropfen ein Rohr zur Verbindung mit der Pumpe geht; das Reagensglas taucht in ein Wasserbad ein. Man pumpt die Luft 1 oder 2 Mal aus, wartet einige Minuten, um sicher zu wissen, daß keine Luftblasen mehr aufsteigen, läßt die Luft wieder ein, gießt das Paraffin aus und bettet das Objekt in frisches Paraffin um. — FRANCOTTE (Bull. Soc. Belg. Micr. 1884 p. 45) bringt das Vacuum durch Kondensation von Wasserdampf hervor; ebenso GARBINI (Manuale Tec. Micr. 4. Ediz. Verona 1899 p. 148). — S. auch FUHRMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 462: „Universal-Paraffineinbettungsthermostat“) und KOLMER & WOLF (ibid. 19. Bd. 1902 p. 148: gefrorene Gewebe werden im luftleeren Raum entwässert und in Paraffin eingebettet).

**145. Einbetten und Abkühlen.** Sobald die Objekte gut mit Paraffin durchtränkt sind, müssen sie nach einer der im § 138 angegebenen Methoden eingebettet werden, falls man sich nicht von vorne herein eines Uhrglases oder eines anderen paraffindichten Gefäßes bedient hat. Stets aber soll das Paraffin so rasch wie möglich erstarren, damit es nicht auskristallisiert, sondern eine leidlich homogene Masse bildet. Hat man also ein Uhrglas benutzt, so läßt man dieses mit den Objekten darin auf kaltem Wasser



schwimmen und taucht es erst dann unter, wenn das Paraffin auch oben fest wird. (Später schneidet man die Blöcke nebst den Objekten mit einem leicht erwärmten Messer heraus.) Ebenso verfährt man mit dem Papierkästchen und den Formen aus Metall. Speziell letztere taucht man nebst der Grundplatte bis etwa zu  $\frac{3}{4}$  ihrer Höhe horizontal in ein geräumiges Gefäß mit Wasser und bläst vorsichtig von oben auf das noch flüssige Paraffin; hat sich dann eine resistente Haut gebildet, so läßt man rasch die Form untersinken, aber so, daß sie sofort mit der ganzen Oberfläche (ja nicht etwa schräg!) unter den Wasserspiegel geräth.

Da das Paraffin sich beim Erstarren ziemlich stark — das von  $55^{\circ}$  Schmelzpunkt nach GRAEFE (Chem. Centralbl. 1910 1. Bd. p. 697) um etwa 15% — zusammenzieht, so baucht sich der Block ein; geschieht das oben, so ist das meist belanglos, nicht aber, wenn davon unten die Objekte tangirt werden. CARAZZI (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1910 p. 532) kühlt deswegen in warmem (bis  $35^{\circ}$ ) Wasser ab, weil in kaltem auch die Unterfläche des Blockes oft concav werde. Ich (MAYER) finde das nicht und ziehe kaltes vor, weil es damit rascher geht. Übrigens hängt die angegebene Erscheinung nicht von der Temperatur des Wassers ab: sorgt man dafür, daß das Paraffin sich beim Abkühlen nicht von der Basis zurückziehen kann, so muß es dort plan bleiben, und die ganze Einbauchung muß oben vor sich gehen. Man braucht also nur die Glas- oder Metallplatte nicht mit Glycerin einzureiben, so zieht sich das Paraffin nur oben zusammen; der Anfänger dagegen nimmt meist zuviel Glycerin, und dann kriecht beim Eintauchen das Wasser sofort zwischen Platte und Paraffin, gibt also letzterem die Möglichkeit, sich auch unten einwärts zu wölben.

SELENKA läßt durch sein Glasrohr (oben p. 78) kaltes Wasser fließen; ähnlich ANDREWS. — Ein kleines transportables Wasserbad hat MAYER angegeben (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 436; Internation. Monatschr. Anat. Hist. 4. Bd. 1887 p. 39); er benutzt es in Verbindung mit seinen paraffindichten Formen (oben p. 78) und bettet damit auch unter dem Präparirmikroskope bei auf- oder durchfallendem Lichte ein, was für kleine Objekte vortheilhaft sein kann. Haben diese ihre definitive Lage erhalten, so läßt er durch das Wasserbad kaltes Wasser strömen, sodaß das Paraffin ohne Erschütterung rasch erstarrt. Weniger einfach verfährt HAHN (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 184).

Kleine Objekte kann man zur Noth wie folgt einbetten. Mit einem warmen Spatel nimmt man sie aus dem flüssigen Paraffin, befreit sie mit Fließpapier vom überschüssigen Paraffin und legt sie auf einen Paraffinblock. Dann schmilzt man mit einem heißen Draht eine Stelle auf der Oberfläche des Blockes, schiebt das Objekt in das geschmolzene Paraffin hinein und legt es darin nach Belieben zurecht. So läßt sich das Objekt direkt auf dem Objekthalter des Mikrotoms oder unter dem Präparirmikroskop einbetten. Indessen darf man ja das Paraffin beim Schmelzen nicht überhitzen oder gar das Objekt mit der heißen Nadel ruiniren. — KERR (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1901 p. 4) hält beim Orientiren



der Eier von *Lepidosiren* im Paraffinblock das Paraffin durch einen Draht, in dem ein elektrischer Strom kreist, flüssig.

Bei sorgfältigem Verfahren darf der Paraffinblock wenigstens nahe beim Objekte keine Blasen, Höhlen etc. zeigen, sondern muß ganz gleichmäßig sein. Ist das nicht der Fall, so kann man versuchen, dem abzuhelfen, indem man mit einer heißen Nadel in die fehlerhaften Stellen einsticht; sind die Schäden aber schlimmer, so bette man die Objekte lieber um, weil man sonst nie gute Schnitte bekommt. Zeigen sich ferner während des Schneidens im Objekte Lücken, so füllt man diese, so gut es geht, mit geschmolzenem Paraffin aus: man legt auf einen kleinen Spatel einige Brocken Paraffin, schmilzt sie und gießt die flüssige Masse auf die Schnittfläche; eventuell treibt man dabei mit einer warmen Nadel behutsam die Luftblasen aus den Lücken hervor. Aber stets wird man wenigstens den ersten Schnitt nicht in der gewünschten Dicke erhalten oder ihn sogar ganz einbüßen.

Einige Forscher geben an, man solle zarte Objekte recht bald nach dem Einbetten schneiden, da das Paraffin nachträglich Kristalle bilden könne. Dies trifft nach unseren Erfahrungen nicht zu. Wie schon oben p. 8 erwähnt, kennen wir kein besseres Mittel zur Aufbewahrung der Gewebe als das Paraffin.

SPALTEHOLZ (Mikroskopie u. Mikrochemie. Leipzig 1904 p. 26 ff.) läßt sich das Paraffin von 52° Schmelzpunkt beim Abkühlen um mindestens 12% zusammenziehen und möchte die hierdurch bewirkte ungleichmäßige Schrumpfung der Gewebe als eine der Ursachen ansehen, weshalb sich manche Objekte so schwer gleichmäßig einbetten und schneiden. Das Paraffin dringe nicht in die allerfeinsten Theilchen ein, sondern umhülle sie nur, denn sonst könne man nicht die Paraffinschnitte färben, ohne das Paraffin vorher wegzuschaffen (s. oben p. 10 die Methode von Mayer etc.). Letzteres kann ich (MAYER) bestätigen: bringt man auf einen angeschnittenen Block eine wässrige Farbstofflösung, so färben sich die Gewebe, quellen dabei auf und erzeugen so auf dem Blocke ein Relief, das sogar über 30  $\mu$  hoch werden mag; am wenigsten quellen die leicht durchtränkbareren Objekte. Bei den aufgeklebten, lufttrockenen Schnitten schützt nicht einmal das Anschmelzen auf den Objektträger vor dem Gefärbtwerden.

**146. Orientiren.** Die in §§ 138, 139 und 145 beschriebenen Manipulationen genügen meist zur definitiven Einbettung. Indessen möchte man zuweilen dem Objekt im Paraffinblock eine ganz bestimmte Lage geben und es auch von außen in dieser bequem sehen. Von den Methoden zu diesem Zwecke seien hier folgende angeführt, bei denen es sich wesentlich um kleine Objekte handelt.

PATTEN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 13) nimmt Schreibpapier mit erhabenen Längs- und Querlinien (Rippen); hiervon schneidet er schmale Streifen und setzt darauf längs einer der Rippen Tröpfchen eines honigdicken Gemisches von Kollodium und Nelkenöl. Die Objekte sind vorher mit Nelken- oder



Bergamottöl durchtränkt worden, werden eins nach dem anderen auf einem spitzen Messer herausgeholt und nach dem Absaugen des Öls mit Filtrirpapier einzeln in die Tropfen befördert, wo sie unter dem Präparirmikroskop orientirt werden und dann ihre Lage beibehalten. Hat man sie so orientirt, daß die spätere Schnittebene den Querrippen parallel läuft, so versenkt man das Papier in Terpentinöl; hierin kleben sie auf dem Papier fest. Darauf wird das Ganze wie gewöhnlich eingebettet. Nach dem Abkühlen unter Wasser schneidet man den Block zurecht und zieht das Papier ab; zur Orientirung bleiben die Abdrücke der Rippen auf dem Paraffin zurück, desgleichen Zahlen etc., die man vor dem Einbetten mit weichem Bleistift auf das Papier geschrieben hatte.

KNOWER (Journ. Morph. Boston Vol. 16 1900 p. 507) verwendet statt des Terpentinöls Xylol und statt des gerippten Papiers glattes, worin er mit einer Nadel parallele Rillen eingräbt. — Etwas komplizirter verfahren WOODWORTH (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 25 1893 p. 45) und DREW (Z. Anz. 23. Bd. 1900 p. 170). — FIELD & MARTIN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 11) nehmen statt des Papiers schmale Streifen von Gelatine. — YATSU (Journ. Appl. Micr. Vol. 6 1904 p. 2670) schneidet von der Alge *Ulva*, die vorher in Alkohol gebleicht und mit Boraxkarmin schwach gefärbt worden ist, ein rechtwinkliges Plättchen ab, bringt es in Nelkenöl, preßt es zwischen den Fingern flach, bestreicht es mit ganz wenig Kollodium-Nelkenöl, orientirt die Objekte (aus Nelkenöl) darauf längs einer der Kanten und klebt sie durch Xylol fest. Die *Ulva* wird mitgeschnitten und dient als Richtebene für Rekonstruktionen. — Die Methoden von SCHYDLOWSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 200) und NOACK (ibid. 15. Bd. 1899 p. 438) sind wohl nicht allgemein brauchbar; über die von SAMTER (ibid. 13. Bd. 1897 p. 441) für kleine kugelige Objekte s. p. 92 der 3. Aufl. dieses Buches.

HOFFMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 314) modifizirt die Methode von Patten gründlich dahin, daß er statt des Papiers Glasstreifen nimmt und die Objekte sich mit dem Kollodium-Nelkenöl ganz durchtränken läßt, sodaß sie durchsichtig werden und sich nach den inneren Organen orientiren lassen; dann bringt er sie durch Xylol hindurch auf höchstens 5 Minuten in das Paraffin. Letzteres dient ihm also offenbar nur zur Umkleidung des erstarrten Celloidintropfens, und so schneidet er eigentlich die Objekte in Celloidin, hat aber dabei doch Schnittserien von 4  $\mu$  erhalten. Bleiben aber die Objekte trotz der Durchtränkung undurchsichtig, müssen also nach den äußeren Umrissen orientirt werden, so thut er (ibid. 17. Bd. 1901 p. 444) dies unter 90 %igem Alkohol, worin ihre Gestalt scharf hervortritt. Im Xylol wird das Celloidin zunächst trübe, später aber wieder klar. — Auf ähnlichen Prinzipien beruht das Verfahren von JORDAN (ibid. 16. Bd. 1899 p. 33), das aber einen eigenen Apparat nöthig macht. Das Mittel zum Einbetten ist hier Kollodium mit Cedernöl. — ENTZ (Arch. Protistenk. 15. Bd. 1909 p. 98) orientirt die mit Koll.-Nelk. durchtränkten Objekte auf einem mit Paraffin dünn überzogenen Deckglase und bringt dieses dann in Chloroform, wo das Gemisch mit den Objekten zu einer Lamelle erstarrt und sich vom Deckglase ablöst. — S. auch § 591 (CERFONTAINE).

Mir (MAYER) hat Hoffmanns Methode für kleine Eier und Embryonen gute Dienste geleistet. Ich nehme zum Orientiren Streifen



lithographischer Gelatine, die an einem Ende aufgebogen sind, also bequem mit einer Pinzette transportirt werden können, lasse das Kollodium in Benzol erstarren, bette in Paraffin ein, orientire den Block auf dem Mikrotom nach der vorher dazu bestimmten Kante des Streifens und löse diesen erst dann mit einem Messerchen ab. Statt des Nelkenöls verwende ich Eugenol.

S. auch § 570 über Richtebenen und Richtlinien.

**147. Einstellung des Messers beim Schneiden.** Nicht selten erhält man von sorgfältig eingebetteten Objekten keine guten Schnitte: sie sind zusammengeschoben oder verzerrt, zerrissen, ungleichmäßig dick etc. Dies kann von der unrichtigen Form oder Härte des Blockes abhängen — s. hierüber § 148 und 151 — aber auch von der falschen Einstellung des Messers in Hinsicht auf die Richtung der Schneide oder die Elevation des Rückens über der Schneide.

Was die Richtung der Schneide zur Bahn angeht, so lassen sich schwierige Objekte mit längsgestelltem Messer eher gut schneiden als mit queren (und mit einem langsam arbeitenden Mikrotom besser als mit einem Schaukelmikrotom oder ähnlichen Instrumenten, wo das Messer äußerst geschwind quer durch das Paraffin fährt). Persönlich mache ich (MAYER) immer wieder die Erfahrung, daß häufig ein Thier mit starker Muskulatur oder dicker Epidermis, oder ein Darm mit seinen Contentis sich mit quergestelltem Messer nur schlecht, ja selbst gar nicht schneiden läßt, sofort aber ganz leicht und tadellos schneidbar wird, wenn man das Messer längs stellt.

Von neueren Autoren reden zu Gunsten des längsgestellten Messers RAWITZ (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 65) und APÁTHY (Mikrotechnik p. 183); R. unbedingt und A. wenigstens dann, wenn es sich um die Rekonstruktion („Synthese“) handelt, wobei ja die Schnitte nicht merklich ver- oder zusammengeschoben sein dürfen. Dagegen schneidet RABL Embryonen stets mit queren Messer, und HEIDENHAIN betrachtet diese Stellung sogar als selbstverständlich. S. auch die Behandlung dieser Materie bei APÁTHY (Sitzungsb. Med. Nat. Section Siebenbürg. Museumver. 19. Bd. 1897 p. 11; kürzer in: Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 157, ibid. 1898 p. 332).

Über die Schneide der Rasirmesser s. auch MALLOCK (Proc. R. Soc. London Vol. 60 1896 p. 164) und FUNCK (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 75).

Die Elevation des Rückens über der Schneide (hier ist nur von Schlittenmikrotomen mit horizontaler Messerbahn die Rede) hat man früher sehr vernachlässigt, und erst neuerdings sind Messerhalter mit Einrichtungen zu ausgiebiger und zuverlässiger Änderung in der Elevation zu haben. Meist treffen freilich rein empirisch



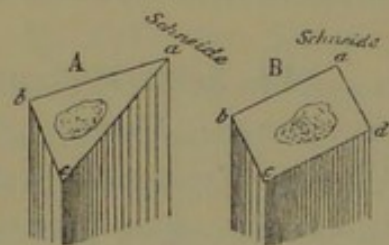
auch die einfachen Halter so ziemlich das Richtige, denn sie verleihen dem Messer eine solche Lage, daß die Unterkante des Rückens um einige Winkelgrade höher verläuft als die Schneide. Verlaufen nämlich diese beiden annähernd in derselben Horizontalen, so schneidet das Messer, da es beim Schleifen auch auf seiner Unterseite eine Facette erhalten hat, nicht ordentlich: entweder es gleitet über das Paraffin hin und drückt es dabei etwas zusammen, oder es liefert einen zu dicken, meist keilförmigen Schnitt. Je weicher nun das Objekt ist, desto stärker muß der Messerrücken gehoben werden; ebenso, je schräger das Messer zur Bahn steht. Macht man aber die Elevation zu stark, so schneidet das Messer schon bald das Objekt nicht mehr regelrecht, sondern kratzt davon Brocken ab. Besonders fatal wird eine falsche Elevation bei genau quermessendem Messer und harten Objekten, und daher muß man hier beim Ausprobieren besonders sorgfältig verfahren.

Sind die Messer planconcav geschliffen, so hat man es je nach der Lage der planen Seite im Messerhalter (ob unten oder oben) mit verschiedenen Elevationen zu thun; daher genügt mitunter schon das Umdrehen des Messers, um gute Schnitte zu bekommen, wenn sie vorher nicht zu erhalten waren. — S. auch hierüber die Auseinandersetzung bei APÁTHY und die mehr praktischen Bemerkungen von MAYER & SCHOEDEL (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 29).

An den Mikrotomen mit festem Messer scheinen die obigen Punkte in der Literatur bisher nicht erörtert worden zu sein; sie müssen sich aber analog verhalten, und nur bei den Schaukelmikrotomen werden sie etwas kompliziert sein.

#### 148. Form und Orientirung des Paraffinblocks beim Schneiden.

Je nachdem man mit längs- oder mit quergestelltem Messer schneiden will, muß man dem Paraffinblock eine andere Form geben. Im ersten Falle (Fig. A) schneidet man ihn (aus freier Hand) zu einem dreiseitigen Prisma zu und orientirt dieses so, daß das Messer am Eck *a* einschneidet und am Eck *c* austritt; alsdann haftet der Schnitt auf der Schneide nur mit dem Punkt *c*, kann also leicht mit Pincette, Nadel oder Pinsel abgenommen werden. Das Objekt liege nahe der Linie *bc*, damit man zunächst nur Paraffin schneide und dieses, falls es sich rollen will, mit dem Schnittstrecker oder Pinsel etc. flachdrücken könne, bevor das Objekt selber geschnitten wird. Im zweiten Falle (B) schneidet man besser den Block zu einem rechtwinkligen Prisma zu und orientirt ihn ähnlich wie beim schrägen Messer, also





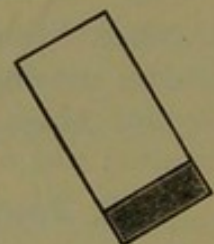
derart, daß die Schneide bei  $a$  ein-, bei  $c$  austritt; will man jedoch Bänder schneiden (§ 151), so müssen  $ad$  und  $bc$  unter sich genau parallel sein und auch parallel zur Schneide gerichtet werden.

Es ist nicht immer einerlei, von welcher Seite man das Objekt anschneidet: ist es einigermaßen groß, nicht isodiametrisch und gar von ungleichmäßiger Textur, so bekommt man oft schlechte Schnitte, die sich zusammenschieben oder zerreißen, während man gleich darauf, wenn man es anders zum Messer gestellt hat, tadellose Schnitte erhält. Objekte von länglichem Querschnitte, besonders schwer schneidbare, sind stets so zu orientiren, daß von der Messerschneide ein möglichst kurzes Stück in Thätigkeit tritt; denn nur so ist der Widerstand beim Schneiden relativ gering, während er sonst leicht so groß wird, daß die Schneide sich entweder aufbiegt oder in den Block eingräbt. Dies ist bei Längsschnitten durch Würmer, *Amphioxus*, Embryonen von Vertebraten etc. wohl zu beachten. Namentlich bei quergestelltem Messer biete man ihm die schmale Seite des Objektes dar, und nur wenn diese besonders hart oder sonst schwer schneidbar ist, lasse man das Messer nicht gleich die ganze Seite auf einmal erfassen, sondern drehe den Block so, daß es an einer Spitze eindringt. In der Regel ist hiernach die

Stellung so



und nur ausnahmsweise so



;

im letzteren Falle muß man auch dafür sorgen, daß von den beiden Schmalseiten die harte (in der Figur schwarz gehalten) vom Messer zuletzt durchschnitten wird.

**149. Schneiden und Strecken der Schnitte.** Paraffin wird mit trockenem Messer geschnitten, d. h. das Messer wird nicht mit Alkohol, Wasser etc. befeuchtet. So werden die Schnitte zwar besser, rollen sich aber gern auf der Schneide zusammen. Zur Vermeidung des Rollens darf das Paraffin nicht zu hart sein, sondern sein Schmelzpunkt muß der Temperatur im Laboratorium und der Dünne der Schnitte entsprechen (Näheres hierüber in § 154). Ferner kann man oft durch Verringern der Dicke der Schnitte das Rollen beseitigen oder wenigstens unschädlich machen. Endlich schneidet man, wenn



es überhaupt geht, besser Bänder (§ 151) als einzelne Schnitte: oft werden jene ganz flach, während die Schnitte sich rollen.

Zeigt sich beim Schneiden das Paraffin zu hart, so stellt man nach FOL (Lehrbuch p. 123) eine Lampe mit einem parabolischen Reflektor neben dem Mikrotom so auf, daß die Wärmestrahlen auf das Objekt fallen; die richtige Temperatur erhält man durch Verschieben der Lampe. (Auch eine Spirituslampe bringt mitunter in wenigen Minuten das Paraffin zur richtigen Konsistenz, wärmt allerdings den Block nicht gleichmäßig durch.) Ist es dagegen zu weich, so legt man in das Centrum des Reflektors ein Stück Eis. Oft genügt schon das Öffnen oder Schließen der Fenster, das Anschüren des Feuers im Ofen etc. — S. auch unten § 584 (HOSKINS).

HELD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1897 p. 345) läßt zum Erwärmen oder Abkühlen des Paraffinblocks und des Messers kaltes oder warmes Wasser in einem dünnen Bleirohr um den Rücken des Messers und in einem Kästchen um das Paraffin fließen. Letzteres mag bei  $56^{\circ}$  C. schmelzen und liefert doch durch Abkühlung auf  $14^{\circ}$  C. gute Schnitte bis zu  $1\ \mu$ , durch Erwärmung auf  $26\frac{1}{2}^{\circ}$  solche von  $100\ \mu$ . — S. auch VAN WALSEM (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 218). — LENDENFELD (ibid. 18. Bd. 1901 p. 18) bläst durch ein Wasserstrahlgebläse kalte oder warme Luft auf den Paraffinblock. — FOOT & STROBELL (Biol. Bull. Woods Holl Vol. 9 1905 p. 281) stülpen über das Mikrotom einen Kasten mit einer Decke aus dickem Glas und doppelten Seitenwänden, und kühlen durch Eintragung von Eis und Salz zwischen letztere das Instrument und Objekt über Nacht auf unter Null ( $25^{\circ}$  F.) ab. Zum Schneiden am nächsten Morgen werden beide Arme, mit dicken Handschuhen bekleidet, durch dicht anschließende Öffnungen in den Seitenwänden geschoben. So gelingen Schnittserien von  $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}\ \mu$  Dicke ohne Zusammenschiebung. — KRAUSE (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 299) bettet in Paraffin von  $38^{\circ}$  Schmelzpunkt ein, bringt den Block möglichst rasch (eventuell in Eiswasser) zur Erstarrung und kühlt ihn vor dem Schneiden in einem eigenen Apparate mit fester Kohlensäure ab; für Schnitte von  $5\ \mu$  und dünner kühlt er auch das Messer.

Man hat auch eigene Einbettmassen gegen das Rollen empfohlen, z. B. ein Gemisch von 4 Theilen Paraffin und 1 Theil Vaseline, vermeidet indessen diese besser. Dagegen kann man mechanische Mittel anwenden; am einfachsten hält man die Ecke des Schnittes, die zu rollen anfängt, mit der Spitze eines Pinsels oder einem Papierstreifen, der an einem Skalpell steckt, nieder. Oder man bedient sich eines Schnittstreckers, d. h. eines kleinen Metalleylinders, unter dem der Schnitt mit leichter Reibung hindurch muß und so am Rollen verhindert wird. Wer sich auf einen solchen Apparat eingeübt hat, wird ihn meist nicht missen wollen, aber auch der beste ist nicht immer zu brauchen, besonders nicht, wenn die Schnitte bröckeln. Andererseits gewährt ein Schnittstreckter namentlich bei stundenlangem Schneiden eine große Erleichterung. Beim Bänderschneiden (§ 151) ist er kaum nöthig.



Literatur über Schnittstrecker: SCHULZE (Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 100); ANDRES, GIESBRECHT & MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 429); DECKER (Arch. Mikr. Anat. 23. Bd. 1884 p. 537; ähnlich dem von Mayer); MAYER (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 40); FRANCOTTE (Bull. Soc. Belg. Micr. Tome 10 1883 p. 55; Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 572); STRASSER (ibid. 4. Bd. 1887 p. 218; 7. Bd. 1890 p. 291; nur für ganz große Schnitte); KLERCKER (Verh. Biol. Ver. Stockholm 4. Bd. 1892 p. 16; gar zu primitiv); BORN (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 157); KORNAUTH (ibid. 13. Bd. 1896 p. 160; ähnlich dem von Mayer); am besten von allen diesen sind der von Mayer und der freilich nicht so handliche von Born.

ANILE (Glandole duodenali Napoli 1903 p. 51) legt nach der Methode von Coraini beim Schneiden ein Stück nassen Filtrirpapiers, etwas kleiner als die Oberfläche, auf den Block und bringt Schnitt und Papier in warmes Wasser, wo beide sich trennen, oder klebt den Schnitt, noch mit dem Papier, auf einem Deckglase fest und löst das Papier erst im Xylol ab. Mir (MAYER) hat dieses umständliche Verfahren keine gute Dienste geleistet. — VASTARINI-CRESI (Monit. Z. Ital. Anno 17 1906 p. 164) nimmt das Papier schmaler, aber länger als die Oberfläche, läßt es vorn etwas überstehen, packt es hier mit der Pinzette und hebt es, wenn der Schnitt auf dem Objektträger liegt, davon ab, benutzt es also für viele Schnitte.

Ein anderes Verfahren besteht darin, die Schnitte sich rollen zu lassen, aber das Rollen zu kontrolliren. Der Paraffinblock wird zu einem Keil zugeschnitten, der etwa 5—6 mal so lang wie breit ist; das Objekt liegt dicht an der Basis des Keils, und die Spitze sieht gegen das Messer. Nun dürfen sich die Schnitte ruhig rollen, denn das Ende der Rolle, wo das Objekt liegt, wird beinahe flach.

Wenn sich dagegen die Schnitte zusammenschieben oder wellig werden, so ist entweder das Messer nicht recht scharf oder das Paraffin zu weich; auch kann beides der Fall sein. Sind die Falten nicht gar zu hoch und eng, so lassen sie sich mit warmem Wasser wieder glätten (s. § 152), sind also in der Regel nicht gerade schädlich.

Rillen in den Schnitten rühren, wenn sie parallel zur Zugrichtung des Messers verlaufen, meist von Fehlern an der Schneide her, seltener von kleinen harten Körpern im Objekte, die sich beim Schneiden ablösen und nun vom Messer über die Fläche des Blockes hinweggeführt werden. In extremen Fällen erhält man statt eines einheitlichen Schnittes mehrere schmale Streifen, so besonders beim quergestellten Messer.

Bei Objekten von großer Oberfläche (20—50 qcm) ist weniger das Schneiden selbst als das Übertragen der Schnitte vom Mikrotome auf den Objektträger schwierig, besonders da sich der Schnitt gern der oberen Fläche des Messers dicht anschmiegt und dabei in Falten legt. MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 61) hilft dem einigermaßen dadurch ab, daß er während des Schneidens Klinge und Block stark anhaucht, den Schnitt mit einer Pinzette am Vorderrande faßt und ihn allmählich in die Luft erhebt, sodaß er gedehnt bleibt. Noch besser läßt man ihn sich um ein Glasrohr rollen, das auf dem Blocke dicht vor



der Schneide liegt und von dieser allmählich über den Block fortgerollt wird, dabei also den Schnitt mit sich führt, wenn man diesen vorher am Vorderrande mit einem Pinsel sanft an das Rohr angedrückt hat. Ist der Schnitt fertig, so bewahrt man das Rohr vor dem Herabfallen vom Blocke dadurch, daß man eine Pinzette oder den Finger hineinschiebt; man neigt es dann über einem Teller mit Wasser so, daß das Ende des Schnittes auf dieses zu liegen kommt, rollt den Schnitt wieder ab und schiebt ihn auf einen darunter eingetauchten Objektträger. Statt des Glasrohres, das bei großer Weite leicht zu schwer wird, kann man an dem einen Ende offene Gelatinkapseln nehmen, die man eventuell durch ein zum Theile darüber geschobenes Rohr aus Celloidin (einen photographischen Film; als Klebemittel dient Aceton) verlängert.

**150. Behandeln brüchiger Objekte.** Manche Objekte sind so brüchig, daß sie trotz aller Vorsicht beim Schneiden krümelnd oder Schnitte liefern, die man nicht unverletzt auf den Objektträger bringen kann. Dies gilt oft von Eiern. Man hilft dem dadurch ab, daß man die obere Fläche des Blockes vor jedem Schnitte ganz dünn mit einer Masse überstreicht, die den Schnitt zusammenhält, also mit Kollodium, Mastix etc. oder Paraffin. Bei nicht besonders zerbrechlichen Objekten gewährt dies die Möglichkeit, viel dünner zu schneiden als sonst: BÜTSCHLI (Unters. Mikr. Schäume 1892 p. 80) hat so Schnitte von weniger als  $1\ \mu$  Dicke erzielt.

MARK (Amer. Natural. Vol. 19 1885 p. 628) nimmt ein so schwaches Kollodium, daß es in dünner Schicht auf dem Blocke in 2—3 Sekunden fest wird, ohne zu glänzen, taucht einen Pinsel nur mit der Spitze hinein, streicht ihn am Halse der Flasche ab und fährt damit über den Block hin; sobald das Kollodium trocken ist, schneidet er, schiebt das Messer zurück und bestreicht sofort wieder den Block, sodaß dieser trocknet, während man den vorigen Schnitt vom Messer nimmt. — HENKING (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 478) rät zum Bestreichen eine Lösung von Paraffin in absol. Alkohol an, ferner für äußerst zerbrechliche Objekte (Eier von Phalangiden) eine schwache Lösung von Schellack in absolutem Alkohol. — HEIDER (Embryonalentwicklung von *Hydrophilus* 1889 p. 12) löst Mastix in Äther zu einem Syrup, mischt diesen mit dem gleichen Volumen Kollodium und verdünnt stark mit Äther. — RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 170) streicht Paraffin, das bei etwa  $52^{\circ}$  C. schmilzt, aber auf einem Wasserbade weit höher erwärmt worden ist, mit einem Pinsel rasch über die Schnittfläche des Blockes hin und erhält dann zusammenhängende Schnitte, die sich gar nicht oder kaum rollen. — APÁTHY (Mikrotechnik p. 183) bedient sich der 1%igen Lösung von Celloidin, während JORDAN (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 192) der  $\frac{1}{2}$ —1%igen Lösung auf etwa 15 ccm 5 Tropfen Cedernöl zufügt.

Nach meinen (MAYER) Erfahrungen ist zwar Celloidin beim Schneiden besser als Schellack, aber dieser löst sich später im absol. Alkohol wieder auf, erschwert also die nachträgliche Färbung der Schnitte nicht.



**151. Bandschneiden.** Wenn man mehrere Schnitte hintereinander schneidet und auf dem Messer liegen läßt, statt jeden einzeln wegzunehmen, so haften sie nicht selten mit den Rändern aneinander und bilden so ein Band, das man auf den Objektträger bringen kann. Dies erleichtert natürlich das Schneiden oft sehr. Zur Erzielung eines Bandes ist Folgendes notwendig: 1. muß der Schmelzpunkt des Paraffins der richtige sein (s. § 154); 2. muß das Messer quer stehen; 3. muß der Block in ganz bestimmter Weise zugeschnitten sein und zur Messerschneide parallel stehen (s. Figur B. auf p. 91); 4. muß man rasch schneiden, denn der Druck des Messers erzeugt dann etwas Wärme, und so werden die Ränder des Paraffins etwas weich, sodaß die Schnitte aneinanderkleben.

Zur Herstellung von Bändern braucht man durchaus kein besonderes Mikrotom, sondern das Jungsche Schlittenmikrotom thut es auch, wenn nur die Messerbahn gut geölt ist. Allerdings sind die automatischen Mikrotome hierfür besser, und unter diesen wieder das Schaukelmikrotom und das von Minot (s. § 136). Dagegen umgibt man (mit Caldwell, s. unten) zweckmäßig den Block mit einem Mantel von weichem Paraffin, damit die Schnitte besser aneinander haften. Dies ist zwar nicht geradezu nöthig, wenn man in ziemlich weiches Paraffin eingebettet hat und bei der richtigen Temperatur schneidet. Aber selbst dann mögen dünne Schnitte ohne Weiteres Bänder bilden, dickere von demselben Blocke hingegen nicht. Bettet man gar die Objekte in Paraffin von 55–60° Schmelzpunkt ein, so ist es für Schnitte von 10  $\mu$  absolut nöthig und für dünnere rathsam, den Mantel von weichem Paraffin (etwa 40° Schmelzp.) anzubringen.

Man verfährt dabei so: ist der Block zugeschnitten, wie in Fig. B. auf p. 91, so taucht man ihn in das weiche Paraffin, das man in einem Wasserbade auf etwa 80° erhitzt hat, einen Augenblick ein, dreht ihn sofort um, damit das flüssige Paraffin sich möglichst an die Basis des Blockes ziehe, läßt ihn wieder erkalten und schneidet an den Flächen *a b* und *c d*, nicht aber auch an *b c* und *a d*, das weiche Paraffin weg. Bei großen Objekten macht man den Mantel durch zweimaliges Eintauchen stärker. Den Block muß man aber in das Mikrotom genau so wie vorher einsetzen, d. h. mit den Kanten *a d* und *b c* parallel zur Messerschneide; am Jungschen Schaukelmikrotom ist dazu eine sehr einfache Vorrichtung angebracht.

Objekte von ungleicher Textur oder erheblicher Größe schneiden sich in Bändern viel schlechter als mit längsgestelltem Messer; besonders solche mit Chitin oder viel Muskulatur. Bänder schneidet man also nur, wenn lange aber schmale Würmer, Embryonen etc. in Quer-



schnitte zu zerlegen sind, oder wenn man sich rasch über den Bau eines Organs oder Thieres orientiren will, endlich wenn in Kursen viele Schnitte zur Vertheilung an die Praktikanten gelangen sollen. So sicher, wie man mit dem längsgestellten Messer in ruhigem Tempo einen Schnitt nach dem anderen erhält, arbeitet man nach der Bandmethode wohl nie, spart dafür allerdings ziemlich viel Zeit.

Erfunden wurde das Bandschneiden von CALDWELL (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 430); später kam SPEE (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 7) auf denselben Gedanken.

Zum genauen Zuschneiden des Blockes sind kleine Apparate empfohlen worden, so neuerdings ein sehr komplizirter von ETERNOD (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 421) und ein relativ einfacher von SCHAFER (ibid. 16. Bd. 1900 p. 417). Beide beruhen auf dem Prinzip des Fallbeiles. Das Mikrotom selber verwendet dagegen KASTSCHENKO (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1886 p. 391); s. auch § 570. In der Regel wird man dieser Vorkehrungen nicht bedürfen, sondern sich auf dem Block die Linien mit einer Nadel vorzeichnen und danach mit einem scharfen Messer behutsam das überstehende Paraffin abtragen.

Mitunter wird das Schnittband beim Schneiden elektrisch und beschreibt nun in der Luft allerlei Kurven, schmiegt sich auch in unerwünschter Art an feste Gegenstände an. Auch sehr große Schnitte durch hartes Gewebe verhalten sich zuweilen so. DIXON (Nature Vol. 70 1904 p. 198) will dies dadurch verhindern, daß er auf dem Messer ganz nahe beim Bande ein Röhrchen mit 5 mg Radiumbromid anbringt. (Ähnlich GAGER in: Science (2) Vol. 25 1907 p. 590.) Ich (MAYER) hauche einfach ganz vorsichtig auf die Schnitte und erziele so meist denselben Effekt.

Zum bequemen Führen der Schnittbänder während ihrer Entstehung gibt es eigene Apparate. So ist z. B. am Jungschen Schaukelmikrotom ein ziemlich langes Band ohne Ende angebracht, das sich selbstthätig in dem Maße fortbewegt, wie die Schnitte sich auf dem Messer weiterschieben; man hat nur je nach den Dimensionen des Schnittes einen Hebel richtig einzustellen. Für das Schlittenmikrotom liefert Jung seit einigen Jahren nach meinen (MAYER) Angaben eine sehr einfache kleine Vorrichtung, die auf das Messer aufgesteckt wird, aber natürlich nur relativ kurze Bänder transportirt. Viel complicirter verfährt HENNEBERG (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 274).

**152. Glätten der Schnitte.** Haben sich die Schnitte beim Schneiden gefaltet, so glättet man sie, indem man sie auf warmes Wasser (in einem flachen Gefäß) bringt, sie hier schwimmen läßt, wobei sie glatt werden, und von da auf den Objektträger schafft; oder — besonders wenn es sich um einzelne Schnitte, nicht um Bänder handelt — indem man die Schnitte auf den benetzten Objektträger legt und diesen auf etwa 45—50° C. erwärmt, bis sie sich strecken.



Letztere Methode dient auch zum Aufkleben der Schnitte. Genaueres s. in § 186 und 188.

**153. Einschließen der Schnitte.** Sind die Schnitte geglättet und (falls man sie nicht etwa lose behandeln will) gut auf dem Objektträger befestigt (§ 185 ff.), so hat man nur noch das Paraffin zu entfernen und kann sie dann direkt oder erst nach der Färbung in Harz (Balsam, Dammar etc.) oder wässrige Flüssigkeiten (Glycerin etc.) einschließen. Als Lösemittel des Paraffins sind empfohlen worden: Terpentinöl, auch im Gemisch mit Kreosot oder Nelkenöl, ferner Kreosot, Benzol, Toluol, Xylol, heißer absoluter Alkohol, Chloroform etc. Am besten eignen sich wohl Xylol und Toluol. Chloroform und Benzol sind arg flüchtig, und man muß daher schon recht geschickt verfahren, wenn man Harz und Deckglas auf die Schnitte bringen will, bevor diese trocken geworden sind.

Hat man die Schnitte auf dem Objektträger bis zum Schmelzen des Paraffins erwärmt, so löst sich dieses, wenn man den Objektträger in ein Glas mit Xylol oder Toluol bringt, natürlich viel rascher als sonst. Will man sie nun in Harz einschließen, so kann dies sofort geschehen, will man sie färben, so wandert der Objektträger zunächst in ein Glas voll Alkohol, um das Xylol etc. zu entfernen, und von da entweder direkt in das Färbbad, falls es stark alkoholisch ist, oder falls es wässrig ist, erst in schwächeren Alkohol und eventuell von da noch in Wasser. Später macht er den umgekehrten Weg durch (Alkohol, Intermedium, Harz), wenn man nicht etwa die Schnitte unter Glycerin oder anderen wässrigen Flüssigkeiten bewahren will.

Lose Schnitte können genau ebenso behandelt werden, bieten aber natürlich viel größere Schwierigkeiten dar. Unter Umständen ist die Methode von MAYER (s. oben p. 10) und Anderen brauchbar. — Ein recht komplizirtes Verfahren beschreibt VAN WALSEM (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1897 p. 428).

**154. Einbettmassen.** Gegenwärtig ist man fast allgemein der Ansicht, daß **reines Paraffin** für die gewöhnlichen Arbeiten den zahlreichen früher empfohlenen Gemischen von Wachs mit Öl etc. weit überlegen ist; auf diese soll daher nicht eingegangen werden.

VAN WALSEM (Verh. Akad. Amsterdam (2) 7. Deel 1899 Nr. 1 p. 132) bettet das Centralnervensystem in Paraffin (von 52—57° Schmelzp.) mit 5% gelbem Wachs ein. Vielleicht ist hier der Zusatz der zäheren Masse rathsam, indessen liegen darüber keine weiteren Erfahrungen vor. — JOHNSTON (Journ. Appl. Micr. Vol. 6 p. 2662) nimmt für brüchige Objekte (dotterreiche Eier von Amphibien) Paraffin, worin durch langes Erwärmen auf 100° 1% Kautschuk



aufgelöst ist. Als Intermedium darf kein Cedernöl gebraucht werden. (Der vorherige Zusatz von ein wenig Asphalt mache das Paraffin durchsichtiger und erleichtere so die Orientirung der Objekte.) Ich (MAYER) habe von ersterer Zuthat keinen Vortheil gesehen.

Im Handel gibt es Paraffine von verschiedenen Schmelzpunkten (40—42, 46—48, 52—54, 56—58, 50—60° C.), und die Sorten dazwischen lassen sich durch Zusammenschmelzen herstellen. In der Regel genügen zwei Sorten: eine für dicke, eine für sehr dünne Schnitte. — Das Paraffin von 74—80° C., wie es z. B. im Deutschen Arzneibuche vorgeschrieben ist, eignet sich nach meiner (MAYER) Erfahrung nicht.

Über die Ermittlung des Schmelzpunktes s. Chem. Centralbl. f. 1901 2. Bd. p. 507 (KISSLING).

Wie hart das Paraffin genommen werden muß, das hängt sowohl von der Temperatur im Laboratorium als auch von der Art des Objektes und der gewünschten Schnittdicke ab, und so lassen sich darüber nur einige allgemeine Sätze formuliren. Nach LEE gibt bei einer Temperatur im Zimmer zwischen 15 und 17° C. Paraffin von 50° C. Schmelzpunkt die besten Resultate, während bei größerer Wärme ein härteres erforderlich ist. Die meisten Forscher verwenden Massen von 50—55° C., manche gehen aber bis 60° C., z. B. Heidenhain (58°), Apáthy (55°), Rabl (56°), Mayer (58—60°), und Alle nehmen wohl, auch ohne dies ausdrücklich zu sagen, ein um so härteres Paraffin, je dünner die Schnitte werden sollen. In Neapel, überhaupt in wärmeren Klimaten, wo man im Sommer oft bei 30° C. schneiden muß, sind dann nur die ganz harten Paraffine (60° C.) zu gebrauchen, und selbst diese versagen mitunter bei recht feinen Schnitten. Nur soll man da, wo man mit weicherem Paraffin auskommen kann, nicht unnöthig härteres nehmen.

STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 7) braucht Paraffin von höchstens 40°, aber nur für seine Riesenschnitte von 10×15 cm Fläche. — MICHEL (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 4 1897 p. 549) durchtränkt die Gewebe mit Paraffin von 45° Schmelzpunkt und bettet sie in solches von 55° ein. — POSO (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 58) bettet menschlichen Uterus für Längsschnitte von 30—150 µ in Paraffin von etwa 46°, für Schnitte von 6—15 µ dagegen in solches von 58—60°. — S. auch oben § 149 (KRAUSE).

Zum Schneiden mit dem Quermesser, besonders bei den Schaukelmikrotomen und ähnlichen rasch arbeitenden Maschinen, braucht man härteres Paraffin als mit längsgestelltem Messer auf dem Schlittenmikrotom. Ebenso erfordern harte Objekte härteres Paraffin als weiche.

Alle obigen Zahlen beziehen sich nur auf die Schneidfähigkeit des Paraffinblocks und des Objektes darin. Ob aber durch sehr hartes



Paraffin die Gewebe leiden, das ist eine Frage für sich, über deren Beantwortung die Forscher keineswegs einig sind. Nur so viel ist sicher, daß man für alle feineren Arbeiten zur guten Erhaltung der Gewebe ein möglichst leicht schmelzbares Paraffin nehmen muß.

BRASS (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 300) gebraucht Paraffin, das schon mehrere Jahre gelegen hat, da es weniger leicht kristallinisch werde als neues.

SPEE (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 8) empfiehlt für Schnittbänder **überhitztes Paraffin**. Er kocht Paraffin, das bei etwa 50° C. schmilzt, in einer Porzellanschale auf einer kleinen Flamme, bis es bräunlichgelb wird und nach dem Erkalten auf dem Schnitt fettig oder seifig aussieht. Es ist bei Grübler & Hollborn käuflich zu haben.

### B. Seifen und Gelatine-Massen.

**155. Die Seifen** haben als Einbettmassen einige gute Eigenschaften: sie lösen sich in Alkohol, sind sehr durchsichtig, dringen gut ein und sollen sich, wenn sie gut sind, besser als selbst Paraffin schneiden. Man schneidet sie trocken oder unter Alkohol. Daß sie alkalisch sind, spricht mit Rücksicht auf die Erhaltung der Gewebe in ihnen gegen sie. Von CHUN sind sie für die Siphonophoren deswegen empfohlen worden, weil diese dann weniger schrumpfen sollen als in Paraffin. Jedenfalls können Seifen dann von Nutzen sein, wenn die Objekte die völlige Entwässerung nicht vertragen, ohne zu schrumpfen, aber gegenwärtig sind sie gar nicht mehr im Gebrauche.

Nach PÖLZAM (Morph. Jahrb. 3. Bd. 1887 p. 558) wird Kernseife in dünne Scheiben geschnitten, an der Sonne getrocknet und pulverisirt; hiervon werden 10 Gewichtstheile heiß in 22 Glycerin und 35 Alkohol (von 90%) gelöst und die vorher entwässerten Objekte darin wie in Paraffin eingebettet. Aus den Schnitten wird die Seife mit Wasser oder schwachem Alkohol entfernt.

Nach KADYI (Z. Anz. 2. Jahrg. 1879 p. 477) werden 25 g Stearin-Natronseife (am besten weiße Wackskernseife) geschabt, mit 100 ccm Alkohol von 96% auf dem Wasserbade gelöst und, falls nöthig, filtrirt. Erstarrt nun ein Tropfen hiervon fast sofort zu einer weißen Masse, so enthält die Seife zu wenig Wasser; man setzt dann nach und nach 5—10 ccm Wasser hinzu und probirt jedesmal einen Tropfen, bis dieser fast ganz durchsichtig wird. Diese Seife kocht bei 60—70° C. Eingebettet wird in ein Papierkästchen oder ein Uhrglas. Beim Schneiden befeuchtet man Block und Messer mit starkem Alkohol; die Schnitte kommen in Alkohol von 96%, der die Seife sehr bald, in der Wärme augenblicklich, auszieht. — S. auch FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 9. Bd. 1873 p. 121) und über die Einbettung in selbstbereitete Natronseife DÖLLKEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 33).

**156. Einbetten in Gelatine.** Diese läßt sich bei Geweben anwenden, die man gar nicht entwässern darf oder will, und mag deswegen



für sehr wasserhaltige Objekte gut sein. Im Ganzen verfährt man wie bei den bisher erwähnten Massen, nur müssen hier die Objekte mit Wasser durchtränkt werden statt mit Alkohol und einem Intermedium. Ist die Masse kalt geworden, so ist sie zuweilen direkt schneidbar, gewöhnlich muß sie aber erst gehärtet werden: KAISER behandelt sie einige Minuten mit absolutem Alkohol, KLEBS einige Tage mit schwächerem oder mit Chromsäure, NICOLAS mit Formol, und SOLLAS läßt sie gefrieren. Aus den Schnitten schafft man sie, wenn sie nicht unlöslich geworden ist, mit heißem Wasser fort.

Über das künstliche Hollundermark von MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 27) s. p. 103 der vorigen Auflage dieses Buches. — In eine Lösung von Agar-Agar, die bei 35—37° C. flüssig ist, bettet BIONDI (Arch. Mikr. Anat. 31. Bd. 1887 p. 108) Blut ein, härtet die Masse mit Alkohol von 85° und schneidet sie direkt oder nach Einbettung in Paraffin.

**157. Glyceringelatine.** KLEBS (Arch. Mikr. Anat. 5. Bd. 1869 p. 165) mischt die konzentrierte Lösung von Hausenblase mit dem halben Volumen Glycerin. — KAISER (\*Bot. Centralbl. 1. Jahrg. 1880 p. 25) weicht 1 Gewichtstheil Gelatine in 6 Theilen Wasser ein, setzt 7 Theile Glycerin und auf je 100 g des Gemisches 1 g Karbolsäure zu und erwärmt unter Umrühren so lange, bis alle Schlieren vergangen sind. Die warme Lösung filtrirt er durch Glaswolle, die vorher in Wasser gewaschen und naß in den Trichter gelegt wird.

APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 718) bringt die Objekte aus Wasser in eine dünne Glyceringelatine, läßt aus dieser in einem Exsiccator bei der zum Flüssighalten gerade erforderlichen Temperatur das Wasser verdunsten, gießt die Masse in Metallrahmen (oben p. 78) aus und härtet sie in absol. Alkohol, schneidet sie auch unter diesem. — Nach mündlicher Angabe ersetzt er jetzt letzteren in Allem durch Terpeneol, worin sich die Masse gut schneiden läßt.

Über andere Vorschriften zu Glyceringelatine s. § 411.

**158. Gelatine nach Nicolas** (Bibliogr. Anat. Paris 3. Année 1896 p. 274). Die in MÜLLERS Gemisch konservierten und sorgfältig ausgewaschenen Objekte (Hirn und Rückenmark von Hunden und Katzen, Augen von Schweinen, 3—4 cm große Embryonen von Schafen) werden in warme Gelatine eingebettet: zuerst bei 25° C. in 3—5%ige, nach je 1 Tag bei 35° in 10%ige und in 20—25%ige, die mit 8—10% Glycerin versetzt ist; in letzterer bleiben sie 2—3 Tage, werden in Papierkapseln ausgegossen und, sowie die Gelatine nicht mehr flüssig ist, in 5%ige Lösung von Formaldehyd (also



Formol 1, Wasser 7 Theile) gebracht. Hierin wird die Gelatine nach einigen Tagen unlöslich und schneidfähig wie Celloidin, tingirt sich aber beim Färben der Schnitte leider mit. Werfen sich die Schnitte beim Übertragen in die stärkeren Alkohole, so lassen sich in „Cresylol“ wieder glätten und dann direkt in Balsam bringen. Der Einschluß in Glycerin ist natürlich ganz einfach.

Nach BURZYŃSKI (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 39) dringt alkalisches Formol besser in Gelatine ein als saures und macht sie auch eher unlöslich.



## 8. Kapitel.

**Einbetten in Kollodium (Celloidin) und andere kalte Massen.****A. Kollodium (Celloidin).****159. Vor- und Nachteile des Kollodiums oder Celloidins.**

Beide Substanzen erfordern keine Wärme — das kann bei manchen zarten Geweben wichtig werden — und sind durchsichtig, erleichtern daher die Orientirung. Besonders gut sind sie für sehr große Objekte, denn das Durchtränken mit Kollodium ist meist unschädlich, auch wenn es Wochen lang dauert. Auch braucht die Masse in der Regel aus den Schnitten vor dem Färben und Einschließen nicht entfernt zu werden, schützt vielmehr die Gewebe und hält brüchige oder isolirte Theile der Schnitte zusammen, die sonst verloren gehen würden.

Indessen zwei Nachteile sind doch vorhanden: 1. ist das Einbetten in Kollodium oder Celloidin recht umständlich und dauert meist sehr lange (über raschere Methoden s. § 168); 2. lassen sich meist nicht so dünne Schnitte machen wie mit Paraffin: uns sind in Serien nur noch solche von 7  $\mu$  geglückt. S. im übrigen oben § 140.

APÁTHY (Mikrotechnik p. 122) hat durch Celloidin und gewisse Objekte darin Serien von 2—3  $\mu$  dicken Schnitten ausgeführt, gibt aber sein Verfahren nicht an. MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 370) hat durch das Chiasma von *Lepus* Serien von 3 1/2  $\mu$  erhalten. S. auch MITROPHANOW (Arch. Z. Expér. (3) Tome 3 1896 p. 617), sowie § 146 (HOFFMANN) und § 172 (JORDAN).

**160. Kollodium, Celloidin, Photoxylin, Kolloxylin.** Das Kollodium, eine Auflösung von Schießbaumwolle (Pyroxylin) in Alkohol plus Äther, hat zum Einbetten zuerst DUVAL (Journ. Anat. Phys. Paris 15. Année 1879 p. 185) verwandt. Das Celloidin, von SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 199) empfohlen, ist nur eine besonders reine Schießbaumwolle; man erhält es im Handel als Tafeln



von etwas milchigem Aussehen, die ungefähr 200 g wiegen und 40 g trocknes Celloidin enthalten sollen. Man schabt sie nach APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 164) in dünne Späne, trocknet diese an der Luft, bis sie gelb und hornig geworden sind, und löst sie in Alkohol plus Äther auf. So ist die Lösung frei von dem Wasser, das im ungetrockneten Celloidin vorhanden ist, ergibt daher nach dem Härten eine Masse, die durchsichtiger ist und sich besser schneidet.

Es versteht sich von selbst, daß der Alkohol und Äther wasserfrei und nicht sauer sein müssen. Leider lösen sich die Späne von trockenem Celloidin nur sehr langsam. ELSCHNIG (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 443) läßt sie daher 24 Stunden in der nöthigen Menge Alkohols aufquellen und setzt dann den Äther zu; so lösen sie sich viel rascher. — S. auch § 161.

Reinigung des Äthers nach TIMPE (Chem. Centralbl. f. 1901 2. Bd. p. 961): man schüttelt ihn bei gewöhnlicher Temperatur mit 30—50% konzentrierter Schwefelsäure; Wasser und Alkohol werden von dieser gebunden; Destillation unnöthig. Zum Trocknen ist nach SIEBENROCK (ibid. 1910 1. Bd. p. 1228) am besten geglühtes Chlorcalcium oder Kaliumcarbonat. — S. auch oben § 91 (BOUGAULT).

FUHRMANN (Zeit. Wiss. Z. 78. Bd. 1905 p. 524) löst das Celloidin in reinem Methylalkohol, bringt die Objekte aus 95%igem Alkohol hinein und härtet später den Block in 65%igem. So bleibe osmirtes Fett größtentheils erhalten. Ich (MAYER) finde, daß Meth. gar wenig Cell. löst, daß überdies die Lösungen sehr dicklich sind und durch Zusatz von Äther viel dünnflüssiger werden. — Auch DE VECCHI (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 312; Monit. Z. Ital. Anno 17 1906 p. 248) benutzt zum Einbetten in Photoxylin wasserfreien Methylalkohol und härtet den mit Gelatine auf Holz aufgeklebten Block in „alcool a 85°—90°“. S. ferner § 161 (MANN und FISH).

Kollodium ist ebenfalls gut zum Einbetten, aber Celloidin liefert bequemer Lösungen von bestimmter Stärke. Abgesehen hiervon sind beide Stoffe ziemlich gleich, und so brauchen wir die Ausdrücke Celloidin oder Kollodium ohne Unterschied. Über die Verwendung der Schießbaumwolle s. § 162.

Photoxylin (KRYNSKY in: Arch. Path. Anat. 108. Bd. 1887 p. 217; BUSSE in: Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 47; MITROPHANOW in: Arch. Z. Expér. (3) Tome 3 1896 p. 617) ist trocken, sieht wie Baumwolle aus und steht chemisch dem Celloidin nahe. In einem Gemisch gleicher Theile von absol. Alkohol und Äther löst es sich klar und wird genau wie Celloidin gebraucht. Auch nach dem Härten in 85%igem Alkohol bleibt es völlig durchsichtig. Indessen Celloidin oder gewöhnliches Kollodium geben auch durchsichtige Massen, wenn man die Blöcke aufhellt (s. § 167). Auch APÁTHY (Mikrotechnik p. 120) hält die Einführung des Photoxyllins für keinen Fortschritt, OBREGIA dagegen (Neur. Centralbl. 9. Jahrg. 1890 p. 295) für Schnittserien wohl.

Kolloxylin wird von TSCHERNYSCHJEFF (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1901 p. 450) empfohlen: er löst 10 g in 10 ccm Eugenol oder Nelkenöl und 50 bis 60 ccm Äther unter Zusatz von höchstens 1 ccm absol. Alkohols.



**161. Vorbereitung der Objekte.** Die Objekte müssen sorgfältig in absolutem Alkohol entwässert werden und kommen dann zu ebenfalls völliger Durchtränkung in ein Gemisch von Alkohol und Äther. DUVAL (l. c.) nimmt auf 10 Theile Äther 1 Theil Alkohol; SCHIEFFERDECKER (und die meisten Forscher) gleiche Theile; TUBBY (Nature Vol. 47 1892 p. 51) 4 Theile Äther und 1 Theil Alkohol. Indessen kommt hierauf nicht viel an. Kleine, leicht permeable Objekte darf man sogar direkt vom Alkohol in das Celloidinbad bringen.

MANN (Methods p. 172) verwendet gleiche Volumina von Äther und Methylalkohol, bereitet damit, da sich das Celloidin darin leichter löse, auch die Bäder ( $2\frac{1}{2}$  und 10 % ige). Ebenso PAVLOW (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 15). — S. auch § 160 (FUHRMANN).

FISH (Journ. Appl. Micr. Vol. 2 1899 p. 323) braucht als Intermedium (ja, sogar zum Fixiren und Entwässern des Objektes) und für die Bäder (4 % ige und 8 % ige Lösung von Pyroxylin) nur Aceton. — S. auch § 107 (SCHOLZ).

**162. Das Celloidinbad.** Jetzt müssen die Objekte mit der Einbettmasse durchtränkt werden: zuerst mit einer dünnen, später mit einer dickeren Lösung. Nimmt man Kollodium, so vermischt man es, um die dünne Lösung herzustellen, mit Äther; das Celloidin (Photoxylin etc.) löst man in Alkohol und Äther (s. § 160 und 161).

BUSSE (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 47) braucht für das schwächste Bad 10 Gewichtstheile Photoxylin oder trocknes Celloidin auf 150 Theile Alkohol und Äther; für das mittelstarke 10 auf 105, für das ganz starke 10 auf 80 Theile (zum schwächsten Bad kann auch ein schon gebrauchtes dienen). — APÁTHY (Behrens, Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 82) nimmt die 2 % ige und 4 % ige Lösung zum Durchtränken, die 8 % ige zum definitiven Einbetten. — Ähnlich MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 370):  $1\frac{1}{2}$  %, 6 % und 16 %. — Ich (LEE) verwende gewöhnlich eine schwache und eine starke Lösung; letztere entspricht etwa der mittelstarken von Busse, denn seine starke dringt nur äußerst langsam ein. — Mir (MAYER) scheint es, als wenn selbst die 4 % ige lange nicht überall eindringt; ich beginne daher mit einer viel schwächeren. S. auch unten Jordan sowie § 171 (SABUSSOW).

GAGE (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 362) braucht statt des Celloidins die billigere Schießbaumwolle in einer schwachen und einer starken Lösung: Äther und 95 % iger Alkohol je 50 ccm, Schießbaumwolle  $1\frac{1}{2}$  resp. 9 g.

STEPANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 185) löst  $1\frac{1}{2}$  g trocknes Celloidin im Gemisch von 5 ccm Nelkenöl (oder Eugenol) und 20 ccm Äther, dem er tropfenweise absol. Alkohol (bis zu 1 ccm) zusetzt. In dieses Bad kommt das Objekt direkt aus dem absol. Alkohol, und man läßt nach guter Durchtränkung das Ganze sich langsam eindicken. — SCHOENEMANN (ibid. 19. Bd. 1902 p. 153) verwendet hierbei als Intermedium 2 Th. Äther plus 1 Th. Nelkenöl. — Bei JORDAN (ibid. 17. Bd. p. 193) kommen für das schwache Bad auf



1 Theil Cedernöl, 4 Theile 1%iger, für das starke 5 Theile 8%iger gewöhnlicher Celloidinlösung. — UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 30. Bd. 1900 p. 422) empfiehlt sein Celloidinum inelasticum, d. h. ein von Schering zu beziehendes Celloidin mit 2% Rizinusöl (oder Terpentinöl oder stearinsaurem Natrium).

Im 1. Bade muß das Objekt so lange bleiben, bis es ganz durchtränkt ist; das kostet sogar für kleine Objekte Tage, für große Wochen oder Monate. Enthält es Hohlräume, so öffne man diese, damit sie ja sicher gefüllt werden. Ist es in der dünnen Lösung gut durchtränkt, so wandert es in die dickere.

**163. Einbetten.** Die stärkste Lösung von Celloidin (oder Pyroxylin etc.) wird, da sie nicht in die Objekte eindringt, nur zum Einbetten benutzt. Als Gefäße dazu nimmt man wohl Papierkapseln oder Papierkästchen — über ihre Anfertigung s. oben p. 77 — viel besser aber Glasschalen mit flachem Boden, oder für kleine Objekte Uhrgläser. Alle müssen ganz trocken sein. In die Gefäße bringt man vorsichtig Objekte und Lösung. Bilden sich dabei in letzterer Luftblasen, so muß man sie vor dem Härten entfernen, etwa indem man das Ganze in einem gut schließenden Gefäße 1—2 Stunden lang Dämpfen von Äther aussetzt. Jedoch darf der Äther, den man auf den Boden des Gefäßes gießt, die Masse nicht benetzen (BUSSE in: Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1892 p. 467).

In der Regel wird eine besondere Orientirung nicht nöthig, da ja das durchsichtige Celloidin das Objekt meist genau erkennen läßt. Ist sie aber aus irgend einem Grunde erwünscht, so mag man sich an die Methoden von APÁTHY oder HALLE & BORN halten.

APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 47) ordnet die Objekte auf einem Streifen Gelatine an, der zu unterst in das Einbettgefäß gelegt wird. Die Gelatine wird später mitgeschnitten, und ihre Kanten bilden gute Linien zur Orientirung. — HALLE & BORN (ibid. 12. Bd. 1896 p. 364) benutzen Täfelchen von gehärtetem Eiweiß, worin sie zur Aufnahme der Objekte mit einem eigenen Instrument eine schmale Furche geschnitten haben.

Verwendet man runde Papierkapseln, so nehme man zum Boden weiches Holz und lasse vorher einen Tropfen Kollodium darauf eintrocknen, sonst steigen später Luftblasen aus dem Holz in das Kollodium. Zur Noth kann man die Objekte auch auf Leder, Hollundermark oder Kork befestigen, aber alle müssen mit Kollodium überzogen worden sein. Viel besser ist dagegen Stabilit (s. § 167).

Statt hintereinander 2 oder 3 Lösungen von zunehmender Stärke zu brauchen, kann man auch mit LEE (Vade-Mecum 1. Edit. 1885 p. 194) und Anderen die erste, dünne langsam eindicken, indem man unter den Deckel des Gefäßes ein Stück Papier schiebt, und sie in dem Maaße, wie sie verdunstet, durch dicke ersetzt. — WOLFF (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. p. 427) rühmt dies Verfahren



sehr, da man so die Härte des Celloidins der des Objektes anpassen könne. Nur muß man den Äther und Alkohol sehr langsam verdunsten und die Luft nicht direkt Zutreten lassen. S. auch § 164 und § 162 (STEPANOW).

**164. Vorläufiges Härten.** Sind die Objekte ordentlich in der dicken Lösung untergebracht (§ 163), so werden die Gefäße, Kapseln etc. mit einem nicht dicht schließenden Deckel versehen, sodaß der Äther und Alkohol langsam verdunsten können. Man kann sie auch offen unter eine Glasglocke stellen, die man, wenn sie wirklich gut schließt, nur 1—2 mal täglich auf einige Sekunden abnimmt; auch mag man unter die Glocke außerdem eine Schale mit Alkohol setzen, sodaß der Äther durch eine Atmosphäre von Alkohol hindurch verdunstet; so besonders bei sehr großen Objekten. Sobald nun das dicke Kollodium (man darf nur so viel genommen haben, daß das Objekt eben bedeckt war) so weit verdunstet ist, daß das Objekt gerade herauschaut, fügt man etwas von der dicken Lösung zu und überläßt von Neuem das Ganze sich selbst. (Sollte die erste Schicht zu trocken geworden sein, so muß man sie mit einem Tropfen Äther anfeuchten, bevor man das Kollodium hinzugießt.) Dies wird so oft wiederholt wie nöthig.

Ist die Masse so fest geworden, daß der Ballen (nicht der Nagel) des Fingers keinen Eindruck mehr hinein macht, so sticht man sie aus dem Gefäße heraus (oder, falls sie in Papier war, löst man dieses ab) und härtet sie definitiv (§ 165). Sollte sie aber noch nicht hart genug sein, um sich ohne Schaden herausnehmen zu lassen, so legt man sie auf 1—2 Tage in Alkohol von 30—70 %.

**165. Definitives Härten.** Von den Methoden zur definitiven Härtung empfehle ich (LEE) für kleine Objekte die von VIALLANES (Ann. Sc. N. (6) Tome 14 1883 p. 129) mit Chloroform, da sie rascher wirkt als die mit Alkohol und die Masse wenigstens ebenso gut härtet. (SCHIEFFERDECKER in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1881 p. 506 findet das nicht.) Für große Objekte dagegen mag sie der Alkoholmethode nachstehen, da die rasche Härtung der äußeren Schichten die Diffusion zu den inneren verhindert. — Auch MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 371) härtet in Chloroform wenigstens 12 Stunden lang.

Das Chloroform muß wasserfrei sein. Das Celloidin erlangt darin mitunter schon nach einigen Stunden die richtige Consistenz; beim Hineinbringen wird es oft trübe, aber später ganz durchsichtig. — Sehr kleine Objekte braucht man nicht erst vorzuhärten: man setzt die dickliche Masse einige Sekunden der Luft aus, bis sich eine Haut darüber gebildet hat, und schafft sie dann gleich in das Chloroform.



Gut und rasch härtet man auch in Chloroform-Dampf: man bringt die noch flüssige Masse (über die Entfernung der Luftblasen s. § 163) in ihrem Gefäß in einen Exsiccator, der auf dem Boden einige Tropfen Chloroform enthält. Genaueres s. in § 167 C. S. auch § 172.

Häufiger wird mit Alkohol gehärtet. Man läßt die vorgehärteten Objekte darin, bis sie die richtige Konsistenz haben (1 Tag bis mehrere Wochen lang.) Das Gefäß mit dem Alkohol muß aber wenigstens zum Theil offen stehen, damit der Äther verdunstet.

Über die Stärke des Alkohols variiren die Angaben sehr: sie gehen bis zu 50 % herab. Nach BUSSE (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 49) und mir (LEE) ist etwa 85 % iger der beste. Aber beim Schneiden muß der Block stets tüchtig mit Alkohol benetzt werden, sonst wird er durch Verdunstung rasch zu hart. — APÁTHY (Mikrotechnik p. 122) härtet in Alkohol von 70—80 % und verwendet Chloroform nur, wenn es sich um die doppelte Einbettung in Celloidin und Paraffin (§ 171) handelt. (Ibid. p. 185 redet er von einem Anhärteten in Dampf von 70—80 % igem Alkohol, einem Weiterhärteten in Alkohol von derselben Stärke und einem Fertighärten in „Glycerin-Alkohol“.)

Auch gefrieren kann man die Masse lassen. Sie wird zuerst durch Alkohol gehärtet, dann auf einige Stunden in Wasser gebracht, um den meisten Alkohol zu entfernen, nun auf einen Augenblick in Gummischleim, damit sie auf dem Gefriertische des Mikrotoms festhält, und wird durchgefroren. Die Schnitte legt man in warmes Wasser. Sollte die Masse zu steif gefroren sein, so wärmt man das Messer mit warmem Wasser an. — S. auch § 808 (MAC MUNN) sowie das Gefrierenlassen in Anethol nach STEPANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 185), das Schnitte bis zu nur 3  $\mu$  Dicke liefert.

FLORMAN (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 184) vermeidet bei der definitiven Härtung Alkohol und Chloroform ganz. Er schneidet die Blöcke aus, dreht sie um und läßt sie ruhig weiter abdunsten, wie oben angegeben. — BLUM (Anat. Anz. 11. Bd. 1896 p. 724) verwendet zum schnellen Härten des Celloidins „mit Formol versetzten dünnen Spiritus“; ebenso HELBING (Encyclop. 1. Aufl. p. 111).

**166. Aufbewahren der Blöcke.** Die gehärteten Blöcke können bis zu ihrer Verwendung in Alkohol von 70 % bleiben oder trocken aufbewahrt werden, indem man sie in geschmolzenes Paraffin taucht (APÁTHY in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 45). Zahlen oder andere Bemerkungen, mit weichem Bleistift auf den Boden der Papierkästchen oder mit gelbem Fettstift auf den Boden der Glasschalen geschrieben, finden sich später im Kollodium abgedruckt vor.

APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 732) legt die Blöcke nach dem Abspülen mit Wasser in Glyceringelatine, auf die er gegen den Schimmel etwas Thymol bringt; vor dem Schneiden erwärmt er die Gelatine gelinde, wäscht



den Block mit lauem Wasser ab und schneidet ihn sofort, wobei er das Messer mit Alkohol von 95% befeuchtet. — MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 371) bewahrt die in Chloroform gehärteten Blöcke im Gemisch von Gage (1 Theil Rizinusöl + 3 Theile Xylol) auf; sie werden darin bald durchsichtig.

**167. Schneiden.** Ist das Objekt ungefärbt, so wird es oft in Kollodium so durchsichtig, daß es sich nur schwer für das Schneiden orientiren läßt. Man färbt daher das Kollodium gerade so viel, daß seine Umrisse auf den Schnitten sichtbar werden, mit Pikrinsäure oder einem anderen brauchbaren Farbstoff, den man in Alkohol löst und dem Kollodium beimischt.

Man schneidet entweder trocken oder benetzt Messer und Block mit Alkohol, Glycerin oder einem Intermedium. Jede von diesen Methoden hat ihre Vorzüge und ihre Nachteile, auch variirt dabei die Vorbehandlung des Celloidins.

**A. Schneiden unter Alkohol.** Der Block wird auf dem Mikrotom befestigt wie folgt. Ein Stück weiches Holz, das gut in die Objektklammer paßt, bestreicht man mit Kollodium und läßt dieses trocknen. Nun schneidet man den Block unten glatt, benetzt die neue Fläche mit Alkohol plus Äther (oder läßt sie trocken werden), gibt einen Tropfen sehr dicken Kollodiums auf das Stück Holz (oder Mark) und drückt die benetzte (oder getrocknete) Fläche fest darauf. Dann bringt man, um die Kittstelle hart werden zu lassen, das Ganze in Alkohol von 70 %, besser aber auf einige Minuten in Chloroform oder seine Dämpfe.

Für große Objekte darf man ja keinen Kork zum Einsetzen in den Objekthalter nehmen, denn Kork und Kollodium geben nach. Ist der Objekthalter ein Hohlcylinder, wie bei den neueren Jungschen Mikrotomen, so geht zur Noth Holz, aber dieses quillt leicht im Alkohol und paßt dann nicht mehr hinein. Dagegen empfehle ich (MAYER) sehr das von JELINEK (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 237) angegebene Stabilit, eine Art Hartgummi für elektrische Isolirungen; es ist in brauchbarer Form bei R. Jung in Heidelberg zu haben. — BABCOCK (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1901 p. 339) kittet den Block auf hartem Paraffin fest, das er oben kreuz und quer gerieft hat.

Das Messer ist beim Schneiden gehörig mit Alkohol (50—95 %) zu benetzen. APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 167) fettet es vorher mit gelbem Vaseline ein; es schneide besser, werde vom Alkohol nicht angegriffen, und dieser sei auf der Schneide nicht so leicht beweglich. Man spannt das Messer so wenig quer wie möglich



ein. Sehr brüchige Objekte kann man mit Kollodium bestreichen (§ 150), muß aber zuvor die Schnittfläche mit Fließpapier abtrocknen. Die Schnitte bringt man entweder sofort in Alkohol (von 50—95 %) oder behandelt sie, falls man sie in Serien anordnen will, wie in § 199ff. angegeben.

**B. Schneiden unter Glycerin, Cedernöl etc.** MEYER (Biol. Centralb. 10. Bd. 1890 p. 508) bringt den Block auf 24 Stunden in Glycerin und benetzt das Messer mit Glycerin oder mit Alkohol von 50—70 %. — BUMPUS (Amer. Natural. Vol. 26 1892 p. 80) durchtränkt den Block nach der Härtung in Chloroform mit Thymianöl oder sonst einem guten Intermedium (§ 170), trocknet ihn unten ab, benetzt ihn dort mit Äther, klebt ihn mit dicker Celloidinlösung auf Holz und bringt ihn in Chloroform, um die Kittstelle fest werden zu lassen. Mit dem Intermedium benetzt er Messer und Block. — EYCLESYMER (ibid. p. 357) empfiehlt zum Durchtränken Glycerin oder sein Gemisch (§ 170), GILSON (nach brieflicher Mittheilung) Cedernöl, FISH Thymianöl mit Rizinusöl (§ 170), GAGE (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 365) und nach ihm MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 371) das Gemisch von 3 Theilen Xylol mit 1 Th. Rizinusöl. S. auch § 172 (JORDAN).

APÁTHY bringt (nach mündlicher Angabe) den Block aus dem 90 %igen Alkohol in Terpeneol, läßt ihn sich damit durchtränken, schneidet unter Terp. und legt, falls das Objekt in toto gefärbt worden war, die Schnitte direkt in Balsam.

**C. Schneiden ohne Flüssigkeit.** Nach LEE (Vade-Mecum 4. Edit. 1896 p. 111) bringt man die Objekte aus dem letzten Celloidinbade in eine Steinachsche Siebdose oder einen Exsiccator, auf dessen Boden etwas Chloroform ausgegossen ist. (Sie können Monate lang hierin ohne Schaden bleiben.) Sobald die Masse an der Oberfläche hart genug ist, löst man sie aus dem Gefäße los und legt sie ab und zu um, damit die Chloroformdämpfe gleichmäßig wirken können. Ist sie einigermaßen hart, so kommt sie in ein Gemisch aus 1 Theil Chloroform und 1—2 Theilen Cedernöl; nach und nach wird dann von dem Öl zugesetzt, bis zuletzt fast nur noch reines Cedernöl da ist. So wie nun die Masse ganz durchsichtig ist, bringt man sie an die Luft, wo das meiste Chloroform verdunstet, kittet sie auf die Objektklammer mit einem Tropfen dicken Kollodiums (s. oben p. 109) auf und schneidet sie sofort oder hebt sie in einer gut verschlossenen Flasche auf. Man schneidet trocken; die angeschnittene Fläche



des Blocks trocknet selbst in Stunden nicht so aus, daß Schaden entsteht. Oft schneidet sich die Masse besser, wenn man ihr Chloroform an der Luft noch einige Stunden abdunsten läßt.

Härten kann man auch, aber nicht gut, statt in Chloroformdämpfen in dem Gemisch von Chloroform und Cedernöl; ferner kann man direkt mit reinem Cedernöl aufhellen, aber lange nicht so rasch wie im obigen Gemisch.

**168. Schnellhärtung.** Nach GILSON (La Cellule Tome 6 1890 p. 123; einige Änderungen beruhen auf Mittheilung von 1892 an Lee) wird das Objekt entwässert, mit Äther durchtränkt und in ein Reagensglas mit Kollodium oder dünner Celloidinlösung gebracht. Das Glas kommt in geschmolzenes Paraffin zu stehen, und so dickt man das Kollodium, das ja schon bei niedriger Temperatur kocht, etwa bis auf  $\frac{1}{3}$  seines Volumens ein. Dann wird es auf einen Block von gehärtetem Celloidin ausgegossen und mit diesem in Chloroform oder einem Gemisch von Chloroform und Cedernöl etwa 1 Stunde lang gehärtet. War es in reinem Chloroform gewesen, so muß es nun mit Cedernöl durchtränkt werden, sonst aber kann es direkt unter Cedernöl geschnitten werden. — NEUVILLE (Ann. Sc. N. (8) Tome 13 1901 p. 37) durchtränkt die Objekte warm erst mit ganz dünnem, dann mit dickem Kollodium und bringt sie von da in ein Gemisch von 1 Th. Glycerin und 2 Th. Alkohol von 75 $\frac{0}{100}$ . Die ganze Operation dauert nur  $\frac{1}{2}$  Tag.

**169. Färben der Schnitte.** Die Schnitte können frei oder aufgeklebt (§ 199 ff.) gefärbt werden; dabei ist es nicht nöthig, ja nicht einmal erwünscht, das Celloidin vorher aufzulösen, denn es färbt sich gewöhnlich nicht so stark mit, daß es hinderlich wäre. Eventuell schafft man es mit absolutem Alkohol oder Äther weg.

**170. Einschließen der Schnitte.** In der Regel läßt man das Celloidin am Schnitte sitzen, weil es ihn ja vortrefflich zusammenhält; ist noch dazu das Objekt in toto gefärbt worden, so braucht man nur die Flüssigkeit (Alkohol, Glycerin, Cedernöl etc.), unter der man geschnitten hatte, aus dem Schnitte durch Glycerin oder Balsam zu verdrängen, denn in beiden wird das Celloidin durchsichtig. Hat man also unter Glycerin oder Alkohol geschnitten, so ist die Übertragung in das Glycerin ganz einfach (ebenso in die Färbgemische); sollen die Schnitte aber in ein Harz, so muß man sie zuerst entwässern: entweder mit Alkohol von 95—96% (absoluter greift das Celloidin an!) oder (nach NIKIFOROW in: Zeit. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 189) mit dem Gemisch gleicher Theile von absolutem Alkohol und Chloroform. Das Intermedium darf natürlich das Kollodium nicht angreifen.

Am meisten werden hierzu empfohlen Origanumöl (s. oben § 120), Bergamottöl (§ 117), Cedernöl und Chloroform. DUNHAM (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 175) nimmt 3—4 Theile weißes Thymianöl und 1 Theil Nelkenöl, FISH (Proc. Amer.



Micr. Soc. Vol. 15 1893 p. 86) 3 Theile Thymianöl und 1 Theil Rizinusöl, WEIGERT (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 480) 3 Theile Xylol und 1 Theil wasserfreie Karbolsäure (bei basischen Theerfarbstoffen statt der Karbolsäure Anilin), EYCLESHYMER (Amer. Natural. Vol. 26 1892 p. 356) Bergamottöl, Cedernöl und Karbolsäure zu gleichen Theilen. — Anilin schafft sogar 70%igen Alkohol fort, aber wenn man es nicht sorgfältig entfernt (durch Einlegen der Schnitte auf 24 Stunden in Chloroform), so werden die Präparate braun. — Das von JORDAN (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 51) empfohlene Linaloeöl glättet nach meinen (MAYER) Erfahrungen die Schnitte nicht so gut wie Bergamottöl. — Über Pyridin mit Xylol s. oben § 106. — Nach den neuesten Erfahrungen von APÁTHY eignet sich Terpeneol sehr gut.

Hat man hingegen unter einem Intermedium oder trocken geschnitten und will die Schnitte nicht erst färben, so fällt natürlich die Entwässerung fort; als Intermedium für Balsam dient dann eins der oben aufgezählten Mittel, während man zum Einlegen in Glycerin zunächst Alkohol von 95 % und später schwächeren nimmt.

S. auch unten § 199 ff. die Verfahren beim Aufkleben der Schnitte.

**171. Doppelte Einbettung in Kollodium und Paraffin.** Nach GARBINI (Manuale Techn. Micr. Verona 1885 p. 81) ist sie zuerst von Heider ausgeübt worden. Sie vereinigt die Vorzüge der einfachen Einbettung in Celloidin und der in Paraffin miteinander, ist allerdings ziemlich umständlich und daher noch nicht recht in Aufnahme gekommen.

WILHELMI (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 17) durchtränkt nach Apáthy's Methode das Objekt mit 2%igem Celloidin, überträgt es in 4%iges, härtet dieses erst in Chloroformdämpfen, dann in Chloroform, schneidet die Masse zu einem Blocke mit rechtwinkligen Flächen zurecht, durchtränkt diesen (aus Chloroform oder Benzol) mit Paraffin, nimmt ihn heraus, läßt ihn sich abkühlen und schneidet ihn trocken. Schnitte bis zu 2  $\mu$  Dicke.

KULTSCHITZKY (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 48) durchtränkt das Objekt mit Kollodium, dann mit Öl von Origanum vulgare, bringt es in eine warme Lösung von Paraffin in Origanumöl und zuletzt in Paraffin. Man kann trocken schneiden und den Block trocken aufheben. — RYDER (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1888 p. 512) nimmt statt des Öles Chloroform. — IDE (La Cellule Tome 7 1891 p. 347, Tome 8 1892 p. 114) verfährt nach Gilson's Methode (§ 168) und bettet dann durch Chloroform weiter ein. — SABUSSOW (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 353; s. auch E. MEYER ibid. 14. Bd. 1901 p. 295) bettet kleine Turbellarien nach E. Meyer aus 95%igem Alkohol in Photoxylin, härtet dieses in Chloroform, schneidet das überflüssige Phot. weg und erwärmt das Objekt erst in Chloroform und Paraffin bei 35°, dann in reinem Paraffin bei 55° C. — MITROPHANOW (Arch. Z. Expér. (3) Tome 3 1896 p. 617) durchtränkt die Objekte mit 1/2- oder 1%iger Lösung von Photoxylin, härtet in Alkohol von



70%, schneidet den Block zurecht, bringt ihn durch Alkohol von 95% in Bergamottöl, Origanumöl oder Chloroform, sättigt das Intermedium mit dem Block darin bei 35—38° C. mit Paraffin und schließt den Block in Paraffin von 48—52° Schmelzpunkt ein. Schnitte bis zu 2  $\mu$  Dicke. — S. auch FEDERICI (Anat. Anz. 31. Bd. 1907 p. 602), ferner § 172 und § 605 (BORDAGE).

MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 132) schafft die sehr kleinen, aber zahlreichen Objekte auf die gewöhnliche Art in 8%iges Celloidin, macht in ein Stück des zur Einbettung dienenden Paraffins mit einer leicht mit Glycerin bestrichenen und erwärmten metallenen Matrize von der gewünschten Form eine Vertiefung, bringt in diese das Celloidin mit den Objekten, läßt die freie Oberfläche an der Luft etwas trocknen und überträgt nun das Ganze in Chloroform oder Benzol; hier erhärtet das Celloidin, das Paraffin löst sich, und der Celloidinblock (am besten parallelepipedisch) kann direkt mit der Paraffinlösung im Thermostaten weiter behandelt werden.

FIELD & MARTIN (Bull. Soc. Z. France 19. Vol. 1894 p. 48; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 6) empfehlen die gleichzeitige Einbettung. Sie lösen trockenes Celloidin in einem Gemisch gleicher Theile von absolutem Alkohol und Toluol bis zur Konsistenz von Nelkenöl und sättigen dies dann bei 20—25° C. mit Paraffin. Das Objekt durchtränken sie mit dem Alkohol und Toluol und bringen es in obige Lösung; zuletzt betten sie es in Paraffin ein: entweder mit Chloroform (oben p. 84) oder, indem sie die obige Lösung in der Wärme unter Zusatz von Paraffin verdunsten lassen. Dabei kann aber nach mir (MAYER) von einer regelrechten Einbettung in Celloidin nicht die Rede sein, denn das Celloidin verklebt höchstens die Theile des Objectes mit einander, und das mag unter Umständen vorteilhaft sein. Von anderer Seite wurde mir die Methode sehr gerühmt. — GANDOLFI (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 421) verfährt ähnlich wie F. & M., ohne aber Dieser zu erwähnen. — SAMASSA (Arch. Entwicklungsmech. 7. Bd. 1898 p. 2) löst das Celloidin und Paraffin im Gemisch von 2 Th. Toluol, 1 Th. absol. Alkohol und 1 Th. Äther; zum Härten des Blockes und Einbetten in Paraffin nimmt er Petroläther.

**172. Einbetten in Celloidin und Cedernöl oder Nelkenöl.** JORDAN (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 193) bereitet die Bäder aus Gemischen von je 1 Theil Cedernöl mit 4 Theilen 1%iger resp. 5 Theilen 8%iger Celloidinlösung. Das hiermit gut durchtränkte Objekt setzt er Chloroformdämpfen aus und härtet es nach Bildung einer Haut in dem (eventuell mehrere Male zu erneuernden) Gemisch von 5 Th. Chloroform und 1 Th. Cedernöl, schneidet es auch unter diesem. Die Schnitte breitet er auf dem mit Eiweiß bestrichenen und einem Gemisch von Chloroform und wenig Cedernöl gut benetzten Objektträger aus; sie haften bereits nach einigen Minuten Trocknens (besonders in der Wärme) glatt und sehr fest. — Die Doppeleinbettung ist analog: Durchtränken der Objekte mit dem Gemisch von 4 Th. 2—3%igen Celloidins und 1 Th. Cedernöl; Härten in 4 Th. Chloroform und 1 Th. Cedernöl; Durchtränken mit einer Lösung von Paraffin in Chloroform (oder in Benzol mit etwas Cedernöl) bei 30° C.; Einbetten in mehrere Mal zu wechselndes reines Paraffin. Serien von 2  $\mu$  Dicke.



Auch STEPANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 185) verwendet das Celloidin nicht rein, sondern im Gemisch mit Nelkenöl (s. oben p. 105), und bringt unter Umständen die Objekte ebenfalls durch Benzol in Paraffin. — S. auch oben p. 89 (HOFFMANN) und p. 106 (UNNA).

### B. Andere kalte Massen.

**173. Kalte Gelatine.** BRUNOTTI (\*Journ. Bot. Tome 6 1892 p. 194; Journ. R. Micr. Soc. London 1892 p. 706) löst 20 g Gelatine durch Erwärmen in 200 ccm dest. Wasser, filtrirt und setzt 30—40 ccm Eisessig und 1 g Sublimat hinzu. Bei 15° ist die Masse dickflüssig. Die Objekte werden mit verdünnter Masse (1 Vol. auf 2—3 Vol. Wasser) durchtränkt, in die unverdünnte Masse eingebettet und in Alkohol, Kaliumbichromat, Pikrinsäure etc. gehärtet.

**174. Gummiglycerin.** SERVEL (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1874 p. 974) bettet Objekte aus Alkohol in Gummischleim, dem auf 3 Theile 1 Theil Glycerin zugefügt worden war, ein und läßt die Masse trocknen, wobei das Glycerin das völlige Hartwerden verhindert. Ähnlich JOLIET (Arch. Z. Expér. Tome 10 1882 Notes p. 43).

Nach Joliet muß man im Winter oder bei feuchtem Wetter weniger Glycerin nehmen als im Sommer oder bei trockenem Wetter. Oft ist es gut, das Objekt vorher mit Glycerin zu durchtränken, dann aber muß man weniger Glycerin zum Gummi setzen. Die Masse mit dem Objekt wird in einem Uhrglas zum Trocknen hingestellt. Ist sie knorpelhart geworden, so wird ein Block mit dem Objekt darin herausgeschnitten, umgekehrt und wieder zum Trocknen hingelegt. Er kann fast unbegrenzte Zeit aufbewahrt werden. Im Allgemeinen wartet man mit dem Schneiden so lange, bis die Masse sich nicht mehr leicht biegen läßt, also etwa eine Woche lang. Aus den Schnitten wäscht man auf dem Objektträger durch Wasser das Gummi aus. Einschluß in Glycerin.

Material aus Chromsäure hat bereits 1862 MÜLLER (Würzburger Nat. Zeit. 3. Bd. p. 21) in Gummiglycerin eingebettet.

**175. Gummi arabicum.** STRICKER (Handbuch d. Gewebelehre 1. Bd. 1871 p. XXIV) bettet das Objekt aus Alkohol in eine dicke Lösung von Gummi in einem Papierkästchen ein, bringt das Ganze in Alkohol und schneidet es nach 2—3 Tagen. — Diese Methode ergibt in Alkohol von etwa 80% gut schneidbare Massen (MAYER in: Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 27).

**176. Schellack.** HYATT (Amer. Micr. Journ. Vol. 1 1880 p. 8) empfiehlt zum Schneiden harten Chitins (Legebohrer, Stachel etc.), da darin alle Theile ihre natürliche Lage behalten, eine dicke Schellacklösung, die man nach dem Verdunsten des Alkohols durch warmes Wasser erweicht und schneidet.



**C. Schleifmassen.**

**177. Kopal.** Nach KOCH (Z. Anz. 1. Bd. 1878 p. 36) verreibt man Kopal mit Sand in einem Mörser, gießt Chloroform darauf und filtrirt. In diese schwache Lösung bringt man die vorher gefärbten und gut entwässerten Objekte (nur kleine Stücke) und läßt das Chloroform langsam verdampfen, indem man das Gefäß auf eine Thonplatte mit einem brennenden Nachtlcht darunter stellt. Zieht nun ein Tropfen beim Herausnehmen Fäden, die beim Erkalten brüchig werden, so holt man die Objekte heraus und läßt sie mehrere Tage auf der warmen Thonplatte liegen. Kann man mit dem Nagel keinen Eindruck mehr hinein machen, so zerlegt man sie mit einer Laubsäge in Platten und schleift sie auf der einen Seite auf einem Abziehstein eben; diese kittet man mit Kanadabalsam oder Kopallösung auf einen Objektträger, läßt den Kitt auf der warmen Thonplatte hart werden und schleift nun die freie Fläche erst auf einem Schleifstein, dann auf einem Abziehstein dünn, polirt sie, wäscht sie mit Wasser ab und schließt das Präparat in Balsam ein.

Man kann die Objekte auch ungefärbt einbetten, den Kopal aus den Schliffen durch Chloroform ausziehen, diese eventuell entkalken und dann färben. Auch kittet man wohl den Schliff (nach dem Ausziehen des Kopals) mit hartem Kanadabalsam auf den Objektträger, entkalkt vorsichtig nur die hervorstehende Partie, wäscht sie aus und färbt sie.

Diese ursprünglich nur für Korallen bestimmte Methode ist offenbar auf alle Objekte ausdehnbar, in denen harte und weiche Gewebe innig miteinander verbunden sind. Mit leichten Änderungen haben sie Weil und Röse für Knochen und Zähne verwandt (s. § 769); s. auch den folgenden §.

**178. Kanadabalsam** wird von JOHNSTON-LAVIS & VOSMAER (Journ. R. Micr. Soc. (2) Vol. 7 1887 p. 200) zum Schleifen von Poriferen mit den Weichtheilen benutzt. Von dem in absolutem Alkohol gehärteten Schwamm wird eine 5—12 mm dicke Scheibe durchgefärbt, entwässert, allmählich in Benzol und von da ebenso vorsichtig erst in dünnen, dann in dicken Benzolbalsam gebracht. Nun bleibt sie 1 Tag an der Luft liegen und wird in einem Luftbade (mit Boden und Wänden aus Asbest, um die Wärme gleichmäßig zu vertheilen) bei etwa 80 ° C. getrocknet, bis der Balsam hart genug ist. Beim Schleifen wird der Stein mit Seifenlösung (in Alkohol von etwa 50 %) benetzt.

**179. Schellack.** GIESBRECHT (Morph. Jahrb. 6. Bd. 1880 p. 95) kocht die Stacheln von Seeiegeln in absolutem Alkohol, umgibt sie mit einem dicken Cylinder von geschmolzenem Schellack, schneidet sie mit der Laubsäge in Scheiben,



schleift und polirt diese erst auf der einen Seite, kittet sie mit Schellack auf einen Objektträger, schleift und polirt die andere Seite ebenfalls und schließt den Schliff in Balsam ein. Oder er befreit durch kochenden absoluten Alkohol den auf einer Seite polirten Schliff vom Schellack, bringt ihn auf wenigstens 1 Tag in eine alkoholische Lösung von Fuchsin, dann in Wasser, um das Fuchsin in den Kanälen niederzuschlagen, trocknet ihn, kittet ihn mit hartem Balsam auf und bearbeitet auch die andere Seite wie oben. Ähnlich lassen sich Schalen von Muscheln, Schnecken und Rhizopoden behandeln.

**180. Kolophonium und Wachs.** EHRENBAUM (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 414) schmilzt 10 Theile Kolophonium und 1 Theil Wachs zusammen, durchtränkt die Objekte damit und schleift sie in der gewöhnlichen Weise dünn. Die Masse wird erst mit Terpentinöl, dann mit Chloroform ausgezogen. Ebenfalls nur für harte Gegenstände (Schalen, Zähne etc.) ohne Weichtheile.

### Gefriermassen.

**181. Allgemeines.** Über den Werth der Gefriermethode für histologische Zwecke lauten die Urtheile sehr verschieden. In der Regel wird sie von den Pathologen ebenso gerühmt wie von den Zoologen getadelt, von Jenen viel ausgeübt, von Diesen vernachlässigt. In manchen Fällen mag sie gute Dienste leisten, namentlich wenn man sich rasch an einigen Schnitten über den Bau eines kompakten Gewebes orientiren will. Zu unterscheiden ist aber dabei, ob man frische Objekte ohne jeglichen Zusatz gefrieren läßt, oder konservirte, die dann vorher mit Wasser oder einer wässerigen Flüssigkeit durchtränkt werden müssen. In warmen Klimaten lassen sich im Sommer die Objekte nicht leicht gefrieren, auch thauen die Schnitte auf dem Messer sofort wieder auf, was bei frischen Geweben bedenklich ist. Immerhin leistet die Methode in geschickten Händen Manches, erfordert aber viele Übung.

Um die Bildung von Eiskristallen in den Objekten zu verhüten, kann man diese mit einer Lösung von Gummi arabicum durchtränken. S. auch § 184.

Flüssige Kohlensäure (statt des Äthers) verwendet JOHNE (\*Zeit. Thier-med. (2) 1. Bd. 1897 p. 366; Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 370): für Stücke von 8—10 mm Dicke und 2 cm Länge und Breite genügen 3—5 Sekunden. — BARDEEN (Bull. J. Hopkins Hosp. Baltimore Vol. 12 1901 p. 112) befestigt das Mikrotom direkt auf der Flasche mit flüssiger Kohlensäure. — S. auch JUNG in: Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 69. Vers. 1898 2. Theil 1. Hälfte p. 129. Neuerdings verwendet er Äthylchlorid. — WOLFF (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 175) durchfriert mit Äthylchlorid die mit 10%igem Formol fixirten und mit Wasser ausgewaschenen Objekte, aber auch in Gelatine eingebettete. Die Schnitte



bringt er auf den Objektträger und befestigt darüber mit Wachsfüßen das Deckglas so, daß ein „kapillarer Spaltraum“ bleibt; dieser erlaubt das Färben, Auswaschen etc., ohne daß die Schnitte wegschwimmen können.

KRAUSE (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 289) benutzt in einem besonderen Apparate feste Kohlensäure als „vielleicht ideales Gefriermittel“, kühlt auch das Messer damit ab, besonders für Schnitte von nur 5  $\mu$  Dicke. Auch große Objekte (bis zu 60 mm Durchmesser) gefrieren schnittfähig: 2—3 mm dicke in 3—5 Minuten, 10—15 mm dicke in über 15 Min.; eventuell läßt man um das gefrorene Objekt zum besseren Festhaften Hühnereiweiß oder 5—10%ige Gelatine gefrieren.

Mit flüssiger Luft operiert BRISSY (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 62 1907 p. 1115): er bringt die Objekte direkt hinein und macht dann aus freier Hand Schnitte.

PLENGE (Arch. Path. Anat. 144. Bd. 1896 p. 409) härtet die Gewebe in 4% igem Formol, schneidet Scheiben von 1 mm Dicke ab und läßt sie gefrieren. Die Schnitte von 30—10  $\mu$  Dicke fängt er in Alkohol von 50% auf. (S. hierzu oben p. 62 BLUM.) — Über die Erhärtung des Formols durch Resorcin bis zur Schnittkonsistenz, sodaß sich kleine Objekte (z. B. Rückenmark) ohne Alkohol einbetten lassen, s. DÖLLKEN in: Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 33. — ANITSCHKOW (ibid. 27. Bd. 1910 p. 73) legt den Schnitt vom Messer in 50% igen Alkohol, von da auf den mit Eiweißglycerin bestrichenen Objektträger, drückt ihn hier mit Papier an, schafft ihn in 98% igen Alkohol (oder falls Fett nicht ausgezogen werden darf, in ein Gemisch von 15 Th. Formol und 100 Th. 50% igen Alkohols) und zuletzt gradatim in Wasser. — OLT (ibid. 23. Bd. 1906 p. 327) bringt den Schnitt in „Phenolgelatine“ (1% ige Gelatine mit etwas Karbolsäure), härtet diese auf dem Objektträger durch Formaldehyd-Dämpfe 1 Stunde lang und taucht das Präparat auf einige Minuten in 10% iges Formol. RAWITZ (Lehrbuch p. 143) bezeichnet diese Methode als „höchst ingeniös“.

**182. Gefrierenlassen frischer Gewebe.** SOLGER (Bull. Accad. Med. Roma Anno 21 1895 p. 88; Festschrift Gegenbaur Leipzig 2. Bd. 1896 p. 211) empfiehlt sehr das Schneiden gefrorener Objekte (Speicheldrüse, Thränendrüse, Niere, Leber etc.). Diese werden frisch im eigenen Saft gefroren, aber jedes Stück nur einmal, und dann macht man aus freier Hand rasch möglichst viele Schnitte, bringt sie ohne Zusatz auf den Objektträger, zieht gegen die Verdunstung um das Deckglas einen Wachstrand und untersucht sie sofort. Hat man viel Material, so kann man noch ein Stück gefrieren lassen und die Schnitte nach Belieben konservieren. Man lasse aber das Stück nur bis zur Hälfte seiner Höhe (etwa 2—3 mm hoch) gefrieren, entferne die ungefrorene Schicht und schneide nur die mittlere Zone. — Nach RAWITZ (Lehrbuch p. 130) dagegen entbehrt das Gefrierenlassen frischer Gewebe jedes wissenschaftlichen Werthes, und SOLGER (Encyclop. 1. Bd. p. 505) gibt selbst zu, daß es „manchen Organen und Geweben gegenüber versagt“. Das Messer wird zweckmäßig vorher auf Eis abgekühlt.

**183. Massen aus Gummi und Syrup.** HAMILTON (Journ. Anat. Phys. London Vol. 12 1878 p. 254) durchtränkt die Gewebe mit Zuckersaft (2 Theile



Zucker, 1 Theil Wasser), legt sie eine Stunde vor dem Schneiden in dicken Gummischleim und umgibt sie mit diesem auch auf dem Mikrotom. — COLE (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 4 1884 p. 318) verwendet direkt ein Gemisch von Gummischleim und Zuckersaft.

**184. Andere Massen.** Dextrinlösung nach WEBB (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 113). Gelatine nach SOLLAS (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 24 1884 p. 163). Gelatine mit Gummi arab. und Traganth nach JACOBS (Amer. Natural. Vol. 19 1885 p. 734). Hühnereiweiß nach ROLLETT für frische Muskeln (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1896 p. 92). Anisöl nach KÜHNE (s. oben § 126) und MOORE (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1895 p. 247).

---



## 9. Kapitel.

**Aufkleben der Schnitte.**

**185. Wahl der Methode.** In der Regel sind zu empfehlen: 1. für schon gefärbte Paraffinschnitte Schellack nach Giesbrecht oder Kollodium nach Schällibaum; 2. für Paraffinschnitte, die auf dem Objektträger gefärbt werden sollen, Eiweiß nach Mayer, falls aber die Schnitte stark gefaltet sind, oder das Eiweiß sich mit färben würde, Wasser (oder Alkohol); 3. für Celloidinschnitte Eiweiß (unten § 199) und für sehr große Schnitte die Methode von Weigert (§ 202).

Das Aufkleben der Schnitte auf Deckgläser statt auf Objektträger ist wohl nur in geschickten Händen rationell, auch so wenig gebräuchlich, daß wir im Folgenden davon absehen. Selbst CARAZZI (Manuale p. 106), der es für Paraffinschnitte rühmt, klebt die Celloidinschnitte doch auf den Objektträger.

**Methoden für Paraffinschnitte.**

**186. Aufkleben mit Wasser oder Alkohol.** Diese Methode hat wohl GAULE (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1881 p. 156) erdacht: er benetzte den Objektträger mit Alkohol, breitete die Schnitte darauf mit einem Pinsel voll Alkohol aus, erwärmte sanft, legte das Deckglas auf, entfernte das Paraffin mit Xylol und schloß in Balsam ein. Gegenwärtig wird sie aber so ausgeführt, daß man die Schnitte sich auf warmem Wasser strecken läßt und dann auf den Objektträger bringt (s. unten p. 120), oder sie auf den nassen Objektträger legt und hier durch Erwärmen streckt. Letztere Methode ist einfacher. Man verfährt dabei am besten wie folgt.

Der gut gereinigte Objektträger wird, wenn es sich nur um wenige Schnitte handelt, mit einem reinen Pinsel voll Wasser oder aus einer Tropfflasche tüchtig benetzt; die Schnitte werden dann aufgelegt und strecken sich schon jetzt einigermaßen, wenn sie vorher etwas eingerollt gewesen waren, aber die feinen Falten verschwinden



noch nicht. Man erwärmt nun den Objektträger auf etwa  $40^{\circ}$  C. (jedenfalls nicht so stark, daß das Paraffin schmilzt) entweder auf einer warmen Platte oder einem Wasserbade oder (sehr vorsichtig!) über einer kleinen Flamme. Haben sich dann alle Falten geglättet, so ordnet man die Schnitte, falls sie dabei auf dem Wasser umhergeschwommen sind, mit dem Pinsel nochmals, neigt den Objektträger, um das Wasser abfließen zu lassen, und legt ihn zum Trocknen bei Seite. Hat man keine Eile, so bleibt er über Nacht an einem staubfreien Orte liegen, und man kann ihn nun, nachdem man das Paraffin rasch geschmolzen hat, durch Xylol (oder Chloroform), Alkohol (von  $100^{\circ}$ ,  $90^{\circ}$ ,  $70^{\circ}$ ) und Wasser in die Färblösungen u. s. w. bringen, ohne daß sich in der Regel die Schnitte ablösen. Hat man Eile, so trocknet man den Objektträger bei etwa  $40^{\circ}$  C.  $\frac{1}{2}$  Stunde lang, besser aber, namentlich bei dicken Schnitten, wenigstens einige Stunden lang.

Auch die Methode von GASKELL und Anderen ist brauchbar, namentlich für wenige große Schnitte oder für Schnittbänder, die beim zweimaligen Übertragen (erst auf das warme Wasser, dann auf den Objektträger) nicht leicht beschädigt werden. S. oben § 152 und unten p. 124 (MANN).

Zum Strecken der Schnitte hat LEE (Vade-Mecum 5. Edit. 1900 p. 141) im warmen Wasserbade eine ziemlich dicke Glasplatte liegen; diese nimmt er hervor, legt den Objektträger darauf und kontrolliert eventuell die Dehnung der Schnitte mit der Lupe.

Sind viele kleine Schnitte, von denen keiner aus der Reihe kommen darf, aufzukleben, so muß man das Wasser mit Vorsicht auf den Objektträger bringen. Mit einem feinen Pinsel zieht man unter Anhauchen des Glases einen Strich, der für eine Reihe Schnitte ausreicht, legt diese hin, streicht nun erst für die zweite Reihe das Wasser auf, kurz, geht mit dem Wasser so sparsam um, daß möglichst wenig Gefahr für das Wegschwimmen der Schnitte besteht. Zu wenig Wasser darf man jedoch nicht nehmen, denn die Schnitte sollen ja erst später alle auf einmal festgeklebt werden. Hat man alle Schnitte glücklich in Reihe und Glied liegen, so läßt man mit dem Pinsel an Anfang und Ende jeder Reihe etwas Wasser zufließen, damit die Schnitte sich ordentlich ausdehnen können, erwärmt den Objektträger und verfährt sonst wie oben angegeben. Mit einiger Übung lassen sich viele Schnitte, auch wenn sie einzeln hingelegt werden (Schnittbänder machen natürlich weniger Last), in schönster Ordnung festkleben, falls das Wasser sich auf dem Objektträger gut ausbreiten will und nicht in Tropfen zusammenläuft.



Die Reinigung des Objektträgers zu diesem Behufe ist nicht leicht und auch wohl nicht immer absolut sicher zu erreichen. Man hauche zuerst über das Glas hin: nur wenn der Hauch gleichmäßig auftritt und verschwindet, wird das Wasser sich gut ausbreiten. Geschieht jenes nicht, so verreise man mit dem vorher an einem Tuche gut abgewischten Finger etwas Speichel auf dem Glase, spüle dieses mit Wasser ab und benutze es sofort, ohne es abzutrocknen. HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker Leipzig 1892 p. 114) reibt den Objektträger mit einem nassen Tuche energisch ab, verfährt also ähnlich. Besser ist das gründliche Putzen des Glases mit feiner Schlemmkreide. HELLY (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 330) zieht den Objektträger mit der späteren Oberseite nach unten 2 oder 3 mal durch die Flamme eines Bunsenschen Brenners. GUDERNATSCH (ibid. 24. Bd. 1908 p. 358) wäscht ihn unter der Wasserleitung mit Kaliseife und klebt, ohne ihn abzutrocknen, die Schnitte (mit Leitungswasser) auf. Helfen aber alle diese Mittel nicht, so muß man andere Objektträger wählen.

SUCHANNEK (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 464) schiebt die Schuld für das Zusammenlaufen des Wassers auf die Gegenwart von Fett. Dies wird in der Regel zutreffen, aber mitunter hilft auch das Reinigen mit Xylol und das Putzen mit einem ganz reinen Tuche nicht. Vielleicht trägt doch die Sorte des Glases zuweilen Schuld daran. Jedenfalls haben alle sauren Flüssigkeiten keine Neigung dazu, sich auf dem Glase gut auszubreiten, während die alkalischen es eher thun. Ein Minimum von Mayerschem Eiweiß, mit dem Finger auf dem Objektträger verrieben, thut Wunder, ist aber nur dann zu empfehlen, wenn man die Schnitte nicht später in Flüssigkeiten zu bringen hat, die es auflösen (s. § 187).

Die den Glasern wohlbekannte Schlemmkreide (s. DE GROOT in: Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 62) und nach meinen (MAYER) Versuchen Magnesium- oder Natriumcarbonat sind sehr brauchbar, mehr als Speichel.

Vom Aufkleben der Schnitte mit Alkohol ist man abgekommen, obwohl schwacher (etwa von 30%) recht gut wirkt. — Ob man destillirtes oder vielleicht besser gewöhnliches Wasser nimmt, bleibt sich gleich, und man braucht wohl nur äußerst selten bei der Weiterbehandlung der Schnitte (z. B. beim Färben) auf die Salze des gewöhnlichen Wassers Rücksicht zu nehmen. Dagegen ist das Wasser überhaupt bei gefärbten Schnitten gar nicht harmlos, greift vielmehr beim Strecken und langsamen Trocknen in der Wärme manche Farbe an oder zieht sie etwas aus. Es mag also unter Umständen auch in den Schnitten selber leichte Veränderungen herbeiführen.

Mit Ausnahme von mir (MAYER) und LANGDON (s. unten § 833) scheint man diese böse Eigenschaft des Wassers, da man gefärbte Schnitte wohl nicht



damit aufklebt, bisher übersehen zu haben. Ein fernerer Übelstand ist der, daß ein Erwärmen bis dicht an den Schmelzpunkt des Paraffins mitunter die Schnitte übermäßig dehnt; namentlich gilt dies vom Bindegewebe. Indessen läßt sich dies ja leicht vermeiden. Heidenhain (l. c.) warnt ebenfalls vor zu starkem Erwärmen, da Kerne und Zellen alsdann sehr schrumpfen.

Über die Methode von Mayer, während des Aufklebens zu färben, s. oben p. 10.

In der Regel haften die Schnitte, wenn sie sorgsam aufgeklebt wurden, so fest am Glase wie nach irgend einer anderen Methode. Absolut sicher jedoch nicht, besonders wenn sie aus vielen Partikeln bestehen. Dicke kleine Schnitte kleben meist nicht so fest wie große dünne. Besonders übel sind Schnitte mit chitinigen oder anderen Theilen, die sich im Wasser lebhaft verziehen. Alles dies sowie der Umstand, daß sich die mit Osmium- oder Chromgemischen fixirten Gewebe nicht so fest anlegen, wie andere, gilt vom Aufkleben mit Wasser eben so sehr wie von dem mit Eiweiß. (S. hierzu § 189.) Man darf also jenes, da es viel weniger leicht und rasch geht als mit Eiweiß, Schellack etc., nur dann empfehlen, wenn es auf gut gestreckte Schnitte ankommt, oder wenn das Eiweiß sich mitfärben würde.

NUSBAUM (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 52) klebt mit Brunnenwasser (oder destill. Wasser mit einer Spur Gummi arabicum) auf. — ALBRECHT & STOERK (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 12) lassen die Schnitte auf dem Objektträger im kalten Wasser sich durch Anhauchen strecken, pressen sie mit glattem Filtrirpapier kräftig an, lösen sofort das Paraffin durch Xylol auf, verdrängen dieses durch absoluten Alkohol und gießen eine ganz dünne Lösung von Celloidin auf. — Nicht weniger energisch handelt EISEN (ibid. 14. Bd. 1897 p. 197): er benutzt zum Aufkleben Alkohol von 80 %, bedeckt die Schnitte, nachdem sie sich in der Wärme gestreckt haben, mit Fließpapier, rollt einen metallenen Stab „with considerable force“ über sie hin und bürstet sie zuletzt mit einem weichen Pinsel ab. Diese heroischen Mittel sollen nicht schaden. — REGAUD (Bibliogr. Anat. Paris Tome 9 1901 p. 51) bringt die beliebig aufgeklebten Schnitte aus dem Xylol in Alkohol von 100 oder 95 %, dann auf  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten in verdünntes Kollodium und nach gutem Abtropfenlassen in Alkohol von 70 oder 80 %. Sie lösen sich nun auch beim Färben in wässrigen Gemischen nicht ab. — Ähnlich verfährt HESSE (unten § 827).

**187. Eiweiß.** Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 521; Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 42) werden je 50 ccm Eiweiß und Glycerin und 1 g Natriumsalieylat gut gemischt und in eine ganz reine Flasche filtrirt. Das Filtriren dauert Tage lang, aber das Gemisch verdirbt dabei nicht.



LEE (Vade-Mecum 5. Edit. 1900 p. 143) löst das Natriumsalicylat in etwas Wasser, setzt dies dem Eiweiß zu und schlägt es erst tüchtig, bevor er das Glycerin hinzufügt. — HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 331) löst 1 g Blutalbumin in 25 ccm Wasser, filtrirt und setzt das gleiche Volumen 50%igen Alkohols zu. — FRANCOTTE schüttelt (nach Mittheilung an MAYER) das Eiweiß mit einigen Tropfen Essigsäure tüchtig und setzt nun das Glycerin und Natriumsalicylat hinzu; das Gemisch soll sich sehr rasch filtriren lassen.

Man streicht auf den kalten Objektträger ein klein wenig von obigem Eiweiß auf, verreibt es gut mit dem vorher sauber abgewischten Finger, legt die Schnitte auf — falls sie es vertragen, mag man sie mit dem Pinsel sanft andrücken — und erwärmt den Objektträger einige Minuten auf dem Wasserbade oder zieht ihn einen Augenblick durch eine Flamme, sodaß das Paraffin ordentlich schmilzt. Nachher wird dieses wie gewöhnlich mit Xylol etc. aufgelöst. Man darf aber, wenn die Schnitte nicht gefärbt werden sollen, nicht direkt Balsam darauf geben, denn das Glycerin würde ja Trübungen verursachen, vielmehr müssen die Schnitte unter allen Umständen auch in absoluten Alkohol und von hier entweder in die Färbgemische oder zurück in Xylol etc.; s. jedoch § 421. Das Glycerin soll das Eiweiß vor dem Eintrocknen auf dem Objektträger schützen, ist also unentbehrlich.

Nach GRANDIS (Atti Accad. Lincei Rend. (4) Vol. 6 1890 Sem. 2 p. 138) bildet sich aus Eiweiß in Kontakt mit der gleichen Menge Glycerin schon bei gewöhnlicher Temperatur ein Körper, der nicht mehr durch Hitze koagulirt, jedoch in Alkohol unlöslich ist. In Mayers Gemisch war nach zwei Monaten das meiste Eiweiß zersetzt, nach zwei Jahren alles. — Zwar ist es nicht absolut nöthig, den Objektträger zu erwärmen, obwohl Mayer auf seine Methode nur durch den Gedanken an die Koagulation des Eiweißes gekommen war, und frisches Eiweißglycerin in der That koagulirt. Aber indem das Paraffin schmilzt, legen sich die Schnitte glatter auf, als wenn man es durch kaltes Xylol etc. fortschafft, und insofern ist die Erwärmung doch anzurathen.

Nach VOSSELER (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 457) wird das Eiweißgemisch mit der Zeit dunkler und dünnflüssig und klebt dann nicht mehr gut; man möge es daher alle 6 Monate neu bereiten. Das finde ich (MAYER) nicht: das älteste meiner Gemische, aus dem Jahre 1883, bildet zwar eine hellbraune Gallerte, klebt aber nach wie vor gut.

Die Schnitte haften in alkoholischen oder wässerigen Flüssigkeiten absolut sicher, falls diese nicht das Eiweiß lösen (z. B. Alkalien), und daher ist die Methode für Schnitte, die noch gefärbt werden sollen, warm zu empfehlen; auch arbeitet man sehr rasch mit ihr. Aber gleich der von Schällibaum und von Giesbrecht glättet sie gefaltete Schnitte nicht, streckt gerollte nicht. Auch färbt sich das Eiweiß in ganz seltenen Fällen etwas mit (bei reinen Kernfärbungen nicht!).



Und meist trägt man viel zu viel Eiweiß auf; man verreise es also gut mit dem Finger und wische dann noch mit dem Ballen der Hand über den Objektträger hin; damit man hierbei nicht seine eigenen Epithelzellen auf das Glas befördere, reibe man zuvor Finger und Ballen auf einem Tuche ab!

KERR (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1901 p. 4) trocknet die Schnitte durch die in Celloidin und Paraffin eingebetteten Eier von *Lepidosiren* nach dem Aufkleben mit Eiweiß in einer Atmosphäre von Alkohol plus Äther, weil sie sich sonst werfen.

**188. Wasser und Eiweiß.** Die möglichen Kombinationen beider Methoden des Aufklebens mit Wasser und mit Eiweiß scheinen nachgerade alle erprobt zu sein, aber von Zeit zu Zeit wieder neu entdeckt zu werden. Bei einigen von ihnen bereitet das Eiweiß wohl nur den Objektträger zur glatten Aufnahme des Wassers vor und hilft beim Kleben kaum mit (s. oben p. 121).

DUVAL (Journ. Anat. Phys. Paris Tome 27 1891 p. 26) legt die Schnitte trocken auf den Objektträger, läßt stark verdünntes Eiweiß darunter fließen, erwärmt ihn bis zum Glattwerden der Schnitte und legt ihn auf 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur zum Trocknen hin. — HENNEGUY (ibid. p. 398) breitet auf dem mit Eiweiß bestrichenen Objektträger mit einem Glasstabe etwas Wasser aus, legt die Schnitte auf und trocknet sie nach der Glättung in 10—15 Minuten bei 40° C. — MANN (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 442; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 486) schüttelt Eiweiß mit dem 10fachen Volumen an Wasser 5 Minuten lang, filtriert es und bestreicht damit Objektträger, die er dann trocken weglegt. Die Schnitte läßt er sich auf Wasser von 40° C. ausbreiten, hebt sie mit einem dieser Objektträger heraus, ordnet sie darauf, läßt das Wasser ablaufen, trocknet sie 5 Minuten lang bei 35° C. und entfernt das Paraffin mit Xylol.

APÁTHY (Mikrotechnik p. 126) braucht Eiweißglycerin in 100facher Verdünnung mit Wasser. — SOBOTTA (Anat. Hefte 1. Abth. 8. Bd. 1897 p. 477) bestreicht für Schnitte von Objekten aus Chromsäuregemischen oder mit osmirtem Fett den Objektträger vorher ganz dünn mit Eiweißglycerin. — Die sogenannte Japanische Aufklebmethode, die REINKE (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 21) dem Japaner Ikeda zuschreibt, ist die von Henneguy.

**189. Wasser, Eiweiß und Celloidin.** APÁTHY (Carazzi, Manuale p. 114) klebt sehr schwierige Schnitte oder solche, die lange mit Säuren, Alkalien etc. behandelt werden sollen, folgendermaßen auf. Zuerst wird auf dem Objektträger mit verdünntem Eiweiß (1 Theil auf 4 Theile  $\frac{1}{2}$  % igen Formols; zur Färbung etwas Fuchsin) ein Rahmen von der Größe des Deckglases gezogen und durch Hitze koaguliert. Die Schnitte werden innerhalb des Rahmens mit Wasser aufgeklebt, nach dem Trocknen mit 2 % iger Lösung von Celloidin äußerst dünn so bestrichen, daß auch der Rahmen davon bedeckt ist, und dann wie gewöhnlich behandelt; nur ist der absolute Alkohol durch 95 % igen zu ersetzen (aus diesem kommt das Präparat bei der Überführung in Balsam erst



in ein Gemisch gleicher Theile von absol. Alk. und Chloroform, dann in reines Chloroform), auch dauert wegen des Celloidins alles etwas länger als sonst. Der Rahmen kann auch nach dem Trocknen der Schnitte gezogen werden. Für Celloidinschnitte ist die Methode ebenfalls gut. — Etwas einfacher verfahren WILSON & HILL (Phil. Trans. B Vol. 199 1907 p. 35).

**190. Schellack.** Nach GIESBRECHT (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 484) bestreicht man die erwärmten Objektträger ganz dünn und gleichmäßig mit einer filtrirten Lösung von Schellack in absolutem Alkohol, indem man in diese einen ziemlich dicken Glasstab taucht und ihn rasch über das Glas hinführt. Diese Objektträger bewahrt man trocken auf; unmittelbar vor dem Gebrauch streicht man ein wenig Kreosot mit einem Pinsel dünn darüber, legt die Schnitte auf und läßt im Wasserbade das Paraffin schmelzen und das Kreosot verdunsten. Nach dem Abkühlen wird das Paraffin mit Terpentinöl weggeschafft und das Präparat in Kanadabalsam eingeschlossen.

Diese älteste aller Aufklebemethoden hat später einige leichte Änderungen erfahren (s. die erste Auflage dieses Buches p. 117) und ist dann rasch in Vergessenheit geraten. Nach mir (MAYER) mit Unrecht. Allerdings für Schnitte, die man färben will, eignet sie sich nicht, aber für solche, die direkt in Harz kommen sollen, kenne ich keine bequemere. Zudem ist sie völlig zuverlässig: die Schnitte können mehrere Tage lang senkrecht in Xylol stehen, ohne sich loszulösen! Man überstreicht den gut erwärmten Objektträger mit Schellack, läßt ihn erkalten, legt die Schnitte darauf, drückt sie, wenn sie stark gefaltet oder gerollt sind, mit dem Pinsel sanft an, erwärmt sie in der Flamme bis zum Schmelzen des Paraffins, löst dieses mit Xylol auf und schließt sie in Xylolbalsam (oder Dammar) ein. Aber: man verschaffe sich einen Schellack, der nach dem Erkalten auf dem Objektträger, wenn man den Finger darauf preßt, nur einen ganz schwachen Eindruck davon bekommt! Ist er weicher, so kleben die Schnitte nicht recht fest, ist er härter, so thun sie es ebenfalls nicht, aber dann kann man durch Bestreichen mit Nelkenöl helfen. Ob er braun oder gebleicht ist, thut Nichts zur Sache. Die Lösung mache man in absolutem Alkohol (vom braunen im Verhältniß von 1:20, vom gebleichten 1:5), lasse absetzen, filtrire, lasse nochmals einige Tage gut absetzen und prüfe ihn dann sowohl mit dem Finger, als auch indem man Schnitte, wie oben angegeben, damit festklebt und in Xylol aufstellt.

Da Chloroform den Schellack löst, so darf der Balsam nicht damit verdünnt sein, wohl jedoch mit Terpentinöl, Benzol oder Xylol.

**191. Kollodium.** Nach SCHÄLLIBAUM (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1883 p. 565) streicht man das Gemisch von 1 Vol. Kollodium und 3—4 Vol. Nelkenöl (oder Lavendelöl) mit einem Pinsel auf den Objektträger, legt die Schnitte auf und erwärmt ihn auf dem Wasserbade, bis das Öl verdunstet ist. Die Schnitte haften fest und können so bis ins Wasser gebracht werden; auch färben sollen sie sich lassen; ich (LEE) finde aber nicht, daß sie dafür sicher genug aufgeklebt sind, und empfehle die Methode höchstens für gefärbte Schnitte. Auch versagt sie beim Strecken und Glätten der Schnitte. — Nach RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 170) hingegen muß man zwar alle 4—5 Tage die



Mischung (3 Th. Nelkenöl und 2 Th. Kollodium) frisch bereiten, und das Nelkenöl darf nicht lange am Lichte gestanden haben, aber man verliert keinen Schnitt, selbst nicht beim Färben in wässerigen Lösungen.

FIELD & MARTIN (Bull. Soc. Z. France 19. Vol. 1894 p. 48) brauchen zum Lösen des Paraffins Petroläther, weil Xylol, Toluol oder Benzol das Kollodium leichter löslich in Alkohol machen. — GAGE (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 4 1884 p. 654) überzieht die Objektträger mit Kollodium, läßt sie trocknen und bepinselt sie erst beim Gebrauch mit Nelkenöl. Ähnlich SUMMERS (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 8 1887 p. 73); er legt aber die Schnitte trocken auf und läßt dann ein Gemisch von Alkohol und Äther zu gleichen Theilen darunter fließen; sowie dieses verdunstet ist, haften die Schnitte fest. S. auch GALLEMAERTS (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 493): Schießbaumwolle in Aceton gelöst. — Ich (MAYER) löse die Schießbaumwolle direkt in Nelkenöl, halte übrigens die ganze Methode für wenigstens entbehrlich.

STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 153; s. auch 4. Bd. 1887 p. 45) empfiehlt das Gemisch von 2 Theilen Kollodium und 1 Theil Rizinusöl; die aufgelegten Schnitte überstreicht er mit einem dickeren Gemisch (2—3 Koll. duplex und 2 Rizinusöl) und bringt den Objektträger sofort bis zur Lösung des Paraffins (2—10 Stunden) in Terpentinöl. Dieses härtet das Kollodium (Benzol und Chloroform thun das auch). — S. auch GEBHARDT (ibid. 14. Bd. 1897 p. 39: Kombination der Methode von Strasser mit dem Aufkleben durch Wasser), BLOCHMANN (ibid. p. 189: Aufkleben mit Wasser auf Kollodiumhäute) und STRASSER (ibid. 19. Bd. 1903 p. 344: Aufkleben mit gleichen Theilen von Rizinusöl und 8% iger Lösung von Celloidin in Ätheralkohol).

**192. Kollodium-Papier.** Die Methode von STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 346) ist eine sehr komplizierte Abänderung der von Weigert für Celloidinschnitte (§ 202) und nur mit dem Mikrotom von Strasser zu gebrauchen. (S. auch ibid. 6. Bd. 1889 p. 154; 7. Bd. 1890 p. 290, 304; 9. Bd. 1892 p. 8; 12. Bd. 1895 p. 154; 14. Bd. 1897 p. 39.) — Auf ihr basirt die Methode von SCHOENEMANN (ibid. 19. Bd. 1902 p. 150; ibid. 1903 p. 333; s. auch STRASSER ibid. p. 339), ist aber auch für Celloidinschnitte verwendbar. Diese werden auf das bei Grübler & Hollborn käufliche „farbenwiderstandsfähige“ Papier mit Strassers Gemisch von Kollodium und Rizinusöl (§ 191) aufgeklebt und wandern auf ihm durch Xylol, 90% igen Alkohol und Wasser in das Färbbad, von da durch Wasser, 95% igen Alkohol und Weigerts Karbolxylol in Xylol; entweder werden sie nun in Cedernöl untersucht oder, um trocken aufbewahrt zu werden, mit „Elastinlack“ (bei Grübler zu haben) durchtränkt. Die Paraffinschnitte werden ebenso aufgeklebt und, nachdem sie  $\frac{1}{4}$  Stunde an der Luft getrocknet haben, im Xylol vom Paraffin befreit.

**193. Gummi arabicum.** FLÖGEL (Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 565) löst 1 Theil Gummi in 20 Theilen Wasser, filtrirt und setzt gegen das Schimmeln etwas Alkohol zu. Der Objektträger wird hiermit bestrichen, getrocknet und nach dem Auflegen der Schnitte angehaucht, um das Gummi klebrig zu machen; oder die Schnitte, namentlich große, kommen auf den noch feuchten Objektträger. Dann wird das Paraffin aufgelöst und Balsam auf die Schnitte gegeben.



FRENZEL (Arch. Mikr. Anat. 25. Bd. 1885 p. 51) setzt zu einer schwachen Lösung von Gummi in Wasser eine wässerige Lösung von Chromalaun, viel Glycerin und etwas Alkohol (l. c. p. 142). Hiermit wird der Objektträger ganz dünn bestrichen, die Schnitte werden mit dem Pinsel angedrückt, dann angeschmolzen und höchstens 15 Minuten lang auf 30—45° C. erwärmt, um das Gummi unlöslich zu machen. Dieses färbt sich in den meisten Färbgemischen nicht mit.

WADDINGTON (Journ. Quekett Micr. Club Vol. 6 1881 p. 199) reinigt Gummi, indem er die filtrirte Lösung in viel Alkohol gießt, das ausgefällte „Arabin“ mit Alkohol wäscht, trocknet, in Wasser löst und zweimal filtrirt.

**194. Quittenschleim.** BORN & WIEGER (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 346) nehmen 2 Theile officinellen Quittenschleim, 1 Theil Glycerin und eine Spur Karbolsäure. — VAN WALSEM (Verh. Akad. Amsterdam (2) 7. Deel No. 1 1899 p. 149) braucht selbst bereiteten Quittenschleim.

**Agar-Agar.** GRAVIS (Bull. Soc. Belge Micr. Vol. 15 1889 p. 72) verwendet 1 Theil Agar in 1000 Theilen Wasser gelöst.

**195. Gelatine.** PERRIER (Ann. Sc. N. (7) Tome 8 1890 p. 77) streckt die gefärbten Schnitte mit 2—3%iger filtrirter Lösung von Gelatine auf dem Objektträger und klebt sie damit fest. Nachfärben lassen sie sich nur mit Farbstoffen (z. B. Methylenblau), die in absol. Alkohol oder einem Gemisch von diesem und Nelkenöl gelöst sind; man muß darauf achten, daß die Gelatine sich nicht mitfärbt. — Ähnlich BÜRGER (Fauna Flora Golf. Neapel 22. Monogr. 1895 p. 446). S. auch VAN WALSEM (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 229: äußerst komplizirt).

GRAY (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 117) macht die Gelatine hinterher durch 2%ige wässerige Lösung von Kaliumbichromat unlöslich. — HENNEGUY (Leçons sur la cellule. Paris 1896 p. 62) setzt zu Gelatinelösung (1 : 5000) beim Gebrauch eine Spur Bichromat; den Objektträger mit den Schnitten trocknet er am Licht 2—3 Stunden lang. — Ähnlich verfährt ROLLE (Jena. Zeit. Naturw. 43. Bd. 1907 p. 392). — ALLEGER (Proc. Amer. Micr. Soc. Vol. 15 1894 p. 192) macht die 1/2 %ige Gelatinelösung durch etwas Formol unlöslich; die Färbung der Schnitte wird nicht beeinträchtigt. — Ähnlich EISEN (Proc. Californ. Acad. Sc. Vol. 5 1895 p. 4), KONIŃSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 161), der seine Methode als neu hinstellt, und OLT (ibid. 23. Bd. 1906 p. 325).

**196. Zucker und Photoxylin** nach Obregia. S. unten § 204.

**197. Guttapercha** (FRENZEL in: Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 51 u. 423) und **Kautschuk** (THRELFALL ibid. p. 301): beides komplizirte und nicht ganz zuverlässige Methoden. S. auch VAN WALSEM (Verh. Akad. Amsterdam (2) 7. Deel No. 1 1899 p. 153: für große Hirnschnitte). — VOSMAER & PEKELHARING (ibid. 6. Deel No. 3 1898 p. 43) kleben Schnitte durch unentkieselte Kieselchwämme mit Traumaticin (Guttapercha in Chloroform gelöst) auf.

### Methoden für Schnitte, die nicht entwässert werden sollen.

**198. Gelatine und Chromalaun.** FOL (Lehrbuch p. 132) löst 1 g Gelatine auf dem Wasserbade in 5 ccm Eisessig und gibt dazu 70 ccm Alkohol



von 70% und 1—2 cem 5%iger wässriger Lösung von Chromalaun. Diese Mischung gießt er auf die Objektträger und läßt sie trocknen. In einigen Stunden wird die Gelatine unlöslich, quillt aber in Wasser noch. Man fischt mit dem Objektträger aus dem Wasser, worin sie schwimmen, die Schnitte heraus; sie haften dann fest. Besonders für Schnitte durch Objekte in Gummi oder Seife, aber auch für Zupfpräparate und Celloidinschnitte.

### Methoden für Celloidinschnitte.

**199. Eiweißglycerin.** Wie ich (LEE) aus eigener Erfahrung weiß, lassen sich auch Celloidinschnitte mit Eiweißglycerin aufkleben; man muß sie nur recht sorgfältig darauf andrücken. Das Celloidin kann man hinterher mit Äther und Alkohol auflösen. — S. auch ARGUTINSKY (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1900 p. 417), § 172 (JORDAN) und § 189 (APÁTHY).

Ähnlich verfahren RUBASCHKIN (Anat. Anz. 31. Bd. 1907 p. 30) und nach ihm DANTSCHAKOFF (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 35; Arch. Mikr. Anat. 74. Bd. 1909 p. 866), MAXIMOW (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 184), CARAZZI (ibid. 1910 p. 533) und ANITSCHKOW (ibid. 27. Bd. 1910 p. 68). Wesentlich ist dabei das Aufpressen der Schnitte auf das Eiweiß; um dieses nicht zu verdünnen, müssen die Schnitte mit möglichst wenig Alkohol aufgelegt werden. — S. auch SSOBOLEW (ibid. 25. Bd. 1909 p. 411).

**200. Äther.** SUMMERS (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 8 1887 p. 73) legt die Schnitte auf 1—2 Minuten in Alkohol von 95 %, ordnet sie auf dem Objektträger an und überfluthet sie mit den Dämpfen von Äther. Das Celloidin wird sofort weich. Den Objektträger legt er dann in Alkohol von 80 % oder 95 %. Die Schnitte sollen ganz fest kleben und sich färben lassen. Ich (LEE) habe die Methode nicht sicher befunden. — SCHIEFFERDECKER (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 507) versieht, wenn er die Schnitte färben will, die Objektträger vorher mit einer Schicht Kollodium; sonst genügt ein reiner Objektträger. Die Behandlung mit Ätherdämpfen kann auch in einem Glase oder sonstwie geschehen. — Nach GAGE (Proc. Amer. Micr. Soc. Vol. 14 1892 p. 82) überzieht man die Objektträger vorher mit  $\frac{1}{2}$  %iger Lösung von Eiweiß und läßt sie trocknen; das Kollodium haftet dann fester. — S. auch § 201 (APÁTHY).

AUBURTIN (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 90) läßt um das Objekt möglichst wenig Celloidin stehen, schneidet in 70%igem Alkohol, entfernt diesen von den Schnitten auf dem Objektträger zuerst mit Fließpapier, dann durch absoluten Alkohol und gießt nun reichlich Äther plus Alkohol auf, damit sich das Celloidin ganz von den Schnitten löse und bei der Verdunstung auf dem Objektträger als dünne Membran niederschlage. Dann Alkohol von 70%, Wasser, Färblösung etc. — MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 371) ordnet



die Schnitte auf dem Messer noch im Gemisch von Rizinusöl und Xylol in Reihen, legt ein Stück Seidenpapier darüber, bepinselt es mit dem Gemisch, zieht es sammt den Schnitten vorsichtig vom Messer ab und überträgt es auf einen mit Eiweiß überzogenen Objektträger. Dann entfernt er das Gemisch durch Fließpapier, rollt das Seidenpapier langsam ab, fixirt die Schnitte durch Äther plus Alkohol und bringt sie durch Xylol und 95%igen Alkohol in Wasser.

**201. Bergamottöl.** Auch APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 7. Bd. 1887 p. 745; Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 46; ibid. 6. Bd. 1889 p. 167) klebt mit Ätherdämpfen auf, läßt aber zuvor die Schnitte sich auf Bergamottöl strecken und den Alkohol verlieren.

Das Messer bestreicht man vor dem Schneiden mit Vaseline (s. oben p. 109) und benetzt es mit 95%igem Alkohol. Die Schnitte bringt man sofort auf gutes Bergamottöl (s. § 117). Sie breiten sich darauf aus; bevor sie aber unter-sinken, zieht man sie mit einer Nadel auf ein Stück Pauspapier, das in das Öl eintaucht. (Das Papier schneidet man sich etwa so breit wie den Objekt-träger und dreimal so lang wie das Deckglas.) Ist die richtige Anzahl Schnitte auf dem Papier, so hebt man es aus dem Öl, läßt dieses ablaufen, trocknet die andere Seite des Papiers auf Fließpapier, legt es mit den Schnitten auf den trockenen Objektträger und drückt es mit Fließpapier an. Rollet man es nun langsam auf, so bleiben die Schnitte auf dem Glase und werden mit glattem Löschpapier, das man darauf drückt, vom überschüssigen Bergamottöl befreit. Sind sie schon gefärbt, so kommen sie direkt in Balsam, sollen sie aber noch gefärbt werden, so setzt man sie nach Entfernung des Bergamottöls den Dämpfen von Alkohol plus Äther einige Minuten lang aus, bringt sie auf  $\frac{1}{4}$  Stunde in Alkohol von 90% und kann sie nun in alkoholischen Gemischen färben; müssen sie dagegen in wässerige Flüssigkeiten, so sind sie auf dem Papier so zu ordnen, daß das Celloidin an den Rändern sich deckt, damit sie durch den Ätherdampf alle zu einer dünnen Membran zusammenkleben. Diese löst sich im Wasser vom Glase ab und kann wie ein einziger großer Schnitt weiter behandelt werden.

Sind die Objekte sehr klein oder ungefärbt, so gibt man zum Bergamottöl ein wenig Safranin in Alkohol gelöst; so färbt sich das Celloidin der Schnitte und ist besser sichtbar. Im Balsam verschwindet diese Farbe wieder.

Später hat APÁTHY diese Methode dahin verändert, daß er (Mikro-technik 1896 p. 127 und 176) die Objektträger mit einer dünnen Celloidinschicht überzogen vorrätig hält, die Schnitte aus dem Bergamottöl auf sie hinauf zieht und mit Fließpapier andrückt. — Nach Mittheilung an Mayer hält er jetzt das **Terpineol** dem Bergamottöl für gleichwerthig.

**202. Celloidin.** Auch bei dieser Methode fettet APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 168) das Messer tüchtig, aber gleichmäßig mit gelbem Vaseline ein und benetzt es mit Alkohol von 70—90%. Jeder Schnitt wird sofort auf eine trockene Stelle des Messers ge-



schoben, und hier werden sie in Reihen geordnet, wobei sie sich mit ihren Rändern berühren müssen, noch besser aber übereinander greifen. Sobald ein (oder mehrere) Raum von der Größe des Deckglases voll ist, trocknet man die Schnitte durch Auflegen von Filtrirpapier ab, bepinselt sie mit 2%iger Celloidinlösung, läßt sie zum Verdunsten 5 Minuten lang liegen und benetzt sie nun mit Alkohol von 70%, damit man ruhig weiter schneiden kann, oder legt sie, wenn man nicht mehr schneiden will oder das Messer voll ist, sammt diesem in Alkohol von 70%. Hierin erhärtet das Celloidin zu einer einzigen Membran, die man nun auf dem Objektträger an den Rändern mit Äther plus Alkohol festklebt und in das Färbgemisch bringt. S. auch oben § 189.

WEIGERT (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 490; 3. Bd. 1886 p. 480) benetzt das Messer mit Alkohol, jedoch nicht so sehr, daß der Schnitt schwimmt, tränkt einen Streifen Klopapier (porös aber zäh) von etwa der doppelten Breite des Schnittes mit Alkohol, faßt ihn an beiden Enden, streckt ihn etwas und läßt ihn auf den Schnitt hinunter: dieser klebt daran und kann so über die Scheide hin heruntergezogen werden. Den 1. Schnitt nimmt er mit dem Ende des Papiers auf, das er mit der linken Hand hält, und reiht die anderen von links nach rechts daran. Jedesmal nach dem Aufheben eines Schnittes legt er das Papier auf Filtrirpapier, das mit Klopapier bedeckt, mit Alkohol durchtränkt ist und in einer Schale liegt. — Sind alte Schnitte glücklich auf dem Papier, so überträgt er sie auf Glas, das mit einer dünnen Schicht Kollodium überzogen ist: er legt das Papier so darauf, daß die Schnitte auf das Kollodium kommen, drückt es sanft an und nimmt es sorgfältig ab; die Schnitte haften auf dem Kollodium. Er bringt aber höchstens zwei Reihen Schnitte auf die Platte, damit sie nicht trocken werden, bevor mehr dazu kommen, nimmt mit Fließpapier den Alkohol fort, gießt Kollodium darüber und läßt es sich ausbreiten. Nun darf die Platte unter 80%igem Alkohol bei Seite gelegt oder gleich gefärbt werden. In wässerigen Färbgemischen lösen sich beide Kollodiumblätter mit den Schnitten zwischen sich vom Glase los und lassen sich bequem färben, auswaschen, entwässern und in Balsam bringen; hierzu dient höchstens 96%iger Alkohol und als Intermedium das oben p. 112 angegebene Gemisch. Natürlich dauert alles wegen des Kollodiummantels länger als bei freien Schnitten.

Nach STRASSER ist gummirtes Papier besser als die Glasplatten, besonders bei sehr großen Schnitten; s. auch oben § 192 (SCHOENEMANN). — WINTERSTEINER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 316) bringt die Schnitte vom Messer direkt auf die Glasplatte.

KUBO (Arch. Mikr. Anat. 70. Bd. 1907 p. 173) bringt die Schnitte in Wasser, ordnet sie auf dem dünn mit Celloidin überzogenen und mit Wasser benetzten Objektträger, saugt das Wasser ab, drückt die Schnitte mit Papier an, taucht den Objektträger unter jedesmaligem Andrücken der Schnitte in Alkohol von 80, 90, 96 und 98%, bepinselt die Grenzen der Schnitte mit Äther und



läßt das Ganze etwas trocknen. Nun in 80%igen Alkohol, Färblösung etc. und durch Karbolxylol in Balsam.

**203. Gelatine.** OLT (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 323) rühmt sehr seine „Phenolgelatine“ (10 g Gelatine, 100 ccm Wasser, durch gerinnendes Eiweiß geklärt, filtriert und mit 10 ccm 5%iger Karbolsäure versetzt). Er streicht davon ganz wenig auf den Objektträger, drückt die Schnitte mit Fließpapier an, legt einen dünnen Papierstreifen darauf, der mit 10%igem Formaldehyd getränkt ist, und preßt ihn mit einem anderen Objektträger auf die Schnitte. Diese sind sofort fest, jedenfalls aber nach kurzem Verweilen in 10%igem Formaldehyd. — Nach KRAUSE (Encyclop. 2. Bd. p. 378) färbt sich die Gelatine mit, während Olt das Gegenteil angibt.

**204. Zucker und Photoxylin.** OBREGIA (Neur. Centralbl. 9. Jahrg. 1890 p. 295) überzieht Glasplatten mit dem Gemisch von 3 Maaßteilen Zuckersyrup, 2 T. Alkohol von 95% und 1 T. durchsichtigen Dextrinsyrups, läßt sie 2—3 Tage liegen, bis sie, mit dem feuchten Finger berührt, gerade noch kleben, bringt die Paraffinschnitte darauf und erwärmt 10 Minuten lang auf 57—60°; dann legt er die Platte in Xylol (oder Terpentinöl), von da in absoluten Alkohol, läßt diesen abtropfen und übergießt sie mit 3%iger Photoxylinlösung. Nach 10 Minuten taucht er sie in Wasser, worin sich die Photoxylinhaut mit den Schnitten bald vom Glase ablöst. Die Celloidinschnitte hingegen bringt er auf ein Blatt Seidenpapier, das, mit der satinirten Seite nach oben, in einer Schale mit 95%igem Alkohol feucht gehalten wird, glättet und ordnet sie darauf, nimmt das Papier aus der Schale, legt es einen Augenblick auf Filtrirpapier, dann umgekehrt auf den vorbereiteten Objektträger, drückt es mit Fließpapier leicht an, zieht es langsam ab und übergießt die festgeklebten Schnitte mit der 3%igen Photoxylinlösung. Zuletzt läßt er diese an der Luft erhärten und lößt sie durch Untertauchen in Wasser als Platte vom Glase ab. — Diese Methode ist auch auf Schnitte aus gar nicht eingebettetem Material anwendbar.

DIMMER (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. p. 44) nimmt zum Überziehen der Objektträger eine Lösung von Gelatine in Wasser (etwa 1:20) und trocknet sie 2 Tage lang. S. übrigens oben § 195 (ALLEGER), § 198 und § 203 (OLT).



## 10. Kapitel.

**Allgemeines über das Färben.**

**205. Arten der Färbungen.** Man kann die Färbungen eintheilen in diffuse, wo alle Elemente eines Objektes, und in spezifische oder elektive, wo nur einzelne Elemente durch Färbung hervorgehoben, die übrigen aber entweder gar nicht oder weniger stark oder in einem anderen Ton tingirt sind. Während aber eine diffuse Färbung nur selten brauchbar ist (s. unten), will man in der Regel durch elektive Färbung eine optische Differenzirung erreichen. Diese ist entweder eine histologische: dann tritt durch die Färbung ein ganzes Gewebe oder eine Gruppe von Gewebelementen hervor, und der Rest des Präparates bleibt farblos oder ist anders gefärbt, z. B. bei einer guten Färbung der Nervenenden mit Goldchlorid (diese Art der Färbung bezeichnet man gewöhnlich als spezifisch); oder sie ist eine cytologische: dann färben sich z. B. entweder nur die Zellkerne oder nur einer der übrigen Bestandtheile aller Zellen im Präparate.

Die durch Affinität mancher Farbstoffe zu den Zellkernen erfolgenden Kernfärbungen sind besonders wichtig bei zootomischen und embryologischen Arbeiten, da durch sie die Kerne im ungefärbten Gewebe so hervorgehoben werden, daß sie zum bequemen und raschen Auffinden der Zellen dienen können. Im Gegensatze hierzu stehen die Plasmafärbungen, da sie speziell Theile des Zellplasmas (Gerüstwerk, Granula, Polkörper etc.) betreffen und meist die Kerne unberührt lassen. Man unterscheidet also 1. diffuse Färbungen, 2. elektive Färbungen, und zwar a) Kernfärbungen, b) Plasmafärbungen, c) histologisch elektive oder spezifische Färbungen.

Von der diffusen Färbung ist nur noch wenig die Rede. Absichtlich wird sie kaum irgendwo angewandt, am ehesten noch, wenn man auf einem Schnitte die Hohlräume oder Lücken in den Geweben besonders deutlich sehen will, oder für homogene Membranen (Chitin, Celloidin etc.). Unabsichtlich erhalten aber gilt sie mit Recht als verwerflich.



EHRLICH & LAZARUS (Anämie I. Abth. Wien 1898 p. 23) unterscheiden außer den Färbungen, die nur Übersichtsbilder liefern, die singuläre Färbung, die nur eine spezifische Zellart hervorhebt, und die panoptische, die möglichst viele Elemente in möglichst verschiedenen Farben zeigt.

**206. Methoden zum Färben.** Bei der idealen Art des elektiven Färbens müßten offenbar die Elemente, die man zu tingiren vorhat, genau so viel Farbstoff an sich binden, wie man wünscht, sodaß nach dem rein mechanischen Auswaschen der Färblösung aus den Interstitien des Objektes mit Hülfe desselben Mittels, worin der Farbstoff gelöst ist (also meist des Wassers oder Alkohols), diese Elemente gleich in der richtigen Intensität gefärbt zurückblieben. Färblösungen, die solches leisten, sind leider selten bequem herstellbar, obwohl man es z. B. in der Regel beim Hämalun erreichen kann, daß dieses fast nur die Kerne tingirt und auch bei noch so langem Färben nicht überfärbt; und durch geeignete Zusätze (etwas mehr Alaun als gewöhnlich, eine ganz schwache Säure etc.) wird man wahrscheinlich selbst in schwierigen Fällen das ideale Ziel erreichen.

Bei dieser Art der Färbung läßt sich die Ansicht vertreten, daß das Resultat auf einer chemischen Bindung des Farbstoffs durch das Gewebe beruht (s. unten § 207). Meist jedoch verfährt man in der Praxis theils aus Bequemlichkeit, theils weil es nicht anders zu gehen scheint, nach zwei anderen Methoden.

Nach der einen — der progressiven oder direkten — verwendet man eine Färblösung, die das hervorzuhobende Element rascher färbt als die anderen, die man ungefärbt haben möchte; zur richtigen Zeit unterbricht man den Prozeß und wäscht die überschüssige Färblösung aus. Tingirt man z. B. die Kerne mit einem ganz schwachen Alaunhämatoxylin, so hat man in einem bestimmten Moment eine ziemlich reine Kernfärbung erzielt, läßt man das Gemisch länger wirken, so färben sich auch die übrigen Theile der Zelle, und dann ist es um die elektive Färbung geschehen.

Die andere Methode — die regressive oder indirekte — beruht darauf, daß man überfärbt und dann theilweise entfärbt. Man tingirt also zuerst das ganze Objekt diffus und schafft darauf die Farbe überall da fort, wo sie nicht bleiben soll; so ist z. B. beim Färben mit Safranin zunächst das ganze Präparat tief roth, wäscht man es aber kurz mit Alkohol aus, so bleibt die Farbe nur in den Kernen erhalten. Genaueres s. unten § 276. — S. auch RAWITZ (Lehrbuch p. 151).



Im Prinzip rührt diese Methode von E. Hermann (1875) und A. Böttcher (1869) her; später wurde sie von FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 317 und 742) bedeutend verbessert.

Aber auch von zwei anderen Gesichtspunkten aus lassen sich die Methoden klassifizieren: 1) je nachdem man die Objekte direkt in die Färbelösung bringt oder sie vorher zur Erzielung besonderer Effekte mit Chemikalien (Beizen) behandelt, färbt man substantiv oder adjektiv (Genaueres in § 210); 2) für die Praxis ist nicht minder wichtig die Unterscheidung in Stückfärbung und Schnittfärbung.

Bei der Stückfärbung (s. auch oben p. 11 und unten § 213) verfährt man theils in einer dem Ideal angenäherten Weise (z. B. beim Durchfärben mit Hämalaun, das in der Regel nicht überfärbt), theils progressiv (bei anderen Hämäteingemischen, wo ein Überfärben zu befürchten steht), theils regressiv (beim Boraxkarmin, wo erst durch Auswaschen mit saurem Alkohol die elektive Färbung der Kerne zu Stande kommt). Auch die adjektive Färbung mit Beizen wird hier oft ausgeübt (einige Methoden von Weigert etc.).

Noch bunter geht es bei der Schnittfärbung zu. Hier darf man sogar in idealer Weise dem Schnitt die dazu passende Färbelösung so darbieten, daß er den Farbstoff elektiv an sich bindet — dies ist z. B. eine der ältesten Arten der Karminfärbung; ferner kann man rein progressiv färben, obwohl das nur selten geschieht; besonders aber färbt man regressiv, und zwar ohne oder mit Beizen (z. B. mit Eisensalzen und Hämatoxylin). Endlich kommt hier die Doppel- oder überhaupt Mehrfachfärbung zu ihrem Recht. Bei dieser handelt es sich meist um das Hervorheben bestimmter Theile des Zellplasmas (Körnchen aller Art etc.) zum leichteren Auffinden der Erythrocyten, Becherzellen etc. Dabei werden die Kerne färberisch entweder vernachlässigt oder vorher durch Stückfärbung tingirt, und erst in den Schnitten färbt man die Einzelheiten nach, gewöhnlich progressiv. Oder man bietet — wieder in idealer Weise — dem Schnitte ein Gemisch von Farbstoffen zur Auswahl dar, aus dem nun die Kerne den einen, die Theile des Zellplasmas den oder die anderen entweder rein oder in Mischönen an sich binden. Leider sind gerade die schönsten Färbungen dieser Art nicht recht dauerhaft.

Eine besondere Art von Doppelfärbung erhält man bei der Benutzung der sogenannten metachromatischen Farbstoffe. Dieser Farbensumschlag (nach Ehrlich Metachromasie) rührt in manchen Fällen von



Verunreinigungen der Farbstoffe her, z. B. des Methylgrüns mit Methylviolett, ist in anderen dagegen wohl rein optisch. S. auch § 788.

MICHAELIS (Encyclop. 2. Bd. p. 80; Farbstoffchemie 1902 p. 117) läßt die metachromatische Farbe stets die der freien Farbbase sein. Das trifft aber offenbar nicht immer zu. Er empfiehlt nach Ehrlich zur Aufbewahrung der Präparate Lävulose (unten § 405). — Nach SERENI (Bull. Acad. Med. Roma Anno 30 1904 p. 131) färbt auch Magentaroth in 1%iger wässriger Lösung metachromatisch; ähnlich verhält sich Fuchsin. Am besten fixirt man die Gewebe mit Sublimat.

**207. Theorie der Färbung.** Von jeher, seitdem man sich mit Spekulationen über die Theorie der Färbung abgegeben hat, ist man uneinig darüber, ob es sich beim Färben um chemische oder um physikalische Prozesse handelt. Daß letztere dabei eine Rolle spielen, ist selbstverständlich, da ja die Färblösungen in die Gewebe eindringen und wieder daraus entfernt werden müssen. Die Frage ist also nur die: beruht die Bindung der Farbstoffe durch die Elemente der Gewebe auf einem chemischen oder einem physikalischen Vorgange? Für Jenes sind unter Anderen Ehrlich, Unna, Mayer und Benda eingetreten, für Dieses Gierke, Rawitz und besonders Fischer. Eine eingehende Behandlung der strittigen Punkte würde hier aber zu weit führen, um so mehr, als sich die Chemiker selber über die ganze Frage nicht einig sind; daher sei nur auf die wesentliche neuere Literatur verwiesen.

Speziell über Kernfärbung: MAYER (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 313); MATHEWS (Amer. Journ. Phys. Vol. 1 1898 p. 445). Allgemein: FISCHER (Fixirung etc. p. 73—201; hierzu aber BENDA in: Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1900 p. 174); WITT (Färber-Zeitung Berlin 1890/91 Heft 1; Encyclop. 1. Bd. p. 412); HEIDENHAIN (ibid. p. 429; Arch. Gesamte Phys. 90. Bd. 1902 p. 115; 96. Bd. 1903 p. 440; 100. Bd. 1903 p. 217); MICHAELIS (ibid. 97. Bd. 1903 p. 634; 101. Bd. 1904 p. 183; Farbstoffchemie 1902 p. 87, 113, 140); MANN (Methods Kap. 24); BETHE (Beitr. Chem. Phys. Path. Braunschweig 6. Bd. 1905 p. 399); HANSEN (Anat. Hefte 1. Abth. 27. Bd. 1905 p. 637). Mehr vom Standpunkt des Färbtechnikers aus: KNECHT (Ber. D. Chem. Ges. 35. Jahrg. 1902 p. 1022; 37. Jahrg. 1904 p. 3479); SUIDA (Sitzungsb. Akad. Wien 113. Bd. 1904 Abth. 2<sup>b</sup> p. 725; Zeit. Physiol. Chemie 50. Bd. 1906 p. 174); BILTZ (Ber. D. Chem. Ges. 37. Jahrg. 1904 p. 1766; 38. Jahrg. 1905 p. 4143); RÄHLMANN (Arch. Gesamte Phys. 112. Bd. 1906 p. 128: enthält nur wenig Brauchbares).



Auch die Artikel über die Theorie der histologischen Färbungen in der Encyclop. (1. Aufl. von Heidenhain, 2. Aufl. von Michaelis) bringen uns nicht viel weiter.

**208. Zustand der Gewebe vor dem Färben.** In der Regel lassen sich scharfe Färbungen nur an sorgfältig fixirten Geweben erzielen. Todte, aber nicht eigens fixirte Gewebe färben sich gewöhnlich nicht scharf, und lebendes Gewebe färbt sich in der Regel überhaupt nicht (Ausnahmen s. im nächsten §).

Wahrscheinlich kommen die gewöhnlichen Färbungen fixirter Gewebe auf zweierlei Art zu Stande, nämlich durch die Verbindung des Farbstoffes 1) mit organischen oder anorganischen Salzen, die im lebenden Gewebe enthalten waren und nun vom Fixir- oder Härtemittel in situ niedergeschlagen werden (s. MAYER in: Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 17); dies scheint der Fall zu sein, wenn man mit Alkohol fixirt; oder 2) mit chemischen Körpern, die im lebenden Gewebe nicht existirten, sondern sich erst bei der Konservirung aus den Bestandtheilen des Fixirmittels und denen des Gewebes bildeten; dies scheint z. B. vom Fixiren mit Chromsäure zu gelten, und die Verbindungen sind wohl hauptsächlich Metall-Albuminate. S. auch § 210.

Lange Aufbewahrung fixirter Objekte in Alkohol ist im Allgemeinen der Färbung hinderlich.

**209. Färben intra vitam.** Einige Farbstoffe haben die Eigenschaft, lebende Zellen zu tingiren, ohne sie erheblich zu schädigen. Hierher gehören Cyanin (Chinolinblau), Methylenblau, Toluidinblau, Thionin, Bismarckbraun, Anilinschwarz, Neutralroth, Congoroth, Nilblau, Janusgrün, ferner unter Umständen Dahlia, Eosin, Gentianaviolett, Alizarin, vielleicht auch Methylviolett und andere. S. hierüber bei diesen Farbstoffen, sowie bei MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 305) und besonders bei FISCHER (Anat. Hefte 1. Abth. 11. Bd. 1899 p. 467; ibid. 16. Bd. 1901 p. 417 ff.; Encyclop. 2. Bd. p. 589 ff.; Internat. Revue Hydrobiol. Leipzig 1. Bd. 1908 p. 129 ff.).

Die meisten von diesen Farbstoffen dürfen nur äußerst verdünnt angewandt werden und nur in neutralen oder schwach alkalischen Flüssigkeiten, denn Säuren wirken ja giftig. Bei richtigem Gebrauch färben sie Manches im Zellplasma, jedoch wohl nie das Chromatin der Kerne; wenn sie dies färben, so ist das ein Zeichen des Todes. Die Farbe ist mitunter im ganzen Zellplasma diffus verbreitet, meist aber auf allerlei Körnchen oder andere Substanzen darin beschränkt. —



Auch Fischel hält die Färbung für intravital, die sich färbenden Granula sind allermeist lebende Theile des Plasmas. Der Kern färbt sich absolut nicht. Am besten eignen sich Bismarckbraun, Methylenblau, Neutralviolett sowie Nilblaulorhydrat und -sulfat, besonders aber Neutralroth. Sehr selten nehmen die Granula gleichzeitig zwei Farbstoffe (Bismarckbraun und Neutralroth) auf. — S. auch KRAUSE (Anat. Anz. 24. Bd. 1904 p. 400).

Nach BETHE (Biol. Centralbl. 15. Bd. 1895 p. 140) färben sich mit Methylenblau auch Kerne in den lebenden Zellen der Ruderplättchen von Ctenophoren. — S. auch PRZESMYCKI (ibid. 17. Bd. 1897 p. 321 und in: Sitzungsber. Ges. Morph. Phys. München 15. Bd. 1899 p. 70) und CERTES (C. R. Ass. Franç. Av. Sc. Tome 29 1901). — Nach MAXIMOW (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1899 p. 67) färben sich beim Tingiren frischen embryonalen Blutes mit Neutralroth die Kerne beim Absterben sehr deutlich. — PICTON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 41 1898 p. 296) fand eine ganz schwache Färbung der Zellkerne von Polychäten, die eine Woche lang in Seewasser mit Karminpulver darin gelebt hatten, aber nur auf den sonst ungefärbten Schnitten durch die mit Alkohol fixirten Würmer. — Nach LOISEL (Journ. Anat. Phys. 34. Année 1898 p. 198 u. 205) färbt sich der Kern von Poriferen im Leben mit Neutralroth, Nilblau, Methylenblau und Congoroth zwar so echt, daß die Färbung in den fertigen Präparaten erhalten bleibt, aber ganz diffus. In einer kleinen lebenden Meduse waren von den Ektodermzellen mit Methylenblau nur die Kerne gefärbt (p. 227). — Nach PANTEL (La Cellule Tome 15 1898 p. 79) färbt Methylenblau intravital bei der Larve von *Thrixion* im Kern nur den Nucleolus. — SCHAUDINN (Arch. Reichsgesundheitsamt Berlin 19. Bd. 1902 p. 190) dagegen hält die Färbung der Kerne der Malariaparasiten durch Methylenblau für ein Zeichen ihres Todes, und FISCHEL (Encyclop. 2. Bd. p. 595) betont, daß die Chromatinschleifen intravital nie gefärbt werden. — RUŽIČKA endlich (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 91; Arch. Gesamte Phys. 107. Bd. 1905 p. 497 ff.) läßt die Färbung der lebenden Zelle durch Neutralroth einen chemischen Vorgang sein, die durch Methylenblau hingegen eine vitale Erscheinung auf physikalischer Grundlage. Durch ein Gemisch 0,05%iger Lösungen beider Farbstoffe zu gleichen Theilen werde lebendes Plasma roth, todtes blau tingirt.

Ich (LEE) bin durch viele Beobachtungen zu demselben Schlusse gelangt wie GALEOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 204), nämlich daß die Färbungen intra vitam oft keine echten Färbungen sind. Die diffuse Färbung beruht, wenn die Zelle noch bei vollem Leben ist, nicht auf einer chemischen Verbindung des Farbstoffes mit irgend einem Bestandtheile der Zelle, denn sobald diese in ein ungefärbtes Medium gebracht wird, gibt sie die Farbe unverändert wieder ab. Die stärkere Färbung der Granula oder anderer Bestandtheile der Zelle mag zwar mitunter eine echte Färbung sein, ist aber stets an Körper gebunden, die keinen integrierenden Theil der lebenden Zelle



ausmachen: die Zelle selbst mag am Leben sein, sie sind es nicht. Es sind wohl Nahrungstheilchen oder Produkte des Stoffwechsels; machen sie aber wirklich einen integrierenden Theil des lebenden Gewebes aus, so haben sie wohl durch die Färbelösung gelitten und sind deswegen oder aus anderen Gründen in ihrer Vitalität geschwächt.

Auch ich (MAYER) habe bei meinen Versuchen mit Bismarckbraun an Caprelliden (Fauna Flora Golf. Neapel 6. Monogr. 1882 p. 153) und später an Selachiern nie die geringste Färbung der Kerne bemerkt, sondern nur die der Sekretballen und anderer todtten Substanzen im Zellplasma. S. auch MICHAELIS (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1900 p. 560) und PLATO (ibid. 56. Bd. 1900 p. 868).

Nach OVERTON (Jahrb. Wiss. Bot. 34. Bd. 1900 p. 669) kommt die intravital Färbung dadurch zu Stande, daß das Cholesterin oder Lecithin die basischen Theerfarbstoffe aus wässrigen Lösungen begierig aufnimmt. Speziell beruht die Färbung des Nervensystems mit Methylenblau wohl auf dessen hohem Gehalte an den beiden genannten Stoffen (p. 692). In allen Zellen sind die Plasmahäute mit diesen imprägnirt (p. 699). — ROBERTSON (Journ. Biol. Chem. Baltimore Vol. 4 1908 p. 1) und noch schärfer RUHLAND (Jahrb. Wiss. Bot. 46. Bd. 1908 p. 1; Ber. D. Bot. Ges. 26. Jahrg. 1909 p. 772) bezweifeln die Richtigkeit von O.'s Theorie; die Schnelligkeit der Aufnahme basischer Farbstoffe ist unabhängig von der Lipoidlöslichkeit und vom Grade der Colloidität. Auch HÖBER (Biochem. Zeit. 20. Bd. 1909 p. 78) meint, O.'s Theorie müsse vielleicht umgeformt werden. HEIDENHAIN (Plasma u. Zelle 1. Abth. Jena 1907 p. 440) ist ebenfalls gegen O.; Chromosomen werden intravital nie gefärbt, eine direkte chemische Vereinigung der Farbstoffe mit lebendem Plasma findet nicht statt. — REGAUD (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 66 1909 p. 919) läßt die Vitalfärbung durch die Mitochondrien („Eelectosomen“) vor sich gehen.

Fixiren läßt sich das Methylenblau in den Geweben nach den Methoden, die im Kap. 14 angegeben sind, und liefert dann haltbare Präparate. Ähnlich nach HARRIS das Toluidinblau. Bismarckbraun fixirt man durch Chromsäure (0,2%), Sublimat (MAYER), 1%ige Osmiumsäure (LOISEL l. c. p. 212) oder ein Gemisch der beiden letzteren mit Essigsäure (COLOMBO in: Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 284) und kann hinterher mit Safranin färben, darf aber den Alkohol nicht lange einwirken lassen.

Man kann auch mehrere Farbstoffe zugleich anwenden, z. B. Methylenblau und Neutralroth (EHRlich & LAZARUS, Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 85; LOISEL, l. c. p. 219) und sieht dann meist die Granula je nach ihrer Art den einen oder den anderen Farbstoff aufnehmen. (S. auch oben p. 137 RUŽIČKA.)

ISRAEL & PAPPENHEIM (Arch. Path. Anat. 143. Bd. 1896 p. 426) setzen das Neutralroth dem Blut als feinste Körnchen zu. — NAKANISHI (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 30. Bd. 1901 p. 99) bringt das Blut auf einen vorher ganz dünn mit einer starken Lösung von Methylenblau überzogenen, trockenen Objektträger.



**210. Substantive und adjektive Farbstoffe; Beizen.** In der technischen Färberei unterscheidet man nach ihrem Verhalten zu den Geweben zwei Klassen von Farbstoffen: die substantiven oder direkten, die aus ihren Lösungen von der Wolle, Baumwolle, Seide etc. direkt aufgenommen werden, und die adjektiven oder Beizenfarbstoffe, die sich mit dem Gewebe nur dann verbinden, wenn es vorher mit einer Beize (gewöhnlich einem Metallsalz oder einem -hydrat) behandelt wird.

Die thierischen Gewebe haben in der Regel eine beträchtliche Affinität zu den Farbstoffen und nehmen sie direkt aus den Lösungen auf. Daher färbt man meist substantiv. Jedoch sind (s. § 208) vielleicht manche Färbungen ohne absichtliches Beizen der Gewebe genau genommen adjektiv, nämlich solche, die auf einer Verbindung des Farbstoffes mit einem Metallsalze oder -hydrat beruhen, das dem lebenden Gewebe beim Fixiren oder Härten einverleibt wurde. Hier sind die Fixir- oder Härtmittel als Beizen thätig, obwohl man sie nicht als solche hatte verwenden wollen. Dies mag von allen oder wenigstens einigen Färbungen gelten, die sich nach Fixirung mit den Salzen von Quecksilber, Eisen, Platin, Palladium, Uran, vielleicht auch von Chrom ergeben.

VAN DER STRICHT (Arch. Biol. Tome 23 1907 p. 260) behandelt die irgendwie (sogar mit Perényi's Gemisch!!) fixirten Gewebe Monate lang mit einer schwachen Lösung von Jod in 70%igem Alkohol und faßt dies als eine Beizung auf.

Mitunter werden aber Beizen absichtlich angewandt, um die Farbe zu produziren, z. B. bei den Methoden von Benda und Heidenhain mit Hämatoxylin-Eisen (§ 260 u. 261) und von Rawitz mit Theerfarbstoffen (§ 268). Dabei ergibt sich in der Regel zunächst eine diffuse Färbung, sogar Überfärbung des Objektes, und erst durch vorsichtige Entfernung des überall niedergeschlagenen Farbstoffes kommt eine brauchbare Färbung zu Stande. Offenbar ist diese regressive Art der Beizfärbung von der idealen, wie sie oben p. 133 geschildert ist, himmelweit entfernt; auf den Anfänger wirkt sie höchst gefährlich, da sie ihn leicht zu falschen Schlüssen von den oft sehr frappanten Bildern im Mikroskope auf den Zustand der Gewebe im Leben verleitet. S. unter Anderem bei BOVERI (Zellenstudien 4. Heft Jena 1900 p. 12 ff.) die Kritik der Färbung mit Eisenhämatoxylin und bei FISCHER (Fixirung etc. p. 118 etc.) die „Spiegelfärbung“.

RAWITZ (Leitfaden 2. Aufl. 1895 p. 55 ff.; Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 75 ff.) ist gegen die Eintheilung der Färbmethoden in progressive und regressive, um so mehr aber für die in substantive und adjektive. Indessen weist MAYER (ibid.



p. 314) darauf hin, daß beide Arten der Klassifikation willkürlich seien, und warnt zugleich vor dem Mißbrauche mit den Ausdrücken Beize und Farblack. Über die Beziehungen zwischen Beizen und Farbstoffen führt M. (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 196) etwa Folgendes aus.

Beide stehen nicht in schroffem Gegensatze zu einander, sondern ergänzen sich, und je nach Umständen kann die Beize zum Farbstoffe werden, und umgekehrt. Durchtränkt man z. B. ein Gewebe erst mit einer Lösung von Alaun und bringt es nachher in eine Lösung von Karminsäure, so hat man es mit jenem gebeizt und mit dieser gefärbt. Auch ist die Färbung ganz anders ausgefallen, als sie der „Farbstoff“ Karminsäure allein hervorgebracht hätte. Man kann aber ebenso gut mit Karminsäure durchtränken (beizen) und mit Alaun die Färbung hervorrufen (färben); man sollte daher vom Vorbehandeln statt vom Beizen reden. Auch braucht hiernach ein Farbstoff nicht selber gefärbt zu sein oder die Farbe zu haben, die er sogar nach Behandlung mit einer farblosen Beize dem farblosen Gewebe ertheilt; so ist z. B. eine Lösung von Hämatein braun und färbt doch das Gewebe, wenn dieses außerdem Thonerde aufzunehmen Gelegenheit findet, violett. — S. auch BENDA in: Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1900 p. 175 und über die Farblacke WITT (Encyclop. 1. Bd. p. 422) und BILTZ (Ber. D. Chem. Ges. 38. Jahrg. 1905 p. 4143).

**211. Allgemeines über Theerfarbstoffe.** Nach dem Vorgange von EHRLICH (Zeit. Klin. Med. 1. Bd. 1880 p. 555) theilt man die Theerfarbstoffe in basische, saure und neutrale. In einem basischen Farbstoff ist das färbende Prinzip entweder eine Base oder diese in Verbindung mit einer farblosen Säure; z. B. das salzsaure Rosanilin (Fuchsin) verdankt seine färberischen Eigenschaften nicht der Salzsäure, sondern dem Rosanilin. In einem sauren Farbstoff ist das färbende Prinzip eine Säure oder ein saures Salz; so ist z. B. das Säurefuchsin das Natron- (oder Ammoniak-)salz der Rosanilintrisulfosäure und verdankt seine Färbkraft nicht der Basis, sondern dieser Säure; auch das pikrinsaure Ammoniak ist ein saurer Farbstoff. Neutral ist dagegen das pikrinsaure Rosanilin; solche Verbindungen, durch Mischung von sauren und basischen (z. B. von Säurefuchsin und Methylenblau) Farbstoffen entstanden, sind gewöhnlich in Wasser unlöslich, fallen daher beim Mischen aus, lösen sich aber oft im Überschuß des sauren oder des basischen Farbstoffes wieder und sind auch in Alkohol löslich.

Die Bezeichnung eines nicht sauer reagirenden chemischen Körpers, wie z. B. des Ammoniumpikrates, als eines sauren Farbstoffes führt leicht irre.

Die sauren Farbstoffe sind meist leicht löslich in Wasser, schwer dagegen in Alkohol; mit den basischen verhält es sich gewöhnlich umgekehrt. In der Regel tritt die Färbung durch saure Farbstoffe bei Zusatz von Säuren stärker hervor und wird durch Alkalien abgeschwächt; das Gegenteil gilt von den basischen.



EHRLICH & LAZARUS (Anämie I. Abth. Wien 1898 p. 26) geben als zur Herstellung neutraler Farbstoffe besonders geeignet an von basischen: Methylgrün, Methylenblau, Amethystviolett (Tetraäthylphenosafranin), weniger Pyronin und Rhodamin; von sauren: Säurefuchsin, Orange G und Narceïn (Bisulfitverbindung des  $\beta$ -Naphthol-Orange). Einfache neutrale Gemische, die einen Komponenten gemeinsam haben, lassen sich ohne Weiteres mit einander verbinden; so gelangt man zu Kombinationen von 1 sauren und 2 basischen Farbstoffen oder umgekehrt, z. B. zum Triacidgemisch von Ehrlich (§ 310). — Über die Verbindung von Eosin mit Methylenblau s. unten § 320.

Nach Ehrlich sind die basischen Farbstoffe im Allgemeinen Kernfarbstoffe, d. h. sie haben besonders Affinität zum Chromatin, geben daher meist eine scharfe Kernfärbung. Die sauren hingegen sind meist Plasmafarbstoffe, d. h. sie haben besonders Affinität zu dem Cytoplasma und den Intercellularsubstanzen. Die neutralen zeigen spezielle Affinität zu gewissen Bestandtheilen der Zelle.

Indessen ist diese Klassifikation doch mit einigen Erläuterungen und Einschränkungen zu versehen. Denn in der Praxis haben wir nicht nur die Affinität eines Farbstoffes zu dem oder jenem Elemente der Zelle in Betracht zu ziehen, sondern auch die Resistenz der Färbung gegen die Media zum Auswaschen, Entwässern und Übertragen in Balsam. Dies ist aber besonders wichtig bei den Theerfarbstoffen, da sie zur regressiven Färbung von Schnitten dienen, die nachher durch Alkohol hindurch in Balsam kommen sollen. Ehrlich hat bei seinen Experimenten mit isolirten Blut- und Lymphzellen hierauf keine Rücksicht genommen, daher entsprechen seine beiden Kategorien nicht genau den Kern- und Plasmafarbstoffen.

So ist z. B. Orange ein saurer Farbstoff, tingirt aber, wie schon FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 323) angibt, bei regressiver Färbung das Chromatin sehr scharf, darf also nicht nur als Plasmafarbstoff gelten. Ferner ist Säurefuchsin sauer, tingirt aber regressiv zuweilen das Chromatin sehr kräftig. Das basische Safranin läßt sich mit geeigneten Beizen als Plasmafarbstoff benutzen. Auch Methylenblau ist basisch, geht aber bekanntlich bei der sogenannten intravitalen Färbung der Nerven wesentlich an das Plasma. Nigrosin ist ein saurer Farbstoff, liefert aber bei ähnlicher Anwendung wie das Safranin eine kräftige Kernfärbung und tingirt dann das Cytoplasma nur schwach. Und das saure Bordeaux färbt Chromatin und Cytoplasma gleich gut.

Nach CORTI & FERRATA (Monit. Z. Ital. Anno 16 1905 p. 319) färbt Pappenheims Gemisch von Methylgrün und Pyronin (1%ige Lösungen von M. 2 Theile, von P. 1 Theil) gewöhnlich im Kern das Chromatin grün, die „parte acidofila del nucleo e il protoplasma“ roth, jedoch an Objekten, die in Flemmings oder Hermanns Gemisch fixirt wurden, umgekehrt.



**212. Wahl der Farbstoffe.** Folgende Färbgemische mögen dem Anfänger empfohlen werden.

Für Schnitte Hämalaun, Thionin oder Gentianaviolett, speziell nach Konservierung mit Chromosmiumgemischen Safranin oder Eisenhämatoxylin. — Für ganze Objekte alkoholisches Boraxkarmin, Karmalaun oder Hämalaun; nur wenn das Objekt ein stark alkoholisches Gemisch verlangt, Parakarmin oder nach Fixierung mit Chromsäure Hämastrontium. — Für frische Gewebe oder kleine ganze Objekte Methylgrün, wenn die Präparate sich nicht zu halten brauchen, sonst Karmalaun oder Alaunkarmin (diese beiden geben bei Seethieren leicht Niederschläge von Gips). — Zur Doppelfärbung in toto nach Karmin- oder Hämateingemischen Pikrinsäure, auf Schnitten nach rothen Kernfarbstoffen Pikrinsäure oder Lichtgrün, nach blauen Eosin, Orange oder Säurefuchsin. Indessen möge der Anfänger lieber nicht gleich doppelt färben, wo eine einzige Farbe genügt.

Über die Haltbarkeit der Färbungen s. unten § 215.

**213. Praxis der Stückfärbung.** Obwohl sich ganze Objekte mitunter direkt aus dem Fixirgemisch oder nach Auswaschen mit Wasser ohne Schaden in das Färbgemisch übertragen lassen, so fällt doch in der Regel die Färbung weit besser aus, wenn sie vorher mit Alkohol behandelt worden sind (s. auch oben p. 11). Ist nun das Färbgemisch selber alkoholisches, so bringt man die Objekte direkt hinein, ist es aber wässerig, so ist es meist gut, mitunter aber sogar nöthig, sie sich erst mit schwächerem Alkohol durchtränken zu lassen. So bilden sich z. B. beim Färben mit Hämalaun oder anderen Gemischen, die viel Alaun enthalten, wenn man die Objekte direkt aus starkem Alkohol hineinbringt, leicht in oder auf ihnen Kristalle von Alaun. Ebenso muß man beim Auswaschen verfahren, sonst findet man später Kristalle oder Niederschläge aus den Färbgemischen in den fertigen Präparaten vor.

Wie lange die Objekte im Färbgemisch und später in der Waschflüssigkeit bleiben müssen, hängt in erster Linie von ihrer Durchdringlichkeit ab. Mitunter sind Tage nöthig, und man hat bei der Wahl des Gemisches hierauf Rücksicht zu nehmen, damit nicht etwa die Gewebe darin maceriren. Das kann z. B. leicht bei Pikrokarmin, aber auch bei Boraxkarmin vorkommen.

Man muß stets reichliche Mengen des Färbgemisches anwenden, weniger, damit die Objekte genug Farbstoff vorfinden — dieser ist nicht so leicht erschöpft — als damit die aus ihnen austretende Flüssigkeit



nicht die Zusammensetzung des Gemisches wesentlich ändere. Auch sind die Objekte so zu legen (auf eine poröse unschädliche Unterlage) oder aufzuhängen, daß sie von allen Seiten leicht durchtränkt werden können.

Fixiren und Färben zugleich ist in brauchbarer Art nur ausnahmsweise möglich. Es gelingt mit Essigsäure und Methylgrün (§ 269), allenfalls mit Essigsäurekarmin (§ 225). In thörichter Weise hat es PERÉNYI (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 459) ausgeübt. Ich (MAYER) finde, daß man zwar zur Noth Hämalaun verwenden kann, rathe aber davon ab.

**214. Praxis der Schnittfärbung.** Hierüber lassen sich noch weniger allgemeine Regeln geben als über das Färben in toto.

Einen wesentlichen Unterschied macht es zunächst, ob man lose Schnitte (oder, was ihnen gleich kommt, dünne Membranen) oder aufgeklebte Schnitte zu färben hat. Jene sind zwar in der Regel rascher färbbar, da sie ja auch ihre Unterseite der Flüssigkeit frei darbieten, aber dafür um so schwieriger zu behandeln, es sei denn, sie seien in Celloidin eingebettet. Manchmal gerathen die Färbungen besser, wenn das Celloidin vorher durch Alkohol und Äther fortgeschafft worden ist; auch färbt es sich zuweilen stark mit.

Ferner sind die Diffusionströme beim Überführen der Schnitte aus starkem Alkohol in schwachen oder Wasser (und umgekehrt) natürlich Schnitten viel gefährlicher als ganzen kompakten Objekten. GAGE (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 367) bringt deswegen die Schnitte direkt aus 95%igem Alkohol in Wasser (und umgekehrt). Ich (MAYER) schalte immer wenigstens einen schwächeren Alkohol ein.

Lose Schnitte färbt man wohl stets in Gefäßen (Uhrschälchen etc.), die aufgeklebten entweder in Tuben (s. oben p. 10) oder, indem man das Färbgemisch auf die liegenden Objektträger bringt. Wo letztere Methode überhaupt zulässig ist (der Kontakt der dünnen Flüssigkeitsschicht mit der Luft kann schädlich wirken), da ist sie, obwohl weniger bequem, deswegen besser, weil man nachher ja die paar Tropfen des Gemisches fortgießt, also immer mit frischen Mengen arbeitet, während in den Tuben allmählich das Gemisch schwächer an Farbstoff wird und aus den Schnitten Stoffe aufnehmen kann, die es ändern. Operirt man geschickt, so kann man sogar auf demselben Objektträger einen Theil der Schnitte anders färben als den Rest, etwa indem man erst in allen die Kerne färbt und hinterher in einem Theil auch das Plasma.

Über das Färben von Paraffinschnitten vor dem Wegschaffen des Paraffins s. oben p. 10.

Bei Doppel- oder Mehrfachfärbungen tingirt man in der Regel zuerst die Kerne und dann die Theile des Plasmas, die man hervorzuheben sucht (z. B. erst mit Hämalaun, dann mit Eosin), seltener



umgekehrt; mitunter jedoch genügt eine einzige Operation, wie z. B. mit dem Triacidgemisch von Ehrlich.

Obwohl natürlich *ceteris paribus* sich Schnitte viel rascher färben als ganze Objekte, so hängt doch die absolute Zeitdauer sehr von der Art des Färbgemisches und sonstigen Umständen ab, zum Theil auch von der persönlichen Liebhaberei. Während nämlich die Einen lieber einen ganzen Tag und länger färben — z. B. genügen RAWITZ (Leitfaden 2. Aufl. 1895 p. 57) 24 Stunden nur „in den meisten Fällen“ —, richten sich Andere die Färbgemische so her, daß meist wenige Minuten oder sogar Sekunden hinreichen. Jene behaupten, die schwachen Gemische ergäben diskretere Färbungen, scheuen auch bei den starken die eher mögliche Überfärbung und wollen nicht mit der Uhr in der Hand die kurzen Zeiten abmessen. Im Allgemeinen ist aber rasches Färben deswegen vorzuziehen, weil dabei namentlich in wässerigen Gemischen die Schnitte weniger leiden.

**215. Haltbarkeit der Färbungen.** Im Gegensatze zu den Färbungen mit Karmin (und verwandten Farbstoffen) und Hämatoxylin oder Hämatein in Verbindung mit Thonerde, Eisen etc., die meist bei richtiger Behandlung sich in Harzen unbegrenzte Zeit zu halten scheinen, verderben manche der elektivsten und prächtigsten Färbungen mit Theerfarbstoffen leider sehr leicht. Dies gilt z. B. von den Dreifarbgemischen Ehrlichs, aber auch von deren Bestandtheilen, wenn sie einzeln angewandt werden: meist sind sie in Glycerin schon sehr bald, in Harzen wenigstens nach Jahresfrist, ja, oft schon nach Monaten verblichen. Nur Safranin, Gentianaviolett, Bismarckbraun und Pikrinsäure machen in dieser Beziehung eine Ausnahme, und auch einige andere Theerfarbstoffe scheinen sich einigermaßen zu halten. Ungemein viel hängt hierbei von der Vorbehandlung der Objekte ab. Sind sie *ad hoc* gebeizt worden, so nehmen sie nicht nur mehr Farbstoff auf als ohne Beizung, sondern halten ihn auch fester. (S. auch über die Färbung des Schleimes mit Safranin in § 787.)

Im Ganzen ergibt sich hieraus namentlich dem Anfänger die Regel, für Dauerpräparate nicht die Theerfarbstoffe zu benutzen. Wohl aber sind einige von diesen, besonders Thionin und seine Verwandten, nützlich und bequem, um einen raschen Überblick über die Anordnung der Gewebe auf Schnitten zu bekommen. Zu diesem Zwecke färbt man letztere in ziemlich schwachen Lösungen und untersucht sie auch darin, also ohne sie auszuwaschen, bei weit geöffnetem Condensor.



**216. Bezug der Farbstoffe.** Man hat nicht leicht Erfolg beim Färben, wenn man nicht für gute Farbstoffe sorgt. Und die bekommt man nicht immer von einer renommirten Handlung mit Chemikalien. Denn sie müssen nicht nur das leisten, was man im Handel von ihnen verlangt, sondern identisch mit denen sein, die der Autor benutzt hat, der sie empfiehlt. Besonders gilt dies von den Theerfarbstoffen (z. B. Safranin, s. § 277). Ich (LEE) rathe daher, wenigstens alle feineren Farbstoffe von Grübler & Hollborn in Leipzig oder G. Münder in Göttingen zu beziehen.

Über Münder habe ich (MAYER) keine eigenen Erfahrungen, kann dagegen ebenfalls Grübler & Hollborn empfehlen und erkenne auch gern die Bereitwilligkeit dieser Firma an, die oft recht speziellen Fragen und Wünsche der Forscher sorgfältig zu erledigen.



## 11. Kapitel.

**Färben mit Karmin, Karminsäure und Cochenille.**

**217. Karmin.** Wie MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 480; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 215) auseinander setzt, ist das Karmin nicht, wie man früher annahm, unreine Karminsäure, sondern (nach LIEBERMANN, s. Ber. D. Chem. Ges. 18. Jahrg. 1886 p. 1969) eine Verbindung von Karminsäure mit Thonerde, Kalk und Eiweißkörpern, worin Thonerde und Kalk ebenso wenig fehlen dürfen, wie das Natrium im Kochsalz. Ein sehr gutes Karmin enthielt etwa 17 % Wasser, 20 % stickstoffhaltige Substanzen, 56 % Karminsäure und reichlich je 3% Thonerde und Kalk. Mayer kommt zu dem Schlusse, daß beim histologischen Färben außer der Karminsäure stets die Thonerde, manchmal auch der Kalk, eine Rolle spielt.

Die Einzelheiten der Bereitung des Karmins sind das Geheimnis der Fabrikanten; was davon in den technologischen Werken steht, beruht allermeist auf Irrthum, wenn nicht gar auf absichtlicher Irreführung durch jene.

Löslich ist gutes Karmin in destill. Wasser nur sehr wenig, leicht dagegen bei Zusatz von kaustischen und kohlensauren Alkalien oder von Borax, weniger leicht und theilweise nur unter Zersetzung in Lösungen von Alaun, Aluminiumchlorid (oder -nitrat), sowie in Essigsäure und Mineralsäuren. In Alkohol nur bei Gegenwart von Säure (besonders Salzsäure).

Zum Färben von thierischen Geweben hat es zuerst CORTI (Zeit. Wiss. Z. 3. Bd. 1851 p. 153 etc.) gebraucht, für Pflanzen Hartig; die allgemeine Verwendung datirt von Gerlach (1858). Genaueres s. bei APÁTHY (Mikrotechnik p. 92).

**218. Karminsäure** ( $C_{22}H_{22}O_{13}$ ?). Chemisch rein, wie von Schunck & Marchlewski dargestellt, ist sie im Handel nicht zu haben, dürfte auch für praktische Zwecke zu theuer sein. Aber annähernd rein, in mikroskopisch kleinen Kristallen liefern sie C. A. F. Kahlbaum in Berlin und Grübler & Hollborn. In Wasser und schwächeren Alkoholen



(70 % iger löst weniger als 3 %) muß sie klar löslich sein; beim Glühen auf dem Platinblech darf sie keine Asche hinterlassen. Es ist eine dreibasische Säure, die aus Marmor die Kohlensäure austreibt und mit den Alkalimetallen lösliche, mit den Erd- und Schwermetallen hingegen unlösliche Verbindungen liefert. Das Thonerdesalz, das Aluminiumkarminat, ist in Wasser oder schwachem Alkohol löslich bei Gegenwart von Säuren und sauren Salzen, aber auch von Alkalien und basischen Salzen, wie Borax. Man erhält es aus einer Lösung von Karminsäure (oder Ammoniumkarminat) durch Zusatz von Aluminiumacetat, nicht hingegen von Alaun, da sich das entstehende Aluminiumkarminat sofort wieder zu dem zum Färben geeigneten **Karmalaun** (§ 221) auflöst.

Auch im Überschuß von Chloraluminium ist das Aluminiumkarminat löslich und kann gleich dem Karmalaun zum Färben dienen (s. § 222), färbt auch wie dieses nicht schön roth, sondern violett, etwa wie Grenacher's Alaunkarmin. Fügt man nun Chlorcalcium zum Karmalaun, so wird sofort der Ton der gefärbten Objekte lebhafter roth; nur bildet sich zugleich durch Umsetzung Calciumsulfat, das unlöslich ist. Daher setzt man besser das Chlorcalcium zum Chloraluminium und erhält dann ein gutes Gemisch, das **Parakarmin** (§ 235).

Vergleicht man die obigen Angaben über das Färben mit Karminsäure mit denen über das Färben mit Hämatoxylin (s. unten p. 156), so findet man eine interessante Parallele: in beiden Prozessen ist nicht der Farbstoff an sich thätig, sondern in Verbindung mit Thonerde; die Farbe resultirt in dem einen Falle aus Karminsäure + Thonerde, in dem anderen aus Hämatein + Thonerde, während andere Substanzen, z. B. Kalk, nur gelegentlich dabei eine Rolle spielen.

In die Mikrotechnik wurde die Karminsäure von DIMMOCK (Amer. Natural. Vol. 18 1884 p. 324) eingeführt, indessen ohne Erfolg, da sich in seinen Gemischen der zweite wichtige Faktor, die Thonerde, nicht vertreten fand: D. färbte nur mit Karminsäure oder dem Ammoniumsalz, erhielt daher schwache, diffuse Färbungen. — Außer mit Aluminium wird die Säure nur in Verbindung mit Calcium, Strontium, Eisen, Kalium und Natrium benutzt; man geht dabei entweder direkt von ihr aus oder bedient sich als Zwischenstufe des Karmins. Das sogenannte karminsaure Ammoniak und karminsaure Natron, die zum Injiziren, aber auch zum Färben dienen, sind nicht diese Salze, sondern lockere Verbindungen des Karmins mit Ammoniak und Soda, heißen daher auch richtig Ammoniak- und Sodakarmin. — S. im Übrigen MAYER in: Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 212.

**219. Cochenille.** Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 496) ist in dem Auszug aus Cochenille, wie er histologisch verwandt wird, keine freie Karminsäure, sondern ein karminsaures Alkali vorhanden. Der wässerige Auszug mit Alaun (Alauncochenille.



§ 224) verdankt seine Färbkraft dem Aluminiumkarminat (s. oben § 218). Der Auszug mit Alkohol allein enthält dagegen nur das karminsaure Alkali, färbt daher schwach und diffus, wie die Karminsäure selbst. Trifft er aber in den Geweben mit Salzen von Kalk, Magnesia, Thonerde oder Metallen zusammen, die damit gefärbte Niederschläge bilden, so kann daraus eine gute Färbung resultieren. So gibt Mayers einfache Cochenilletinktur (§ 237) mit Objekten, die solche Salze enthalten, schöne Erfolge. Leider sind aber derartige Objekte ziemlich selten, und so liefert die Tinktur meist sehr schwache Färbungen. Setzt man dagegen zur Tinktur die nöthigen Salze, so ergibt sie bei jeder Art von Objekten eine gute Färbung.

Cochenille besteht aus den getrockneten ♀ von *Coccus cacti*; etwa 150 000 sollen auf ein Kilo gehen. Nach Liebermann enthält eine gute Cochenille 9—10, eine sehr gute 14% Farbstoff. Im Thiere ist dieser nach MAYER (l. c. p. 506) nur im Fettkörper und im Dotter der Eier enthalten.

## 220. Allgemeines über die Anwendung der Karmingemische.

Für frische Gewebe eignen sie sich mit Ausnahme des Essigsäurekarmins nicht. Für Schnitte ebenfalls nicht besonders, denn in der Regel färbt man diese mit Theerfarbstoffen oder mit Hämateingemischen besser. Dagegen für ganze Thiere, überhaupt für Stückfärbung, wenn es dabei nicht auf cytologische Einzelheiten ankommt.

Dem Anfänger seien vor Allem Boraxkarmin (§ 234) und Karmalaun (§ 221) empfohlen, da diese am leichtesten zu behandeln sind. Für Objekte, die schlechterdings kein Wasser oder keinen schwachen Alkohol vertragen, ist Parakarmin gut. Sehr präzise Kernfärbung gibt mit Alaunlösung verdünntes Karmalaun oder auch Alaunkarmin (§ 223). Als Farbstoff für das Plasma eignet sich in allen diesen Fällen Pikrinsäure, am bequemsten unmittelbar vor dem Einschluß der Schnitte in den Balsam. Nur ganz selten verwendet man noch zum Färben der Kerne und des Plasmas irgend ein Pikrokarmin (§ 231).

Überfärbungen lassen sich meist mit Alaunlösung, stets aber mit schwach saurem Alkohol (etwa  $\frac{1}{10}$  % Salzsäure) auswaschen.

Alle Arten von Karminfärbung halten sich in Balsam, nur die mit Essigsäurekarmin nicht; die mit Karmalaun, Alaunkarmin etc. bleiben auch in Glycerin gut. Natürlich kann man die sauren Gemische oder die Grenacherschen Lösungen nicht brauchen, falls die Gewebe Kalkkörper enthalten, die man unversehrt lassen möchte.



**A. Wässerige Gemische.****a) Saure.**

**221. Karmalaun.** MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 489) löst 1 g Karminsäure und 10 g Alaun warm oder kalt in 200 ccm destill. Wasser, läßt absetzen, gießt ab oder filtrirt und setzt als Antisepticum 1 ccm Formol oder  $\frac{1}{5}$  g Salicylsäure oder 1 g Natrium-salicylat zu. Die Lösung ist roth mit einem Stich ins Violette und färbt selbst die mit Osmium fixirten Objekte durch. Wäscht man hinterher bloß mit Wasser aus, so behält das Plasma etwas Farbe zurück; für eine ganz reine Kernfärbung nehme man daher zum Auswaschen Alaun-lösung (und dann muß man diese später wieder mit Wasser fortschaffen) oder in hartnäckigen Fällen eine schwache Säure. Der allgemeine Effekt ist der einer Färbung mit Alaunkarmin (§ 223); jedoch färbt letzteres nicht gut durch, Karmalaun hingegen wohl.

Die Objekte, die mit Karmalaun gefärbt werden sollen, dürfen nicht alkalisch reagiren.

Eine Lösung, die dem Alaunkarmin von Grenacher nahe kommt und nur etwas rother färbt, erhält man aus 1 Theil Karminsäure, 30—50 Alaun und 1000 Wasser (ebenfalls mit einem Antisepticum). — Über ein etwas rotheres Karmalaun s. unten § 223, über das Eisenkarmalaun § 226.

RAWITZ (Anat. Anz. 15. Bd. 1899 p. 438) bereitet ein Glycerin-Karmalaun aus 1 g Karminsäure, 10 g Ammoniakalaun, 75 ccm destill. Wasser und 75 ccm Glycerin. Er empfiehlt es konzentriert oder stark mit Wasser verdünnt nur für Schnitte. Ich (MAYER) sehe keinen besonderen Vorteil in seiner Anwendung.

Alle Gemische, die mit Alaun zubereitet werden, besonders die Alauncochenille, setzen allmählich viel Farbstoff auf dem Grunde oder an den Wänden der Flaschen ab. Auch der Zusatz von Säuren oder Salzen hilft auf die Dauer nicht. Ebenso ist es trotz RAWITZ (Anat. Anz. 15. Bd. 1899 p. 438 u. 442) einerlei, ob man Ammoniak- oder Kalialaun verwendet.

Ein Zusatz von Borax verzögert zwar das Absetzen, macht aber die Färbung der Objekte gar zu schwach. Schwächeres K. (1:500 statt 1:200) bleibt durch Zusatz von 10% Formol oder Glycerin klar. Auf Veranlassung von Bresslau habe ich (MAYER) Holzessig versucht: 10% hält das Karmalaun einige Jahre lang klar. S. auch § 225.

**222. Karminsäure und Aluminiumchlorid** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 490). In 200 g destill. Wasser löst man 1 g Karmin-säure und 3 g Aluminiumchlorid und setzt ein Antisepticum hinzu (s. § 221). Haltbarkeit und Verwendung wie bei Karmalaun; färbt blau violett, sehr stark



und elektiv, aber die Kerne nicht so rein wie jenes. Zu empfehlen nur, falls das Karmalaun des Alauns wegen nicht zu gebrauchen ist.

**223. Alaunkarmin.** GRENACHER (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 465) kocht 1—5 %ige wässrige Lösung von Kali- oder Ammoniakalaun 10—20 Minuten lang mit  $\frac{1}{2}$ —1 % Karmin und filtrirt nach dem Erkalten.

Nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 29) färbt das Alaunkarmin stärker und mehr nach Roth hin, wenn man 2 g Karmin mit 5 g Alaun und 100 ccm Wasser 1 Stunde lang kocht; es ist dann ziemlich stark sauer geworden, indem der Alaun etwas Schwefelsäure abgegeben hat, die aus dem Karmin Karminsäure frei macht. Man erreicht also dasselbe, wenn man dem Alaunkarmin (oder dem Karmalaun) etwas Karminsäure zusetzt.

Unwesentliche und zum Theil irrationelle Abänderungen der Grenacherschen Formel s. bei TIZZONI (\*Bull. Sc. Med. Bologna 1884 p. 259), PISENTI (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 378) und GRIEB (ibid. 7. Bd. 1890 p. 47).

Das Alaunkarmin ist neben den Theerfarbstoffen eins der besten Färbmittel. Es sei dem Anfänger empfohlen: man kann kaum damit überfärben (ausgenommen Muskeln). Jedoch dringt es nicht leicht in die Tiefe, eignet sich daher nicht zum Durchfärben großer Stücke.

Über **Alaunkarmin mit Essigsäure** s. LEE & HENNEGUY (Traité 1. Ed. 1887 p. 88) und § 221, über **Alaunkarmin und Pikrinsäure** s. LEGAL (Morph. Jahrb. 8. Bd. 1883 p. 356). Genaueres auf p. 154 der 2. Aufl. dieses Buches.

**224. Alauncochenille.** PARTSCH (Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 p. 180) kocht in 5 %iger Lösung von Alaun fein geriebene Cochenille, filtrirt und setzt als Antisepticum etwas Salicylsäure hinzu.

CSOKOR (Arch. Mikr. Anat. 18. Bd. 1880 p. 413) gibt eine ähnliche Vorschrift: Cochenille und Alumen ustum je 7 g, Wasser 700 ccm, einzukochen auf 400 ccm. Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 496) enthält aber dieses Gemisch nicht genug Alaun, während das von Partsch rationell ist, sich auch besser hält. Um die Cochenille gründlicher auszuziehen, nehme man außer den 5 % Alaun 1 % Kaliumnitrat. — RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 168) rühmt seine Alauncochenille (je 25 g Alaun und Cochenille, 800 ccm Wasser, einzukochen auf 600) sehr, da sie kein spezifisches Kernfärbmittel sei.

Alle diese Vorschriften liefern Gemische, die dem Alaunkarmin nahe kommen, jedoch beim Färben vielleicht feinere Abstufungen in den Farbtönen ergeben; indessen hängt das von der Qualität des Karmins und der Cochenille sowie der Gewebe ab. Die Alauncochenille ist genau so anzuwenden wie das Karmalaun; nur setzt sie in den Flaschen noch mehr und rascher ab als dieses.

Nitrocochenille von RAWITZ (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 392): Cochenille und Aluminiumnitrat je 4 g, Wasser und Glycerin je 100 ccm. Nur



für Schnitte. Soll unbegrenzt lange haltbar sein. Nach meinen (MAYER) Proben färbt sie gar zu schwach. — Kobaltcochenille (ibid. p. 393): genau so, aber statt des Alum. ebenso viel Kobaltammoniumsulfat.

**225. Essigsäurekarmin.** SCHNEIDER (Z. Anz. 3. Jahrg. 1880 p. 254) löst in kochender Essigsäure von 45% Karmin bis zur Sättigung auf, filtrirt und verdünnt entweder die Lösung auf 1% zum langsamen Färben, oder setzt sie direkt zum lebenden Objekt unter dem Deckglase; alsdann fixirt sie und färbt zugleich. Sie dringt leicht ein und gibt eine reine Kernfärbung, die aber nicht haltbar ist. Deshalb und auch aus anderen Gründen ist ihre Anwendung sehr beschränkt. — PIANESE (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1894 p. 502) macht in ähnlicher Weise ein Ameisensäurekarmin. Wahrscheinlich gibt in allen Fällen, wo man Essigsäurekarmin braucht, Methylgrün bessere Resultate.

Die sogenannten Holzessigfarben von BURCHARDT (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1898 p. 232ff.; s. auch VÖLTZKOW in: Abh. Senckenb. Ges. Frankfurt 26. Bd. 1899 p. 108) sind, obwohl B. sie speziell für altes Material aus Chromgemischen sehr rühmt, nach RAWITZ (Anat. Anz. 15. Bd. 1899 p. 443) und MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 216) irrationell und unnöthig. Nachträglich hat BURCHARDT (Jena. Zeit. Naturw. 34. Bd. 1900 p. 720) die Formeln etwas verbessert. — BRESSLAU ist nach Mittheilung an Mayer mit dem Gemisch von 2 g Karmin, 2 g Kalialaun und 100 ccm Holzessig sehr zufrieden.

**226. Eisenkarmalaun.** DE GROOT (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1903 p. 21) setzt zum Mayerschen Karmalaun bei der Bereitung auf 200 ccm 0,1 g Eisenoxydulammonsulfat und zur fertigen filtrirten Lösung außer etwas Thymol 2 Tropfen Salzsäure. Dieses dient zum Durchfärben; für Schnitte fügt man zu 20 ccm davon 80 ccm 5%iger Alaunlösung und noch 1 Tropfen Salzsäure sowie etwas Thymol. Beide Gemische halten sich klar und ergeben eine reine Kernfärbung. Bei mir (MAYER) hat aber das starke Gemisch in der Originalflasche schon bald abgesetzt, während das verdünnte auch jetzt (nach bald 7 Jahren) noch ganz klar ist. Die Färbung ist wegen der relativ geringen Menge des Eisensalzes violett, wie mit reinem Karmalaun, nur kräftiger.

**227. Eisenkarminate.** Bereits WEIGERT hat eine braunviolette Färbung der Präparate erhalten, die mit Karmin gefärbt und mit einem Gemisch von Alkohol und etwas Eisenchlorid ausgewaschen wurden (Arch. Path. Anat. 84. Bd. 1881 p. 278). — ZACHARIAS (Z. Anz. 17. Jahrg. 1894 p. 62) färbt die Objekte in Essigsäurekarmin, spült sie mit schwacher Essigsäure ab und bringt sie in 1%ige Lösung von citronensaurem Eisenoxyd-Ammonium auf 2—3 Stunden (Schnitte nur wenige Minuten, da sie sonst zu schwarz werden). — Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 488) beruht die Färbung darauf, daß das Aluminiumkarminat des Karmins in Eisenkarminat umgewandelt wird.

PFEIFFER v. WELLHEIM (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 123) behandelt Süßwasseralgen erst mit sehr schwacher Lösung von Eisenchlorid, dann nach



gutem Auswaschen mit einer Lösung von Karminsäure und korrigiert, falls nöthig, mit Salzsäure ( $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}$  % ig). Als Lösungsmittel und zum Waschen braucht er stets Alkohol von 50 %. — Ähnlich LEE (Vade-Mecum 6. Ed. 1905 p. 170): die Schnitte werden in Ferrisulfat (wie nach Benda, s. § 260) gebeizt, gewaschen und auf etwa 1 Stunde in  $\frac{1}{2}$  % ige Lösung von Karminsäure in 50 % igem Alkohol gebracht. Meist ganz scharfe, aber schwache Kernfärbung.

Eisencochenille. SPULER (Encyclop. 1. Bd. p. 240) beizt die Objekte in einem recht komplizierten Auszug aus Cochenille, spült sie ab und bringt sie auf einige Tage in  $\frac{3}{4}$  % ige wässrige Lösung von Eisenalaun. — HANSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 85) kocht 5—10 g Cochenillepulver mit 8 g Eisenalaun, 250 ccm Wasser und 25 ccm 10 % iger Schwefelsäure 15—20 Minuten lang. Für Schnitte oder ganze Objekte. Besonders die Kerne werden schwarz. — S. auch PETER in: Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 314.

#### b) Basische und sogenannte neutrale.

**228. Magnesiakarmin** nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 23). Die Lösungen des Karmins in wässrigem Ammoniak verlieren fortwährend Ammoniak, und die sonst gebräuchlichen (Natron- oder Lithionkarmin) sind meist zu stark alkalisch. Verwendet man dagegen zum Lösen des Karmins die gebrannte Magnesia, so bleiben die Lösungen nicht nur konstant, sondern schädigen auch während der zum Färben erforderlichen Zeit die Gewebe nicht so stark (z. B. lösen die mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte nicht los), wie sonst meist geschieht. Das starke Magnesiakarmin („Stammlösung“) erhält man, indem man 1 g Karmin und 0,1 g Magnesia usta mit 50 ccm destill. Wasser 5 Minuten lang kocht, filtriert und mit 3 Tropfen Formol versetzt. Gelöst werden reichlich  $1\frac{1}{2}$  % Karmin. — Zur Bereitung des schwachen Magnesiakarmins löst man 0,1 g Karmin durch halbstündiges Kochen in 50 ccm Magnesiawasser, filtriert und setzt ebenfalls Formol zu. (Magnesiawasser: man läßt 1 g Magnesia usta mit 1 Liter Brunnenwasser eine Woche lang unter öfterem Umschütteln stehen und zieht davon jedesmal nur so viel klar ab, wie man gebraucht, da es nur so alkalisch genug bleibt.)

Beide Magnesiakarminen halten sich sehr lange klar, das schwache sogar viele Jahre. Sie sind für Schnitte und Objekte in toto gut, am besten mit einem Zusatz von Magnesiumpikrat (§ 232); das starke färbt aber nicht erheblich stärker als das schwache. Nach dem Färben wäscht man mit Wasser (eventuell unter Zusatz von etwas Magnesiawasser) gut aus.

Unter Umständen ist das starke Magnesiakarmin nicht alkalisch genug, aber man hilft dem leicht durch Zusatz von Magnesiawasser ab. S. § 859 (MAYER).



**229. Ammoniakkarmin** (s. auch § 233). Am besten bereitet man es nach RANVIER (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1 1874 p. 769; s. ferner Lee & Henneguy, *Traité* 1. Ed. p. 82), indem man Karmin in Wasser mit nur geringem Überschuß an Ammoniak löst und in einer tiefen Schale der Verdunstung überläßt; wenn es dabei faulen will, um so besser. Das trockene Pulver löst man in Wasser auf und filtrirt. — Das karminsäure Ammoniak von HOYER (Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882 p. 17) ist nicht dieses, sondern ein trockenes Ammoniakkarmin, das sich in Wasser ohne Weiteres klar lösen muß. S. auch oben p. 147.

Ähnlich wie Hoyer stellt VAN WIJHE (Versl. Akad. Amsterdam (3) 8. Deel 1900 p. 507) ein trockenes A.-K. dar, indem er eine alte Lösung von Karmin in Ammoniak mit vielem Alkohol mischt und den Niederschlag mit Alkohol wäscht und trocknet. (Eine frische Lösung ergibt ein anderes Produkt, und das Reifen der Lösung beruht auf Oxydation; kocht man daher Karmin mit Wasser, Ammoniak und Wasserstoffhyperoxyd, so erhält man sofort eine Lösung mit den gewünschten Eigenschaften.) — Nach meiner (MAYER) Erfahrung mit einem Originalpräparate reagirt das Pulver, wie es nicht anders sein kann, schwach alkalisch, löst sich trotzdem nicht klar in Wasser und setzt auch später fortwährend ab.

**230. Lithionkarmin** nach ORTH (\*Berlin. Klin. Wochenschr. 28. Jahrg. 1883 p. 421): in konzentrierter wässriger Lösung von Lithiumcarbonat werden durch Kochen 2½—5% Karmin aufgelöst. Überflüssig, macerirt stark (MAYER), wird aber merkwürdiger Weise sogar von Embryologen gebraucht. Behandlung der gefärbten Objekte wie beim Boraxkarmin (unten § 234). — S. auch das complicirte Gemisch von BEST (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 322).

**231. Pikrokarmin.** Hierunter versteht man Gemische, worin Pikrinsäure, Ammoniak (Natron, Lithion), Kohlensäure (auch wohl Essigsäure), Karmin und Wasser in willkürlichen Verhältnissen vorkommen. Ranvier, der Erfinder des Pikrokarmins, glaubt zwar, seine Methode ergebe ein Doppelsalz von Pikrinsäure und Karminsäure mit Ammoniak, also Ammoniumpikrokarminat. Davon kann aber schon deswegen keine Rede sein, weil Karmin keine Karminsäure ist, sondern auch Thonerde und Kalk enthält (s. oben p. 146). Vielmehr ist nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 18ff.) das gewöhnliche Pikrokarmin ein inkonstantes Gemisch von Ammoniumpikrat, Ammoniakkarmin und freiem Ammoniak, wirkt daher oft auf die Gewebe schädlich. Enthält es nur wenig freies Ammoniak und genug Ammoniakkarmin, so ergibt es mitunter gute Doppelfärbungen (roth und gelb), indessen lassen sich diese wohl besser durch Vorfärben mit Boraxkarmin oder Parakarmin und Nachfärben mit Pikrinsäure (in Alkohol, Benzol, Terpentinöl etc. gelöst) erreichen.

Seine Verwendung für fixirte Gewebe ist nur dann anzurathen, wenn selbst so schwach saure Gemische wie Karmalaun etc. nicht brauchbar sind,



z. B. falls Kalknadeln erhalten bleiben sollen; oder bei macerirten Geweben, die nicht schrumpfen dürfen. Da aber die gewöhnlichen Pikrokarmine meist selber zu stark maceriren oder, wenn sie nur wenig freies Ammoniak enthalten, oft nicht distinkt genug färben, so ist das Feld ihrer Wirksamkeit noch enger. — In den Vorschriften wird häufig angegeben, man solle die gefärbten Objekte mit schwacher Säure behandeln, um distinktere Färbungen zu bekommen.

MANN (Methods p. 249) räth Pikrokarmine ausschließlich für frische Gewebe an, am besten in Verbindung mit Osmiumsäure (1 Theil 1% iger auf 4 Theile eines guten Pikrokarmins). — S. auch § 859 (MAYER).

VAN WIJHE (Versl. Akad. Amsterdam (3) 8. Deel 1900 p. 506) löst von seinem trockenen Ammoniakkarmin (s. p. 153)  $\frac{1}{2}\%$  in 1% iger Lösung von neutralem Ammoniumpikrat, kocht die nicht ganz neutrale Flüssigkeit so lange, bis sich rothes Lakmuspapier in den Dämpfen nicht mehr bläut, und setzt als Antisepticum 1% Chloralhydrat zu. Ich (MAYER) ziehe selbst für frische Gewebe das Karmalaun vor. S. auch p. 159 der vorigen Auflage dieses Buches.

Von den **älteren Vorschriften** seien hier folgende erwähnt. Die von RANVIER (Traité techn. 1. Ed. p. 100) ist ungenau; auch die aus seinem Laboratorium stammende (Lee & Henneguy, Traité 2. Ed. 1896 p. 86) ergibt kein konstantes Präparat. S. ferner GAGE (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 1 1880 p. 22); FOL (Lehrbuch p. 195); MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 20); PERGENS (Carnoy, Biol. cellulaire p. 92); HOYER (Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882 p. 19); BIZZOZERO (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 539); KLEMENSIEWICZ (Sitzungsb. Akad. Wien 78. Bd. 3. Abth. 1878 p. 35); CUCCATI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 42); POLJAKOFF (Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 574). Natronpikrokarmine bereitet LÖWENTHAL (Anat. Anz. 2. Jahrg. 1887 p. 22 und Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 313). WEIGERT (Arch. Path. Anat. 84. Bd. 1881 p. 283) stumpft das überschüssige Ammoniak mit Essigsäure ab. ORTH (\*Berlin. Klin. Wochenschr. 28. Jahrg. 1883 p. 421) bereitet mit seinem Lithionkarmin (§ 230) ein Lithionpikrokarmine, das gleich jenem stark macerirt.

**232. Pikromagnesiakarmin** nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 25). Zur Herstellung dient außer dem Magnesiakarmin (§ 228) eine Lösung von Magnesiumpikrat, die man entweder durch Erhitzen von 200 ccm  $\frac{1}{2}\%$  iger wässriger Lösung von Pikrinsäure mit 0,25 g Magnesiumcarbonat bis zum Kochen, Absetzenlassen und Filtriren, oder durch Lösen von 0,6 g festen Salzes (bei Grübler & Hollborn zu haben) in 100 ccm destill. Wasser erhält. Zu 10 Vol. dieser Lösung gebe man 1 Vol. des starken Magnesiakarmins, oder mische gleiche Theile der Lösung und des schwachen Magnesiakarmins mit einander. Gegen Schimmelpilze setze man etwas Formol zu.

Beide Arten Pikromagnesiakarmin enthalten höchstens  $1\frac{1}{2}$  promille Karmin, wirken aber rascher und stärker als die gewöhnlichen Pikrokarmine, die meist viel mehr Karmin enthalten sollen. — Das Magnesiumpikrat ist leichter ganz neutral zu gewinnen, als das Ammoniumpikrat.

**233. Andere wässrige Gemische** (meist veraltet). Saures Ammoniakkarmin nach SCHWEIGGER-SEIDEL (Ranvier, Traité, 1. Ed. p. 99; Frey, Mikroskop 6. Aufl. 1877 p. 96). Ammoniakkarmin nach BEALE (Frey, ibid. p. 95);



nach FREY (ibid. p. 94: beide enthalten Glycerin und Alkohol); nach HAMANN (Internation. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 346). Neutrales Boraxkarmin nach GRENACHER (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 466); nach HAUG (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 151; 8. Bd. 1891 p. 52). Boraxkarmin nach WOODWARD (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 2 1879 p. 613); nach GIBBES (ibid. Vol. 3 1883 p. 390). Osmiumkarmin nach DELAGE (Arch. Z. Expér. (2) Tome 4 1886 p. 121). Lösliches Karmin nach PERL (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 91). Borsäurekarmin, Alaunkarmin mit Borsäure oder Salicylsäure und Salicylsäurekarmin, alle nach ARCANGELI (ibid. 2. Bd. 1885 p. 377). Pikrinsäurekarmin nach ARCANGELI (ibid.); nach THOMA (ibid. 24. Bd. 1907 p. 139) genau gleich dem vorigen und um kein Haar besser; nach MINOT (Whitman, Methods p. 42). Urankarmin nach GIERKE (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 92); nach SCHMAUS (ibid. 8. Bd. 1891 p. 230). Sodakarmin nach CUCCATI (ibid. 4. Bd. 1887 p. 50).

### B. Alkoholische Gemische.

**234. Boraxkarmin.** GRENACHER (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 466) löst in 4%iger wässriger Lösung von Borax durch Kochen 2—3 % Karmin auf, setzt das gleiche Volumen Alkohol von 70% hinzu und filtriert nach längerem Stehen. Die Objekte läßt er in der Lösung, bis sie gut damit durchtränkt sind, eventuell Tage lang, und bringt sie, ohne sie auszuwaschen, in Alkohol von 70%, der mit Salzsäure (4—6 Tropfen auf 100 ccm) angesäuert ist. Hierin bleiben sie, bis die Farbe sich aus dem Plasma auf die Kerne zurückgezogen hat, was ebenfalls Tage lang dauern kann, und kommen nun in neutralen Alkohol.

Das Boraxkarmin war eine Zeit lang von den Mitteln zum Durchfärben das gebräuchlichste. Es läßt sich leicht handhaben und gibt eine sehr schöne Färbung. Indessen dringt es nicht so gut durch, wie man glaubt, und bildet zuweilen in dicken Stücken Niederschläge, die sich im sauren Alkohol nicht wieder lösen. Ferner reagiert es alkalisch und eignet sich daher für Zellenstudien nicht.

Die älteren Gemische von THIERSCH (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 149) und WOODWARD (\*Month. Micr. Journ. Vol. 7 1872 p. 38) sind wenig rationell, scheinen auch kaum in Aufnahme gekommen zu sein.

Überträgt man die gefärbten Objekte aus dem Boraxkarmin in schwachen Alkohol oder Wasser, so wäscht sich darin fast der ganze Farbstoff wieder aus; man muß sie also direkt in 70%igen Alkohol bringen; in diesem schlägt sich das Karmin diffus nieder und wird erst durch Säuren wieder gelöst, sodaß es nun die Kerne tingiert; daher ist richtig saurer Alkohol vorgeschrieben.

Rein wässriges Boraxkarmin maceriert gleich dem Lithionkarmin so stark, daß es für feinere Arbeiten unbrauchbar wird. MAYER (Whitman, Methods



p. 40) bereitet daher für besonders zarte Objekte ein Boraxkarmin mit noch stärkerem Alkohol als das Grenachersche, nämlich von 50—70%. Kochender Alkohol von 50—60% löst allerdings nur etwa 1% Borax und ebenso viel Karmin, der von 70% noch nicht  $\frac{1}{4}$ % Borax, und das Boraxkarmin mit 70%igem Alkohol sieht ganz hell aus, aber das ist für kleine Objekte gerade vortheilhaft. Bereitung und Anwendung genau nach Grenacher.

**235. Parakarmin.** MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 491) löst 1 g Karminsäure,  $\frac{1}{2}$  g Chloraluminium und 4 g Chlorcalcium in 100 ccm 70%igen Alkohols warm oder kalt und filtrirt nach dem Absetzenlassen. Hellroth, besonders gut zum Durchfärben, kommt dem Grenacherschen Boraxkarmin ziemlich nahe.

Die Objekte dürfen nicht alkalisch reagiren oder viel Kalk (Spicula, Skelette) enthalten, der zu Niederschlägen Veranlassung geben würde. In der Regel färbt sich das Plasma etwas mit, aber das ist für Objekte, die geschnitten werden sollen, oder für Schnitte meist vortheilhaft, also wäscht man einfach mit Alkohol von 70% aus. Sollen aber die Objekte ungeschnitten in Balsam kommen, oder braucht man eine präzise Kernfärbung, so setzt man zum Waschalkohol ein wenig Chloraluminium oder 2—3% Essigsäure. Färbt man große Thiere mit umfangreichen Höhlungen, z. B. Salpen, so verdünnt man am besten das Parakarmin stark mit 70%igem Alkohol, säuert es aber ein wenig an, da sonst leicht etwas Farbstoff ausfällt. — Das Parakarmin gibt keine so feurigen Tinktionen wie das Boraxkarmin, ist aber den Geweben weniger schädlich, dringt besser durch, bildet in den Objekten nicht so leicht Niederschläge und hält sich Jahrzehnte lang klar.

An Stelle des hygroskopischen Chlorcalciums kann man Chlorstrontium nehmen; das Gemisch färbt ebenso gut wie das eigentliche P., eher etwas distinkter, aber nicht so lebhaft roth. Es scheint auch sehr haltbar zu sein.

**236. Salzsäurekarmin.** Die älteste Vorschrift (GRENACHER in: Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 468) ist nicht leicht zu befolgen und nicht präzise genug; die von MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 4. Bd. 1883 p. 521: Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 43) ist genauer und einfacher: 4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser und 30 Tropfen Salzsäure durch Kochen gelöst; man fügt 95 ccm Alkohol von 85% hinzu, filtrirt heiß, neutralisirt mit Ammoniak, bis ein bleibender Niederschlag gerade entstehen will, und filtrirt nach dem Erkalten eventuell nochmals. Zum Auswaschen der Objekte dient Alkohol von 80—90%, und wenn man reine Kernfärbung haben will, so muß er mit Salzsäure versetzt sein; auch die Lösung darf man nur mit starkem Alkohol verdünnen.

Die Vorschrift von LÖWENTHAL (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 56) ist arg umständlich und hat mir (MAYER) keine guten Resultate geliefert.



**237. Cochenilletinktur.** MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 14) läßt pulverisirte Cochenille mehrere Tage lang mit dem 8 bis 10fachen an Alkohol von 70 % in Berührung, schüttelt öfter um und filtrirt die klare Tinktur ab. (Enthält das Filtrirpapier viel Kalk, so fallen später Flocken von Calciumkarminat aus.)

Die Objekte bringt man vorher in Alkohol von 70 % und wäscht sie nachher mit ebenso starkem Alkohol (warmer wäscht rascher als kalter) aus. Überfärbung ist selten und läßt sich leicht durch etwas sauren Alkohol (mit  $\frac{1}{10}$  % Salzsäure oder 1 % Essigsäure) korrigiren. Kleine Objekte sowie Schnitte färben sich in einigen Minuten durch, große brauchen Stunden oder gar Tage. Die Farbe geht fast nur an die Kerne, wechselt aber nach der Reaktion der Gewebe und der An- oder Abwesenheit von Salzen darin (s. oben § 219). Crustaceen mit dickem Chitin werden in der Regel roth, die meisten anderen Thiere blau. Oft färben sich in demselben Objekte die Gewebe verschieden. Die besten Resultate liefern Objekte, die mit Chrom- oder Pikringemischen oder Alkohol fixirt sind; die mit Osmium müssen vorher gebleicht (§ 560) werden. Sind die Objekte noch sauer, so wird die Färbung diffus. In Nelkenöl oder Balsam ist sie haltbar.

In Folge ihres leichten Eindringens in die Tiefe kann die Cochenilletinktur da brauchbar sein, wo chitinige Membranen den wässerigen Karmingemischen hinderlich sein würden. Da sie keine freie Säure enthält, so kann sie auch bei Objekten mit Kalknadeln etc., die nicht zerstört werden dürfen, z. B. Pluteuslarven, dienen. Aber ihre Anwendung ist sehr beschränkt, denn für wirklich gute Färbungen ist ja die Gegenwart geeigneter Salze in den Geweben nothwendig (s. § 219).

Wie bei der Alauncochenille, so hängt auch bei dieser Tinktur sehr viel von der Güte der Cochenille ab.

**Neue Cochenilletinktur** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1892 p. 498): 5 g Cochenille, 5 g Chlorecalcium,  $\frac{1}{2}$  g Chloraluminium, 8 Tropfen Salpetersäure (von 1,20 spez. Gew.), 100 ccm Alkohol (von 50 %). Die fein pulverisirte Cochenille wird mit den Salzen gut gemischt, mit dem Alkohol und der Säure versetzt, das Ganze bis zum Kochen erhitzt, einige Tage unter häufigem Umschütteln kalt stehen gelassen und filtrirt.

Im Gegensatz zu der alten Tinktur enthält diese die Salze zur Hervorbringung einer elektiven Färbung, ist also allgemein brauchbar. (S. oben § 219.) Anwendung wie bei der alten Tinktur, nur wird stets Alkohol von 50 % statt des 70 %igen genommen. Sie färbt ähnlich wie Parakarmin, nur nicht so stark und präzise; Mayer empfiehlt sie daher nur als einen Ersatz für dieses.



## 12. Kapitel.

**Färben mit Hämatoxylin- oder Hämatein-  
gemischen.**

**238. Theorie des Färbens mit Hämatoxylingemischen.** Wie MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 170) zeigt, ist das wirk-  
same Prinzip in den sogenannten Hämatoxylinen der Histologen  
nicht Hämatoxylin, sondern Hämatein, und dieses entsteht aus jenem  
durch die „Reifung“, d. h. durch Oxydation. Bevor also derartige Ge-  
mische reif sind, taugen sie nicht zum Färben. Früher hat man sie  
einfach durch Stehen an der Luft „reifen“ lassen; kräftige Oxydationsmittel  
hingegen (z. B. Wasserstoffhyperoxyd; s. auch UNNA in: Zeit. Wiss. Mikr.  
10. Bd. 1892 p. 483) verwandeln die farblose Lösung des Hämatoxylins  
augenblicklich in die braune des Hämateins. (S. auch § 248.)

Aber auch das Hämatein allein färbt nicht gut, sondern verleiht  
im Allgemeinen den Objekten nur einen hellbraunen Ton, gerade wie  
die Karminsäure (s. § 218) allein ebenfalls nur diffus und schwach  
tingirt; es muß noch eine Basis dazu kommen: entweder Eisen, Chrom,  
Kupfer etc. (s. § 256) oder Aluminium. So enthalten alle sogenannten  
Hämatoxyline Alaun oder ein anderes Thonerdesalz, und nach Mayer  
kommt die Färbung dadurch zu Stande, daß sich in den Geweben (be-  
sonders den Kernen) die in Wasser, Alkohol etc. unlösliche Hämatein-  
Thonerde niederschlägt.

Die gewöhnliche Redeweise, man färbe mit Hämatoxylin, ist ungenau; es muß  
heißen, man färbe mit Hämateinthonerde; oder man sollte wenigstens angeben,  
welches Gemisch man benutzt, also z. B.: gefärbt mit Hämatoxylin nach Böhmer,  
mit Hämatein IA von Apáthy, mit Hämatoxylin nach Ehrlich usw. Mayer  
hat deswegen für sein Gemisch von Hämatein, Alaun und Wasser den kurzen  
Ausdruck Hämalaun eingeführt und ferner (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 313)  
gezeigt, daß der Hauptbestandteil des Chromatins der Kerne, die Nucleinsäure,  
sich mit Hämatein allein nicht färbt, dagegen aus Alaun Thonerde und aus  
Hämalaun Hämateinthonerde an sich bindet.



Die Reifung der gewöhnlichen Hämatoxylingemische, die also neben dem Hämatoxylin hauptsächlich ein Thonerdesalz enthalten und frisch bereitet in der Regel farblos sind, dauert an der Luft meist Monate lang. (Nimmt man statt des Hämatoxylins das Hämatein, so sind sie sofort zum Gebrauche fertig.) Auch oxydirt sich nicht sogleich alles Hämatoxylin, zugleich aber schreitet die Oxydation langsam, jedoch unaufhörlich fort und verwandelt das Hämatein in Körper, die nicht mehr färben. So sind die gewöhnlichen Hämatoxylingemische inkonstante Gemenge von unreifen, reifen und überreifen Bestandtheilen, daher in ihrer Wirkung häufig unberechenbar. Endlich aber ändert sich im Laufe der Zeit in den Gemischen, die Alaun enthalten, die Reaktion gegen Lakmuspapier: sie werden weniger sauer und färben dann manchmal anders als zu Beginn (s. unten § 787).

Obwohl sich die sogenannten Hämatoxyline viel rascher und sicherer mit Hämatein bereiten lassen, so kann man doch in einer für die Praxis ziemlich ausreichenden Weise vom Hämatoxylin ausgehen, indem man dieses in alkoholischer Lösung vorrätig hält (nach Böhmer, s. § 249, oder nach Apáthy, s. § 252). Solche Lösungen enthalten bereits nach einigen Wochen ziemlich viel Hämatein und können dann in entsprechender Proportion statt des festen Hämatoxylins oder Hämateins verwandt werden.

Bisher war nur von den Gemischen die Rede, die zwar schlechthin Hämatoxyline genannt werden, aber auch Aluminium als Basis enthalten und beide Stoffe gleichzeitig auf die Objekte einwirken lassen. Wird dagegen als Basis Eisen, Kupfer, Chrom etc. benutzt, so bringt man in der Regel mit dem Objekt zuerst die Basis in Berührung, dann die Lösung von Hämatoxylin (seltener Hämatein), und hierbei entsteht im Objekte ein Farbsalz (Lack), worin das Hämatoxylin wohl immer noch höher oxydirt ist als zu Hämatein.

Bei dieser Art von Färbung, die meist zu speziellen Zwecken dient, ist im Namen meist auch die Basis angegeben, z. B. Färbung mit Eisenhämatoxylin. — Nach HANSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 64) bildet Hämatein die „für die respektiven Metalle blauesten Lacke“; mit zunehmender Oxydation werden diese violett, schwarzblau, schwarz, zuletzt (wie bekannt) bräunlich.

**239. Blauholz** (Blut- oder Campecheholz). Es ist das Kernholz der in Mittelamerika heimischen Leguminose *Haematoxylon campechianum*. Frisch ist es farblos, „fermentirt“ oder „gereift“ dunkel, da in ihm das Hämatoxylin bereits zum Theil in Hämatein umgewandelt ist. Die Abkochung des gereiften Holzes enthält beide Stoffe, das Blauholzextrakt im Wesentlichen Hämatein.

Bevor man das Hämatoxylin kannte, wurde namentlich in England zum Färben das Holz (Logwood) oder das käufliche Extrakt unter Zugabe von Alaun verwandt. Sogar jetzt noch werden beide überflüssiger Weise hie und da



empfohlen, zum Theil wegen der Billigkeit, aber auch weil man zu glauben scheint, das Tannin des Holzes wirke beim Färben mit.

**240. Hämatoxylin.** Das Hämatoxylin ( $C_{16} H_{14} O_6$ ) wird aus dem Blauholz durch Ausziehen mit wasserhaltigem Äther gewonnen und bildet farblose, meist aber durch Oxydation außen etwas braune Kristalle mit 1 oder 3 Molekülen Kristallwasser, die süß schmecken und sich in Wasser, Glycerin und Alkohol ziemlich leicht lösen. (In den Lösungen wird, besonders bei Gegenwart eines Alkalis, das H. schon an der Luft zu Hämatein oder noch höheren Oxydationstufen.) Es ist nicht flüchtig, verhält sich wie eine schwache Säure und bildet Salze, die begierig Sauerstoff aufnehmen und zu Hämateaten werden. Zum Färben taugt es allein nur ganz selten (s. § 241 und MAYER in: Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 198), vielmehr muß stets eine Basis entweder 1) im Objekt bereits vorhanden sein oder 2) durch eine Beize hineingebracht oder 3) dem Gewebe zugleich mit dem Hämatoxylin dargeboten werden. Die Salze aber, die hierbei entstehen, die sogenannten Farblacke, enthalten nie das Hämatoxylin selber, sondern wenigstens das Hämatein oder noch höhere, nicht genau bekannte Oxydationstufen.

**241. Hämatein.** Das Hämatein ( $C_{16} H_{12} O_6$ ) soll braunrothe Kristalle mit Metallglanz bilden, ist aber im Handel nur als braunes Pulver zu haben. Aus dem Hämatoxylin (§ 240) entsteht es durch vorsichtige Oxydation mit Salpetersäure etc. (s. auch § 248) oder durch Stehenlassen einer Lösung an der Luft. Es ist schwer löslich in Wasser, leichter in Alkohol, Essigsäure, Äther, besonders leicht und mit violetter Farbe in Alkalien, unlöslich in Chloroform und Benzol. Alte Lösungen verderben durch Oxydation.

Für die Bedürfnisse des Mikrotechnikers genügt an Stelle des reinen Hämateins meist eine alte Lösung von Hämatoxylin in Alkohol (s. oben p. 159), besser aber noch das leicht lösliche Hämatein-Ammoniak (§ 242).

MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 409) löst 1 g Hämatoxylin in etwa 10 ccm destill. Wasser durch Kochen, setzt die heiße Lösung von 0,2 g Natriumjodat ( $Na JO_3$ ) in 2 ccm Wasser hinzu, rührt oder schüttelt das Gemisch gut um, kühlt es rasch ab, bringt den Brei von Hämatein auf ein Filter, wäscht ihn mit kaltem Wasser, um das Na J zu entfernen, und trocknet ihn bei mäßiger Wärme.

KISHI (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 174) bringt Schnitte durch das innere Ohr von Säugern auf 24—40 Stunden in 1%ige Lösung von Hämatein in 70%igem Alkohol, dann auf kurze Zeit in destillirtes, auf längere in gewöhnliches Wasser, schließlich durch Alkohol in Balsam. Offenbar wirken die Salze des Wassers hierbei als Basen. — REICHERT (Centralbl. Bakt. 51. Bd. Orig. 1909 p. 14) färbt die Geißeln der Bakterien in Hämatoxylin (oder Brasilin), das er vorher durch langes Kochen mit  $H_2O_2$  oxydirt hat, und untersucht die Präparate in der Lösung, da die Färbung nicht haltbar ist. — Über die Färbung



eines in Formol fixirten Rückenmarkes mit reinem Hämatoxylin s. RÖTHIG (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 316).

**242. Hämatein-Ammoniak.** Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 172) löst man 1 g Hämatoxylin durch Erwärmen in 20 ccm destill. Wasser, filtrirt, wenn nöthig, gibt 1 ccm Ammoniak (von 0.875 spez. Gew.) hinzu und gießt die Flüssigkeit in eine Schale, die so geräumig ist, daß jene darin nicht höher als  $\frac{1}{2}$  cm steht. Man läßt dann an einem staubfreien Orte das Wasser und Ammoniak verdunsten und kratzt mit einem Stabe oder Spatel aus Glas, Porzellan oder Platin den Rückstand (etwa 1 g) von der Schale los. Beschleunigung der Operation durch Abdampfen in der Wärme liefert Nebenprodukte, die in Alkohol unlöslich sind. — Das Produkt fällt nicht ganz constant aus und enthält wohl noch Stufen zwischen dem Hämatein und Hämatoxylin. Es muß sich leicht in Wasser oder Alkohol lösen, und die Lösung darf bei Zusatz von Essigsäure nicht merklich trübe werden, sonst ist die Oxydation zu weit gegangen.

**243. Allgemeine Bemerkungen.** Die Hämatoxylin- und Hämatein-gemische gewähren vor den Theerfarbstoffen und Karmingemischen den Vortheil, daß sie auch Objekte, die mit Osmium- oder Chromgemischen fixirt sind, relativ gut färben und überhaupt stärker tingiren als die Karmingemische. Je nach der Art ihrer Anwendung liefern sie reine Kern- oder auch Plasmafärbungen, indessen kommen von letzteren die meisten nicht durch die Verbindung mit Thonerde, sondern mit Eisen, Chrom etc. zu Stande. Genaueres in § 256 ff. und 695 ff.

#### A. Verbindungen des Hämateins mit Thonerde.

**244. Allgemeines über die Färbungen mit Hämatein-Thonerde (fälschlich: mit Hämatoxylin).** Nur selten werden das Hämatein und die Thonerde den Geweben nacheinander zugeführt (s. § 245), sondern ihnen meist in einer und derselben Lösung dargeboten. Je nach der Zusammensetzung des Färbgemisches fallen die Färbungen in verschiedenen Tönen von Blau bis Roth aus: neutrale Gemische tingiren mehr blau, saure mehr roth. Gewöhnlich verleiht man den Geweben, die aus einem sauren Gemische kommen, einen blauen Ton durch Auswaschen mit Brunnen- oder Leitungswasser, das etwas alkalisch reagirt, oder durch einen Zusatz von Ammoniak, Natriumbicarbonat, Kalium- oder Natriumacetat (1:200 bis 1:100) zum Waschwasser oder (später zum Alkohol).

Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 179) handelt es sich hierbei nicht um ein einfaches Neutralisiren der Gewebe, denn die genannten Acetate schlagen selbst bei Gegenwart von freier Essigsäure den Farb-



stoff blau nieder; vielmehr fällt das Ammoniak etc. die Thonerde aus, und diese reißt das Hämatein mit nieder. — FISCHER (Fixirung p. 156) versucht für diese Vorgänge eine komplizirtere Erklärung.

Einige Hämateingemische, die relativ zu viel Hämatein enthalten, haben eine Neigung zum Überfärben. Man zieht das Zuviel durch Auswaschen mit Alaunlösung, leichter mit ganz schwachen Säuren (Salzsäure von  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{5}$  oder  $\frac{1}{2}$  %, Oxalsäure oder Weinsteinsäure) aus, muß jedoch die Säure gründlich wieder entfernen, entweder durch viel reines Wasser oder besser durch Alkohol mit Ammoniak oder Natriumbicarbonat ( $\frac{1}{10}$  %). Am besten aber vermeidet man die Überfärbung, indem man die Objekte nicht zu lange in den Färbgemischen läßt. — Sehr schwache Gemische überfärben nicht leicht, geben aber keine reine Kernfärbung, wenigstens nicht, wenn man das starke Färbgemisch nur mit Wasser verdünnt. Will man also reine Kernfärbung haben, so muß man entweder ein richtig zusammengesetztes starkes Gemisch nehmen oder es mit einer Alaunlösung verdünnen oder es bei der Verdünnung mit Wasser etwas ansäuern. Enthält aber ein Gemisch viel Glycerin und nicht zugleich Säure, so liefert es nie eine reine Kernfärbung. Manche Forscher ziehen der letzteren eine Färbung sämtlicher Theile der Zelle, natürlich in verschiedenen Tönen von Violett und Blau, vor, während andere das Plasma lieber mit Eosin etc. besonders tingiren.

Die Farbe hält sich in Balsam, bleicht aber gern etwas und unter Umständen sogar stark aus, besonders am Rande des Deckglases. Man darf nie Balsam nehmen, der mit Terpentinöl verdünnt ist (s. auch § 245). In Glycerin hält sich die Farbe nach älteren Angaben nicht zuverlässig, während Mayer wenigstens für einige Monate das Gegentheil garantirt.

**Konstante Gemische.** UNNA (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1892 p. 483) will durch Zusatz eines reduzierenden Mittels (z. B. Schwefel) zu einem bereits reifen Gemische dieses konstant machen. MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 309) findet dies aber nicht praktisch und empfiehlt seinerseits das Glychämalaun (§ 247). Ziemlich unveränderliche Gemische sind das von Ehrlich (§ 251) und von Apáthy (§ 252).

**245. Hämalaun.** MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 410) löst 1 g Hämatoxylin in 1 Liter dest. Wasser, gibt 0,2 g Natriumjodat ( $\text{NaJO}_3$ ) und 50 g Alaun hinzu und läßt beide Salze sich unter Umschütteln bei gewöhnlicher Temperatur lösen.

Das hierbei entstandene Jodnatrium (0,15 g; im Original fälschlich 1,5 g!) hat auf die Tinctionen keinen Einfluß.



Nach der ursprünglichen Vorschrift von MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 172) wird 1 g Hämäteïn (oder Hämäteïn-Ammoniak) durch Erwärmen in 50 ccm Alkohol von 90% gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1000 ccm destillirten Wassers gegossen. Nach dem Erkalten wird eventuell filtrirt. (Man kann auch das Häm. statt in Alkohol durch Zerreiben im Mörser mit etwas Glycerin lösen.)

Das Hämalaun ist sofort zum Gebrauch bereit. Mit der Zeit bildet es, besonders in Flaschen von leicht zersetzbarem Glase, auf dem Boden, an den Wänden und der Oberfläche Niederschläge; man schöpft daher am besten mitten aus der Flasche mit einer Pipette und wischt diese, bevor man das Hämalaun aus ihr herausfließen läßt, außen gut ab (s. auch § 246). Es färbt Schnitte manchmal fast augenblicklich, jedenfalls aber in sehr kurzer Zeit, und eignet sich auch vorzüglich zum Durchfärben; dies kann allerdings 24—48 Stunden dauern, und das Auswaschen ebenso lange. In der Regel resultirt in den Schnitten eine reine Kernfärbung, jedenfalls läßt sie sich durch Auswaschen mit Alaunwasser (1—5%iger Lösung von Alaun) erzielen; dies gilt auch vom Durchfärben. Man muß aber den Alaun (des Hämalauns oder des Alaunwassers) gut auswaschen, da er sich sonst im Balsam als Kristalle bemerkbar macht, und wendet mit Vortheil nach dem destillirten Wasser Leitungswasser oder ein anderes Mittel zum Bläuen der Farbe (s. oben p. 161) an. Auch zum Verdünnen des Hämalauns nimmt man am besten Alaunwasser, nie Leitungswasser. — Beim Überführen der gefärbten Objekte in Balsam (oder Paraffin etc.) vermeide man Bergamott- und Nelkenöl und verwende Chloroform, Xylol oder Benzol; auch der Balsam sei in einem dieser 3 Stoffe gelöst (s. § 416 u. 417).

Hämalaun läßt sich zu Doppelfärbungen mit Säurefuchsin, Indigkarmin etc. mischen, besser noch färbt man aber mit diesen Stoffen nachher besonders. — S. auch § 251.

Gerade wie bei dem sogenannten Böhmerschen Hämatoxylin (§ 249) braucht man sich beim Hämalaun nicht ganz genau an die obigen Proportionen zu halten, sondern kann es extemporiren, indem man einer Alaunlösung von gewünschter Stärke einige Tropfen einer Lösung von Hämäteïn in Alkohol oder Glycerin hinzufügt. Oder man behandelt die Objekte nacheinander mit wässriger Lösung von Hämatoxylin und von Alaun (NISSEN in: Arch. Mikr. Anat. 26. Bd. 1886 p. 338; KOSTANECKI & WIERZEJSKI, ibid. 47. Bd. 1896 p. 314, und manche Andere), oder auch umgekehrt, und erhält je nach den Umständen nur die Kerne oder auch das Plasma gefärbt. — S. auch unten § 819 (DUBOSCQ). — MARCEAU (Bibl. Anat. Paris Tome 10 1902 p. 16) verstärkt die Stückfärbung mit Hämalaun durch mehrstündiges Baden der Schnitte in 1%iger Lösung von Kupferacetat.



**246. Saures Häkalaun** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 174 Anm.): Häkalaun mit 2 % Eisessig. Anwendung wie oben, Auswaschen mit Leitungswasser zur Bläuung der Farbe erforderlich. Färbt noch präziser als das Häkalaun und hält sich länger. — Neuerdings setzt MAYER dem nach der neuen Vorschrift bereiteten Häkalaun (s. oben p. 162) auf jedes Liter 50 g Chloralhydrat und 1 g Citronensäure zu. Dieses Gemisch bleibt noch länger gut.

**247. Glychäkalaun** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 310). Man zerreibt 0,4 g Hämatein (oder Hämatein-Ammoniak) mit einigen Tropfen Glycerin und setzt dazu eine Lösung von 5 g Alaun in 30 ccm Glycerin und 70 ccm. destill. Wassers. Eventuell zu filtriren. Hält sich einige Jahre lang (etwas Alaun kann auskristallisiren), wirkt ziemlich rasch und sehr stark, gibt aber keine scharfe Kernfärbung; will man diese, so muß man wenigstens mit Alaunwasser, mitunter sogar mit schwacher Säure auswaschen. — RAWITZ (Leitfaden 2. Aufl. p. 63) nimmt 1 g Hämatein, 6 g Ammoniakalaun, je 200 ccm Wasser und Glycerin, also relativ wenig Alaun. Die Hämatein-Thonerde wird hier durch das viele Glycerin in Lösung gehalten. — Nitrohämatein nach RAWITZ (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 391): 1 g Hämat., 10 g Aluminiumnitrat, Wasser und Glycerin je 250 ccm. Nur für Schnitte. Ich (MAYER) finde, es färbt viel schwächer als Häkalaun.

**248. Gemische ähnlich dem Häkalaun.** Über die Methode von HANSEN (Z. Anz. 18. Jahrg. 1895 p. 158) zur Oxydation des Hämatoxylin durch Kaliumhyperpermanganat, die von HARRIS (Micr. Bull. Philadelphia Vol. 15 1898 p. 47; Journ. Appl. Micr. Vol. 3 1900 p. 777) mit Quecksilberoxyd und die Versuche von MAYER mit Hypersulfaten s. p. 171 der zweiten Auflage dieses Buches. S. ferner MANN (Methods p. 239) und HANSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 81). Über die Gemische von Burchardt (sogenannte Holzessigfarben) s. oben § 225.

Eine Menge veralteter Formeln zur Bereitung von „Hämatoxylinen“, d. h. Gemischen, die Hämatein und ein Thonerdesalz enthalten, findet man in den früheren englischen Auflagen dieses Buches.

**249. Böhmers Alaunhämatoxylin.** BÖHMER (Arch. Mikr. Anat. 4. Bd. 1868 p. 345; \*Ärzt. Intelligenzbl. Baiern 1865 p. 549) setzt zu einem Uhrglase voll Alaunlösung (1:240 Wasser) einige Tropfen einer braun gewordenen Hämatoxylinlösung (1:12 absol. Alkohol). Nur noch von historischem Interesse als das älteste Gemisch dieser Art. — B. wäscht die Schnitte mit einer Lösung von Weinsteinsäure in Alkohol aus und schließt sie in Rizinusöl oder Glycerin ein. Er hat auch schon beobachtet, daß die mit Chromgemischen oder Kupfervitriol behandelten Objekte sich mit Hämatoxylin allein (in Wasser gelöst) färben, allerdings weniger distinkt als bei Gegenwart von Alaun.

**250. Delafields Alaunhämatoxylin** (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 288), fälschlich nach Grenacher oder Prudden benannt. Zu 400 ccm gesättigter Lösung von Ammoniakalaun (1 Theil löst sich in etwa 11 Theilen



Wasser) setzt man die Lösung von 4 g Hämatoxylin in 25 ccm starken Alkohols und läßt das Gemisch in einer offenen Flasche 3—4 Tage stehen. Dann filtrirt man, gibt je 100 ccm Glycerin und Methylalkohol hinzu, filtrirt wieder und läßt das Gemisch so lange offen stehen, bis es dunkel genug geworden ist. Es hält sich nicht lange unzersetzt. Zum Färben verdünnt man es mit viel Wasser, läßt aber die Objekte, da es sehr stark färbt, nicht lange darin. — BÜTSCHLI (Untersuch. Mikr. Schäume Leipzig 1892 p. 80) empfiehlt als saures Hämatoxylin eine sehr starke Verdünnung des obigen Gemisches mit so viel Essigsäure, daß sie entschieden roth ist: sie färbt dann die Kerne schärfer.

Dieses berühmte Gemisch taxire ich (MAYER) für das am wenigsten rationelle aller Alaunhämatoxyline: es enthält viel zu viel Hämatoxylin, keine freie Säure, überfärbt daher und macht das Ausziehen der Objekte mit Säure nothwendig. S. dagegen Ehrlichs Gemisch (§ 251)!

**251. Ehrlichs Alaunhämatoxylin.** EHRLICH (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 150) läßt das Gemisch von 2 g Hämatoxylin, 100 ccm absoluten Alkohols, 10 ccm Eisessig, 100 ccm Glycerin, 100 ccm Wasser und Alaun im Überschuß (es lösen sich höchstens 3 g; MAYER) in einer offenen Flasche dunkelroth werden. Es hält sich, gut verschlossen, Jahre lang unverändert („Ehrlich währt am längsten“). Schnitte färbt es sehr rasch, soll auch Stücke gut durchfärben und nicht überfärben. Von allen älteren Gemischen gibt dieses die schärfste Kernfärbung. Ähnlich ist das Gemisch von Friedländer, enthält aber keine Säure. — MANN (Methods p. 239) nimmt statt des Hämatoxylin  $\frac{1}{2}$ —2 g Hämatein und von Alaun 10 g.

EHRLICH & LAZARUS (Anämie I. Abth. Wien 1898 p. 28) lösen zu Doppelfärbungen von vorne herein  $\frac{1}{2}$  g Eosin darin auf. Ähnlich ist das Gemisch von EVERARD, DEMOOR & MASSART (Ann. Inst. Pasteur Tome 7 1893 p. 166), enthält aber keine Essigsäure. — Über RENAULTS Gemisch s. Fol, Lehrbuch p. 196.

**252. Hämateinlösung I. A.** APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 712) mischt gleiche Theile Glycerin, 9%iger Alaunlösung (9% Alaun, 3% Eisessig und  $\frac{1}{10}$ % Salicylsäure in destill. Wasser gelöst) und 1%iger Hämateintinktur. (Diese ist die 1%ige Lösung von Hämatoxylin in 70%igem Alkohol, die in nicht ganz voller Flasche bei gewöhnlicher Temperatur etwa 6—8 Wochen lang gestanden hat, daher eine ziemliche Menge Hämatein enthält.) Tinktur und Hämateinlösung I. A. halten sich Jahre lang. (In Neapel ist jene schon nach Jahresfrist zum Theil überoxydirt.) Apáthy benutzt seine Hämateinlösung zur Färbung der nervösen Primitivfibrillen; schon daraus geht hervor, daß sie nicht nur die Kerne färbt. Sie eignet sich für Schnitte und zum Durchfärben.

**253. Hämacalcium** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 182): je 1 g Hämatein (oder Hämatein-Ammoniak) und Chloraluminium, 50 g Chlorcalcium, 10 ccm Eisessig, 600 ccm Alkohol von



70 %. Man reibt die beiden ersten Stoffe fein, löst sie in der Säure und dem Alkohol heiß oder kalt und setzt zuletzt das Chlorecalcium hinzu.

Das Gemisch ist rothviolett; färbt es zu roth, so wäscht man mit 2%iger Lösung von Chloraluminium in 70%igem Alkohol oder  $\frac{1}{2}$ —1%iger Lösung von Kaliumacetat in absolutem Alkohol aus; gewöhnlich aber werden die Objekte schon im neutralen Alkohol violett oder blau.

Die Objekte dürfen vor dem Färben nicht alkalisch reagiren; wird hierauf geachtet, so ist das Ausziehen der Farbe mit saurem Alkohol nicht nöthig. Dringt das Hämacalcium nicht gut ein, so muß man es ansäuern oder besser die Objekte vor dem Färben einige Zeit in angesäuerten Alkohol legen; oder man setzt  $\frac{1}{3}$  des Volumens an Glycerin zu oder erhöht die Menge des Aluminiumchlorids (bis auf das 8fache). So gut wie Hämalan färbt es nie; überhaupt färbt nach Mayer kein alkoholisches Hämateingemisch so distinkt wie die wässerigen. Er empfiehlt das Hämacalcium nur als Ersatz des Kleinenbergschen Gemisches (§ 255) und nur für Objekte, die keine wässerigen Färbelösungen vertragen, wenn sie einmal in Alkohol gewesen sind. S. auch § 618 (EISIG).

Statt des Hämateins kann man die gleiche Menge Hämatoxylin nehmen, die man nach HARRIS durch Quecksilberoxyd (s. oben § 248) oder nach MAYER durch Natriumjodat (§ 245) oxydirt.

Das Hämacalcium setzt schon nach einigen Monaten stark ab. Dieser Übelstand haftet dem Hämastrontium (s. folgenden §) nicht an.

**254. Hämastrontium.** Dieses wird dem Hämacalcium analog bereitet: auf 600 cem Alkohol von 70 % kommen je 1 g Hämatein und Chloraluminium, ferner 50 g Chlorstrontium, aber keine Essigsäure, eventuell 0,25 g Citronensäure. Es hält sich Jahre lang unzersetzt. Anwendung wie die des Hämacalciums.

**255. Kleinenbergs Hämatoxylingemisch** (Foster & Balfour, Elements of Embryology 1874 p. 248; Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 19 1879 p. 208). Wenig rationell und konstant in Zusammensetzung und Wirkung; s. die Kritik von MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 174) und SQUIRE (Methods p. 25), ferner die Formeln von Squire (l. c.) und WISTINGHAUSEN (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 41).

## B. Andere Verbindungen des Hämateins oder Hämatoxylin.

**256. Allgemeines.** Für die Mikrotechnik kommen von den Verbindungen des Hämateins außer mit Aluminium ernstlich nur die mit Eisen, Kupfer und Chrom in Betracht. Von diesen sollen die zur Untersuchung der Nerven (nach Weigert etc.) dort besprochen werden, hier dagegen nur die von allgemeiner Anwendbarkeit.

In der Regel geht man vom Hämatoxylin aus; mit Recht, denn es oxydirt sich (s. MAYER in: Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 318) in



Kontakt mit den Lösungen von Eisen etc. noch über die Stufe des Hämateins hinaus. Fast alle Methoden basiren auf der adjektiven Färbung (s. oben § 210), und meist dient als Beize eins der genannten Metallsalze, jedoch in den Verfahren mit Chromaten meist das Hämatoxylin. — S. auch BENDA (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1900 p. 174) über die „complicirten und vieldeutigen Beizlackverfahren“ sowie oben § 249 (BÖHMER) und § 241 (KISHI).

HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 199) hat Magnesium, Strontium etc. und viele Schwermetalle als Basis ohne Erfolg versucht. — HANSEN (ibid. 22. Bd. 1905 p. 45 ff.) studirte das Verhalten mehrerer Oxydationsstufen des Hämatoxylin gegen Eisen, Chrom und Mangan. Zur Umwandlung von 1 g Hämatoxylin in Hämatein braucht man 2,71 g Eisenalaun; verwendet man die doppelte, dreifache etc. Menge, so erhält man Dioxy-, Trioxy- etc. Hämatein. Dies sind aber keine chemisch gut charakterisirten Körper. Hansens Vorschriften sind theoretisch sehr interessant, für die Praxis aber wohl zu umständlich.

a) Eisenhämatein (ibid. p. 55). Die Lösung von 10 g Eisenalaun in 150 ccm Wasser wird in die von 1,6 g Hämatoxylin in 75 ccm Wasser gegossen, das Gemisch bis zum Kochen erhitzt und unter Luftabschluß erkalten lassen. (Soll das durch Reduktion entstandene Ferrosulfat gelöst bleiben, so setzt man 1,40 g Ammonsulfat zu). Die dunkelbraune Flüssigkeit enthält den größten Theil des „Ferrotrioxyhämateins“ in Lösung, bleibt einige Monate gut, muß aber stets vor dem Gebrauche filtrirt werden. Reine Kernfärbung ist nur durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure erzielbar.

b) Chromhämateine (ibid. p. 64). 10 g Chromalaun werden mit 250 ccm Wasser so lange gekocht, bis die Lösung grün ist, dann mit 1 g Hämatoxylin, in 10—15 ccm Wasser heiß gelöst, versetzt; dem erkalteten Gemisch werden erst etwa 5 ccm 10 %iger Schwefelsäure, dann tropfenweise die Lösung von 0,55 g Kaliumbichromat in 20 ccm Wasser hinzugefügt. Vor dem Gebrauch stets zu filtriren; soll eine ganz präzise Kernfärbung, stärker als mit Hämalaun, geben. Auch hier muß das Wasser zum Auswaschen luftfrei sein. — PETERSEN (Anat. Hefte 1. Abth. 34. Bd. 1907 p. 275) rühmt das Gemisch sehr; es sei 5 Monate lang unverändert geblieben. Ich (MAYER) kann nicht so günstig darüber urtheilen.

Über Doppelhämateate s. HAACK (Chem. Centralbl. 1906 1. Bd. p. 620).

**257. Hämatoxylin-Chrom** nach R. HEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 27. Bd. 1886 p. 383). Man legt die Objekte 12—24 Stunden lang in  $\frac{1}{3}$  %ige Lösung von Hämatoxylin in destillirtem Wasser, bringt sie auf die gleiche Zeit in  $\frac{1}{2}$  %ige Lösung von Kaliummonochromat, die man nach Bedarf mehrere Male erneuert, und wäscht den Überschuß des Chromates mit Wasser aus. Am besten färben sich die mit Alkohol oder Pikrinsäure fixirten Objekte, aber die mit Chromsäure oder Flemmings Gemisch fixirten färben sich auch, wenn sie gut ausgewaschen sind. Man kann die Objekte nach Belieben durch längeres Belassen im Chromate entfärben. Wäscht man hingegen mit Alaunlösung aus, so erhält man eine blaue Färbung. — M. HEIDENHAIN (Encyclop. 1. Bd. p. 603) verwendet eine schwache Lösung von Kaliumbichromat („wahrscheinlich genügt 0,1 %“).



**258. Hämatoxylin-Chrom** nach APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 7. Bd. 1887 p. 744; etwas anders in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 47). Zu den Lösungen wird nur Alkohol von 70—80% verwandt; die Schnitte gelangen zuerst in 1%iges Hämatoxylin und dann entweder halb so lange (10—15  $\mu$  dicke Schnitte) oder doppelt so lange (25—40  $\mu$ ) in 1%iges Kaliumbichromat, das unmittelbar vor dem Gebrauch durch Vermischen von 5%iger wässriger Lösung mit dem Vierfachen von 80—90%igem Alkohol gemacht und mehrere Male erneuert wird. Gefärbt und ausgewaschen (mit 70%igem Alkohol) wird im Dunkeln.

Ähnlich verfährt PLATNER (Arch. Mikr. Anat. 33. Bd. 1889 p. 126).

Celloidinschnitte behandelt APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 170) 10 Minuten mit der Hämatoxylinlösung, trocknet sie mit Fließpapier ab, um das Celloidin ungefärbt zu erhalten, und bringt sie im Dunkeln auf 5 bis 10 Minuten in Alkohol von 70% plus einigen Tropfen der 5%igen Lösung von Kaliumbichromat.

**259. Hämatoxylin-Chrom** nach SCHULTZE (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 6). Die mit Kaliumbichromat (rein oder im Gemisch mit Säuren etc.) fixierten Gewebe werden im Dunkeln 12—24 Stunden lang mit Alkohol von 50% ausgewaschen und dann wenigstens 12 Stunden lang in  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Hämatoxylin (in 70%igem Alkohol, bei den in Zenkers Gemisch fixierten Objekten in Wasser) durchgefärbt. Eventuell wird nach dem Fixiren, z. B. in Osmiumsäure, erst mit Kaliumbichromat gebeizt. — S. auch § 268 (HENNEGUY) und § 717 (FAJERSZTAJN).

**260. Hämatoxylin-Eisen** nach BENDA (Verh. Anat. Ges. 7. Vers. 1893 p. 161). Die Schnitte von beliebig fixierten Objekten kommen auf 24 Stunden in Liquor ferri sulfurici oxydati Pharm. Germ., verdünnt mit dem Doppelten an Wasser, werden erst mit destillirtem, dann mit gewöhnlichem Wasser gut ausgewaschen, gelangen in 1%ige wässrige Lösung von Hämatoxylin, werden wieder gewaschen und nun differenzirt: in 30%iger Essigsäure, wobei man aber aufpassen muß, oder in schwächerer Essigsäure oder in stark (1:20) verdünntem Liquor ferri sulf. oxyd.

Der Liquor Ferri soll 10% Eisen enthalten. Man geht aber besser von 10%iger wässriger Lösung von Eisenoxydsulfat aus, die sich Jahre lang unverändert hält, und probirt für seine Objekte die passende Stärke der Beize aus (MAYER). — S. auch EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 199).

**261. Hämatoxylin-Eisen** nach HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker Leipzig 1892 p. 118; Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1891 p. 204). Man bringt die Schnitte auf  $\frac{1}{2}$ —3 Stunden in  $1\frac{1}{2}$ —4%ige Lösung von Eisenalaun (schwefelsaurem Eisenoxyd-Ammoniak, in klaren violetten Kristallen; man darf die Lösung nicht erwärmen, s. Arch. Mikr. Anat. 43. Bd. 1894 p. 435), wäscht sie mit Wasser ab, legt sie auf  $\frac{1}{2}$  Stunde



in eine etwa  $\frac{1}{2}$  %ige Lösung von Hämatoxylin, wäscht sie wieder und bringt sie zur Differenzirung von Neuem in die Eisenlösung. Von Zeit zu Zeit werden sie herausgenommen, in Leitungswasser gelegt und unter dem Mikroskop besehen; sind sie gut differenzirt, so wäscht man sie in fließendem Wasser  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde lang und führt sie in Balsam über. Je nach der Länge der Bäder werden die Schnitte blau, und dann sind alle Bestandtheile der Kerne sehr intensiv und hoch differenzirt gefärbt, oder schwarz, und dann sind auch viele andere Bestandtheile der Zelle sehr dunkel gefärbt. — Die Eisenalaunlösung setzt auch im Dunkeln ans Glas stark ab, bleibt aber brauchbar. — Über die Vorfärbung mit Bordeauxroth s. § 632.

Diese Methode differenzirt gleich der von Benda (§ 260) das Plasma und gewährt bei gutem Gelingen so scharfe Bilder der chromatischen Bestandtheile des Kerns, daß diese stärkere Linsen vertragen als bei Färbung mit Hämalaun oder Gentianaviolett. Allerdings muß man in der Deutung der Bilder sehr vorsichtig sein (s. oben p. 139 Boveri und Fischer). Ich (LEE) finde, daß die Färbung nach Benda genau so ausfällt, wie die nach Heidenhain.

Später (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 186) hat HEIDENHAIN etwas andere Anweisungen zum obigen Verfahren, speziell mit Rücksicht auf die Färbung seiner Centralkörper, gegeben. Die Schnitte sollen höchstens  $6\ \mu$  dick sein und mit Wasser aufgeklebt werden. Die Eisenlösung ist  $2\frac{1}{2}$  %ig und soll 6—12 Stunden wirken; statt der frischen Hämatoxylinlösung dient eine wenigstens 4 Wochen alte 1 %ige, die also reichlich Hämatein enthält; in ihr läßt man die Schnitte 24—36 Stunden, differenzirt sie in der Eisenlösung und bringt sie durch die Alkohole und Xylol (ja keine ätherischen Öle!) in Xylolbalsam. Die Präparate müssen sehr sorgfältig gewaschen werden. — GURWITSCH (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1902 p. 291) beizt und färbt die Schnitte heiß, differenzirt sie bei gewöhnlicher Temperatur und braucht so im Ganzen nur 10 Minuten. — BIALASZEWICZ (Bull. Acad. Cracovie 1909 2. Sem. p. 152) wäscht mit ganz schwacher Lösung von Chlorcalcium aus. — SCHOCKAERT (Arch. Biol. Tome 24 1909 p. 283) behandelt die Objekte vor dem Einlegen in Eisenalaun stark mit Jod (in 70 %igem Alkohol).

MAYER (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 318) zeigt, daß zwar im Hämalaun und den analogen Gemischen außer der Thonerde Hämatein vorhanden ist, in dem Heidenhainschen Gemische dagegen eine noch höhere Oxydationstufe des Hämatoxylins. — R. KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 94) setzt der Hämatoxylinlösung 3—5 % 1 %iger Lösung von Kaliumhypermanganat zu, oxydirt also das Hämatoxylin, und färbt mit Rubin S in 90 %igem Alkohol nach (auf 30 ccm 1 Tropfen konzentr. wässriger Lösung). — HELD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. Suppl. 1897 p. 277) setzt der Hämatoxylinlösung von vornherein soviel Eisenalaun zu, daß „kein nennbarer Niederschlag bleibt“.



FRANCOTTE (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1898 p. 200) beizt die Objekte mit Eisentartrat, nimmt aber zum Ausziehen Eisenalaun; MALLORY (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 177) braucht ausschließlich 10%ige Lösung von Eisenchlorid; GUARNIERI (Monit. Z. Ital. Anno 17 1906 p. 44) differenziert die Färbung mit gesättigter Lösung von Pikrinsäure, wäscht gut mit Leitungswasser aus und färbt mit Eosin nach.

PETER (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1898 p. 183) verwendet für die Lösungen nur Alkohol und wäscht auch mit Alkohol aus.

HAEMERS (Bibliogr. Anat. Paris Tome 9 1900 p. 1) imprägniert die Objekte in toto 2—8 Tage lang mit dem Eisenalaun (5%ige Lösung), bringt sie nach flüchtigem Abwaschen auf 4—8 Tage in die 1%ige Hämatoxylinlösung, die er 2 oder 3 mal erneuert, wäscht sie gründlich und bettet sie in Paraffin ein.

Über die Verwendung des Brasilins mit Eisen s. unten § 341.

**262. Hämatoxylin-Eisen** nach BÜTSCHLI (Untersuch. Mikr. Schäume 1892 p. 80; Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 197). Die äußerst dünnen Schnitte von Protozoen kommen nach einander in eine schwache Lösung von Eisenacetat, in Wasser und in  $\frac{1}{2}$ %ige Lösung von Hämatoxylin..

**263. Hämatoxylin-Eisen** nach WEIGERT (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 2). Man schüttet, am besten direkt vor dem Gebrauch, gleiche Raumtheile 1%iger Lösung von Hämatoxylin in 96%igem Alkohol und des Gemisches von 4 ccm Liq. ferri sesquichlorati (Ph. Germ. 4. Ed., enthält 10% Fe), 1 ccm officineller Salzsäure (1,124 p. sp. = 25% HCl) und 95 ccm Wasser zusammen und färbt darin Schnitte einige Minuten lang. (Nachfärbung mit dem Gemisch von 10 ccm 1%iger Lösung von Säurefuchsin und 100 ccm „bei Zimmertemperatur“ gesättigter Lösung von Pikrinsäure. Die Neuroglia wird gelb, das Bindegewebe roth.) — Nach meinen (MAYER) Erfahrungen muß man die Stärke der Eisenlösung und der Säure genau innehalten, und selbst dann färben sich die Kerne nicht schärfer als mit Hämalaun. Auch bleibt die gemischte Färbelösung nur einige Stunden lang brauchbar.

Über eine frühere Vorschrift von WEIGERT und das Hämatoxylin-Eisen von JANSSENS s. p. 178 der zweiten Auflage dieses Buches. — S. auch § 764 (DE WITT).

MOREL & BASSAL (Journ. Anat. Phys. Paris 45. Année 1909 p. 632) färben das in Bichromat plus Formol fixirte Gewebe in toto in einem dem Weigertschen ähnlichen Gemische, das aber etwas Kupferacetat enthält, einige Wochen lang gut bleiben und auch für Schnitte brauchbar sein soll.

**264. Hämatoxylin-Kupfer** nach BENDA (Arch. Mikr. Anat. 30. Bd. 1887 p. 49). Die Schnitte von dem in Flemmings Gemisch fixirten Material kommen erst auf 48 Stunden in konzentrierte Lösung von Kupferacetat, dann nach gutem Auswaschen auf einige Minuten in 1%ige wässrige Lösung von Hämatoxylin. Entfärbt werden sie bis zu hellgelb in  $\frac{1}{5}$ %iger Salzsäure, gelangen dann wieder in die Kupferlösung, wo sie blaugrau werden, werden gewaschen, entwässert und in Balsam eingeschlossen. (S. hierzu PIERSOL in: Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 8 1887 p. 154.) Die Methode soll sich besonders zum Studium der Sper-



matogenese eignen, ist aber jetzt wohl überflüssig. — S. auch oben p. 163 (MARCEAU) und unten § 794 (HARVEY).

**265. Hämatoxylin-Molybdän.** MALLORY (Anat. Anz. 6. Jahrg. 1891 p. 375) färbt die Schnitte in einem alten Gemisch von 1 Theil Hämatoxylin, 6—10 Theilen Chloralhydrat, 1 Theil 10% iger Phosphormolybdänsäure und 100 Theilen Wasser. Hauptsächlich für das Nervensystem. S. auch § 678. — RIBBERT (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 93) wendet die Methode auch für Bindegewebfibrillen an, beizt aber die Schnitte vorher mit der Phosphormolybdänsäure. — Ähnlich PATELLANI (Monit. Z. Ital. Anno 13 1902 p. 6). — S. auch KODIS (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 213: Hämatoxylin 1, Molybdänsäure 1,5 g, Wasser 100 ccm, dazu als Oxydants etwas Quecksilberoxyd oder Wasserstoffhyperoxyd) und GOLOVIN (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 184).

**266. Andere Hämatoxylingemische.** HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 583) behandelt zur Färbung des Zellplasmas seine Objekte in toto mit Hämatoxylin in alkoholischer Lösung und differenzirt dann die Paraffinschnitte nach Pal mit Kaliumhypermanganat etc. (s. § 698); da er aber zur Fixirung sein Platinosmiumgemisch verwendet, so ist nicht klar, welches Metall als Basis für die Färbung dient. Er färbt überdies mit Safranin nach.

GUIGNARD (Ann. Sc. N. Bot. (7) Tome 14 1891 p. 167) beizt Material, das in Alkohol fixirt ist, mit 10% iger Lösung von Zinksulfat und erhält dann mit Hämatoxylin eine Färbung, die sich aber nicht unverändert in Balsam überführen läßt. — MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 205) hat mit Hämatoxylin, das in Magnesiawasser (§ 228) gelöst ist, ebenfalls nur wenig haltbare Färbungen bekommen.

MALLORY (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 177) nimmt als Basis Wolfram (Phosphorwolframsäure 10% iger 200 ccm, Hämatoxylin 1 g, Wasserstoffhyperoxyd 2, Wasser 800 ccm), HEIDENHAIN (Anat. Hefte 1. Abth. 5. Bd. 1895 p. 302; Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 402) Vanadium (wässrige Lösungen von Hämatoxylin und Ammoniumvanadat).

DONAGGIO (Ann. Nevrol. Napoli Anno 22 1904 p. 192) färbt die Schnitte durch Material aus Kaliumbichromat im Gemische gleicher Theile 1% iger Hämatoxylinlösung und 20% iger Lösung von Pinksalz (Zinnammonchlorid), entfärbt sie nach Pal und bringt sie durch Xylol in neutralen Balsam. Die Hämat.-Lösung ist langsam in die Zinnlösung zu gießen und das Gemisch im Dunkeln aufzubewahren.



## 13. Kapitel.

**Färben der Kerne mit Theerfarbstoffen.**

**267. Allgemeines.** Viele Theerfarbstoffe tingiren die Kerne direkt, wenn die Lösungen mit Essigsäure vermischt werden, aber gut thun es nur Methylgrün, Thionin und Methylviolett. Die übrigen — unter ihnen ragen Safranin und Gentianaviolett hervor — lassen meist nur eine indirekte (regressive) Färbung zu. Auf beiderlei Weise brauchbar ist z. B. Thionin. — Zu empfehlen sind: für frische Gewebe Methylgrün, für fixirte entweder das roth färbende Safranin oder die blau färbenden Thionin und Gentianaviolett. Neuerdings sind diese durch das Eisenhämatoxylin etwas in den Hintergrund gedrängt worden. Indessen tingirt letzteres außer den Kernen meist allerlei andere Zellgebilde, was bei den wirklich elektiven Theerfarbstoffen nicht der Fall ist. — Über Eosin als Kernfarbstoff s. unten § 318 (LIST).

**268. Beizen.** HENNEGUY (Journ. Anat. Phys. Paris 27. Année 1891 p. 398) behandelt die Schnitte 5 Minuten lang mit 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Kaliumhyper-manganat, wäscht sie mit Wasser, färbt sie mit Safranin, Gentianaviolett etc., differenzirt sie mit Alkohol und bringt sie in Nelkenöl. Die Entfärbung fährt häufig noch fort, wenn die Schnitte schon in Balsam sind, und so können die Präparate 1 oder 2 Tage nach dem Einschließen besser sein, als gleich zu Anfang. — Hat das Kaliumhyper-manganat zu lange gewirkt, so entfärben sich die Schnitte kaum noch gut; mitunter muß man sie dann Monate lang in Nelkenöl liegen lassen. Sollen die Einzelheiten im Plasma besonders gut hervortreten, so legt man die Schnitte vor der Beizung 10 Minuten lang in 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> 0<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ige Lösung von Hämatoxylin in 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Alkohol, wäscht sie mit Wasser aus, behandelt sie 10 Minuten lang mit 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger wässriger Lösung von Kaliumbichromat und wäscht sie wieder aus.

OHLMACHER (\*Med. News 1895) beizt vor dem Färben die Schnitte in 2—4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Formol (Deckglaspräparate 1 Minute lang) oder färbt sie in 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> iger Lösung von Fuchsin (oder Methylenblau etc.) in 4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> igem Formol 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Minute lang; die Färbung soll dann dem Alkohol viel besser widerstehen. Die entsprechende Lösung von Safranin O (von Grübler) soll genau dieselbe Plasmafärbung geben wie Eosin.

RAWITZ (Sitzungsb. Ges. Nat. Freunde Berlin f. 1894 p. 174; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1895 p. 503; sein Leitfaden 2. Auflage 1895 p. 76) bringt Schnitte



von Material aus Chromgemischen (Flemmings Gemisch etc.) auf 24 Stunden in 20%ige Lösung von Tannin in Wasser, wäscht sie gut, legt sie in 1—2½%ige Lösung von Brechweinstein (auf 2—4 Stunden bei 40° C., auf 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur), wäscht sie wieder, färbt sie 24 Stunden lang, differenzirt sie (in Alkohol oder 2½%iger Lösung von Tannin) und bringt sie in Balsam. Zum Färben dienen Safranin, Fuchsin, Methylviolett, Gentianaviolett oder Smaragdgrün (Tetraäthylgrün). Gute Präparate zeigen eine Inversion der Färbung: Chromatin ungefärbt, Plasma und Intercellularsubstanzen gefärbt. — Rawitz macht selber darauf aufmerksam, daß sich nicht nur das Eiweiß, womit er die Schnitte aufklebt, sondern auch alle Verunreinigungen des Objektträgers stark mitfärben. In der That ist, wie ich (LEE) finde, die Färbung so schmutzig wie nur möglich. — Über eine andere Beizung s. unten § 336 und p. 457 der 2. Auflage dieses Buches.

### A. Progressive Farbstoffe.

**269. Methylgrün.** Es ist das Chlorzinkdoppelsalz des Heptamethylpararosanilinchlorids und entsteht durch die Einwirkung von Chlor- oder Jodmethyl auf Methylviolett, enthält daher immer etwas unzersetztes Violett, soll auch zuweilen mit Anilinblau oder einem grünen Nebenprodukt verfälscht werden. Es ist äußerst empfindlich gegen Alkali; deswegen darf man zum Färben, Auswaschen und Einschließen nur ganz neutrale oder schwach saure Medien gebrauchen.

Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 312) ist das Violett leicht durch Ausschütteln der wässerigen Lösung mit Chloroform zu ermitteln. Bequemer, aber nicht so empfindlich, ist folgende Probe: man bringt einen Tropfen der Lösung auf Filtrirpapier und hält dies über eine offene Flasche mit Ammoniak; das Grün muß ohne violetten Rest verschwinden. — Stärker ist mit Methylviolett verunreinigt das Jodgrün (s. § 323); auch das „Vert en cristaux“, das CALBERLA (Morph. Jahrb. 3. Bd. 1877 p. 625) anwandte, scheint viel Violett enthalten zu haben. Letzteres färbt übrigens das Plasma und, wenn es reichlich vorhanden ist, auch die Kerne, sodaß diese nicht rein grün, sondern eher blau werden. Daraus haben Griesbach u. A. falsche Schlüsse über die Vorgänge beim Färben gezogen (s. Mayer, l. c.).

Auch FISCHER (Fixirung etc. p. 89) warnt vor dem Methylviolett und benutzt für seine Untersuchungen eine Lösung von Methylgrün, die er zuvor durch Schütteln mit Amylalkohol vom Violett befreit hat. — Nach FÜHNER (Arch. Exper. Path. Pharmak. 59. Bd. 1908 p. 170) läßt sich das Violett durch Zusatz von NaCl ganz ausfällen, ebenso zugleich mit dem Zink durch Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; das Filtrat muß dann aber mit HCl neutralisirt werden.

Das Methylgrün dient hauptsächlich zum Färben der Kerne von frischen oder soeben erst fixirten Geweben, und zwar in starker wässriger Lösung unter Zusatz von etwa 1% Essigsäure. Es färbt sehr rasch und überfärbt nie; die Lösung dringt gut ein und



tödtet die Zellen sofort, ohne sie in der Form zu verändern; es darf daher als ein zartes Fixirmittel gelten. Auch läßt es sich mit  $\frac{1}{10}$  bis 1 %iger Osmiumsäure oder dem Gemisch von Ripart & Petit (§ 86) combiniren, das sich auch zum Auswaschen und Einschließen eignet. In der Regel wäscht man mit angesäuertem Wasser aus und schließt in einem ebenfalls angesäuerten wässerigen Medium ein, das etwas Methylgrün gelöst enthält.

Bei dieser Art der Anwendung ist das Methylgrün ein reiner Kernfarbstoff, d. h. es ist ein scharfes Farbreagens auf Chromatin. Denn im Kern färbt es nur das Chromatin, außerhalb des Kerns nur einige Arten Zellplasma und geformte Bestandtheile, besonders Sekrete von Drüsen (z. B. Seide und Schleim). Aber das Chromatin wird hellgrün (Ausnahme das Nuclein im Kopfe einiger Arten Sperma), während die anderen Elemente gewöhnlich blau oder violett werden, vielleicht weil sie die Beimischungen des Methylgrüns in sich aufnehmen.

Nach BURCHARDT (La Cellule Tome 12 1897 p. 364) färbt Methylgrün mit Essigsäure zwar in den frischen Kernen das Chromatin gut, nicht aber, wenn diese vorher mit Essigsäure fixirt sind. (Für Bismarckbraun gelte dasselbe.) Während nach Fixirung mit reiner Sublimatlösung das Methylgrün das Chromatin sicher färbe, versage es bei Sublimat mit Essigsäure.

Wenn FISCHER (Fixirung etc. p. 192) meint, unter den basischen Farbstoffen könne man „mit einem Schein von Berechtigung nur das Methylgrün als Kernfarbstoff“ bezeichnen, so hat er Recht. Einen Farbstoff, der ein wirkliches Reagens im Sinne der Chemiker auf das Chromatin wäre, kennt man noch nicht.

Alkoholische Lösungen tingiren nach meiner (MAYER) Erfahrung die Kerne lange nicht so stark wie wässrige.

BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 3. Aufl. 1896 p. 69) färben die Schnitte 10 Minuten lang mit der Lösung von 1 Theil Methylgrün in 100 Theilen Wasser und 25 Theilen absol. Alkohol oder 24 Stunden lang in obiger Lösung, die mit 20 %igem Alkohol auf wenigstens das Doppelte verdünnt ist. — FRANCOTTE (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1898 p. 196) löst das Methylgrün (auch ein Gemisch von Bismarckbraun und Malachitgrün) im Gemisch von 15 Vol. Glycerin, 15 Vol. 90 %igen Alkohols und 70 Vol. Wasser unter Zusatz einer Spur Essigsäure. Hiermit färbt er die fixirten Eier von Polycladen durch, die Schnitte hingegen mit Methylgrün (und Säurefuchsin), in absolutem Alkohol gelöst, und erhält eine zwar kapriziöse, aber reine Kernfärbung.

Nach PAPPENHEIM (Arch. Path. Anat. 157. Bd. 1899 p. 25) färbt sich das Chromatin stärker mit Methylgrün, wenn man die Präparate vorher mit gesättigter wässriger Lösung von Chlorophyll behandelt. — FISCHER (Fixirung etc. p. 93) räth zu demselben Zweck einen Zusatz von Borax an, erhält aber natürlich diffuse Färbungen. — Ebenso MATHEWS (Amer. Journ. Phys. Vol. 1 1898 p. 452),



der zum Färben des Zellplasmas die Lösungen von Methylgrün, Safranin, Thionin, Toluidinblau etc. mit etwas Natriumcarbonat versetzt.

Die Farbe hält sich nicht gut. Es ist schwer, die Präparate befriedigend in Balsam zu bringen, denn der Alkohol zieht die Farbe aus; einigermaßen läßt sich dem abhelfen, falls man das Methylgrün in Biondis Gemisch verwendet, indem man nach Heidenhain die Schnitte vor dem Färben einige Minuten lang mit Jodtinktur behandelt (§ 311). SQUIRE (Methods p. 38) sagt, tüchtiges Auswaschen mit Wasser nach dem Färben habe dieselbe Wirkung. Von den Präparaten, die man in wässerigen Medien mit Überschuß an Farbstoff aufhebt (s. oben), halten sich die besten auch nur wenige Monate; nach Henneguy jedoch bleiben sie in Bruns Gemisch (§ 404) gut.

Über Methylgrün in Gemischen s. 310 u. 311.

**270. Malachitgrün (Solidgrün, Viktoriagrün, Neugrün, Benzoylgrün, Echtgrün).** FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 324) rühmt dem Solidgrün eine spezielle Affinität zu den Nucleolen nach. — VAN BENEDEN & NEYT (Bull. Acad. Belg. (3) Tome 14 1887 p. 219) benutzen das Malachitgrün für die Eier von *Ascaris* (Einschluß in Glycerin). Wir (LEE und MAYER) haben die Präparate vergeblich in Balsam zu bringen versucht: die Farbe widersteht dem Alkohol nicht. — S. auch oben p. 174 (FRANCOTTE) und unten p. 176 (HERLA).

**271. Bismarckbraun** (Manchesterbraun, Phenylbraun, Vesuvium), ein Gemisch verschiedener Farbstoffe (hauptsächlich soll es Phenylendisazometaphenylendiamin enthalten), wurde von WEIGERT 1868 (Arch. Mikr. Anat. 15. Bd. p. 258) in die Mikrotechnik eingeführt, ist aber nie recht in Aufnahme gekommen, vielleicht wegen seiner unschönen Farbe, auf die schon Weigert aufmerksam machte. Es wird entweder in rein wässriger Lösung benutzt, der man wohl etwas Essigsäure oder Osmiumsäure zusetzt, oder in alkoholischer (z. B. konz. wäss. Lösung mit  $\frac{1}{3}$  Vol. Alkohol von 90 % versetzt); gut zum Lösen ist ferner Calberlas Gemisch von Glycerin und Alkohol (§ 410) oder verdünntes Glycerin (40—50 %). S. auch oben p. 174 (BURCHARDT).

Die wässerigen Lösungen müssen oft filtriert werden.

MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 315) warnt davor, weil das Papier stets viel Farbe zurückhalte, wie dies nach SCHIEFFERDECKER (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 43) mit Methylgrün und Anilingrün der Fall sei. — Dagegen ist mir (MAYER) die  $\frac{1}{2}$  %ige Lösung in 30 %igem Alkohol 8 Jahre lang klar geblieben.

Bismarckbraun färbt sehr rasch, überfärbt aber leicht; die Farbe ist in Balsam und Glycerin haltbar. Hauptsächlich hat man es früher zum Durchfärben benutzt. Außer den Kernen wird der Schleim



stark tingirt, das Plasma hingegen meist wenig. Mitunter ist aber Auswaschen mit saurem Alkohol erforderlich.

HERLA (Arch. Biol. Tome 13 1893 p. 423) empfiehlt für die Eier von *Ascaris* das Gemisch von 0,25 Vesuvium, 0,25 Malachitgrün, 10 Glycerin und 100 Wasser; Auswaschen mit verdünntem Glycerin. S. auch oben p. 174 (FRANCOTTE).

Zur intravitalen Färbung (s. oben p. 138) verwandte Bismarckbraun zuerst Brandt 1878 bei Süßwasser-Protozoen (s. unten § 864), später MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 311) bei Kaulquappen und MAYER bei Caprelliden (Fauna Flora Golf. Neapel 6. Monogr. 1882 p. 153) und anderen Seethieren; es dringt sogar bei Selachiern, die man darin leben läßt, in alle Gewebe ein.

**272. Metaphenylendiamin** ist nach UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 6. Bd. 1887 No. 2) in wässriger Lösung ein sehr guter graubrauner Kernfarbstoff. Setzt man zu der Lösung etwas Natriumnitrit, so entsteht sofort Bismarckbraun und ist ohne Weiteres zum Färben verwendbar.

**273. Thionin** (Lauths Violett). Es steht chemisch dem Methylenblau nahe, scheint für die Industrie nicht mehr dargestellt zu werden, ist aber z. B. von Grübler & Hollborn zu beziehen (s. MAYER in: Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 314). Hoyer führte es zum Färben des Schleimes in die Technik ein, während HEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 43. Bd. 1894 p. 433) es für die Kerne empfahl.

Färbt man Material aus Sublimat oder Flemmings Gemisch mit einer starken wässrigen Lösung, so wird zuerst kaum etwas außer dem Chromatin tingirt (später nimmt auch das Plasma Farbe an); man braucht daher die Präparate nur mit Wasser abzuspülen, zu entwässern und in Balsam einzuschließen. Hat man dagegen zu stark tingirt, so differenzirt man wie gewöhnlich mit Alkohol; gegen diesen ist die Farbe so widerstandsfähig, daß sich der Prozeß unter dem Mikroskope bequem kontrolliren läßt. Deshalb eignet sich das Thionin besonders für Anfänger.

Nicolles Thionine phéniquée (gesättigte Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol 1 Theil, 2%ige wässrige Karbolsäure 5 Theile) hat mir (MAYER) keine besonders guten Resultate ergeben. — KING (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 4 1910 p. 236) färbt Hirnschnitte mit gesättigter Lösung von Thionin in 1%iger Karbolsäure und findet die Färbung sehr haltbar.

HENNEGUY (in litt.) entwässert die gefärbten Objekte mit Aceton. — Über eine Doppelfärbung mit Thionin und Pikrinsäure s. SABRAZÈS (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 4 1897 p. 51), mit Th. und Rutheniumroth s. EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 200).

Die Färbungen verblassen in Balsam schon bald. WOLFF (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 312) verwendet daher den Balsam nicht flüssig, sondern schmilzt festen und träufelt ihn auf die Objekte. Diese



Prozedur vertragen natürlich feinere Präparate nicht; nicht besser erscheint mir (MAYER) der Rath von FÉLIZET & BRANCA (Journ. Anat. Phys. Paris 34. Année 1898 p. 590), kein Deckglas aufzulegen.

Über eine komplizierte Nachbehandlung der Schnitte s. BONNE (Bibl. Anat. Paris Tome 9 1901 p. 102), die Färbung des Schleimes mit Thionin unten § 787, die Plasmafärbung oben p. 174 (MATHEWS).

**274. Toluidinblau.** Es steht dem Thionin und Methylenblau chemisch nahe und färbt ähnlich, aber nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 315) lassen sich die Färbungen leichter unversehrt in Balsam bringen und halten sich länger als die mit Thionin. Zuerst (1890) hat es Hoyer zur Färbung des Schleims angewandt. — MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 489) benutzt es mit gutem Erfolge nach Eosin, das dabei zur Färbung des Plasmas dient. — HARRIS (Philadelphia Med. Journ. 1898; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 60) zieht es, gelöst in „Karbolsäure-Wasser“, dem Thionin vor. Zur intravitalen Färbung der Gewebe, besonders des Nervensystems, sei es dem Methylenblau wenigstens gleich. (Färbung, Fixirung etc. wie bei diesem; s. in Kapitel 14.) Über Plasmafärbung s. oben p. 174 (MATHEWS), polychromes T. s. unten § 291.

METZNER (Nagels Handb. Phys. 2. Bd. 1907 p. 915) beizt die Paraffinschnitte (durch Drüsen von Säugethieren) erst  $\frac{3}{4}$  Stunde in Eisenalaunlösung, um die Färbung haltbarer zu machen.

**275.** Über **Methylenblau** s. unten § 291 ff., über **Methylenazur** § 320.

### B. Regressive Farbstoffe.

**276. Allgemeines über die regressive Färbung mit Theerfarbstoffen.** Nur Schnitte oder ebenso dünne Membranen etc. können regressiv gefärbt werden. Die Farbbäder macht man je nach der Löslichkeit des Farbstoffes mit Alkohol, Wasser oder Anilin; sie mit Alkohol zu machen, wenn Wasser genügt, hat wohl keinen Zweck; die Hauptsache dabei ist, die Lösungen möglichst stark zu machen. In der That sind auch die mit starkem Alkohol nicht ganz so gut wie die mit Wasser oder mit Alkohol von 50 %. Die Schnitte müssen sehr sorgfältig gefärbt werden; bei den starken Lösungen in Anilin genügen zwar häufig einige Minuten bis  $\frac{1}{2}$  Stunde, aber man färbt oft besser 12—24 Stunden lang. Bis zu einem gewissen Grade widerstehen nämlich die Schnitte dem Auswaschen um so mehr, je länger



sie gefärbt waren, und das ist ein Vortheil. In Chromosmiumgemischen fixirte Objekte geben eine schärfere und elektivere Färbung als die in Sublimat etc. fixirten.

HEIDENHAIN (Encyclop. 1. Bd. p. 433) erhält bessere Resultate von der Einwirkung schwacher Lösungen. Gentianaviolett und Safranin solle man in „geradezu homöopathischer Verdünnung anwenden“ (p. 434). Mir (MAYER) scheinen starke Lösungen nur für chromirte oder osmirte Objekte von Vortheil zu sein. Für bedenklich halte ich die Verwendung der sogenannten gesättigten Lösungen, die von so vielen Autoren vorgeschrieben sind. Man weiß ja besonders bei den Theerfarbstoffen so gut wie nie, wann eine Lösung wirklich gesättigt ist! (S. auch § 310 und 311.)

Während des Färbens werden die Gewebe überfärbt und müssen nun durch Entfernung der überschüssigen Farbe differenzirt werden. Dies geschieht gewöhnlich durch starken Alkohol, der entweder neutral oder mit Salzsäure angesäuert ist. Sind die gefärbten Schnitte lose, so bringt man sie in ein Uhrglas voll Alkohol, sind sie aufgeklebt, in einen Tubus voll Alkohol; vorher sollten sie mit Wasser wenigstens abgespült werden. Im Alkohol sieht man die überschüssige Farbe aus den Schnitten in Wolken oder Streifen ausströmen, erst rasch, dann langsamer. Zuletzt kommt der Moment, wo sie gerade aufhören will, zu strömen; die Schnitte sind blaß, ziemlich durchsichtig, und, wenn es sich um Chromosmium-Objekte handelt, so ändern sie auch ihre Farbe, indem ihre Grundfarbe zum Vorschein kommt. Jetzt ist die Differenzirung beendet, und das Auswaschen mit Alkohol muß unterbrochen werden. Eine gute Differenzirung dauert in der Regel nur zwischen  $\frac{1}{2}$  und 2 Minuten; mit saurem Alkohol geht sie viel rascher vor sich als mit neutralem, ist daher auch riskanter. Letzterer entfernt die Farbe viel schneller aus den ruhenden Kernen als aus den Mitosen, und das ist je nachdem ein Vortheil oder ein Nachtheil. (Er darf nur selten mehr als  $\frac{1}{100}$  Salzsäure enthalten.) Für den Anfänger gelte daher als Richtschnur, daß man mit neutralem Alkohol auswäscht, wenn ruhende Kerne und Mitosen gleich gut gefärbt werden sollen.

Außer der Differenzirung durch Alkohol — HEIDENHAIN (Encyclop. 1. Bd. p. 434) empfiehlt Methylalkohol — gibt es die durch einen anderen Theerfarbstoff. So werden z. B. Methylenblau und Gentianaviolett aus den Schnitten durch eine wässrige Lösung von Bismarckbraun oder Eosin entfernt, ebenso Fuchsin durch Methylenblau. Der zweite Farbstoff substituirt sich dem ersten in der Grundfärbung der Gewebe, und so bleiben, wenn alles in Ordnung verläuft, die Kerne mit dem ersten Farbstoff gefärbt, während der zweite als Kontrastfarbe wirkt. — RESEGOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 320) färbt Schnitte von Objekten, die in absolutem Alkohol fixirt waren, mit Methyl-



violett oder Dahlia und wäscht sie mit alkoholischer Lösung von Eosin oder Säurefuchsin aus. Liegt aber hier eine echte Substitution vor?

Ist die Differenzirung beendet, so bringt man die Schnitte sofort durch ein Intermedium in Balsam. Als solches kann man Nelkenöl oder Anilin nehmen, die allerdings noch etwas Farbe ausziehen, oder ein Mittel, das die Farbe nicht angreift, wie Cedernöl oder Xylol; s. § 133. Hat man mit neutralem Alkohol differenzirt, so nimmt man am besten Nelkenöl, da jener das Plasma nicht immer völlig entfärbt; sonst jedoch, speziell nach saurem Alkohol, braucht man es besser nicht, aber es hilft die Mitosen differenzieren, denn es entfärbt die ruhenden Kerne rascher als die sich theilenden. Übrigens sind nicht alle Farbstoffe in dieser Beziehung gleich empfindlich, auch hängt viel von der Güte des Nelkenöls ab; frisches entfärbt rascher als altes.

Die aufgeklebten Schnitte übergießt man mit dem Intermedium. Hat es genug gewirkt, so ersetzt man es durch Dammar oder Balsam; war es aber Nelkenöl, so muß man dieses zuvor durch Xylol, Cedernöl etc. entfernen. Chloroform vermeide man stets nicht nur als Intermedium, sondern auch zum Verdünnen oder Lösen des Balsams.

Über die Verwendung von Beizen s. oben § 210.

**277. Safranin.** Es wurde wohl zuerst von E. HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 320) benutzt und bildet für Schnitte von chromirtem und osmirtem Material (s. unten) einen sehr wichtigen Farbstoff, weil es nicht nur sehr stark, feurig und dauerhaft, sondern auch elektiv färbt. Man ist aber unbedingt auf ein gutes Safranin angewiesen; daher sei dringend auf die Bemerkungen in § 216 verwiesen. Ich (LEE) bediene mich seit langer Zeit des Safranin O von Grübler & Hollborn.

Die Handelsmarken des Safranins unterscheiden sich beträchtlich von einander. Einige sind leichter löslich in Wasser als in Alkohol, andere umgekehrt. (S. auch RESEGOTTI in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 320.) PFITZNER (Morph. Jahrb. 6. Bd. 1880 p. 478; 7. Bd. 1882 p. 291) löst 1 Theil Safranin in 100 Theilen absol. Alkohols und setzt 200 Theile dest. Wassers hinzu. FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 317) benutzt eine konzentrirte Lösung in absol. Alkohol nach Verdünnung mit etwa halb so viel Wasser. BABES (ibid. 22. Bd. 1883 p. 359) verwendet das Gemisch gleicher Theile konzentrierter wässriger und konzentrierter alkoholischer Lösung (sehr zu empfehlen) sowie die wässrige, heiß gesättigte, bei 60° filtrirte Lösung, die warm benutzt wird, da sie in der Kälte Kristalle ausscheidet; oder die gesättigte Lösung in einem Gemisch von 2 Theilen Anilin und 100 Theilen Wasser (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 470), die heiß durch ein benetztes Filter filtrirt wird und sich 1 bis



2 Monate lang hält. ZWAARDEMAKER (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 212) mischt etwa gleiche Theile konzentrierter alkoholischer Lösung von Safranin und Anilinwasser (durch Schütteln von Wasser mit Anilin und Filtriren gewonnen); nach meiner (LEE) Erfahrung hält es sich viele Monate. — HEIDENHAIN empfiehlt dagegen äußerst schwache Lösungen (s. oben p. 178).

In 2%iger Lösung von Anilin in Wasser lösen sich, wie ich (MAYER) finde, etwa 2% Safranin O; s. auch meine Bemerkung über die sogenannten gesättigten Lösungen (oben p. 178).

CURTIS (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 60 1906 p. 983) färbt mit der wässerigen Lösung der reinen Safraninbase, die er durch Versetzen einer Lösung des Safraninchlorhydrates mit Ätzkali, Ausschütteln mit Chloroform und Verdunstenlassen herstellt. Sie färbt viel stärker und rascher als das Farbsalz.

Das Anilinwasser wurde zuerst 1882 von EHRLICH (\*D. Med. Wochenschr. No. 19) empfohlen. Es soll etwa 3% Anilin enthalten.

Man differenzirt entweder mit neutralem oder mit saurem (0,1 % H Cl) Alkohol (FLEMMING in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 350; Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 249), je nachdem alles Chromatin oder nur das in den Mitosen gefärbt werden soll. Die Voraussetzung dabei ist, daß die Objekte wenigstens 12 Stunden lang in Flemmings starkem Gemisch fixirt und einige Stunden lang gefärbt worden sind. (Material aus Sublimat färbt Safranin schlecht.) — PODWYSOZKI (Beitr. Path. Anat. Ziegler 1. Bd. 1886 p. 289) färbt nur  $\frac{1}{2}$  Stunde lang, bringt die Schnitte auf höchstens 2 Minuten in starke alkoholische Lösung von Pikrinsäure und dann durch absolut. Alkohol in Nelkenöl; die Farbe wird aber braun statt rein roth. — BABES empfiehlt nach der Färbung die Behandlung mit Jod nach Gram (§ 278); ebenso PRENANT (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 368).

GARBINI (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 170) entwässert die Schnitte nach dem Färben in Methylalkohol, der Safranin nur sehr wenig löst, und differenzirt sie in einem Gemisch von Nelkenöl (2 Theile) und Cedernöl (1 Theil). Mir (LEE) hat diese Methode keine guten Resultate ergeben. — S. auch die umständlichere Methode von MARTINOTTI & RESEGOTTI (Zeit. Wis. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 328), sowie die noch schwierigere von HENNEGUY (C. R. Soc. Philomath. Paris 1896 No. 2: Beizung und Differenzirung der Schnitte mit Ammoniumrhodanat etc.).

Über das Färben von Schleim (und die Metachromasie dabei) s. § 787, von Mastzellen § 762, des Plasmas oben p. 174 (MATHEWS).

Safranin und Hämateinthonerde. FOÀ (Festschr. Virchow 1891 p. 481) färbt Schnitte von Knochenmark im Gemisch von Böhmers Hämatoxylin 25 ccm, Safranin (1%ige Lösung in Alkohol und Wasser) 20 ccm und Wasser 100 ccm 1—3 Minuten lang, wäscht sie aus und entwässert sie entweder sofort oder färbt sie mit schwacher Lösung von Pikrinsäure oder Orange nach. — REGAUD (Verh. Anat. Ges. 14. Vers. p. 1900 p. 112) färbt



die Schnitte erst mit Hämalaun, dann mit Safranin nach Zwaardemaker (s. oben p. 180) und differenzirt mit saurem Alkohol. — RABL (Morph. Jahrb. 10. Bd. 1884 p. 217) färbt zuerst das Plasma mit sehr verdünntem Gemisch von Delafield 24 Stunden lang ganz hell, wäscht mit Wasser, dann mit saurem Alkohol, färbt mehrere Stunden lang in Pfitzners Safranin und wäscht mit neutralem Alkohol aus.

**278. Gentianaviolett.** Es ist wesentlich ein Gemisch von Kristall- und Methylviolett (s. unten). Man braucht es in wässriger oder in alkoholischer, mit etwa halb so viel Wasser verdünnter Lösung (FLEMMING Zellsubstanz p. 384) und differenzirt mit neutralem oder saurem (FLEMMING in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 350) Alkohol, wie beim Safranin. Es wirkt so scharf wie Safranin (s. hierzu oben p. 178 HEIDENHAIN), eignet sich auch gut zu Doppelfärbungen mit rothen oder gelben Plasmafärbstoffen. Die Färbungen halten sich recht gut in Dammar, allerdings nicht so gut wie die mit Safranin.

In einigen Fällen, besonders wenn die Kerne die Farbe zu leicht abgeben, behandelt man besser nach GRAM (\*Fortsch. Med. 2. Bd. 1884 No. 6) die gefärbten Schnitte mit der Lösung von 1 g Jod und 2 g Jodkalium in 300 ccm Wasser, bis sie schwarz geworden sind, bringt sie dann in neutralen Alkohol, wo sie grau werden, und differenzirt sie in Nelkenöl. — Unnötig kompliziert verfährt BIZZOZERO (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1866 p. 24).

Über eine Doppelfärbung mit Safranin und Gentianaviolett s. HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 34. Bd. 1889 p. 60).

Das Gentianaviolett ist wohl zuerst von WEIGERT (Arch. Path. Anat. 84. Bd. 1881 p. 279) benutzt worden. Wie bereits S. MAYER (Sitzungsber. Akad. Wien 85. Bd. 1882 3. Abth. p. 70) angibt, besteht es wesentlich aus Methylviolett B. Von GRÜBLER & HOLLBORN erfahre ich (Mayer), daß die Berliner Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation, von der es auch Weigert bezog, davon 3 Sorten herstellt, die sich nur durch die Mengen des Zusatzes von Kristallviolett (Hexamethylpararosanilinchlorhydrat) zum Methylviolett (der Penta-Verbindung) unterscheiden.

**279. Methylviolett** (Methylanilin, Anilinviolett, Pariser Violett). GRASER (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 378) färbt die Schnitte von Material aus Chromosmiumessigsäure 12—24 Stunden lang mit einer ganz schwachen wässrigen Lösung und wäscht sie kurze Zeit mit angesäuertem, darauf mit reinem absolutem Alkohol. — Nach SCHIEFFERDECKER färbt es die Kerne besser als Safranin.

Über Methylviolett für frische Gewebe s. unten § 333, für Mastzellen § 762, für Schleim § 292 (MAYER).

**280. Dahlia** (Monophenylrosanilin), von ZUPPINGER (Arch. Mikr. Anat. 10. Bd. 1874 p. 256) zuerst erwähnt, wurde von EHRLICH (ibid. 13. Bd. 1876 p. 266) in wässriger Lösung zum Färben der Kerne auf Schnitten empfohlen; Differenzirung durch ganz schwache Essigsäure. FLEMMING (ibid. 19. Bd. 1881 p. 324) benutzt zur Differenzirung Alkohol. — SCHUBERG (Zeit. Wiss. Z. 74. Bd.



1903 p. 192; 87. Bd. 1907 p. 557) färbt Paraffinschnitte oder dünne Membranen im Gemisch von 0,3—1 g Dahlia, 15—20 ccm Essigsäure und 85—80 ccm Wasser, das er auch wohl auf das Zehnfache verdünnt, wäscht sie gut aus und fixiert die Färbung erst durch 10%ige Lösung von Tannin, dann nach dem Auswaschen durch 1—3%ige Lösung von Brechweinstein. Vor dem Tannin kann mit  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Eosin gegengefärbt werden. Nachfärbung der elastischen Fasern mit Safranin (1 g in 75 ccm absol. Alkohols).

Über die Färbung der Mastzellen nach EHRLICH s. unten § 762.

**281. Über Cyanin** (Chinolinblau) s. unten § 328.

**282. Viktoriablau.** LUSTGARTEN (\*Med. Jahrb. Ges. Ärzte Wien 1886 p. 285) färbt damit in wässriger Lösung die Kerne, in schwach alkoholischer die elastischen Fasern in den mit Flemmings Gemisch fixierten Geweben. Auch den Schleim färbt das Blau stark und gegen Alkohol resistent. — Nach meinen (MAYER) Erfahrungen hat es größere Affinität zum Knorpel als zu den elastischen Fasern und färbt die Kerne nur mäßig.

**283. Benzoazurin** ist von ZSCHOKKE (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 468) und MARTIN (ibid. 6. Bd. 1889 p. 193) empfohlen worden. Man färbt die Celloidinschnitte etwa 1 Stunde lang in schwacher wässriger Lösung und erhält durch Auswaschen mit Salzsäure-Alkohol nur die Kerne, mit neutralem Alkohol auch das Plasma gefärbt.

**284. Magdalaroth** (Naphthalinroth). Nach FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 324) färbt es ähnlich dem Safranin oder Dahlia.

**285. Pyronin.** Es wird von EHRLICH und besonders von PAPPENHEIM empfohlen. Letzterer (Arch. Path. Anat. 166. Bd. 1901 p. 427) benutzt es im Gemisch mit Methylgrün und fixiert die Färbung in den Schnitten durch eine Lösung von Resorcin oder Hydrochinon in absol. Alkohol. Nach MICHAELIS (Farbstoffchemie Berlin 1902 p. 132) ist aber die Wirkung des Pyronins ganz unsicher. S. auch oben p. 141 (CORTI & FERRATA) und unten § 761.

**286. Fuchsin** (salzsaures, essigsäures etc. Rosanilin oder Pararosanilin etc., im Handel bekannt als Rubin, Fuchsin, Anilinroth, Rosein, Magenta, Solferino etc.). Es ist in Wasser schwer, in Alkohol leicht löslich; Neufuchsin und Parafuchsin sind es auch in Wasser. Zum Färben der Kerne benutzt man entweder eine starke Lösung in etwa 50%igem Alkohol oder eine ganz schwache wässrige und differenziert in starkem Alkohol. Brauchbar ist auch das Karbolfuchsin nach Ziehl (1 g Fuchsin in 100 ccm Wasser, 10 ccm Alkohol und 5 ccm Karbolsäure). — Die Methode von JACKSON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 14 1874 p. 139), aus dem Fuchsin die Farbbase durch Gerbsäure zu fällen und mit dem in Alkohol und Essigsäure gelösten Tannate zu färben, ist nach meinen (MAYER) Erfahrungen unbrauchbar.

GRASER (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 378) verfährt entweder wie mit dem Methylviolett (§ 279) oder färbt 12—24 Stunden mit schwacher wässriger Lösung, wäscht kurz mit Alkohol und färbt dann mit wässriger Lösung von Methylenblau. Chromatin und Kernkörperchen roth, der Rest blau.



RÖTHIG (Arch. Mikr. Anat. 56. Bd. 1900 p. 354) empfiehlt Kresofuchsin. Dieses färbt in wässriger Lösung Kerne, Schleim, Knorpel und Horn roth, die elastischen Fasern gar nicht; in alkoholischer letztere blau, Schleim, Knorpel und Horn roth. — S. auch § 764 (WEIGERT) und § 629 (VASTARINI-CRESI).

Über die Färbung der Mastzellen s. § 762, über eine Doppelfärbung mit Fuchsin und Jodgrün oder Methylgrün s. § 634.

Das salpetersaure Rosanilin wurde bereits 1863 von ROBERTS (Proc. R. Soc. London Vol. 12 p. 481) benutzt, desgleichen von Waldeyer ein Anilinroth.

**287. Neutralroth** (Toluylenroth). Zur Kernfärbung hat es DAUEN (Morph. Arb. Jena 7. Bd. 1897 p. 369) benutzt; die Wirkung sei der des Safranins „recht ähnlich“. — S. auch unten § 681 (ROSIN) und § 870 (MINCHIN).

**288. Gallein** (trocken oder als Paste). In 5%iger Alaunlösung gelöst färbt es, wie ich (MAYER) finde, Schnitte etwa wie Karmalaun, aber nicht sonderlich stark und nicht nur die Kerne; daher ist Auswaschen mit Alaunlösung oder einer schwachen Säure nöthig.

**289. Azorubin.** BRANDEIS (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 60 1906 p. 710) färbt Schnitte im Gemisch von 2 g Azorubin (von Grübler & Hollborn), 2 g Alaun und 100 ccm Wasser, differenzirt in gesättigter wässriger Lösung von Pikrinsäure und bewahrt die Präparate in Cedernöl auf, worin sie haltbar seien. Eventuell Plasmafärbung mit wässriger Lösung von Anilinblau (1 : 500).

**290. Mit Nigrosin** nach ERRERA (Proc. Verb. Soc. Belge Micr. 1881 p. 134) habe ich (LEE) gute starke Kernfärbungen erhalten. Dem Alkohol widersteht es.



## 14. Kapitel.

**Färben mit Methylenblau.**

**291. Methylenblau**, das Chlorsalz oder Zinkchlorid-Doppelsalz des Tetramethylthionins ist in Ehrlichs Sinne ein basischer Farbstoff. Man scheint es hie und da mit Methylblau zu verwechseln, das aber nichts mit ihm zu thun hat. Das Methylenblau des Handels enthält zuweilen etwas Methylenazur und liefert dann Färbungen in Zellen oder Geweben, die sich sonst nicht erzielen lassen. Das Azur bildet sich ferner in alten Lösungen des Blaues, besonders bei Gegenwart von Alkali, und ist auch in Unnas polychromem Methylenblau vorhanden, das zum Färben von Zellkörnclungen dient (s. unten). Dagegen muß das Blau zum Färben der Nerven intra vitam so rein wie möglich sein. Nach APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 466) eignet sich hierzu am besten das medizinische Methylenblau von E. Merck in Darmstadt, nach DOGIEL (Encyclop. 2. Bd. p. 90) aber die Sorte B X (nach S. Mayer) oder das nach Ehrlich, wie sie Grübler & Hollborn liefern.

Polychromes Methylenblau nach UNNA (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1892 p. 483). Man dampft die Lösung von je 1 Theil Methylenblau und Kaliumcarbonat in 20 Theilen Alkohol und 100 Theilen Wasser auf dem Wasserbade langsam bis auf 100 Theile ein und benutzt das Gemisch direkt oder nach Verdünnung mit gleich viel Anilinwasser zur Färbung von Schnitten, die hinterher mit Glycol, Styron, Kreosol oder Unnas „Glycerinäthergemisch“ (gleich der FärbLösung bei Grübler & Hollborn käuflich) differenzirt werden. — Nach MICHAELIS (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 29. Bd. 1901 p. 767) ist im polychr. M. gar kein unverändertes Methylenblau mehr; nach UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 38. Bd. 1904 p. 124) enthält es Methylenazurcarbonat nebst einem Überschuß von Kaliumcarbonat. — S. auch § 320.

Polychromes Toluidinblau empfiehlt MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 25): Tol. 1, Lithiumcarbonat 0,5, Wasser 75, Glycerin 20, 95%iger Alkohol 5 g.



**292. Anwendung des Methylenblaus.** Zum Färben der Kerne dient es in derselben Weise wie z. B. das Thionin (§ 273), mit dem es nahe verwandt ist. Ferner braucht man es zur spezifischen Tinktion markhaltiger Nervenfasern auf Schnitten und der Mast- und Plasmazellen. Auch färbt es lebende Gewebe ganz oder beinahe ohne Beeinträchtigung ihrer vitalen Funktionen (§ 293). Endlich aber liefert es Färbungen des Nervensystems, der intercellulären Kittsubstanzen, Lymphbahnen etc., im Wesentlichen gleich einer guten Imprägnation mit Gold oder Silber, aber viel leichter und sicherer. Während das Gold viele, mitunter alle, nervöse Elemente zugleich imprägniert, färbt das Methylenblau nur verhältnißmäßig wenige, diese aber so scharf, daß sie sich auf weite Strecken verfolgen lassen.

MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 314) färbt mit einem Gemisch von relativ viel Methylviolett und wenig Methylenblau in wässriger Lösung, dem etwas Essigsäure zugesetzt worden ist, und erhält so die Kerne schön blau, den Schleim violett. — Über Plasmafärbung durch Methylenblau s. auch p. 174 (MATHEWS), über Knorpelfärbung unten § 777 (VAN WIJHE).

**293. Färbung ganzer Thiere intra vitam.** Kleine, gut durchlässige Wasserthiere kann man lebendig färben, indem man zum Wasser soviel Methylenblau setzt, daß es nur ganz schwach blau wird. Sind die Thiere durchsichtig, so zeigt sich nach einiger Zeit, daß manche Gewebe den Farbstoff aufgenommen haben, andere nicht; wieder nach einer Weile findet man auch andere Gewebe tingirt. Man könnte nun glauben, bei längerer Dauer der Selbstfärbung würden zuletzt alle Gewebe gefärbt werden. Dem ist jedoch nicht so: stets bleiben sie auf dem Maximum der Tinktion nur kurze Zeit stehen und geben dann den Farbstoff noch rascher ab, als sie ihn aufgenommen haben; und so haben oft die sich zuerst färbenden Elemente ihre Farbe schon wieder eingebüßt, wenn die späteren gerade das Maximum erreichen. Ja, es können sogar alle färbbaren Gewebe die ganze Tonleiter der Färbung und Entfärbung durchmachen, bis das Thier wieder so farblos ist, wie zu Anfang. Daher ist diese Färbung nicht echt (s. oben p. 137), und so läßt sich in dieser Weise die Totalfärbung eines Thieres kaum erreichen, wohl aber eine spezifische Färbung eines oder des anderen Gewebes, und zwar auf zwei Wegen: 1) färbt sich das gewünschte Gewebe früher als die anderen, so kann man es studiren, wenn es allein intensiv genug tingirt ist, während die übrigen noch nicht so weit sind; färbt es sich dagegen später, so wartet man, bis die übrigen sich wieder genügend entfärbt haben; 2) man fixirt die Farbe im richtigen Stadium und macht sich Dauerpräparate (§ 298). — S. auch PILLIET in: C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 4 1897 p. 886.

Die richtige Stärke der jedenfalls sehr schwachen Lösungen muß man für jedes Objekt ausprobiren. In der Praxis wird wohl der Farbenton den rechten Führer bilden, ist man aber im Zweifel, so nehme man 1 : 100 000 und verstärke oder schwäche je nach Bedürfnis.



Die Färbung ist etwas launenhaft, wahrscheinlich weil der Farbstoff sehr schlecht eindringt. In der Regel färben sich die Drüsenzellen früh, dann durcheinander Epithel-, Fett-, Plasma-, Mast-, Blut- und Lymphzellen, elastische Fasern, glatte und quergestreifte Muskeln. Dagegen färben sich, wenn man die ganzen Thiere unversehrt in die schwache Lösung bringt, die Nervenfasern und Ganglienzellen garnicht, wohl deshalb, weil der Farbstoff nicht bis zu ihnen gelangt. — S. auch oben p. 138 (OVERTON).

**294. Färben des Nervengewebes intra vitam.** EHRLICH (Biol. Centralbl. 6. Bd. 1886 p. 215) erhielt durch Injizieren einer Lösung von Methylenblau in die Gefäße oder Gewebe lebender Thiere die Axencylinder der Nervenfasern spezifisch gefärbt. Er glaubte, diese Färbung sei das Produkt einer vitalen Reaktion der Gewebe und könne an totem Material nicht erzielt werden. Indessen sah DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 35. Bd. 1890 p. 310) die Nerven in den Beinmuskeln des Frosches sich noch 3—8 Tage, nachdem die Beine abgeschnitten worden waren, färben, und folgert daraus, daß die Nerven noch lebendig gewesen seien. Jedoch wird man richtiger mit APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 15ff.) schließen, daß sich die Nerven auch nach dem Aufhören des Lebens noch färben. Nach Apáthys Versuchen braucht das Gewebe nicht mehr zu leben, muß aber noch frisch und chemisch oder physikalisch nicht wesentlich verändert sein; z. B. darf es vorher weder mit verdünntem Glycerin oder Alkohol behandelt noch durch Hitze koaguliert werden, während kurze Behandlung mit Normalsalzwasser nicht sehr schadet. — Auch BETHE (Anat. u. Phys. Nervensyst. Leipzig 1903 p. 137) meint, wahrscheinlich färben sich vital nur die Elemente, die geschädigt sind oder nicht mehr unter ganz normalen Bedingungen stehen. DOGIEL (Encyclop. 2. Bd. p. 91) selber wählt zur Erzielung einer wirklich guten, vollständigen Tinktion nur „frisches, sozusagen noch lebendes“ Gewebe. S. auch § 296 (MICHAÏLOW).

BETHE (l. c. p. 135) zeigt, daß die Neurofibrillen auch der Nerven, die mit Alkohol fixiert wurden, sich mit Toluidinblau (1:1000 bis 1:3000) färben, besonders deutlich, wenn vorher durch Toluol die färbbare Substanz der Markscheide ausgezogen wurde. Die tingirbare Materie in den Neurofibrillen („Fibrillensäure“) ist in angesäuertem (HCl) Alkohol, die der Ganglienzellen („Nisslsäure“) in angesäuertem Wasser löslich. — S. auch LUGARO (Arch. Ital. Anat. Embr. Firenze Vol. 5 1906 p. 1). — Nach MACDONALD (Proc. R. Soc. London B Vol. 79 1907 p. 18) beruhen alle Erscheinungen, die das Toluidinblau in den Nervenfasern hervorbringt, auf der Aussalzung durch das Chlorkalium. Um Neurofibrillen handele es sich dabei nicht!

Allgemein wird ferner geglaubt, zur Reaktion der Nerven auf Methylenblau sei die Gegenwart von Sauerstoff nöthig. Man legt



daher gewöhnlich das Organ nach der Injektion oder Durchtränkung mit Methylenblau frei und läßt es einige Zeit an der Luft liegen. Nach APÁTHY (l. c. p. 25) jedoch ist diese Praxis zwar in einzelnen Fällen richtig, die Annahme aber irrig: es handelt sich um eine regressive Färbung, und je größer die Menge der Flüssigkeit um die Gewebe ist, desto rascher wird sich die Farbe auswaschen; daher muß man möglichst wenig Flüssigkeit verwenden. Ferner nehmen die Präparate beim Liegen an der Luft aus dieser eine Spur Ammoniak auf, und gerade dies ist für eine scharfe Färbung wichtig.

Bereits EHRLICH ist der Ansicht (Biol. Centralbl. 6. Bd. 1887 p. 223), man komme mit der Hypothese vom engen Konnex der „Nervenbläuung und Sauerstoffsättigung“ nicht völlig aus, sondern es sei zum Eintritt der Färbung auch eine alkalische Reaktion des Gewebes nöthig.

**295. Methoden zur Färbung der Nerven.** In Anlehnung an Ehrlich hat man früher die Lösung von Methylenblau in die Leibeshöhle oder das Gefäßsystem des lebenden Thieres injiziert, eine Zeit lang auf die Organe wirken lassen und diese dann zu weiterer Präparation und zum Studium freigelegt. Indessen weiß man jetzt, daß die Reaktion ebenso gut eintritt, wenn man die herausgeschnittenen Organe in die Farbflüssigkeit legt oder sie damit benetzt.

DOGIEL (Encyclop. 2. Bd. p. 99) räth die Immersion nur für niedere Wirbelthiere und wirbellose Wasserthiere an; bei den höheren Wirbelthieren gebe sie schlechtere Resultate als alle anderen Methoden. Als solche führt er außer der Injektion in die Blutbahn (oder Leibeshöhle) oder unter die Haut die Benetzung der herauspräparirten Gewebe mit der Lösung an; hierbei hat die Luft reichlichen Zutritt, und die Färbung geht gewöhnlich von der freien Fläche des Gewebes aus nach innen. Organe werden mit dem Rasirmesser in dünne Scheiben geschnitten und ebenso behandelt. — HOLMGREN (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 417) bringt marine Krebse (*Palaemon*) auf etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in Normalsalzwasser, um die Seesalze auszuwässern, und injiziert erst dann das ebenfalls in Normalsalzwasser gelöste Methylenblau. Er will auf diese Weise bessere Bilder erhalten haben.

Über die Verwendung des Farbstoffs in Substanz s. § 727.

**296. Die Färblösungen.** Zur Injektion macht man sie gewöhnlich in Salzwasser (normalem oder etwas schwächerem), zur Immersion entweder auch so oder in anderen „indifferenten“ Flüssigkeiten oder reinem Wasser. Früher nahm man meist sehr starke Lösungen.

So injiziert ARNSTEIN (Anat. Anz. 2. Jahrg. 1887 p. 125) konzentrirte Lösung in die Vena cutanea magna eines Frosches und schneidet das gewünschte Organ eine Stunde später heraus; BIEDERMANN (Sitzungsb. Akad. Wien 96. Bd. 3. Abth. 1887 p. 23) injiziert nahezu gesättigte Lösung in 0,6%igem Salzwasser in den Thorax von *Astacus* und tödtet diesen nach 2—4 Stunden; MAYER (Zeit.



Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 423) verwendet Lösungen von 1:300—1:400 in  $\frac{1}{2}\%$  igem Salzwasser. — Nemertinen injiziert BÜRGER (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 206; Fauna Flora Golf. Neapel 22. Monogr. 1895 p. 443)  $\frac{1}{2}\%$  ige Lösung in Wasser oder  $\frac{1}{2}\%$  igem Salzwasser und läßt dann die Thiere 6—12 Stunden, auch länger, in feuchtem Fließpapier liegen. — DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 483) braucht für Chilopoden konzentrierte Lösung. — S. auch unten § 727.

Gegenwärtig neigt man wenigstens für die Wirbellosen zu schwächeren Lösungen: APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 26) hält es geradz zu für schädlich, sie stärker als 1:1000 zu wählen. Auch DOGIEL (Encyclop. 2. Bd. p. 91) geht bei den Injektionen in die Blutgefäße nicht über  $\frac{1}{4}\%$ , in die Leibeshöhle nicht über 1% hinaus.

MANGOLD (Zeit. Allg. Phys. Jena 5. Bd. 1905 p. 146) injiziert den lebenden Arthropoden 1% ige Lösung, FREIDENFELT (K. Fysiogr. Sällsk. Handl. Lund (2) 15. Bd. 1905 No. 5. p. 5) in das Ganglion von *Anodonta* die Lösung von  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{2}\%$  Methylenblau,  $\frac{1}{10}\%$  Chlorammonium und Blut des Thieres.

Für Warmblüter ist es nöthig, die Gefäße vorher mit warmem Normal-salzwasser auszuspülen; auch die Lösung muß auf Körperwärme gebracht werden; die injizierten Organe oder dünne Stücke davon stellt DOGIEL (l. c. p. 92) in flachen Schalen, die ein wenig von der Lösung enthalten, auf  $\frac{1}{4}$ —2 Stunden in den Thermostaten. So wird der Luft reichlicher Zutritt gegönnt.

Zur Immersion oder Benetzung sollten die Lösungen eher noch schwächer sein.

So bringt DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 35. Bd. 1890 p. 308) die Objekte in Humor aqueus, gibt  $\frac{1}{16}$ — $\frac{1}{15}\%$  ige Lösung von Methylenblau in Normalsalzwasser hinzu und setzt sie hierin der Luft aus. Dabei muß man das Präparat durch abwechselnden Zusatz von Humor aqueus und Färbelösung gerade feucht halten. — ROUGET (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 117 1893 p. 802) nimmt für Froschmuskeln  $\frac{1}{20}\%$  ige Lösung in 0,6% igem Salzwasser, ALLEN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 36 1894 p. 462 u. 484) für Embryonen von *Homarus*  $\frac{1}{10}\%$  ige in Normalsalzwasser, die mit dem 15—20 fachen Volumen an Seewasser verdünnt wird.

LAVDOWSKY (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 177) legt die Gewebe in  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{4}\%$  ige Lösung des Blaus in Hühnereiweiß (auch Blutserum, sowie Lösungen von Chlorammonium und Ferrum ammoniochloratum eignen sich als Menstruum) und erhält damit sehr viel mehr nervöse Elemente gefärbt als mit den gewöhnlichen Lösungen. — Ähnlich verfährt YOUNG (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 253) mit Scheiben, die er von frischen menschlichen Geweben mit dem Doppelmesser abgetrennt hat. — MICHAÏLOW (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 10) benutzt für die Nerven von Säugethieren (absichtlich erst 1— $1\frac{1}{2}$  St. nach dem Tode)  $\frac{1}{2}\%$  ige Lösung in Ringers Gemisch (s. § 377), aber auf das 8—32 fache verdünnt. DOGIEL dagegen (Encyclop. 2. Bd. p. 90) sieht in der Verwendung von Blutserum oder Lockes Gemisch (s. § 377) nur Nachtheile.

**297. Apáthys Methode** (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 15; Mikro-technik p. 172). Ein Stück des Bauchstranges einer Hirudinee wird



freigelegt oder herauspräparirt, aber den Blutsinus und das pigmentirte Bindegewebe läßt man besser darum, bis Färbung und Fixirung beendet sind. Sollen außer den Fasern möglichst viele Ganglienzellen gefärbt werden, so schneidet man Seitennerven und Konnektive nahe beim Ganglion durch. Dann wird das Präparat zum Färben gelegt: auf 10 Minuten in die Lösung (in  $\frac{1}{2}$ —3 %igem Salzwasser) von 1:1000 oder auf 1—1 $\frac{1}{2}$  Stunden in die von 1:10000 oder auf 3 Stunden in die von 1:100000. Diese Zahlen gelten für die Nervenfasern von *Hirudo* und *Pontobdella*, für die Ganglienzellen 3—4 mal höhere; *Lumbricus* erfordert überall die doppelte Zeit, *Astacus* und *Unio* die dreifache (markhaltige Nerven von Wirbelthieren die vierfache).

Ist die Färbung beendet, so wäscht man die Präparate, die in der Lösung von 1:1000 waren, in Salzwasser 1 Stunde lang, die von 1:10000 nur  $\frac{1}{4}$  Stunde, die von 1:100000 gar nicht; dann gießt man eins von den ammoniakalischen Fixir- und Differenzirgemischen (§ 298) über sie und läßt sie, ohne sie darin herum zu bewegen, wenigstens 1 Stunde lang so liegen, womöglich im Dunkeln. Die Weiterbehandlung s. im § 298.

Das Ammoniak in diesen Gemischen dient zur Differenzirung der Färbung: es wäscht die Farbe aus der Inter- und Perifibrillärsubstanz aus, während die Primitivfibrillen sie noch stark zurückhalten. Nach Apáthy kommt hierdurch eine echte Färbung der letzteren zu Stande, keine Imprägnation: die Fibrillen sind scharf violettblau ohne körniges Präzipitat, während die Inter- und Perifibrillärsubstanz nebst den Kernen gar nicht oder nur sehr hell gefärbt ist. Dagegen bleiben mit den gewöhnlichen Methoden die Primitivfibrillen farblos, während Interfibrillärsubstanz und Nervenfasersplasma feinkörnig imprägnirt und die Kerne wie gewöhnlich gefärbt sind.

**298. Konserviren der Färbung.** Nur zwei brauchbare Methoden sind dazu vorhanden. Die eine rührt von DOGIEL her und wird von ihm (Encyclop. 2. Bd. p. 105) folgendermaßen ausgeübt. Man bringt die Präparate auf 2—24 Stunden in gesättigte wässrige Lösung von Ammoniumpikrat (falls sie trübe wird, zu erneuern!) und überträgt sie von da in das Gemisch gleicher Theile von Glycerin und der Pikratlösung. (Dünne Membranen etc. können vor dem Übertragen in das Glycerin mit Osmiumsäure fixirt und in Pikrokarmine gefärbt werden.)

APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 30), der freies Ammoniak einen Hauptfaktor beim Differenziren der Färbung (s. oben) bilden läßt, bringt die Präparate — nach Auswaschen in Salzwasser, wenn sie in starker Lösung gefärbt waren, sonst direkt — in konzentrierte



wässrige Lösung von Ammoniumpikrat, die keine freie Pikrinsäure, dagegen auf jede 100 ccm 5 Tropfen starken Ammoniaks enthält, besser aber in 1—2%ige frische Lösung von Ammoniumcarbonat, die mit Ammoniumpikrat gesättigt ist. Darin bleiben sie, am besten im Dunkeln, wenigstens 1 Stunde und kommen dann in eine geringe Menge von 50%igem Glycerin, das mit Ammoniumpikrat gesättigt ist, so lange, bis sie ordentlich damit durchtränkt sind; von da in ein ebenfalls mit dem Pikrat gesättigtes Gemisch von 2 Theilen 50%igen Glycerins, 1 Theil kalt gesättigter Zuckerlösung und 1 Theil kalt gesättigter Gummilösung. Sind sie damit gut durchtränkt, so werden sie in einen Syrup eingeschlossen, der so bereitet wird (l. c. p. 37): ausgesuchtes Gummi arabicum, Rohrzucker und destillirtes Wasser je 50 g werden auf dem Wasserbade gelöst und mit 0,05 g Thymol versetzt. Dies Medium wird rasch so hart wie Balsam, man braucht also die Deckgläser nicht zu umrahmen.

Solche Präparate sind äußerst empfindlich gegen das Licht, besonders gegen Lampenlicht, wenn es bei der Beobachtung durch den Kondensor geht. — APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 712) gibt später an, im Gummisyrup seien die Präparate seit 5—6 Jahren ganz unverändert; jedoch gelte dies nicht von denen, wo er die Differenzirung mit Ammoniak bis zur optischen Isolirung der Neurofibrillen getrieben habe, denn diese seien längst verblaßt. — S. auch BETHE (Arch. Mikr. Anat. 51. Bd. 1898 p. 387).

Die andere Hauptmethode der Fixirung ist die von Bethe mit Ammoniummolybdat; sie gewährt den Vortheil, daß sich die Präparate zum Schneiden in Paraffin einbetten lassen.

BETHE (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 438) behandelt nach dem Färben die Stücke (von 2—3 mm Dicke) etwa 10—15 Minuten lang mit konzentrirter wässriger Lösung von Ammoniumpikrat und bringt sie dann direkt in eine Lösung von Ammoniummolybdat (1 g) in Wasser (20 g; oder 10 g und ebenso viel  $\frac{1}{2}$ %ige Osmiumsäure oder 2%ige Chromsäure) oder von Natriumphosphormolybdat (Proportion genau so); alle diese 6 Lösungen erhalten als Zusatz 1 Tropfen Salzsäure und nach Belieben auch 1 g Wasserstoffhyperoxyd. (Gegen Alkohol sind die Objekte, wenn sie in einer von den 3 Lösungen des Natriumsalzes gewesen sind, nicht so widerstandsfähig, daher ist hier eine Temperatur unter 15° C. vortheilhaft; aber sie scheinen sich besser in Balsam zu halten.) In einer von den Lösungen bleiben die Stücke etwa  $\frac{3}{4}$ —1 Stunde (bei Gegenwart von Osmiumsäure 4—12 Stunden), kommen dann in Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam oder Paraffin; die



Schnitte werden mit Alaunkarmin, Alauncochenille oder neutralen Theerfarbstoffen nachgefärbt.

Leichte Abänderungen dieser Methode gibt DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 772; Zeit. Wiss. Z. 66. Bd. 1899 p. 361, 364) an: er läßt Salzsäure und Wasserstoffhyperoxyd fort, kühlt die Objekte nicht ab und benutzt nur eine Lösung von Ammoniummolybdat. (Genaueres s. unten.) Indessen ist BETHE (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 21) damit nicht einverstanden. — Über die ältere Methode von BETHE (Arch. Mikr. Anat. 44. Bd. 1894 p. 585) sowie die Prozeduren von MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 422): Ammoniumpikrat, ARNSTEIN (Jodjodkalium), FEIST (Pikrokarmin) und LAVDOWSKY (Pikrinsäure) s. p. 204 u. 206 der zweiten Auflage dieses Buches.

PLESCHKO (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 16) legt die Objekte nach der Fixirung des Methylenblaus mit Ammoniumpikrat auf einige Tage in 10%iges Formol und macerirt oder schneidet sie dann.

HARRIS (Philadelphia Med. Journ. 1898; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 62) legt die gefärbten Stücke nach dem Abspülen mit Wasser auf 3—24 Stunden in kalte (nur wenige Grade über Null) gesättigte Lösung von Ferro- oder Ferricyankalium (mit einer Spur Osmiumsäure zur Verhinderung der Maceration), wäscht sie aus und entwässert sie, ebenfalls bei niedriger Temperatur, durch absoluten Alkohol. Zuletzt durch Xylol oder Nelkenöl in Paraffin. — Diese Methode gilt auch für die Färbungen mit Toluidinblau.

PARKER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1895 p. 4) fixirt die Färbung durch Sublimatlösung, entwässert dann die Präparate mit 8%igen Lösungen von Sublimat in Alkohol von 30, 50, 70, 95 und 100 % und bringt sie aus der letzten in das Gemisch von gleichen Theilen dieses 100%igen Sublimat-Alkohols und Xylols, endlich in reines Xylol; hierin können sie beliebig lange bleiben. — Früher (Z. Anz. 15. Jahrg. 1892 p. 375) benutzte PARKER zum Entwässern eine Lösung von Sublimat in Methylal.

DOGIEL (Encyclop. 2. Bd. p. 108) fixirt die Färbung je nach der Größe der Objekte 10 Minuten bis 24 Stunden lang in viel von der 5—8%igen Lösung von Ammoniummolybdat, wäscht die Objekte gut mit Wasser aus und bringt sie direkt in absoluten Alkohol und nach möglichst kurzem Aufenthalte darin entweder durch Xylol in Balsam oder gleich in Celloidin. Ein leichter Zusatz von Osmiumsäure zur Fixirlösung ist besonders für die Gewebe von Invertebraten brauchbar. — MICHAILOW (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 19) setzt zur 8%igen Lösung von Ammoniummolybdat auf je 200 ccm 1 ccm Formol, läßt die gefärbten Objekte darin bei 37° 24 Stunden, wäscht sie mit warmem Wasser aus und bringt sie durch Alkohol, Bergamottöl und Xylol in Xyloldammar, nicht in Balsam.

SCHMIDT (Arch. Gesamte Phys. 113. Bd. 1906 p. 522) fixirt in ganz kleinen Stücken des Darmes von *Rana* das resorbirte Methylenblau erst in einem Gemische von Osmiumsäure und Ammoniumpikrat, dann in 10%iger Lösung von Ammoniummolybdat, wäscht die Stücke, entwässert sie in Alkohol, der mit Ammoniumpikrat gesättigt ist, möglichst rasch und bettet sie durch Cedernöl in Paraffin ein. Die Schnitte hebt er in Paraff. liquid. auf.



**299. Imprägnation von Epithelien, Lymphräumen etc. mit Methylenblau.** DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 33. Bd. 1889 p. 442) legt dünne Membranen frisch auf einige Minuten in 4 %ige Lösung von Methylenblau in Normalsalzwasser, von da auf wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde in gesättigte Lösung von Ammoniumpikrat, wäscht sie mit einem neuen Quantum derselben Lösung und untersucht sie in verdünntem Glycerin.

Zur Erkennung der Zellgrenzen im Epithel darf man nur etwa 10 Minuten lang färben; will man hingegen die Grundsubstanz des Gewebes imprägniren, um ein negatives Bild der Saftkanäle oder anderer Hohlräume zu bekommen, so färbt man 15—20 Minuten und präparirt am besten vorher das Endothel ab.

Neuerdings (Encyclop. 2. Bd. p. 110) verwendet D.  $\frac{1}{2}$ —1 %ige Lösung von Methylenblau und fixirt die Färbung durch Ammoniummolybdat und eine Spur Osmiumsäure (s. oben p. 191).

Der Effekt ist im Ganzen, abgesehen von der Farbe, gleich dem einer negativen Imprägnation mit Silber.

MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1889 p. 422) färbt die Gewebe etwa 10 Minuten lang in einer Lösung von Methylenblau (1 : 300 bis 400) in  $\frac{1}{2}$  %igem Salzwasser, wäscht sie mit Salzwasser aus und gießt ein Gemisch gleicher Theile von Glycerin und gesättigter Lösung von Ammoniumpikrat darauf.

TIMOFEEJEW (Anat. Anz. 35. Bd. 1909 p. 296) legt zur Färbung der Stützfasern in Leber, Milz etc., der Neuroglia und des Sarkolemmas dünne Stücke (auch Gefrierschnitte) des frischen Gewebes auf 15—30 Minuten in Methylenblau (1 : 2000 bis 4000), spült sie mit Normalsalzwasser ab, überträgt sie in eine ganz schwache Lösung von Ammoniumpikrat in Normalsalzwasser und schließt sie entweder in das Gemisch von 50 ccm Glycerin, 50 ccm Wasser und 35 ccm gesättigter Lösung des Pikrates ein oder führt sie durch Ammoniummolybdat (8 %) etc. in Balsam über.

**300. Toluidinblau** statt des Methylenblaus empfiehlt HARRIS (Philadelphia Med. Journ. 1898; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 60; s. auch oben § 274). Er braucht es in Lösungen von 1:1000 bis 1:4000; speziell beim Benetzen der Gewebe verwendet er (mit Lavdowsky) ein frisches Gemisch von 1 Theil Eiweiß, 1 Th.  $\frac{1}{4}$  %iger Lösung von Chlorammonium und 2 Th.  $\frac{1}{10}$  %iger Lösung von Toluidinblau. Über die Fixirung der Präparate s. oben p. 191.

---



## 15. Kapitel.

**Färben des Plasmas mit Theerfarbstoffen.**

**301. Allgemeines.** Unter Plasmafarbstoffen versteht man streng genommen nur solche Farbstoffe, die das Zellplasma färben, die Kerne hingegen nicht. Indessen darf man auch solche für die Inter-cellularsubstanzen hierher rechnen. Zu unterscheiden ist nun zwischen denen, die eine generelle, mehr diffuse Färbung ergeben, und denen, die sich speziell und mehr oder weniger elektiv auf die Einlagerungen im Plasma oder die Produkte des Plasmas, z. B. Schleim, Fett, Körnchen, elastische Fasern etc. werfen. Letztere sollen aber nicht hier, sondern in den betreffenden Kapiteln erörtert werden.

Die meisten Plasmafarbstoffe gehören zu den sogenannten sauren Theerfarbstoffen. Von ihnen sind manche ohne zureichenden Grund empfohlen worden, da sie nur eine allgemeine Färbung liefern, die sich durchaus nicht vor der guten mit Pikrinsäure oder Orange G auszeichnet. Ferner lassen sich durch geeignete Beizen wohl alle basischen Theerfarbstoffe zur Färbung des Plasmas etc. bewegen (s. z. B. oben p. 175 Methylgrün), allerdings ohne sonderlichen Vorthail. S. hierüber auch § 211, 268 und 312. In einigen Fällen mögen neutrale Farbstoffe bei der Tinction des Plasmas im Spiele sein.

In diesem Kapitel werden ferner die Methoden der Mehrfachfärbung behandelt, soweit sie nicht schon erledigt sind.

**302. Pikrinsäure** (Trinitrophenol). Schon FLEMMING (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 360) hält sie wohl mit Recht für einen der nützlichsten Plasmafarbstoffe. Sie ist mit Vorthail nach den meisten Kernfarbstoffen, besonders nach Karmin- und Hämateingemischen, anwendbar; jedoch überfärbt man leicht damit und schädigt dann die Kernfärbung, speziell bei den Hämateingemischen, die ja gegen Säuren sehr empfindlich sind. Man löst einfach die Pikrinsäure in dem Alkohol,



der zum Entwässern der mit dem Kernfarbstoff gefärbten Objekte dient; für Schnitte ist ebenso bequem eine Lösung in Xylol oder Chloroform. (Bei der Anwendung nach Boraxkarmin löse man sie nicht schon im sauren Alkohol, sondern tingire mit ihr erst später.) Andere Theerfarbstoffe wäscht sie entweder beträchtlich aus oder bildet damit Niederschläge. Da sie ganze Objekte leicht durchfärbt und rasch eindringt, so ist sie sehr brauchbar für die Präparation von kleinen Arthropoden, Nematoden etc., die unzerlegt eingeschlossen werden sollen.

Obwohl man mit der Pikrinsäure so ziemlich Alles in den Zellen färben kann, so werden doch speziell kräftig gelb Horn und Chitin, Muskeln, Erythrocyten etc. Dies tritt sowohl bei ihrer Anwendung nach der Färbung der Kerne als auch zugleich mit ihr, d. h. in Gemischen wie den Pikrokarminen, zu Tage. In mancher Beziehung wird sie freilich vom Säurefuchsin oder Orange G übertroffen, hat aber vor diesen die unbegrenzte Haltbarkeit in Balsam voraus.

Die Pikrinsäure wird zuerst nebenbei von ROBERTS (Proc. R. Soc. London Vol. 12 1863 p. 481) erwähnt. SCHWARZ (Sitzungsb. Akad. Wien 55. Bd. 1. Abth. 1867 p. 674) hingegen wendet sie bereits seit 1865 nach Karmin und GERLACH 1872 (\*Sitzungsb. Physik. Med. Soc. Erlangen) nach Alaunhämatoxylin an.

**303. Orange G** (Natriumsalz der Benzolazobetanaphtholdisulfosäure). Zu beziehen von Grübler & Hollborn und nicht mit den vielen anderen Farbstoffen zu verwechseln, die im Handel als Orange (mit oder ohne G) gehen. Es ist ein saurer Farbstoff im Sinne von Ehrlich und gehört zu den schärfsten Plasmafärbstoffen, färbt aber ziemlich blaß und ist daher mit Nutzen nur zum Nachfärben von Schnitten nach Eisenhämatoxylin, Hämalan oder einem anderen blauen oder rothen Kernfarbstoff zu verwenden, am besten in wässriger etwa  $\frac{1}{2}$  %iger Lösung, die sehr haltbar ist. (S. auch § 604 SALING.) Ferner dient es in Verbindung mit Theerfarbstoffen, z. B. in Flemmings Orange (§ 304) und in Ehrlichs Triacid (§ 310 u. 311). S. jedoch auch oben p. 141.

RAWITZ (Leitfaden 2. Aufl. p. 69) färbt die Schnitte 24 Stunden lang mit Orange und erst hinterher ganz kurz ( $\frac{1}{2}$  Minute) mit seinem Hämalan. — WILHELMI (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 18) zieht bei Tricladen die Färbung (erst Hämalan oder Apáthys Hämatein I A, dann Orange) mit ammoniakalischem Alkohol so weit aus, daß nur noch die Rhabditen und Drüsen gelb bleiben. — S. auch MORRIS (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 3 1909 p. 636).

Nach FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 685) soll das Orange in wässriger Lösung sauer reagiren. Dies habe ich (MAYER) an dem von Grübler und der Berliner Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation nicht gefunden; LEE neuerdings ebensowenig.



**304. Orange G** nach FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 296 u. 685; Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1897 p. 175). Man färbt die Schnitte von Material, das nach Flemming oder Hermann fixirt ist, 2—3 Tage oder sogar Wochen in starker alkoholischer Lösung von Safranin, die mit Anilinwasser verdünnt ist (oben p. 180), wäscht sie mit Wasser ab, differenzirt sie in absolutem Alkohol, der höchstens  $\frac{1}{10}$  % Salzsäure enthält, bis kaum noch Farbe ausgezogen wird, färbt sie 1—3 Stunden in Gentianaviolett (in sehr starker wässriger Lösung oder nach Gram, s. p. 181), wäscht sie rasch aus und schafft nun durch eine recht starke wässrige Lösung von Orange das meiste Violett weg. Nach höchstens einigen Minuten bringt man die Schnitte in absoluten Alkohol, bis sie kaum noch Farbe abgeben, von da in Nelken- oder Bergamottöl und schließt sie in Dammar oder Balsam ein, bevor die letzten hellen Farbwolken ganz verschwunden sind. Das Orange wirkt hierbei theils als Farbstoff, theils als Differenziator. F. nennt sein Verfahren mit Recht ein „eigenthümliches und noch räthselhaftes“. Außerdem ist es sehr komplizirt und so zur allgemeinen Verwendung nicht geeignet.

Ähnliches gilt von Reinkes Modifikation (Arch. Mikr. Anat. 44. Bd. 1894 p. 262 und 283), die nach dem Safranin mit einer Lösung des Niederschlages von Gentianaviolett und Orange („neutrales Gentiana“) im Überschuß des letzteren färbt. — S. auch BENSLEY (Biol. Bull. Boston Vol. 2 1900 p. 91: Färben mit dem in Alkohol gelösten Niederschlag, Differenziren in Nelkenöl).

Nach WINIWARTER & SAINMONT (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 157; Arch. Biol. Tome 24 1909 p. 15) gibt Flemmings Dreifachfärbung gute Resultate nur an Material aus Flemmings Gemisch, das sorgfältig ausgewaschen ist; sind also die Gewebe nicht darin fixirt worden, so werden die aufgeklebten Paraffinschnitte erst 24 Stunden lang mit diesem Gemisch behandelt und 20 Minuten lang unter der Wasserleitung ausgewaschen. Gefärbt werden die Schnitte zuerst 24 Stunden lang in 1 % iger Lösung von Safranin (No. 20 von Grübler) in 50 % igem Alkohol, dann mit Wasser gewaschen und 24 Stunden lang in wässriger Lösung von Gentianaviolett gefärbt, wieder gewaschen, auf 1 Minute lang in wässrige Lösung von Orange G (Stärke nicht angegeben, variirt nach den Objekten) gebracht, 2—3 Stunden lang mit saurem Alkohol (auf 100 ccm absol. Alk. 3 oder 4 Tropfen HCl), gut mit neutralem abs. Alk. und lange mit Nelkenöl behandelt, dem etwas absol. Alk. zugesetzt ist, endlich durch reines Nelkenöl und Xylol in Balsam gebracht.

Über eine andere Dreifachfärbung (das Orange ist in Aceton gelöst) s. BONNEY (Arch. Path. Anat. 185. Bd. 1906 p. 360; 193. Bd. 1908 p. 203).

**305. Helianthin** (Orange III, Methylorange, Goldorange), zuerst von GRIESBACH (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1883 p. 141) empfohlen, wird von MASSLOW (Arch. Mikr. Anat. 51. Bd. 1897 p. 139) zum Färben des Blutes verwandt: nach dem Vorgang von Kultschitzky färbt er erst mit Hämateinthonerde, dann mit Rubin, endlich mit Helianthin (beide in schwacher Essigsäure gelöst); dieses tingirt außer den Leucocyten die Erythrocyten, die ihr Hämoglobin verloren haben. — S. auch unten § 843 (CUÉNOT).



**306.** Über **Metanilgelb** s. GRIESBACH (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 448), über **Säuregelb (Echtgelb)**, **Tropäolin O**, **Croceïn etc.** ebenfalls GRIESBACH (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1883 p. 132).

**Aurantia** (Hexanitrodiphenylamin). Das von Grübler bezogene Salz färbt nach meinen (MAYER) Erfahrungen ähnlich dem Orange G, ist aber gleich der Pikrinsäure in Benzol löslich und mag aus diesem Grunde unter Umständen nützlich werden.

### **307. Säurefuchsin (Fuchsin S, Rubin S, Säurerubin, Magenta S).**

Es ist das saure Natron- oder Ammoniaksalz einer Rosanilin- oder Pararosanilinsulfosäure. Da die neutralen Salze farblos sind, so ist es äußerst empfindlich gegen Alkalien, und man kann Überfärbungen bereits durch Auswaschen mit Leitungswasser korrigieren (umgekehrt schwache Färbungen durch Essigsäure verstärken; s. auch unten p. 199). Fuchsin S und Rubin S scheinen gleich zu wirken.

In Verbindung mit Methylenblau hat das Säurefuchsin bereits EHRLICH (Zeit. Klin. Med. 1. Bd. 1880 p. 558) angewandt

Als sehr guter Plasmafärbstoff dient es in wässriger Lösung (am besten 1:500, hält sich bei Zusatz von etwas Formol Jahre lang), zur Nachfärbung von Schnitten, deren Kerne man mit Hämalan (oder Methylgrün) tingiert hat. Auch Gemische dieser Farbstoffe sind bequem zu benutzen. S. ferner die folgenden §§. Auch zum Färben der Nerven ist es wichtig (§ 685, 719 u. 747).

SQUIRE (Methods p. 42) bringt die mit Hämalan gefärbten Schnitte in die Lösung von 1 g Säurefuchsin und 6 g Orange G in 60 ccm Alkohol und 240 ccm Wasser. — Ähnlich MONTI (Mem. Ist. Lomb. Milano Vol. 9 1899 p. 119): Färbung in Hämalan und Säurefuchsin, nachher Orange. — Die Methode von CAVAZZANI (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1893 p. 344) ist gar kompliziert.

**308. Säurefuchsin und Pikrinsäure.** Diese Kombination ist wohl auf VAN GIESON (1889) zurückzuführen, der aber keine genaue Vorschrift gab. Meist spielen die exakten Proportionen beider Bestandtheile keine große Rolle. Zu 100 Theilen gesättigter Lösung von Pikrinsäure setze man z. B. 5 Theile 1%iger Lösung von Säurefuchsin (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 19 1898 p. 105). S. auch MÖLLER (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 172), HANSEN (Anat. Anz. 15. Bd. 1898 p. 151: Zusatz einer Spur Essigsäure), SCHAFFER (Zeit. Wiss. Z. 66. Bd. 1899 p. 326) und oben § 263 (WEIGERT).

Das Gemisch ist nur für Schnitte brauchbar, und die Kerne werden auch hier mit Hämalan (oder nach OHLMACHER in: \*Journ. Exper. Med. Vol. 2 1897 p. 675 mit Gentianaviolett) vorgefärbt. — S. auch unten § 719 (FINOTTI). — Besonders wird es zur Unterscheidung des (sich



roth färbenden Bindegewebes von der (die Pikrinsäure aufnehmenden) Muskulatur benutzt. S. hierüber unten § 758.

**309. Säurefuchsin und Ammoniumpikrat.** APÁTHY (Behrens, Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 129) löst in 500 ccm gesättigter Lösung von Ammoniumpikrat 1 g Säurefuchsin und färbt damit die mit Hämalaun tingirten Schnitte nach. Sehr kurzes Abspülen in Wasser mit etwas Pikrat, dann in 90 %igem Alkohol.

WILHELM (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 18) benutzt nach mündlicher Anweisung von Apáthy das Gemisch von 0,2 g Säurefuchsin, 0,8 g Ammoniumpikrat, 10 g absol. Alkohol und 89 g Wasser, spült die Schnitte dann mit 35 %igem Alkohol ab und bringt sie durch absol. Alk. und Chloroform in Balsam oder in Apáthys Gemisch von Chloroform (1 Th.), optischem Cedernöl (2 Th.) und Balsam (2 Th.). Die Färbung falle aber nicht gleichmäßig aus.

**310. Triacidgemisch von Ehrlich.** Dies Gemisch hat sein Erfinder (nach brieflicher Mittheilung an Mayer; s. auch EHRLICH & LAZARUS, Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 26) deswegen so genannt, weil in ihm alle 3 basischen Gruppen des Methylgrüns mit den sauren Farbstoffen verbunden sind („triacyde Verbindung“ des Methylgrüns).

MICHAELIS (Farbstoffchemie Berlin 1902 p. 133) spricht dem Methylgrün die Fähigkeit ab, mit den beiden sauren Farbstoffen ein solches Salz zu bilden, um so mehr als letztere dabei nicht in Form der freien Farbsäure zur Verwendung gelangen. — S. auch ROSIN (Encyclop. 2. Bd. p. 313).

Nach EHRLICHs neuester Vorschrift (ibid. p. 28) bereitet man von Orange G, Säurefuchsin und Methylgrün gesättigte wässerige Lösungen und klärt sie durch langes Stehenlassen. Dann mischt man nacheinander 13—14 ccm des Orange, 6—7 des Säurefuchsin, 15 dest. Wassers, 15 Alkohol, 12½ des Methylgrüns, 10 Alkohol und 10 Glycerin, wobei man ein und dasselbe Maaßgefäß benutzt und vom Zusatz des Methylgrüns ab die Flüssigkeit gründlich schüttelt. Das Gemisch ist sofort brauchbar und hält sich lange gut.

Eine mir (MAYER) von Ehrlich zugegangene Probe seines Triacids hat nach 2 Jahren etwas abgesetzt. Die mitgesandte „gesättigte“ Lösung von Fuchsin S — es ist das Ammoniaksalz — enthielt nur etwa 26 % feste Substanz, während sich doch von der letzteren hier in 1 ccm Wasser beinahe ½ g löste, wobei das Volum auf etwa 1,3 ccm zunahm. Unter Berücksichtigung des Faktums, daß sich in Neapel von Methylgrün 1 g in etwa 12 ccm Wasser, von Orange 3 g in etwa 20 ccm lösen, gebe ich folgende relativ einfache Vorschrift: 1 g Methylgrün, 2 g Orange und 3 g Säurefuchsin werden in 80 ccm Flüssigkeit (45 ccm Wasser, 10 Glycerin, 25 Alkohol von 90 %) gelöst: am besten erst die beiden sauren Farbstoffe, nachher das Methylgrün. Dieses Gemisch hält sich lange klar und scheint ebenso gut zu färben wie das echte Ehrlichsche. (Nimmt man zum Lösen



nur Wasser, also 80 ccm, so bilden sich später auf der Oberfläche Kristalle, dagegen läßt sich das Glycerin durch Alkohol ersetzen.)

Im Wesentlichen färbt das Triacid wie seine den Histologen bekanntere Abart, das Gemisch von Biondi (s. § 311), von dem es sich aber vortheilhaft durch die bessere Haltbarkeit unterscheidet.

HEIDENHAIN (Morph. Arb. Jena 7. Bd. 1897 p. 243) überfärbt mit dem Triacid die Schnitte und wäscht sie 12—24 Stunden lang in absolutem Alkohol aus. — MOREL & DOLÉRIIS (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 54 1902 p. 1255) setzen nach Ohlmacher, um die Färbung haltbarer zu machen, dem Triacid das gleiche Quantum 8%igen Formols und etwas Essigsäure zu. Ich (MAYER) sehe davon keinen Vortheil.

Die älteste Vorschrift von EHRLICH (\*Charité-Annalen 1884 p. 110) findet sich in Israels Praktikum d. path. Hist. (2. Aufl. Berlin 1893 p. 68) und in: Arch. Path. Anat. 105. Bd. 1886 p. 517 abgedruckt. Sie schreibt noch kein Glycerin vor. Eine neuere steht in: Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 259.

Über das Gemisch von Cuénot s. unten § 843.

**311. Gemisch von Ehrlich, Biondi oder R. Heidenhain** (Arch. Phys. Pflüger 43. Bd. 1888 Suppl. p. 40; Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 520). Es ist nicht leicht herzustellen, aber fertig bei Grübler & Hollborn zu haben. Nach der ältesten Vorschrift gießt man unter Umrühren zu 100 ccm gesättigter wässriger Lösung von Orange 20 ccm ebensolcher von Säurefuchsin und 50 ccm von Methylgrün und verdünnt das Gemisch mit dem 60—100fachen an Wasser; es muß nun bei Zusatz von Essigsäure roth werden, ferner muß ein Tropfen auf Filtrirpapier einen in der Mitte blaugrünen, am Rande orangegelben Fleck geben; ist nach außen vom Orange eine breitere rothe Zone vorhanden, so enthält das Gemisch zu viel Säurefuchsin.

Nach KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 42. Bd. 1893 p. 59) lösen sich in 100 ccm Wasser ungefähr je 20 g Rubin S, 8 g Orange G und 8 g Methylgrün (die Farbstoffe stammen aus der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin; s. jedoch in § 310 Mayers Angaben gleichfalls über Material aus dieser Quelle). Von den konzentrirten Lösungen gießt man 4 ccm der ersten, 7 der zweiten und 8 der dritten zusammen; diese Stammlösung wird beim Gebrauch mit Wasser auf das 50—100fache verdünnt. Vor der Färbung bringt man vortheilhaft die Paraffinschnitte auf 1—2 Stunden in  $\frac{1}{5}$ %ige Essigsäure, färbt sie 24 Stunden lang und wäscht sie direkt mit saurem 90%igem Alkohol (auf je 100 ccm 2—4 Tropfen Essigsäure) aus. — THOMÉ (ibid. 52. Bd. 1898 p. 821) mischt die Lösungen im Verhältnis von: Rubin 2, Orange 5, Methylgrün 8, verdünnt dann mit Wasser auf das 100fache, säuert auch eventuell mit einer Spur Essigsäure an. — Nach M. HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker Leipzig 1892 p. 116) müssen das Orange G, Rubin S und Methylgrün OO von der oben erwähnten Fabrik stammen.



ISRAEL (Praktikum Path. Hist. 2. Aufl. Berlin 1893 p. 69) gibt nach R. Heidenhain folgende Vorschrift: das von Grüber & Hollborn zu beziehende Pulver löst man in dest. Wasser zu 12%iger Stammlösung auf, verdünnt 1 ccm davon mit 30 ccm Wasser, gibt 3 ccm  $1\frac{1}{2}$ %iger wässeriger Lösung von Säurefuchsin hinzu und säuert das Gemisch mit 5—6 Tropfen Essigsäure (1 Essig:500 Wasser) an. Die gefärbten Schnitte kommen direkt in Alkohol von 90%.

Die starken Lösungen, wie sie oben verzeichnet sind, liefern bei der Mischung leicht Präzipitate; SQUIRE (Methods p. 37) empfiehlt daher, sie vorher zu verdünnen, gibt aber andere Proportionen zwischen den 3 Farbstoffen an.

Die Methode gilt nur für Schnitte, am besten von Material aus Sublimat. Diese werden 6—24 Stunden lang gefärbt, rasch mit Alkohol entwässert und durch Xylol in Xylolbalsam übergeführt. Die Schwierigkeit dabei ist, dafür zu sorgen, daß der Alkohol nicht das Methylgrün auszieht. Ist (s. HEIDENHAIN in: Arch. Mikr. Anat. 35. Bd. 1890 p. 178) dieser leicht alkalisch, so wird dadurch im Schnitte das Roth relativ blaß, das Grün stark; ist er leicht sauer, so tritt das Gegentheil ein. Auch wirkt das Fuchsin S in alten Lösungen oft schwächer als sonst; dann muß man von ganz schwacher Essigsäure so viel zusetzen, bis das Roth der Lösung merklich stärker geworden ist.

Der richtige Säuregrad ist so wichtig, daß man nach HEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 43. Bd. 1894 p. 430) das Gemisch nicht filtriren darf, weil es dadurch an Säure verlieren kann. Auch nehmen alte Lösungen Alkali aus dem Glase auf; man solle sie daher wieder etwas ansäuern oder noch besser in Metall- oder Kautschukflaschen aufbewahren! — HEIDENHAIN (Festschr. Kölliker p. 116) bringt die Schnitte vor dem Färben auf ein paar Stunden in  $\frac{1}{10}$ %ige Essigsäure, dann auf 10—15 Minuten in offizinelle Jodtinktur, spült sie mit Alkohol ab und läßt sie im Färbgemisch 12—18 Stunden verweilen. Nachher spült er sie der Reihe nach kurz mit destillirtem (oder ganz schwach angesäuertem) Wasser, absol. Alkohol und Xylol ab und schließt sie in Xylolbalsam ein. Die Säure diene dazu, daß die Schnitte noch sauer in den Balsam kommen, das Jod entferne nicht nur alles Quecksilber, sondern verstärke auch das Grün im Chromatin und bringe eine elektivere Färbung des Plasmas zu Stande.

EISEN (Proc. California Acad. Sc. (3) Vol. 1 1897 p. 8) empfiehlt zum Ansäuern der Lösung und zum Auswaschen Oxalsäure. — CARAZZI (Manuale p. 78) wäscht die Schnitte nach dem Färben mit verdünntem Glycerin ab und bringt sie dann sofort in absoluten Alkohol. — TRAMBUSTI (Ricerche Lab. Anat. Roma Vol. 5 1896 p. 82) färbt die mit Essigsäure angesäuerten Schnitte 24 Stunden lang im Gemisch von 1 Theil Biondischen Gemisches (1:80), 150 Theilen Wasser und  $2\frac{1}{2}$  Theilen 1%iger Essigsäure.

DRÜNER (Jena. Zeit. Naturw. 29. Bd. 1894 p. 276) hingegen färbt die Schnitte mit dem konzentrirten Gemisch 10 Minuten lang, spült sie flüchtig mit Brunnenwasser ab, bringt sie auf 1 Minute in absoluten Alkohol mit  $\frac{1}{10}$ % Salzsäure, dann in reinen absoluten Alkohol und erhält so das Chromatin blau-schwarz, das Plasma intensiv roth.



Ein Färbgemisch, das schon bei seiner Zusammensetzung so viel Schwierigkeiten bereitet und wohl nicht einmal in zwei Laboratorien genau gleich ausfällt, ferner solche Anforderungen an die Behandlung der Objekte vor und nach dem Färben stellt, endlich meist sehr vergängliche Färbungen liefert, ist selbstverständlich nur für ganz spezielle Fälle brauchbar. Freilich lassen gut gelungene Präparate auf den ersten Blick Vieles erkennen, was nach anderen Methoden nur mühsam oder gar nicht hervortritt, auch erhält man durch eine einzige Tinktion wenigstens 3 sehr von einander abstechende Farben. Dafür liegt aber die Gefahr sehr nahe, daraus falsche Schlüsse zu ziehen, besonders wenn Mischfarben auftreten. Denn diese brauchen gar nicht auf Verschiedenheiten in den Objekten zu beruhen, sondern mögen oft ungenügendem Auswaschen zu verdanken sein. Deswegen ist es theoretisch ohne Zweifel am richtigsten, mit recht schwachen Gemischen zu operiren, aus denen sich die Gewebe selber aussuchen, was ihnen zusagt, und dann die Präparate schleunigst in Balsam zu bringen. Leider finde ich (MAYER), daß mitunter ohne erkennbaren Grund ein Objekt sich dann gar nicht oder nur unvollkommen färbt, z. B. daß die Kerne das Methylgrün absolut nicht annehmen, während sie bei ganz kurzer Behandlung mit dem konzentrirten Gemisch es doch thun, und noch mehr bei Färbungen mit Hämalan.

FISCHER (Fixirung etc. p. 150) möchte das Methylviolett, das im Methylgrün steckt, an manchem Mißerfolg Schuld sein lassen. Dies ist mir (MAYER) nicht sehr wahrscheinlich, obwohl bei dem langen Verbleiben der Schnitte im Färbgemisch das Violett Zeit genug zur Wirkung haben dürfte. Denn falls sich mir die Kerne oder andere Elemente sehr nach Blau hin färbten, so trat die grüne Farbe durch Abspülen der Schnitte mit Leitungswasser sofort hervor; das aber beweist doch nur den zu großen Einfluß des Säurefuchsin auf die Färbung.

Man sollte von den vielen Unsicherheiten der Methode wenigstens die der inkonstanten Zusammensetzung eliminiren und sich entweder direkt an das Triacidgemisch von Ehrlich in meiner Modifikation (oben p. 197) halten oder ein analoges Gemisch eigens ausprobiren. Dann wird wohl das ängstliche Ansäuern überflüssig sein.

Sehr günstig spricht sich KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 709) aus, und MEVES (Encyclop. 1. Bd. p. 279) schließt sich ihm an. Nur muß man nach KRAUSE wirklich konzentrirte Lösungen der 3 Farbstoffe nehmen, und diese müssen aus der Berliner Fabrik stammen (s. oben p. 198), während die Zusammensetzung der Stammlösung und der Grad ihrer Verdünnung beliebig variiren dürfen. Ungeeignet ist Material aus Osmiumgemischen, Platinchlorid oder Salpetersäure, am besten das aus Sublimat (ohne oder mit Essigsäure).



**312. Dreifachfärbung** nach GALEOTTI (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 12. Bd. 1895 p. 466). Nur von theoretischem Interesse: Schnitte von den mit Osmiumsäure und Chlorpalladium fixirten Objekten werden erst mit Säurefuchsin, dann mit Pikrinsäure, endlich mit Methylgrün behandelt; Chromatin roth, Zellplasma gelbgrün, Granula in letzterem roth, etc.

**313. Bordeauxroth.** Es soll nach GRIESBACH (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1883 p. 140) die Kerne färben, wird indessen auf Empfehlung von HEIDENHAIN (ibid. 43. Bd. 1894 p. 665) wohl nur zur Vorfärbung der Schnitte bei der Methode von Benda oder Heidenhain benutzt (s. § 632). Ich (LEE) färbe Schnitte von Chromosmium-Material 12—24 Stunden lang in 1%iger Lösung.

Das Dreifarbgemisch von GRÄBERG (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1897 p. 460) besteht aus 4 Theilen 1%iger Lösung von Bordeaux R, 2 Theilen  $\frac{1}{2}$  %iger von Thionin und 3 Theilen 1%iger von Methylgrün.

**314. Biebricher Scharlach** liefert eine diffuse hellrothe Färbung, die vielleicht als Kontrast nützlich ist (GRIESBACH in: Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1883 p. 140). — S. auch PALADINO (Rend. Accad. Napoli Anno 34 1895 p. 209).

**315. Congoroth** (GRIESBACH in: Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 379). Im Sinne von Ehrlich sauer; die wässrige Lösung reagirt neutral oder alkalisch. Es wird schon durch Spuren von freier Säure blau, ist daher ein Reagens auf freie Säure in Geweben. Es färbt ähnlich wie Säurefuchsin und scheint gleich ihm besonders gut zum Tingiren von Axencylindern zu sein; s. § 681 (REHM) und § 725. Auch kann es zur Färbung intra vitam dienen (§ 209).

CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 12 1897 p. 216) empfehlen eine Doppelfärbung der Schnitte (durch Eier von Batrachiern) mit Hämateinthonerde und nachher Congoroth (1:200 Wasser), das nur die Kerne nicht färbt. Die Präparate seien in Kolophonium haltbar.

**316. Benzopurpurin.** Nach GRIESBACH (l. c.) in seiner Wirkung sehr ähnlich dem Congoroth. Nach ZSCHOKKE (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 466) färben schwache Lösungen von Benzopurpurin B schon in einigen Minuten; ähnlich wirke **Deltapurpurin**. Beide Farbstoffe seien sehr geeignet zur Plasmafärbung, nachdem die Kerne mit einem Hämalalaun tingirt seien. Ähnlich urtheilt MARTIN (ibid. 6. Bd. 1889 p. 195).

HEIDENHAIN (ibid. 20. Bd. 1903 p. 181) benutzt Benzopurpurin 6 B oder **Congo-Corinth G** in alkoholischer (oder wässriger) Lösung zum Nachfärben der mit Alaun- oder Eisenhämatoxylin tingirten Schnitte. Diese müssen vorher ganz schwach alkalisch gemacht werden, theils um die Kerne blau zu erhalten, theils, weil jene beiden Farbstoffe dann besser haften. Jedoch findet H. schon bald (ibid. 22. Bd. 1905 p. 338), daß die Färbungen in Balsam wenig haltbar sind, und empfiehlt nun **Azokarmin B** und noch mehr die Chromotrope (von Höchst) in alkoholischer Lösung. Ganz vor kurzem wieder (ibid. 25. Bd. 1909 p. 409) hält er jenes für unzuverlässig und bleibt bei Chromotrop 2 B, Congo-Corinth und (weniger) Benzopurpurin.



**317. Neutralroth** (Toluylenroth) nach EHRLICH (\*Allg. Med. Zeit. 1894 p. 2, 20; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 250; GALEOTTI, *ibid.* p. 193). Von Grübler & Hollborn zu beziehen, dient bisher fast nur zum Färben *intra vitam*: Froschlarven absorbieren nach 1—2 Tagen in einer Lösung von 1:10000 oder 1:100000 so viel Farbe, daß alle ihre Gewebe dunkelroth sind. Die Färbung ist auf die Körner im Zellplasma (Ehrlich) und den Inhalt der Schleimzellen (Galeotti) beschränkt. — MAYER (Lotos Prag 1896 N. 2) findet nach Einsetzen der Larven in Wasser mit Neutralroth oder nach Injizieren von Amphibien und Säugethieren (0,1 g Neutralroth auf 100 ccm  $\frac{1}{2}$  % igen Salzwassers) außer den Körnchen in Haut, Knorpel etc. degenerirendes Nervenmark gefärbt.

Nach EHRLICH & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 85) kann das Neutralroth zugleich mit Methylenblau *intravital* angewandt werden, aber die beiden Farbstoffe wirken doch jeder für sich. Das Optimum der Stärke der Lösung ist 1:50000 (MICHAELIS in: Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1900 p. 564). — S. auch PLATO (*ibid.* 56. Bd. p. 868) und über die Fixirung des Farbstoffes in den Geweben GOLOVIN (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 176). — Über die Färbung des Blutes mit Neutralroth s. GIGLIO-TOS (*ibid.* 15. Bd. 1898 p. 166).

Das Neutralroth ist ein basischer Farbstoff; seine Lösung wird durch Säuren lebhafter roth, durch Alkali gelb. S. auch unten § 681 (ROSIN). — Über N. als Kernfärbemittel s. § 287.

**318.** Die Eosine, im Handel als **Eosin** (Alkalisalze des Tetrabromfluoresceins), **Saffrosin**, **Primerose soluble**, **Phloxin**, **Rose bengale**, **Erythrosin** (Jodderivat des Eosins), **Pyrosin B**, **Rose B à l'eau** etc. bekannt, sind saure Farbstoffe. Sie haben nicht ganz die gleichen Eigenschaften, sondern variieren nach den Fabriken. Die meisten sind in Wasser und in Alkohol löslich, einige (Spriteosin, Primerose à l'alcool) nur in Alkohol. Alle geben diffuse Färbungen und werden viel als Kontrastfarbstoffe (s. unten) oder in Verbindung mit anderen Farbstoffen (s. § 319 u. 320) benutzt. — Über Rose bengale (mit Jodgrün und Bleu de Lyon) s. GRIESBACH in: Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 172.

Über Eosin oder Erythrosin zum Färben der Blutzellen, speziell der rothen, s. § 783, der Blutplättchen § 785, der Körner in Nervenzellen § 681, 683 u. 684, des Bindegewebes § 757 (WHITE).

Das Eosin wurde 1876 von FISCHER (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1875 p. 349) in die Mikrotechnik eingeführt; er benutzt das Kaliumsalz, in Wasser gelöst, noch lieber aber die freie Farbsäure, in Alkohol gelöst. — Nach MICHAELIS (Beitr. Chem. Phys. Path. Braunschweig 8. Bd. 1906 p. 49) ist diese (gewonnen durch Ausfällen aus der wässerigen Lösung von Eosin mit Salzsäure und Ausschütteln) in Xylol gelöst zum Nachfärben der Schnitte gut.

Eine sehr gebräuchliche Kombination für Doppelfärbungen ist die von Eosin und Hämateinthonerde. In der Regel färbt man die Objekte *in toto* mit Hämalaun oder ähnlichen Gemischen, dann die



Schnitte einige Minuten lang in einer schwachen wässerigen oder alkoholischen Lösung von Eosin (STÖHR in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 583 nimmt konzentrierte Lösung); oder man färbt zuerst mit Eosin. Stets aber müssen die Schnitte vor dem Übertragen aus der einen Färbelösung in die andere gut ausgewaschen werden, da sonst leicht Niederschläge entstehen. — Über das Gemisch von Ehrlich & Lazarus s. oben § 251, von Renaut Fols Lehrbuch p. 196.

Auch für Embryonen eignet sich diese Doppelfärbung, da der Dotter das Eosin energisch aufnimmt.

HANSEN (Anat. Hefte 1. Abth. 27. Bd. 1905 p. 620) empfiehlt den Zusatz von 1 Tropfen 2%iger Essigsäure auf 9 ccm 1%iger Eosinlösung, weil so die Färbung elektiver und dauerhafter werde. — LIST (Fauna Flora Golf. Neapel 27. Monogr. 1902 p. 294) färbt die Kerne distinct mit „Eosin in Verbindung mit Essigsäure“, besonders an Material aus Flemmings Gemisch.

**319. Eosin und Methylgrün** nach CALBERLA (Morph. Jahrb. 3. Bd. 1877 p. 625), nach LIST (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 147), nach BALBIANI (Ann. Microgr. Paris Tome 7 1895 p. 245). Das Methylgrün färbt die Kerne, das Eosin das Plasma. — S. auch RHUMBLER (Zeit. Wiss. Z. 61. Bd. 1895 p. 38).

**320. Eosin und Methylenblau.** Nach den gewöhnlichen Vorschriften, wie der von CHENZINSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 260), PIANESE (ibid. p. 345), BREMER (Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 446), TALLQUIST & WILLEBRAND (Skand. Arch. Phys. 10. Bd. 1899 p. 42), WILLEBRAND (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 69) und BENDA (Verh. Anat. Ges. 15. Vers. 1901 p. 173), dient in diesen Gemischen das Methylenblau als Kernfarbstoff.

Chenzinski mischt 1 ccm  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Eosin in 70%igem Alkohol, 2 ccm gesättigter wässriger Lösung von Methylenblau und 2 ccm Wasser (oder Glycerin). — Nach EHRLICH & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 29) hält sich das Gemisch ziemlich lange, muß aber vor dem Gebrauch stets filtrirt werden. (S. auch ibid. ein ähnliches Gemisch mit Methylal statt Wasser.)

Dagegen sollen in den Gemischen zum Studium der parasitischen Protozoen im Blut die Kerne der Parasiten nicht blau, sondern roth, ihr Plasma nicht roth, sondern blau, und die Kerne der Blutzellen (je nach ihrer Art) roth oder violett werden. Für diese Methode von Romanowski (1891) gab NOCHT (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 24. Bd. 1898 p. 839; ibid. 25. Bd. 1899 p. 17 u. 764) die Deutung, daß das polychrome Methylenblau unter anderen Farbstoffen ein „Roth aus Methylenblau“ enthalte, das im Verein mit Eosin und normalem Methylenblau die obige Farbenreaktion liefere. Später haben jedoch



Giemsa, Michaelis, Nocht und Reuter ermittelt, daß wesentlich dabei das Methylenazur (s. unten) eine Rolle spielt. Das Eosin wirkt nicht etwa als Farbstoff, wie man ursprünglich annahm, sondern als chemischer Körper und kann durch Resorcin, Hydrochinon etc. ersetzt werden.

Die Richtigkeit dieser Angabe von NOCHT (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 32. Bd. Orig. 1902 p. 313) über das Resorcin bestätige ich (MAYER); ebenso die, daß vor den gebräuchlichen Methoden zur Kernfärbung die Romanowskische das voraus hat, sehr viel kräftigere Tinktionen zu liefern. — Nach NEUMANN (ibid. 43. Bd. Orig. 1907 p. 752) „metachromatisirt“ das Eosin das Azur, das allein blau färbt; die Roman. Färbung beruht also auf einer „relativen Metachromasie“.

Das Methylenazur ist als Chlorid in Wasser sehr leicht mit blauer Farbe löslich. Vom Methylenblau unterscheidet es sich durch einen höheren Gehalt an Sauerstoff; hergestellt wird es daraus durch längere Einwirkung von Alkali oder Silberoxyd. Man bezieht es aber besser von Grüber & Hollborn, die es rein als „Azur I“ und im Gemisch mit der gleichen Menge Methylenblau als „Azur II“ liefern. Da man mit sehr schwachen Lösungen zu operiren hat, und diese sich lange halten, so kommt der hohe Preis (1 g reines Azur = 5 M.) nicht in Betracht. — Nach MICHAELIS (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 29. Bd. 1901 p. 767) färbt es bei gewöhnlicher Anwendung die Kerne blau, die Granula in den Mastzellen und den Schleim roth. Zur Erzielung der typischen Tinction des Blutes wird es am besten zugleich mit Methylenblau benutzt, z. B. nach der neuesten Vorschrift von GIEMSA (D. Med. Wochenschr. 33. Jahrg. 1907 Nr. 17): 0,8 g Azur II und 3 g Azur II-Eosin (ebenfalls von G. & H.) werden bei 60° in 125 g Glycerin und 375 g Methylalkohol gelöst; hiervon genügt 1 Tropfen auf 1 ccm Wasser; es färbt bereits in 5, besser in 10—15 Minuten; weitere Differenzirung unnöthig. — Grüber & Hollborn liefern sowohl die Lösung als auch das gemischte Pulver.

Die Färbung gelingt am besten an guten Trockenpräparaten in der Regel schon viel rascher als in 1 Stunde. Auch hinterher muß man das Präparat an der Luft bei gewöhnlicher Temperatur trocknen lassen, ehe man den Balsam darauf bringt. Entweder gibt man das mit Wasser verdünnte Gemisch in ein Uhrschälchen und läßt das Deckglas mit dem Präparat nach unten darauf schwimmen; oder man bringt auf das Deckglas 1 Tropfen des konzentrirten Gemisches, kehrt das Deckglas sofort um und legt es in das Schälchen, das bereits 15—20 Tropfen Wasser enthält; in jedem Falle bleiben so die Niederschläge, die in der Flüssigkeit auftreten mögen, unschädlich. Erwärmen



ist wenigstens unnöthig. Der Balsam sei möglichst neutral. Stets ist sehr sauberes Arbeiten erforderlich, sonst fallen die Präparate nicht gut aus.

Handelt es sich dagegen um feuchte Präparate, so muß nach GIEMSA (D. Med. Wochenschr. 35. Jahrg. 1909 p. 1751) das Färbegemisch länger wirken, und eventuell ist die Überfärbung durch Wasser auszuwaschen.

G. fixirt das Blut in Schaudinn's Sublimatgemisch (6%ige wässerige Lösung 2, absol. Alk. 1 Theil) wenigstens 12 Stunden lang, wäscht das Präparat ab, entfernt das Quecksilber durch Jodjodkalium, dieses durch Natriumthiosulfat ( $\frac{1}{2}$ %ige Lösung), wäscht wieder, färbt 1—12 Stunden lang, spült ab und bringt das Präparat durch Gemische von Aceton und Xylol (erst 95 A. + 5 X., dann 70 A. + 30 X.) und reines Xylol in Cedernöl. Diese Methode ist auch für Amöben, Infusorien und Schnitte anwendbar. — S. ferner STERNBERG (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 416), ASSMANN (Münch. Med. Wochenschr. 1909 N. 28 und Dissertation Leipzig 1908), LÖWENTHAL (Arch. Protistenk. 13. Bd. 1908 p. 117), KRASSILTSCHIK (ibid. 14. Bd. 1909 p. 6: für Paraffinschnitte, sehr umständlich) und STEMPPEL (ibid. 16. Bd. 1909 p. 289).

Ein brauchbares Gemisch, aber ohne das Eosin, gewinnt man nach MICHAELIS (l. c. p. 769) durch  $\frac{1}{4}$ stündiges Kochen von 100 ccm 1%iger Lösung von Methylenblau medicinale mit 5 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge, Erkaltenlassen und Neutralisiren mit 5 ccm  $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure. Vor dem Gebrauch wird 1 Theil mit 5 Theilen Eosinlösung (1:1000) gut gemischt. — S. auch SAVINI (ibid. 1. Abth. 48. Bd. Orig. 1909 p. 697).

LAVERAN (C. R. Soc. Biol. Paris (11) Tome 1 1899 p. 250; ibid. Tome 52 1900 p. 549) benutzt das Bleu Borrel: er behandelt gesättigte Lösung von Methylenblau eine Woche lang mit Silberoxyd (frisch aus Silbernitrat durch Natriumcarbonat gefällt und gut ausgewaschen) und mischt zu 1 ccm hiervon unmittelbar vor dem Gebrauch 4 ccm Lösung von Eosin (1:1000) und 6 ccm Wasser. Die gefärbten Präparate bringt er in 5%ige wässerige Lösung von Tannin, trocknet sie und gibt Balsam darüber. Jedoch gibt er (ibid. Tome 55 1903 p. 305) dem Azur den Vorzug. NOCHT (Encyclop. 1. Aufl. p. 786) hält die Fixirung durch Tannin für unnöthig, vielleicht sogar schädlich.

REUTER (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 30. Bd. 1901 p. 254; ibid. 32. Bd. Orig. 1902 p. 845) fällt aus einer mit Alkali behandelten Lösung von Methylenblau durch Eosin das „A-Methylenblau“ aus, löst es in Methylalkohol und fügt vor dem Gebrauch zu 30 Tropfen davon 20 ccm Wasser. Farbstoff und Lösung bei Grüber & Hollborn käuflich; jener nach MICHAELIS (ibid. 30. Bd. 1901 p. 627) nur Methylenazurchlorhydrat. — LEISHMAN (Journ. R. Micr. Soc. London 1901 p. 715) verfährt ähnlich wie Reuter. Dagegen färbt HARRIS (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 34. Bd. Orig. 1903 p. 190) die Präparate zuerst  $\frac{1}{2}$ —2 Stunden lang mit Eosin (1:1000), dann nach gutem Waschen 5—30 Minuten lang mit verdünntem polychromem Methylenblau ( $2\frac{1}{2}$ —5 Theile zu 100 Theilen Wasser) und zieht sie bei Überfärbung mit Unnas Glycerinäthergemisch aus.

S. auch ZETTNOW (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 254; Anat. Anz. 17. Jahrg. 1900 p. 432), ROSIN (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 223; Centralbl.



Phys. 13. Bd. 1900 p. 561—565: über neutrale Farbstoffe, speziell „eosinsaures Methylenblau“); LAURENT (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 201), MAURER (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 28. Bd. 1900 p. 114). WASIELEWSKI & SENN (Zeit. Hyg. 33. Bd. 1900 p. 455), ARGUTINSKY (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 322), MAC NEAL (Amer. Journ. Anat. Vol. 5 1906 Proc. p. 6: Gemisch von Methylenviolett, Methylenblau, Eosin und Methylalkohol), BILLET (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 61 1907 p. 754), MAY (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 158) und LOEFFLER (ibid. p. 201). — Über „Trichromin“ (Methylenblau, Eosin und polychrom. Meth.) s. BETEGH (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 52. Bd. 1909 p. 568).

**321. Lichtgrün S. F.** Ein saurer Farbstoff im Sinne von Ehrlich, löslich in Wasser oder Alkohol, werthvoll als Plasmafärbstoff.

BENDA (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1891 p. 549) färbt Schnitte durch Hoden von Säugethieren 24 Stunden in Safranin, darauf  $\frac{1}{2}$  Minute in Lösung von Lichtgrün (oder **Säureviolett**) 1 g auf 400 ccm Alkohol und bringt sie in Balsam.

Beide Farbstoffe sind sehr zu empfehlen, aber ihre Haltbarkeit scheint ziemlich begrenzt zu sein. Speziell das Lichtgrün gibt nach einer rothen Kernfärbung (z. B. mit Karmalaun) scharfe Kontraste, und man thut gut daran, es nicht zu lange einwirken zu lassen. — PETER (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1898 p. 183) verwendet es nach Eisenhämatoxylin. S. auch PRENANT (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 7 1905 p. 430) und GUIEYSSE (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 62 1907 p. 1212).

**322. Janusgrün** (Diazingrün), ein Safraninazofarbstoff, dient nach MICHAELIS (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1900 p. 565) zur optischen Hervorhebung von Zellkörnclungen in frischen Geweben, die in eine Lösung (1:30 000 in Normalsalzwasser) davon eingelegt werden.

**323. Jodgrün (Hofmanns Grün)** nach GRIESBACH (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 406). Färbt wesentlich wie Methylgrün, ist aber oft stark mit einem violetten Farbstoff verunreinigt und färbt dann das Plasma violett (MAYER in: Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 311). — FISCHER (Fixirung etc. p. 89) geht mit seiner Behauptung, Jodgrün gebe es nicht mehr, und was man als solches verkaufe, sei nur Methylgrün, zu weit; aber entbehrlich ist es jedenfalls.

**324. Anilingrün** soll nach SCHIEFFERDECKER (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 51 und 223) und LIST (ibid. p. 222) besonders gut den Schleim färben.

**Thiophengrün** rühmt KRAUSE (Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 73), **Cörulein** S. LENHOSSÉK (Anat. Anz. 16. Bd. 1899 p. 339). S. auch HEIDENHAIN (ibid. 20. Bd. 1901 p. 37) und RAWITZ (ibid. 21. Bd. 1902 p. 554).

**325. Malachitgrün.** MAAS (Zeit. Wiss. Z. 50. Bd. 1890 p. 530) benutzt es in schwacher alkoholischer Lösung zum Nachfärben der Schnitte, die mit Boraxkarmin vorgefärbt worden sind.

**326. Indulin, Nigrosin, Indigen, Coupiers Blau, Echtblau R. oder B, Blackley Blue, Guernsay Blue u. s. w.** Alle diese Farbstoffe — meist sind sie sauer in Ehrlichs Sinne — werden nur in speziellen Fällen



verwandt, besonders für das Nervensystem — z. B. Pikronigrosin (d. h. Nigrosin und Pikrinsäure), s. § 673 — aber auch für Bindegewebe, s. § 758. S. auch CALBERLA (Morph. Jahrb. 3. Bd. 1877 p. 627) und über Nigrosin und Safranin KOSSINSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1880 p. 61).

RAWITZ (ibid. 26. Bd. 1909 p. 341) verwendet für das Centralnervensystem das Gemisch von 1 g Indulin (grünlich), 10 g Ammoniakalaun und 200 ccm Wasser, ferner (p. 342) das von 2 g Indaminblau, 10 g Natriumsulfat und 200 ccm Wasser; endlich (p. 344) das von 2 g Azosäureblau B, 1 g Brechweinstein, 4 g Oxalsäure und 200 ccm Wasser.

**327. Indulin-Aurantia-Eosin** (Ehrlichs Gemisch C oder **acidophiles Gemisch**): je 2 g Indulin, Aurantia (Hexanitrodiphenylamin) und Eosin in 30 g Glycerin gelöst; entweder läßt man auf dem Gemische die Deckglas-Präparate schwimmen oder gibt einige Tropfen auf die Schnitte und läßt den Objektträger liegen, bis die Färbung gut ist. S. auch NIKIFOROFF (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 189; 11. Bd. 1894 p. 246) und BENSLEY (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 41 1898 p. 376). Ich (LEE) finde, Material aus Flemmings Gemisch färbt sich in 24 Stunden kräftig damit, und die Farbe hält sich in Alkohol besser als die mit Ehrlich-Biondis Gemisch. Meine Objekte färben sich im Allgemeinen wie mit Hämatein-Thonerde (die Kerne dunkelblau, das Plasma hellblau, wo es nicht das Aurantia oder Eosin aufgenommen hat). Die Färbung soll sich gut halten.

ISRAEL (Praktik. Path. Hist. 2. Aufl. Berlin 1893 p. 68) gibt eine komplizierte Art der Bereitung nach mündlicher Mittheilung von Ehrlich an. — FISCHER (Fixirung etc. p. 137) verdammt das Gemisch in Grund und Boden.

**328. Chinolinblau (Cyanin).** RANVIER (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1 1874 p. 786; Traité 1. Ed. p. 58 u. 102) löst es in 90%igem Alkohol und verdünnt die Lösung mit dem gleichen Quantum Wasser. Es färbt die Kerne violett, das Plasma blau, Fett dunkelblau etc.; in Glycerin bleibt nur das Fett gefärbt. Hiernach scheint Ranviers Chinolinblau nicht das zu sein, das gewöhnlich unter diesem Namen geht, wie auch EHRLICH (Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 p. 266) bemerkt. — CERTES hat es zum Färben von Infusorien intra vitam benutzt (§ 864).

**329. Anilinblau und Verwandte.** Die meisten hierher gehörigen Farbstoffe sind in Ehrlichs Sinne sauer (Kalk- oder Natronsalze von Sulfosäuren); im Handel gehen sie als **Methylblau, Baumwollblau, Wasserblau, Methylwasserblau, Chinablau, lösliches Blau, Alkali-blau** etc. Einige jedoch, wie **Spiritblau, Gentianablau 6 B, Opalblau, Bleu de nuit, Bleu lumière, Parmablau** etc., sind basisch. Nur wenige haben für die Mikrotechnik Werth, darunter vor allen das Methylblau.

MANN (Methods p. 216) verwendet das **Methylblau** zugleich mit Eosin in wässriger Lösung: 1%ige Lösung von Eosin 35, von Methylblau 45, Wasser 100 ccm. Eigenthümlicher Weise färbt in den Schnitten oder Trockenpräparaten (von Blut etc.) das Methylblau die Kerne.



Da das Methylblau in Alkohol unlöslich ist, so muß man vor und nach dem Färben das Präparat in Wasser bringen. Die Färbungen sind haltbar, das Gemisch ist es ebenfalls einigermaßen. Nach Mann ist es auch für Material aus Chromgemischen brauchbar. S. ferner unten § 681 (MANN) und § 875 (SHEARER).

Das **Wasserblau** gibt nach MITROPHANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 513) in konzentrierter Lösung eine gute Doppelfärbung mit Safranin. Man nehme es stets vor dem Safranin, sonst zieht es dieses rasch aus. — BETTENDORF (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 310) behandelt die mit Eosin vorgefärbten Schnitte von *Distomum* mit der Lösung von Wasserblau (triphenylrosanilintrisulfosaurem Calcium) in gesättigter Lösung von Pikrinsäure und nennt dies Verfahren eine modifizierte Giesonsche Methode! SCHUBERG (Zeit. Wiss. Z. 87. Bd. 1907 p. 555) läßt es von Blochmann herrühren und ersetzt das Calciumsalz durch das Natriumsalz (0,05%) oder gewöhnliches Anilinblau.

Über Mallorys Färbung mit **Anilinblau** und Orange s. § 757.

Von **Bleu de Lyon** ist das nur in Alkohol lösliche (Phenylrosanilinchlorhydrat) ein basischer Farbstoff, hat aber mir (MAYER) keine besonders guten Resultate ergeben. Die in Wasser löslichen Sorten (z. B. das trisulfosaure Natriumsalz Baumwollblau) färben auf Schnitten das Plasma bereits in Lösungen von 1:1000 kräftig, mögen daher nach Karmalaun oder Boraxkarmin gut sein, kommen aber dem Lichtgrün wohl nicht gleich.

S. auch BAUMGARTEN (Arch. Mikr. Anat. 40. Bd. 1892 p. 515: Bleu de Lyon in absol. Alkohol zur Nachfärbung der Schnitte), TONKOFF (ibid. 56. Bd. 1900 p. 394: in 96%igem Alkohol mit etwas Jod) und SKROBANSKY (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 21. Bd. 1904 p. 20: in Wasser mit Pikrinsäure).

Eine komplizierte Methode zur Färbung mit Anilinblau und Safranin ist die von GARBINI (Z. Anz. 9. Jahrg. 1886 p. 27; Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 170): das Anilinblau wird in den Schnitten erst durch 1%ige Lösung von Ätzzammoniak oder Lithiumcarbonat beinahe entfärbt, dann durch Salzsäure wieder hervorgerufen. — FIEDLER (Zeit. Wiss. Z. 47. Bd. 1888 p. 88) behandelt die mit Bleu de Lyon diffus gefärbten Schnitte durch die Eier von Poriferen mit ammoniakhaltigem Alkohol so lange, bis nur noch die Dotterkörner gefärbt bleiben. — MANN (l. c. p. 217) überfärbt die Schnitte in seinem Methylblau-Eosin (s. oben p. 207), differenziert durch alkalischen absoluten Alkohol und verstärkt eventuell das Blau wieder durch ganz schwache Essigsäure.

**330. Patentblau** (bleu carmin breveté N, von den Höchster Farbwerken). Nach JANSSENS (La Cellule Tome 9 1893 p. 9) zeigt es besondere Verwandtschaft zu den Theilen des Zellplasmas, die sich zur Cuticula differenzieren. J. braucht es in angesäuerter alkoholischer Lösung. Es hält sich in Balsam. — Nach meinen (MAYER) Erfahrungen mit einer mir von H. Lebrun gegebenen Probe färbt es Chitin durchaus nicht elektiv, sondern schwächer als die Muskeln, färbt auch die Kerne. Es wird durch Alkohol roth, durch Säuren wieder blau.

**331. Anilin-Blue-Black** haben Lewis und Andere zum Färben von Nervengewebe empfohlen, geben aber Nichts über seine chemische Konstitution an. (Nach Encyclop. 1. Bd. p. 110 ist es ein englisches Anilinblau.) Das Blue-Black von Grübler & Hollborn ist **Blauschwarz B** (Azoschwarz). HEIDENHAIN



(Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1903 p. 185) braucht dieses oder **Brillantschwarz 3 B** in 1%iger Lösung zum Nachfärben von Schnitten, ferner (ibid. 25. Bd. 1909 p. 407) ein Gemisch von 1 g Blauschwarz, 400 ccm gesättigter Pikrinsäurelösung, 320 ccm Wasser und 80 ccm Methylalkohol zur Färbung des Bindegewebes nach Karmalaun.

**332. Über Benzoazurin** nach ZSCHOKKE (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 468) und MARTIN (ibid. 6. Bd. 1889 p. 193) s. oben § 283.

**333. Methylviolett (Violett B)** wendet MAYER (Sitzungsb. Akad. Wien 85. Bd. 3. Abth. 1882 p. 70) in  $\frac{1}{3}$ %iger Lösung (in  $\frac{1}{2}$ %igem Salzwasser) auf frisches Gewebe (Mesenterium und Serosa von Säugethieren, Hyaloidea von *Rana*) an; die Blutgefäße treten dadurch so lebhaft wie in einem Injektionspräparat hervor. Die Färbung läßt sich nach MAYER (Anat. Anz. 7. Jahrg. 1892 p. 221) durch Einschluß der Präparate in Glycerin mit Ammoniumpikrat (§ 298) einigermaßen konservieren. — Die metachromatische Färbung des Knorpels (und Amyloids) scheint zuerst CORNIL (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 80 1875 p. 1288) bemerkt zu haben. — Über **Kristallviolett** s. unten § 746 (BENDA).

**334. Kresylviolett R.** Es färbt nach EHRLICH & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 51) in den Mastzellen die Körner metachromatisch fast rein braun. — BIELSCHOWSKY & PLIEN (Neur. Centralbl. 19. Jahrg. 1900 p. 1141) verwenden zum Färben der Nervenzellen das Kresylviolett R R in ganz schwacher wässriger Lösung. Die Schnitte bleiben darin 24 Stunden.

HERXHEIMER (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1899 p. 519; ibid. 54. Bd. p. 289) empfiehlt zum Färben von Schnitten durch Haut **Kresylechtviolett**, das die Kerne blau, das Plasma röthlich tingirt.

Über **Säureviolett** s. oben p. 206.

**335. Säure-Alizarinblau BB** oder **-grün G** (beide von Höchst) verwendet RAWITZ (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 393 u. 395): 1 g des Farbstoffs, 10 g Ammoniakalaun, je 100 ccm Glycerin und Wasser. Die Färbung soll echt sein.

**336. Alizarin** nach RAWITZ (Anat. Anz. 11. Jahrg. 1895 p. 294): Doppelfärbung mit künstlichem Alizarin oder mit Alizarincyanin, erfordert spezielle Beizen, die man von den Verfertigern der Farbstoffe beziehen muß, ist äußerst kompliziert und kostet wenigstens mehrere Tage Zeit. — S. auch oben § 268 über die adjektive Plasmafärbung mit Kernfarbstoffen sowie unten § 746 (BENDA).

FISCHEL (Internat. Revue Hydrobiol. Leipzig. 1. Bd. 1908 p. 108; Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 154) benutzt die gesättigte Lösung in Süßwasser zum Färben von Crustaceen und Rotiferen intra vitam im Dunkeln oder hinter Rothglas; bei Zusatz einer Spur HCl zur Lösung färben sich andere Organe als ohne sie oder gar bei Zusatz von etwas HKO. — S. auch NILSSON (Z. Anz. 35. Bd. 1909 p. 196: *Pectinaria*; Färbung unsicher und nicht specifisch für Nerven).

**337. Purpurin** nach RANVIER (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1 1874 p. 761; Traité techn. 1. Ed. p. 280). Purpurin wird in Alaunlösung gelöst. — GRENACHER (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 470) löst den Alaun in Glycerin. — Nach meinen (MAYER) Erfahrungen ist die Färbung zu schwach, um nützlich zu sein.



**338. Indigkarmin.** Es färbt diffus und taugt daher allein nicht, wohl aber in Verbindung mit Karmin zur Doppelfärbung. Man kann dabei entweder mit einer Karminlösung vorfärben oder beide Farbstoffe gleichzeitig anwenden, indem man z. B. nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 320) die Lösung von 1 g Indigkarmin in 500 ccm Wasser (oder 5%iger Alaunlösung) mit dem 4—20fachen an Karmalaun (oder Häkalaun) mischt. Das Indigkarmin färbt dann weder die Kerne noch den Schleim, wohl aber das Plasma, und ist in Balsam haltbar. Die wässrige Lösung des Indigkarmins hält sich nur wenige Monate, dagegen die in Alkohol von 70 % (1:200) Jahre lang.

SEILER (Amer. Q. Micr. Journ. Vol. 1 1879 p. 220) färbt nach Boraxkarmin mit einer äußerst schwachen alkoholischen Lösung von Indigkarmin (2 Tropfen gesättigter wässriger Lösung auf 30 ccm Alkohol).

Karmin und Indigkarmin nach MERKEL (\*Unters. Anat. Inst. Rostock 1874; NORRIS & SHAKESPEARE in: \*Amer. Journ. Med. Sc. 1877; BAYERL in: Arch. Mikr. Anat. 23. Bd. 1885 p. 36; \*MACALLUM in: Trans. Canad. Inst. Vol. 2 1892 p. 222). Nach MAYER (l. c. p. 320) ist die Vorschrift irrationell, unpraktisch und gibt eine stark alkalische, mithin den Geweben schädliche Lösung.

Mit Indigkarmin (1 g), in gesättigter wässriger Lösung von Pikrinsäure (400 ccm) gelöst, färbt CALLEJA (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 323) Schnitte nach Karmalaun oder einem Karminmisch. Fixierung der Plasmafärbung durch rasches Auswaschen in sehr verdünnter Essigsäure. — SCHIEFFERDECKER (ibid. p. 324) stellt diese, bereits 1872 von JULLIEN (\*Lyon médical N. 17) ausgeübte Färbung der mit Säurefuchsin und Pikrinsäure (oben § 308) zur Seite. Nach meinen (MAYER) Erfahrungen mit Unrecht, denn das Gelb und Blau sind als Farben nicht rein und stechen nicht recht scharf gegen einander ab.

Über Indigkarmin und Oxalsäure nach THIERSCH s. Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 150.

---



## 16. Kapitel.

## Färben mit anderen organischen Farbstoffen. Färben und Imprägnieren mit Metallen.

**339. Kernschwarz.** Diese zuerst von PLATNER (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 350) angewandte Flüssigkeit, die bei Grüber & Hollborn zu haben ist, hat MAYER (Lee & Mayer 1. Aufl. p. 202) als eine Eisentinte (Eisen und Gerbstoff) erkannt.

Platner färbt die Schnitte mit ziemlich stark verdünntem Kernschwarz und wäscht sie mehrere Stunden lang in verdünntem Ammoniak oder besser in etwa  $\frac{1}{4}$ -konzentrierter Lösung von Lithiumcarbonat. So werden die Mitosen tief gefärbt, die ruhenden Kerne blasser oder gar nicht. — Ohne Zweifel ist die Behandlung mit Alkalien den Schnitten nicht zuträglich; natürlich kann man die Überfärbung auch durch sauren Alkohol beseitigen. Ähnliche, allerdings nicht so scharfe Färbungen hat Mayer durch Gallussäure in Verbindung mit Eisenchlorid oder Eisenoxydsulfat erzielt. — Die Tinte von SILBERMANN & OZOROWITZ (unten § 629) färbt die Kerne zwar präcis, aber zu schwach.

Man erhält (s. auch LEE in: La Cellule Tome 11 1895 p. 31; 1896 p. 257) sehr gute Doppelfärbungen, wenn man die Schnitte aus dem Kernschwarz erst in Wasser, dann in einen Kernfarbstoff (Safranin, Hämalan etc.) bringt; hierbei wirkt das Kernschwarz aber als Plasmafarbstoff.

Die Färbung hält sich in Balsam gut, aber das Kernschwarz selber setzt nach meinen (MAYER) Erfahrungen sehr bald stark ab. Nach mir (LEE) hingegen hält es sich unbegrenzt lange.

**340. Brasilin** ( $C_{16}H_{14}O_5$ ), das wirksame Prinzip des Roth- oder Fernambukholzes, entspricht dem Hämatoxylin des Blauholzes und oxydirt sich, wie dieses sich zu Hämatein, zu Brasilein.

EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 198) empfiehlt es „mixed as Böhmer's Haematoxylin“. Nach meinen (MAYER) Versuchen färbt es in Verbindung mit Alaun (1 g Brasilin, 0,2 g Natriumjodat, 3 Liter 5%ige Alaunlösung) zwar ähnlich, aber lange nicht so intensiv wie Hämalan oder Karmalan, ist daher als Kernfärbmittel entbehrlich. — MANN (Methods p. 242) scheint diese Ansicht nicht zu theilen. — S. ferner SCHAUDINN (Anh. Abh. Akad. Berlin 1899 p. 11), HEIMANN (Arch. Path. Anat. 152. Bd. 1898 p. 328) und oben § 241 (REICHERT).



**341. Brasilin-Eisen** nach HICKSON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 44 1901 p. 470). Man beizt die Schnitte mit 1%iger Lösung von Eisenalaun in 70%igem Alkohol (nach brieflicher Mittheilung von H. wird 1 g Eisenalaun in 23 ccm warmen Wassers gelöst, die Lösung abgekühlt und mit 77 ccm 90%igen Alkohols gemischt) 1—3 Stunden lang, spült sie mit Alkohol ab und bringt sie auf 3—16 Stunden in  $\frac{1}{2}$ %ige Lösung von Brasilin in 70%igem Alkohol. Meist genügt dann einfaches Auswaschen mit Alkohol.

Die Methode kann ich (MAYER) nach Prüfung von Originalpräparaten empfehlen. Leider wird die Lösung des Eisenalauns schon nach einigen Tagen trübe, ebenso die von Eisenoxydsulfat; die von Eisenchlorid bleibt natürlich klar, aber die Beizung der Schnitte mit ihr ergibt nur eine Kernfärbung. (Diese kommt auch zu Stande, wenn man direkt eine Lösung von Eisenchlorid und Brasilin in Alkohol benutzt.)

**342. Orcein** nach ISRAEL (Arch. Path. Anat. 105. Bd. 1886 p. 169; Praktik. Path. Hist. 2. Aufl. Berlin 1893 p. 72). Das Orcin aus der Flechte *Lecanora parella* wird in ammoniakhaltiger Luft zu Orcein, das die färberischen Eigenschaften eines sauren und eines basischen Farbstoffs vereinigt. Man färbt Schnitte mit der Lösung von 1 g Orcein in 1 g Eisessig und 50 ccm Wasser, wäscht sie in Wasser ab und bringt sie rasch durch absoluten Alkohol in dickes Cedernöl, worin die Präparate definitiv eingeschlossen bleiben. Kerne blau, Plasma roth. — Die Methoden zur Färbung des elastischen Gewebes mit Orcein s. im § 764; über die **Orseille** nach WEDL (Arch. Path. Anat. 74. Bd. 1878 p. 143) s. die früheren englischen Auflagen dieses Buches und Fols Lehrbuch p. 192. — S. auch LAURENT (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 302), RUŽIČKA (ibid. 14. Bd. 1898 p. 455: O. und Gerbsäure) und WOLFF (ibid. 19. Bd. 1903 p. 488). — HEIMANN (Arch. Path. Anat. 152. Bd. 1898 p. 328) färbt Ganglienzellen „subjektiv“ mit einer „nach Analogie des Delafieldschen Hämatoxylin“ hergestellten Lösung.

**343. Überflüssige vegetabilische Farbstoffe.** Ganz veraltet sind das Ribesin von FOL (Lehrbuch p. 183: Häute von *Ribes nigrum* mit 1%iger Alaunlösung gekocht), der Farbstoff aus Rothkohl nach TAIT (\*Journ. Anat. Phys. London Vol. 9 1875 p. 250) und FLESCHE (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 253), sowie der aus *Vaccinium myrtillus* („Myrtillus“) nach LAVDOWSKY (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1884 p. 506). Überflüssig sind ferner das Brombeerroth, Hollunderroth etc. von CLAUDIUS (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 52), die alle, mit einer Spur Schwefelsäure versetzt, als Kernfarbstoffe dienen sollen. — Ich (MAYER) habe im Saft von schwarzen Kirschen 5%igen Alaun aufgelöst und finde, das Gemisch färbt ähnlich dem Hämalaun, aber lange nicht so intensiv.

**344. Charakter der Imprägnirfärbungen.** Unter Imprägnation versteht man (s. APÁTHY in: Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 17) die Art der Färbung, bei der die Färbmaterie in den Geweben als körniges Präzipitat abgelagert wird, so daß die imprägnirten Gewebe undurch-



sichtig werden. Bei der Tinktion wird die Färbmaterie von den Geweben wie gelöst zurückgehalten, zeigt also unter dem Mikroskop keine soliden Theilchen, so daß die Gewebe durchsichtig bleiben. Indessen läßt sich zwischen diesen beiden Arten keine scharfe Grenze ziehen: mehrere von den hier zu erörternden Metallsalzen geben außer Imprägnationen zuweilen eine echte Tinktion (§ 358); umgekehrt liefern etliche der früher behandelten Farbstoffe außer einer Tinktion eine echte Imprägnation. So gibt z. B. Methylenblau in ein und demselben Präparate beides; ebenso ist selbst in guten Goldpräparaten die Farbe an manchen Stellen ein feines solides Präzipitat, an anderen eine durchsichtige Tinktion.

**345. Negative und positive Imprägnationen.** Bei der negativen Imprägnation sind lediglich die Intercellularsubstanzen gefärbt, die Zellen gar nicht oder nur schwach; bei der positiven ist das Umgekehrte der Fall.

Man nimmt an, die negative sei primär, da sie direkt durch die Reduktion des Metalls in den Intercellularräumen bewirkt werde; die positive sekundär (wenigstens beim Silber), denn sie komme dadurch zu Stande, daß sich der metallische Niederschlag der primären Imprägnation in den Gewebsäften wieder löse, und nun diese neue Metalllösung die Zellen färbe. Die sekundäre greife Platz, wenn die Reduktion des Metalls bei der primären nicht kräftig genug sei (s. Hts in: \*Schweizer Zeit. Heilk. 2. Bd. 1862 p. 1; Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 393).

**346. Wirkung des Lichtes auf die Lösungen von Metallsalzen.** Man hält die Lösungen von Metallsalzen gewöhnlich im Dunkeln oder wenigstens in farbigen Flaschen, da man glaubt, daß das Licht sie durch Reduktion des Metalls verderbe. Jedoch wird (s. oben p. 27) wenigstens die Osmiumsäure nicht durch das Licht, sondern den Staub reduziert, darf also unbeschadet jenem ausgesetzt werden, wenn nur diesem absolut der Zugang verwehrt bleibt. Dasselbe scheint von den anderen Metallsalzen zu gelten, und vielleicht werden sogar die Lösungen für die Imprägnationen geradezu besser, wenn man sie dem Licht aussetzt.

Nach L. JOHNSON (Brief an Lee) halten sich alle Lösungen von Metallchloriden oder -nitraten in reinen, weißen, gut geschlossenen Flaschen am Sonnenlichte unbegrenzt lange und werden, so weit Osmium, Uranium, Gold, Silber und Platin in Betracht kommen, durch gute Besonnung wirklich besser. „Alle Photographen sagen mir, ihr Papier versilbere sich gleichmäßiger bei Behandlung mit alter, gut besonnener Lösung von Höllenstein als mit frischer, im Dunkeln gehaltener; ich möchte daher sogar glauben, daß dies einer der Gründe ist, warum Färbungen mit Gold so wenig zufrieden stellen.“ Auch APÁTHY (Mitth. Z. Stat.



Neapel 12. Bd. 1897 p. 722) läßt die Goldlösung am Licht stehen, so lange kein Objekt darin ist.

**347. Beschaffenheit der Gewebe.** Während bekanntlich die meisten Tinktionen an konservierten, d. h. mit Metallsalzen beladenen oder sonst veränderten Geweben ausgeführt werden, imprägniren sich die ganz frischen, d. h. solche, die noch leben oder wenigstens mit keinem Reagens behandelt worden sind, im Allgemeinen am leichtesten und besten. Ja, die meisten Imprägnationen gerathen überhaupt nicht mit Geweben, die nicht in dem angegebenen Sinne frisch sind.

### Silber.

**348. Allgemeines über Silbernitrat (Höllenstein).** Von allen Silbersalzen wird dieses am meisten benutzt. Wir folgen hier den Auseinandersetzungen von RANVIER (Traité 1. Ed. p. 105).

Der Höllenstein wird entweder in Lösung oder fest angewandt. Fest braucht man ihn für Cornea und fibröses Gewebe. Man nimmt das Auge heraus, fährt rasch mit einem Stück Höllenstein über die Cornea, trennt sie los, legt sie in Wasser, reibt mit einem Pinsel das Epithel ab und setzt sie dem Lichte aus. Die Lösung macht man 1% stark, verdünnt sie aber mit dem 2—4fachen Volumen Wasser; ihre Anwendung variirt je nach den Umständen in den Einzelheiten. Eine Membran z. B. spannt man aus, wäscht sie mit destillirtem Wasser, um Albuminate und Blut zu entfernen, und behandelt sie mit der Lösung, aber in direktem Sonnenlicht oder wenigstens bei großer Helle, sonst kommt es zu keiner starken Färbung. Sobald nun die Membran gerade schwärzlich-grau zu werden anfängt, wäscht man sie wieder ab und untersucht sie in einem passenden Medium. War die Lösung zu schwach ( $\frac{1}{500}$  bis  $\frac{1}{1000}$ ), oder das Licht nicht kräftig genug, so resultirt eine allgemeine Färbung anstatt der interstitiellen: am stärksten sind die Kerne gefärbt, weniger das Plasma, noch weniger die Inter-cellularsubstanz. Bei einer guten Imprägnation treten die Zellen, besonders die Kerne gar nicht hervor. Man muß übrigens die Gewebe beim Imprägniren im Silberbade immer bewegen, sonst bilden sich darauf Präzipitate.

Zum Spannen der Membranen benutzen die HOGGANS (Journ. R. Micr. Soc. London Vol. 2 1879 p. 357; Journ. Anat. Phys. Paris 15. Année 1879 p. 54) ein Paar Ringe aus Hartgummi, die genau in einander passen. Später hat sie ETERNOD wieder erfunden (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1897 p. 39). — SOMMER (Arch. Mikr. Anat. 62. Bd. 1903 p. 723) spannt das frische Perikard mit Igel-



stacheln auf einen kleinen Rahmen von Hollundermark, unter den ein mitten durchbohrter Glasstreifen geklebt ist, und beläßt es darauf sogar beim Einbetten in Paraffin.

**349. Lösungen des Silbernitrats.** RANVIER verwendet meist 1:300—500, zur Injektion in Blutgefäße 1:500—800; DUVAL (*Précis* p. 229) 1—3%, RECKLINGHAUSEN (\**Lymphgefäße* Berlin 1862 p. 5) für die Cornea 1:400—500. ROBINSKI (*Arch. Phys. Paris* Tome 2 1869 p. 452) läßt 1:500—1000 eine halbe Minute lang einwirken, ROUGET (*ibid.* Tome 5 1873 p. 38) badet die Gewebe in 1:750—1000 mehrere Male nur je 3—5 Sekunden lang und wäscht sie dazwischen jedesmal mit Wasser ab. — Die HERTWIGS (*Jena. Zeit. Naturw.* 14. Bd. 1880 p. 324) verwenden für Seethiere 1:100, ebenso die HOGGANS (*Journ. Anat. Phys. London* Vol. 15 1881 p. 477) für die Lymphgefäße. — TOURNEUX & HERRMANN (*Journ. Anat. Phys. Paris* 12. Année 1876 p. 200) lassen die Epithelien von Wirbellosen in 3:1000 (oder noch schwächer) 1 Stunde lang und bringen sie gleich in Alkohol von 90%. — WALLENGREN (*Zeit. Wiss. Z.* 70. Bd. 1901 p. 324) versilbert die Innenfläche des aufgespannten Darms von Crustaceen (nach guter Ausspülung mit destill. Wasser) im Dunkeln 10 Minuten lang mit  $\frac{1}{4}$ %iger Lösung und setzt sie nach gründlichem Waschen dem Sonnenlichte aus.

HOYER (*Arch. Mikr. Anat.* 12. Bd. 1876 p. 649) fügt zu einer Silberlösung von bekannter Stärke so viel Ammoniak, bis der Niederschlag sich gerade wieder löst, und verdünnt dann die Lösung, bis sie nur  $\frac{3}{4}$ — $\frac{1}{2}$ % Silbernitrat enthält. Mit diesem Doppelsalz injiziert er hauptsächlich Gefäße (wegen des Endothels), versilbert aber auch Membranen durch Darübergießen. Es imprägnirt nur das Endothel oder Epithel, nicht das Bindegewebe, soll auch die Färbung schärfer machen als die gewöhnlichen Lösungen.

DEKHUYZEN (*Anat. Anz.* 4. Jahrg. 1889 p. 790) wäscht (ähnlich wie Harmer, s. § 353) das Mesenterium des Frosches erst mit einer Lösung von Salpeter (13:1000), bringt es dann auf 3—6 Minuten in  $\frac{1}{4}$ %ige Lösung von Silbernitrat, die 3% Salpetersäure enthält, darauf in diese 3%ige Säure, von hier durch Alkohol von 96% in Nelkenöl, wo sich das Silber bei diffussem Lichte in einigen Minuten reduziert. — REGAUD (*Journ. Anat. Phys. Paris.* 30. Année 1894 p. 719) und NEUVILLE (*Ann. Sc. N.* (8) Tome 13 1901 p. 36) benutzen das Renautsche Gemisch: 5 Vol. 1%iger Lösung von Silbernitrat, 4 Vol. 1%iger Osmiumsäure und 16 Vol. gesättigter Lösung von Pikrinsäure. — S. auch unten § 471.



BERGH (Anat. Hefte 1. Abth. 14. Bd. 1900 p. 392) nimmt für Anneliden ein Gemisch gleicher Theile 1%iger Silbernitratlösung und 1%iger Salpetersäure oder das Gemisch von FISCHER (1%ige Lösung von Silbernitrat 2 Th., Ameisensäure 1 Th., destill. Wasser 1 Th.).

**350. Andere Silbersalze.** ALFEROW (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1 1874 p. 694) verwendet Silberpikrat, -laktat, -acetat oder -citrat in Lösung von 1:800, der auf 800 ccm 10—15 Tropfen der betreffenden konzentrierten Säure zugesetzt sind, damit sich keine Niederschläge von Silber mit den Chloriden, Carbonaten etc. in den Geweben bilden. — REGAUD & DUBREUIL (C. R. Ass. Anat. 5. Sess. 1903 p. 122) versilbern in einer frischen Lösung von Protargol, weil so keine Präzipitate mit Chlorüren oder Albuminaten entstehen. (Nach 2—3 Minuten Fixirung der Gewebe mit Osmiumsäure oder Alkohol; Färbung mit Hämalaun etc. möglich.) Oder sie verwenden ein frisches Gemisch gleicher Theile der 1%igen Lösungen von Protargol und Osmiumsäure.

**351. Reduktion des Silbernitrats.** Sie läßt sich auch in anderen Medien als nur in destillirtem Wasser bewirken.

RECKLINGHAUSEN (Arch. Path. Anat. 19. Bd. 1860 p. 451) bringt die Präparate in schwaches Salzwasser, bevor er sie dem Licht aussetzt. — MÜLLER (ibid. 41. Bd. 1867 p. 120) imprägnirt sie 2—3 Minuten lang im Dunkeln mit 1%iger Lösung von Höllenstein, setzt etwas 1%ige Lösung von Jodsilber (in Jodkalium und Wasser) hinzu, bewegt die Präparate darin hin und her, wäscht sie mit destill. Wasser ab und läßt sie wenigstens 2 Tage lang am Lichte in Höllenstein (1:1000) stehen. — ROUGET (Arch. Phys. Paris Tome 5 1873 p. 38) reduziert in Glycerin oder einem Gemisch von diesem und Alkohol, SATTLER (Arch. Mikr. Anat. 21. Bd 1882 p. 672) in Wasser mit etwas Essigsäure oder Ameisensäure, THANHOFFER (\*Mikroskop, 1880) in Essigsäure von 2%. — KRAUSS bringt die Präparate nach dem Abwaschen in eine hellrothe Lösung von Kaliumhyperpermanganat; sie reduzieren das Silber darin meist sehr rasch, selbst im Dunkeln. — OPPITZ läßt 2—3 Minuten lang  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ %ige Lösung von Zinnchlorid auf sie einwirken, und dann geht die Reduktion rasch vor sich (s. Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 400). — JAKIMOVITSCH (Journ. Anat. Phys. Paris 24. Année 1888 p. 150) überträgt die im Dunkeln versilberten Nerven, sobald sie in Wasser am Licht dunkelbraun geworden sind, auf 2—3 Tage in das Gemisch von Pritchard (100 Wasser, 1 Amylalkohol und 1 Ameisensäure). Sie werden darin zuerst heller, weil etwas Silber gelöst wird, daher muß die Flüssigkeit ab und zu erneuert werden; hat sich alles Silber gelöst, so bleibt in den Nerven eine dunklere Färbung zurück. — S. auch oben p. 215 (DEKHUYZEN) und unten § 797.

GEROTA (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. 1897 p. 433) wäscht das Gewebe gut mit destill. Wasser aus und bringt es erst in eine Lösung von Hydrochinon (mit Natriumsulfit etc.), dann zur Fixirung in eine Lösung von Natriumhyposulfit.

**352. Nachdunkeln.** LEGROS (\*Journ. Anat. Phys. Paris 4 Année 1868 p. 275) wäscht die Präparate nach der Reduktion mit Natriumsulfit, um das



Nachdunkeln zu verhüten. Nach DUVAL (Précis p. 230) dürfen sie in 2%iger Lösung nur wenige Sekunden bleiben und kommen dann in destillirtes Wasser. — S. auch oben p. 216 (GEROTA).

**353. Versilberung von Seethieren.** Wegen der vielen Chloride in ihren Geweben können die Seethiere nicht direkt mit Silbernitrat behandelt werden. HERTWIG (Jena. Zeit. Naturw. 14. Bd. 1880 p. 324) fixirt sie daher mit etwas Osmiumsäure, wäscht sie mit destillirtem Wasser, bis dieses mit Silbernitrat nur noch ein unbedeutendes Präzipitat gibt, und behandelt sie erst dann 6 Minuten lang mit 1%iger Lösung. — HARMER (Mitth. Z. Stat. Neapel 5. Bd. 1884 p. 445) wäscht Bryozoen, Medusen, Hydroiden, *Sagitta*, *Appendicularia*, Schwämme, Anneliden, Fischeier etc. in 5%iger Lösung von Kaliumnitrat (mitunter in 4½%iger Lösung von Natriumsulfat) und behandelt sie dann wie gewöhnlich mit Silbernitrat. — S. auch oben p. 215 (WALLENGREN und DEKHUYZEN).

**354. Imprägnation des Nervensystems.** Hierüber, besonders über die Methode von Golgi, s. Kapitel 29.

**355. Doppelfärbung der Objekte nach der Versilberung.** Die Kerne lassen sich wie gewöhnlich färben, nur dürfen die Färbgemische kein freies Ammoniak enthalten, da sonst das Silber sich wieder löst. Auch sind dazu nur negative Imprägnationen verwendbar, denn falls die Kerne selber Silber enthalten, so nehmen sie keine Farbe mehr an. — Auch Gold läßt sich nach Silber imprägniren, setzt sich jedoch einfach an dessen Stelle, liefert mithin keine Doppelfärbung (s. § 357).

**356. Art des metallischen Niederschlages.** Über die Natur des Niederschlages, den das Silbersalz bei primärer Imprägnirung in den Interzellularräumen hervorbringt, herrscht noch Unklarheit. Nach RABL (Sitzungsb. Akad. Wien 102. Bd. 3. Abth. 1893 p. 349) ist er kein metallisches Silber, da er sich in Natriumhyposulfit löst, wohl aber mag er ein Albuminnitrat oder ein Oxyd des Silbers sein. Nach MACALLUM (Proc. R. Soc. London B Vol. 76 1905 p. 217) kommt er durch die Chloride zu Stande, von denen die Interzellularsubstanzen, auch Recklinghausens Kittsubstanz, außerordentlich viel enthalten, während die Zellkerne ganz frei davon sind. Ähnliches geben ACHARD & AYNAUD (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 61 1906 p. 43) an.

## Gold.

**357. Imprägnation mit Gold.** Das Goldchlorid gibt im Gegensatz zum Höllenstein in der Regel positive Imprägnationen (§ 345); negative wohl nur, wenn man es an die Stelle des in den Geweben



negativ niedergeschlagenen Silbers treten läßt. Zu diesem Zwecke imprägnirt man die Objekte leicht mit Höllenstein, reduziert diesen, läßt einige Minuten lang  $\frac{1}{2}$  %ige Lösung von Goldchlorid einwirken und reduziert nochmals in angesäuertem Wasser.

Diese Methode ist indessen nur wenig gebräuchlich, und wenn man von der Färbung der Cornea und des Bindegewebes absieht, so dient das Goldchlorid fast nur zur Imprägnirung des Nervengewebes, wofür es eine bemerkenswerthe Elektivität zeigt. Aber lange nicht jede Vergoldung gelingt; ferner verdienen auch die besten Vergoldungen nur so weit Glauben, wie sie etwas zeigen, beweisen dagegen nicht, daß Dinge, die sie nicht zeigen, auch nicht existiren.

**358. Tinktion mit Gold.** Nach APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 718) gibt die Vorvergoldung, d. h. die Vergoldung frischer Gewebe, die entgegengesetzten Resultate von der Nachvergoldung, d. h. der Vergoldung nach dem Fixiren. Bei jener nämlich bleiben in den Zellen die Kerne fast farblos, während das Plasma sich ziemlich stark färbt; in den Muskeln sind die Primitivfibrillen sehr blaß bis farblos, und die Nerven werden (mit Ausnahme der Myelinscheiden) dunkel roth-violett, sodaß der Achsencylinder nur als Ganzes deutlich hervortritt. Dagegen liefert die Nachvergoldung der fixirten Gewebe eine scharfe Kernfärbung, während das Plasma blasser wird; die Myofibrillen sind lebhaft kirschroth, die Neurofibrillen intensiv schwarz und von der Interfibrillärsubstanz scharf unterschieden.

Beide Arten der Vergoldung müssen eine reine Tinktion (von Hellrosa bis Dunkelviolett) bewirken; nur in den Myelinscheiden lagert sich unter Umständen das Gold in Körnchen ab. Die Tinktion scheint darauf zu beruhen, daß sich aus dem Goldchlorid zunächst Goldoxyd ( $\text{Au}_2\text{O}_3$ ) bildet und als solches oder als Metall mit den Geweben verbindet. Damit das geschehen könne, muß das Licht das Gewebe von allen Seiten her vollkommen und möglichst ungeschwächt durchdringen, also müssen die Objekte entweder Membranen u. dgl. oder Schnitte sein. Von der Lösung des Goldsalzes (§ 359) bedarf man etwa 10 mal so viel, wie das Volumen des Objektes beträgt; sie ist noch so lange gut, wie sie ihre Farbe beibehält; da sie die Gewebe etwas kontrahirt (frische sogar stark), so sind die Objekte vorher auszuspannen oder sonst wie zu befestigen, jedoch so, daß das Licht ungehindert hindurch kann. Nach dem Goldbade werden sie in verdünnte Ameisensäure (1 Theil der Säure von 1,223 spez. Gew. auf



100 Th. destill. Wasser) gebracht und dürfen darin nur möglichst wenig bewegt werden, damit der purpurne Farbstoff, der aus dem Goldchlorid am Licht entsteht, nicht aus den Geweben herausgeschwemmt wird; auch müssen sie im sauren Wasser so aufgestellt werden, daß das Licht von allen Seiten hinzu kann. Die Belichtung (im Winter durch direkte Sonne, im Sommer durch diffuses Tageslicht) darf die Objekte höchstens auf 20° C. erwärmen; sie daure im Winter mindestens 8, im Sommer mindestens 6 Stunden hintereinander, nur gelegentlich im Winter mehr als 24 Stunden.

Beiderlei Vergoldungen sind absolut dauerhaft; nur freies Chlor, Brom oder Jod bleichen sie, sonst aber darf man die Präparate maceriren, färben und einschließen, wie man will.

**359. Käufliche Goldsalze.** Nach SQUIRE (Methods p. 43) ist in England das Goldchlorid des Handels nicht das reine Chlorid,  $\text{AuCl}_3$ , sondern Goldchloridnatrium mit ungefähr 50% metallischen Goldes; das Goldchloridnatrium aber des Handels ist obiges Doppelsalz mit dem gleichen Gewicht Kochsalz gemischt. In Deutschland hingegen enthält nach GRÜBLER & HOLLBORN (laut Mittheilung an Mayer) das Aurum chloratum fuscum etwa 53%, das flavum nur 48% Gold; in beiden darf außer dem Goldchlorid nur Wasser und Salzsäure vorhanden sein, und dies gilt von den Grüblerschen Präparaten. Das reine Auronatr. chlor. enthält 14,7% Kochsalz und 49,4% Gold, im Handel gibt es aber auch Sorten mit viel mehr Kochsalz.

#### A. Vorvergoldung.

**360. Beschaffenheit der Gewebe.** Während man allgemein ganz frische Gewebe der Vergoldung unterzieht, liefern nach DRASCH (Sitzungsb. Akad. Wien. 82. Bd. 3. Abth. 1881 p. 171, 88. Bd. 3. Abth. 1884 p. 534; Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 492) solche, die nach dem Tode 12 bis 48 Stunden an einem kühlen Orte gelegen haben, bessere Resultate. D. glaubt, daß bei der Vergoldung die organischen Säuren vielleicht nur die Gewebe etwa in denselben Zustand versetzen sollen, worin man sie einige Zeit nach dem Tode von selbst findet, d. h. wo die Nerven für die Imprägnation mit Gold besonders empfänglich sind.

**361. Goldchlorid und Essigsäure.** COHNHEIM (Arch. Path. Anat. 38. Bd. 1867 p. 348; Strickers Handb. Gew. p. 1100) legt das frische Gewebe in 1/2%ige Lösung von Goldchlorid, bis es gelb geworden ist, setzt es dann in



saurem Wasser dem Lichte aus, bis das Gold gut reduziert ist, was spätestens in einigen Tagen geschieht, und bringt es in angesäuertes Glycerin.

Diese Methode gibt oft sehr gute Resultate, färbt manchmal aber die Kerne oder das Plasma, zuweilen auch die Intercellularsubstanz ähnlich wie Silber. Auch ist die Vergoldung gar nicht dauerhaft.

**362. Goldchlorid und Ameisensäure.** LÖWIT (Sitzungsb. Akad. Wien 71. Bd. 3. Abth. 1875 p. 372) bringt die Gewebe durch Ameisensäure von 1,12 sp. Gew. zum Quellen, legt sie auf einige Minuten in das Goldchlorid (1—1½ % ige wässrige Lösung) und nun auf 24 Stunden in verdünnte Ameisensäure (1 Theil auf 1—3 Th. Wasser) im Dunkeln. — Ähnlich verfährt FISCHER (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1875 p. 366). — KÜHNE (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 495) reduziert in 50 % igem Glycerin mit  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  Volumtheil Ameisensäure.

RUFFINI (Monit. Z. Ital. Anno 13 1902 p. 103) läßt die Gewebe in 20—25 % iger Ameisensäure ganz durchsichtig werden, trocknet sie etwas ab, überträgt sie auf 20—30 Minuten in 1 % ige Lösung von Goldchlorid im Dunkeln, bewegt sie darin alle 5 Minuten, trocknet sie wieder ab, legt sie von Neuem auf 24 Stunden in die Ameisensäure (ebenfalls im Dunkeln) und von da nach nochmaligem Abtrocknen auf etwa 8 Tage in Glycerin. Dann erst macht er davon Zupfpräparate oder bringt die Objekte durch Alkohol etc. in Paraffin. (Überfärbung läßt sich durch vorsichtige Anwendung von gelbem Blutlaugensalz oder Cyankalium, beides in Glycerin gelöst, heben.) Die Methode versagt bei parenchymatösen Organen völlig. — CECCHERELLI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 25. Bd. 1908 p. 274) nimmt zu Anfang statt der reinen Am. ein Gemisch von dieser (2 Theile) und 4 % igem Formol (1 Theil).

RANVIER (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 20 1880 p. 456; Traité 1. Ed. p. 826) legt, da die Ameisensäure zu Anfang den Endzweigen der Nerven schadet, die Gewebe in ein Gemisch von 4 Theilen des 1 % igen Goldchlorids und 1 Theil Ameisensäure (das zur Erleichterung der Reduktion aufgekocht und wieder kalt geworden ist) bis zur völligen Durchtränkung (Muskeln 20 Minuten, Epidermis 2—4 Stunden) und läßt das Gold sich entweder am Licht in angesäuertem Wasser, oder im Dunkeln in verdünnter Ameisensäure (1 Th. auf 4 Th. Wasser) reduzieren.

**363. Goldchlorid und Citronensaft.** RANVIER (Traité 1. Ed. p. 813) legt die Gewebe in frischen, durch Flanell filtrirten Saft, bis sie durchsichtig werden (Muskeln in 5—10 Minuten), wäscht sie rasch in Wasser, bringt sie auf 20 Minuten in Goldchlorid (1 %), wäscht sie wieder und setzt sie (in 50 ccm destill. Wasser und 2 Tropfen Essigsäure) 24—48 Stunden dem Licht aus. Die Präparate dunkeln aber stark nach. Will man sie dauerhaft haben, so muß man die Reduktion im Dunkeln in nur einigen Kubikcentimetern verdünnter Ameisensäure (1 Th. Säure auf 4 Th. Wasser) geschehen lassen, was 24 Stunden dauert.



**364. Osmiumsäure und Goldchlorid.** VIALLANES (Ann. Sc. N. (6) Tome 14 1883 p. 42) behandelt die Gewebe mit 1%iger Osmiumsäure, bis sie eben braun werden, dann mit 25%iger Ameisensäure 10 Minuten lang, legt sie auf 24 Stunden im Dunkeln in Goldchlorid (1:5000 oder noch viel schwächer) und reduziert sie am Licht in 25%iger Ameisensäure. Nach meinen (LEE) Erfahrungen ist die Methode ausgezeichnet.

KERSCHNER (Arch. Mikr. Anat. 71. Bd. 1908 p. 522) läßt die Muskeln sich im Gemische von 10 Th. 5%iger Ameisensäure und 1 Th. 2%iger Osmiumsäure bräunen, wäscht sie aus, bringt sie auf 2—6 Stunden in 1%iges Goldchlorid im Dunkeln, wäscht sie wieder, legt sie in 20—25%ige Ameisensäure erst 12 Stunden im Dunkeln, dann 24 Stunden am Licht, fügt allmählich Glycerin hinzu und bewahrt sie in 50%igem Glycerin (plus 1% Formol) auf. Oder er behandelt vor der Vergoldung die Muskeln 15—20 Minuten lang mit dem Gemische von 5 Th. Formol, 5 Th. Ameisensäure und 100 Th. Wasser.

**365. Andere ältere Methoden.** Die vielen anderen Methoden weichen von den aufgeführten hauptsächlich in der Art ab, wie man die Reduktion zu erleichtern bestrebt war. So verwendet BASTIAN (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 402) das Goldchlorid in Lösung von 1:2000 (dazu auf je 75 ccm 1 Tropfen Salzsäure) und läßt die Reduktion sich im Gemisch gleicher Theile von Alkohol und Ameisensäure warm vollziehen. — HÉNOQUE (\*Arch. Phys. Paris 3. Année 1870 p. 397) imprägnirt mit  $\frac{1}{2}$ %igem Goldchlorid, wäscht 12—24 Stunden in Wasser und reduziert bei 40—50° mit fast gesättigter Lösung von Weinsäure; oft genügt hierzu schon  $\frac{1}{4}$  Stunde.

HOYER (Arch. Mikr. Anat. 9. Bd. 1873 p. 222) durchtränkt die Cornea mit  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Goldchloridkalium und legt sie zur partiellen Reduktion (bis sie schwach graublau wird) auf 16—24 Stunden in 30—60 ccm dest. Wasser mit 1—2 Tropfen eines Pyrogallol-Entwicklers, oder läßt sie bis zur völligen Reduktion im Brütoven in gesättigter Lösung von Weinsäure. — CIACCIO (Arch. Ital. Biol. Tome 3 1883 p. 75) verwendet Goldchloridcadmium in 1%iger Lösung.

FLECHSIG (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1884 p. 453) reduziert in 10%iger Natronlauge. — NESTEROFFSKI (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 404) behandelt die Präparate nach der Imprägnation mit Schwefelammonium und beendet die Reduktion in Glycerin. — BÖHM (Arch. Mikr. Anat. 21. Bd. 1882 p. 146) reduziert in Pritchards Gemisch (1 Amylalkohol, 1 Ameisensäure, 98 Wasser). — MANFREDI (\*Arch. Ophth. 28. Jahrg. 1. Abth. 1882 p. 205) legt die frischen Muskeln auf  $\frac{1}{2}$  Stunde in  $\frac{1}{2}$ %iges Goldchlorid, dann bei 36° C. in  $\frac{1}{2}$ %ige Oxalsäure, läßt sie dann abkühlen und hebt sie in Glycerin auf. Sonniges warmes Wetter ist dabei nöthig. — BOCCARDI (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 492) legt zur Reduktion die Gewebe im Dunkeln auf 2—4 Stunden in Oxalsäure (3:1000) oder das Gemisch von 5 ccm Ameisensäure, 1 ccm 1%iger Oxalsäure und 25 ccm Wasser. — KOLOSSOW (ibid. 5. Bd. 1888 p. 52) imprägnirt 2—3 Stunden lang mit 1%igem Goldchlorid, das mit 1% Salzsäure vermischt ist, und reduziert 2—3 Tage lang im Dunkeln in Chromsäure von 1:5000—10000.



Die Vergoldung von entkalkten Zähnen s. bei UNDERWOOD (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 815). — Nach GEBERG (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 10. Bd. 1893 p. 231) erleichtert die Behandlung der Gewebe mit Kalkwasser (nach Arnstein) 24 Stunden lang die Reduktion sehr. — BERNHEIM (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1892 Suppl. p. 19) fügt zu 10 ccm von Löwits verdünnter Ameisensäure ein Körnchen frischen schwefligsauren Natriums ( $\text{NaHSO}_3$ ).

Über Vergoldung durch Kochen s. unten § 534 (SANDMANN).

**366: Vorvergoldung** nach APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 728). Das frische Objekt kommt im Dunkeln in 1%ige Lösung von Aur. chlor. auf mindestens 2 Stunden (sehr dünne Membranen bis über Nacht), dann direkt auf 24 Stunden in 1%ige Ameisensäure und wird nun in ihr 6—8 Stunden lang allseitig belichtet. Nach der 1. Stunde kann man die Säure wechseln, bewege aber dabei das Objekt möglichst wenig. Nachher direkter Einschluß in Glycerin oder Gummisyrup (§ 402). Auch schon einige Zeit todte oder in Ranviers Drittelalkohol macerirte Objekte (z. B. die elektrischen Platten von *Torpedo*) liefern noch gute Präparate.

### B. Nachvergoldung.

**367. Goldchloridkalium.** GERLACH (Strickers Handbuch d. Gewebelehre p. 678) härtet kleine Stücke Rückenmark 15—20 Tage lang in 1—2%iger Lösung von Ammoniumbichromat und bringt die Schnitte auf 10—12 Stunden in eine mit Salzsäure ganz schwach angesäuerte Lösung von Goldchloridkalium (1 : 10000 Wasser), wäscht sie in Salzsäure (1 : 2000—3000), dann in saurem (1 : 1000) 60%igem Alkohol und bringt sie in Balsam. (Oder er macht mit dem Rasirmesser dünne Schnitte durch frisches Rückenmark, legt sie auf 2—3 Tage in Ammoniumbichromat (1 : 5000—10000), dann auf 24 Stunden in ganz schwaches Ammoniakkarmin, zerzupft sie und schließt die isolirten Nervenzellen in Glycerin oder nach dem Austrocknen in Balsam ein.)

GOLGI (Mem. Accad. Torino (2) Tomo 32 1880 p. 382) bringt die in 2%iger Lösung von Kaliumbichromat gehärteten Gewebe auf 10—20 Minuten in 1%ige Lösung von Arsensäure, bis sie durchsichtig werden, dann auf 20—30 Minuten in  $\frac{1}{2}$ %iges Goldchloridkalium, wäscht sie mit Wasser und reduziert sie an der Sonne 24—30 Stunden lang in der Arsensäure, die er, so bald sie braun wird, wechselt. Einschluß in Glycerin. — KÜHNE (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 495) legt die Muskeln in ein Gemisch von Goldchloridkalium  $\frac{1}{4}$ % und Osmiumsäure  $\frac{1}{10}$ %.



**368. Apáthys Methode für Neurofibrillen** (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 729). Die Gewebe von Wirbellosen werden in Sublimat (konzentrierter Lösung in  $\frac{1}{2}$  %igem Salzwasser) oder Sublimatalkohol (oben § 62d) höchstens 12 Stunden lang fixirt, die von Wirbelthieren hingegen (nur 1 mm dicke Stücke!) in einem Gemische gleicher Theile Sublimat (in  $\frac{1}{2}$  %igem Salzwasser) und 1 %iger Osmiumsäure, das aber erst vor dem Gebrauch hergestellt wird. (Damit die Osmiumsäure nicht zu stark schwärze, müssen alle Operationen mit den Objekten bis zum Einbetten in Paraffin im Dunkeln geschehen.) Dann werden sie mit wässriger Lösung von Jodjodkalium 6—8 Stunden lang ausgewaschen, in 95 %igen Alkohol bis über Nacht gelegt, nochmals mit Jodjodkalium ( $\frac{1}{2}$  % J und 1 % KJ in Alkohol) behandelt und entweder (durch Chloroform, oder Chloroform 4 Theile und Äther 1 Theil) in Paraffin oder in Celloidin eingebettet. Die aufgeklebten Paraffinschnitte bringt man durch Chloroform etc., die Celloidinschnitte durch Bergamottöl etc. (§ 201) auf 2—6 Stunden in destillirtes Wasser (oder nach dem Abspülen mit Wasser auf 1 Minute in 1 %ige Ameisensäure und nach nochmaligem Abspülen in das Goldbad), dann auf 24 Stunden, mindestens über Nacht, in das 1 %ige Goldbad, taucht sie kurz in destillirtes Wasser oder wischt die Goldlösung mit Filtrirpapier vom Objektträger ab, und stellt nun jeden Objektträger für sich in einem Tubus voll 1 %iger Ameisensäure schräg so auf, daß die Schnitte (von 7—10  $\mu$ ) nach unten schauen, damit sich nicht Gold auf ihnen niederschlägt. Nach der Belichtung Färben und Einschließen beliebig.

Nach meinen (LEE) Erfahrungen kann man vorteilhaft in einer schwachen Lösung von Formaldehyd (mit oder ohne Ameisensäure) reduzieren.

Alle Operationen bis zum Einbetten sind möglichst rasch vorzunehmen. In Paraffin halten sich die zu vergoldenden Objekte unbegrenzt lange, in Celloidin nur dann, wenn man den Block in Glycerin-gelatine aufhebt, auf die man etwas Thymol (gegen den Schimmel) legt.

**369. Konserviren der vergoldeten Präparate.** Zum Einschluß der Präparate dient entweder Balsam, angesäuertes Glycerin (1 % Ameisensäure) oder Gummisyrup (§ 402). Leider werden sie, auch wenn die Reduktion vollendet war, nachträglich oft schwarz. Dies läßt sich nach Ranvier dadurch vermeiden, daß man sie einige Tage lang in Alkohol legt. Die zu schwarz gewordenen kann man zur Noth mit Cyankalium ( $\frac{1}{2}$  % nach Cybulski) oder rothem Blutlaugensalz (schwache Lösung nach Redding) bleichen.



### Andere Metalle.

**370. Osmiumsäure und Pyrogallussäure oder Holzessig.** LEE (La Cellule Tome 4 1887 p. 110) bringt die Gewebe aus der Osmiumsäure in schwache Lösung von Pyrogallussäure; hierin werden sie oft sehr gut grünlich schwarz, oft aber auch total schwarz. — HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 570) fixirt die Gewebe 1 oder 2 Tage lang in seiner Platin-Essig-Osmiumsäure (§ 73), wäscht sie gründlich mit Wasser, härtet sie in Alkohol und legt sie auf 12—18 Stunden in rohen Holzessig, der recht braun sein und schlecht riechen muß (Anat. Hefte 2. Abth. 2. Bd. 1893 p. 28). Ich (LEE) dagegen fixire sie im Gemisch von Hermann oder Flemming  $\frac{1}{2}$  Stunde lang und bringe sie dann direkt in den Holzessig, besser noch in eine schwache Lösung von Pyrogallussäure; kleine Objekte auf höchstens 1 Stunde, größere auf bis zu 24 Stunden. (Man kann auch eine alkoholische Lösung nehmen.)

Man erreicht so eine gute Kern- und Plasmafärbung; für das Chromatin hat man zwar keinen besonderen Farbstoff mehr nöthig, kann aber Safranin anwenden (24 Stunden färben, dann saurer und neutraler Alkohol). An Invertebraten wird das Nervengewebe mitunter sehr schön differenzirt. Auch ist die Methode sehr bequem und mit Pyrogallussäure sehr sicher (mit Holzessig nicht immer).

Bei der Methode von Hermann handelt es sich nicht um eine Reduktion des Osmiums, sondern um eine Färbung durch Stoffe im rohen Holzessig. Denn H. hat dieselben Resultate an Material aus Sublimat oder Alkohol bekommen (Anat. Hefte 2. Abth. 1. Bd. 1892 p. 7). — RAWITZ (Lehrbuch p. 60) verwendet 20%ige wässrige Lösung von Tannin. — Die Methode mit dem Holzessig wird auch wohl Mährenthal zugeschrieben. — AZOULAYS Modifikation für markhaltige Nerven s. unten § 704, die von HELLER & GUMPERTZ in: Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1896 p. 385. — S. auch KOLOSSOW (ibid. 9. Bd. 1892 p. 38 und 1893 p. 316).

**371. Osmiumsäure und Oxalsäure** nach BRÖSIKE (Centralbl. Med. Wiss. 16. Jahrg. 1878 p. 833). Man legt die Objekte aus der Osmiumsäure auf wenigstens 24 Stunden in wässrige Lösung von Oxalsäure (1:15) und erhält so eine rothe Färbung.

**372. Eisenchlorid.** Es gibt nach POLAILLON (\*Journ. Anat. Phys. Paris 3. Année 1866 p. 43) zuweilen gute Resultate: in den peripheren Ganglien färben sich nur die nervösen Elemente, nicht auch das Bindegewebe. Imprägnation mit Eisenchlorid; dann Tannin, Gallus- oder Pyrogallussäure.

Die HOGGANS (Journ. R. Micr. Soc. London Vol. 2 1879 p. 358) fixiren das Objekt mit Höllenstein, lassen sich das Silber etwas reduzieren, entwässern das Präparat mit Alkohol, bringen es in 2%ige alkoholische Lösung von Eisen-



chlorid, nach einigen Minuten in eine gleiche von Pyrogallussäure, endlich nach genügender Schwärzung in Glycerin. — S. auch oben § 76 (FOL) und § 339, sowie UNNA & GOLODETZ (Monatsch. Prakt. Derm. 49. Bd. 1909 p. 97).

GOLODETZ & UNNA (ibid. 48. Bd. 1909 p. 153) legen Hautschnitte auf 5 Minuten in ein frisches Gemisch von 1%igem Eisenchlorid und 1%iger Lösung von Ferricyankalium; wird dieses hingegen mit Salz- oder Essigsäure versetzt, so fällt das Bild der Oberhaut invers aus.

**373. Chlorpalladium** nach SCHULZE (s. oben § 74). **Berlinerblau** nach LEBER (\*Arch. Ophthalm. 14. Bd. 1868 p. 300) und RANVIER (Traité 1. Ed. p. 108), nach LIST s. unten § 634. **Ferrocyan kupfer** oder **Bleichromat** nach Leber (ibid.). **Schwefelmetalle** nach LANDOIS (Centralbl. Med. Wiss. 3. Jahrg. 1865 p. 867; Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 497). **Ammoniummolybdat** nach MERKEL und KRAUSE (ibid. p. 96; Fol, Lehrbuch p. 180); nach HEINE (Zeit. Phys. Chemie 22. Bd. 1896 p. 132: „salpetersaure Ammoniummolybdatlösung“, nachher Zinnchlorür). **Rutheniumoxychlorid** nach NICOLLE & CANTACUZÈNE (Ann. Inst. Pasteur Tome 7 1893 p. 331). **Rutheniumroth** nach EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 200). **Manganoxyd** nach GOLODETZ & UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 48. Bd. 1909 p. 151).

Über die Imprägnation mit **Fetten** nach ALTMANN s. § 541.



## 17. Kapitel.

**Flüssige und feste Medien zum Untersuchen und Einschließen der Objekte.**

**374. Einleitende Bemerkungen.** In diesem Kapitel sollen die Medien besprochen werden, worin ein Objekt mit dem Mikroskop untersucht werden kann. Eine besondere Gruppe brauchen die Einschließ-media nicht zu bilden, denn man kann in alle präservirenden Medien einschließen; allerdings sind die einzigen, die eine absolut sichere Erhaltung weicher Gewebe verbürgen, Harze (s. § 415 ff.). Über die Herstellung der Dauerpräparate mit flüssigen Medien s. § 431 ff.

**Wässerige oder alkoholische Medien.**

**375. Destillirtes Wasser.** Um es vor dem Verderben zu bewahren, schließe man das Vorrathgefäß mit einem Kork, durch den ein kurzes offenes Rohr geht, dessen anderes Ende nach unten gebogen ist. So hat wohl die Luft, nicht aber der Staub freien Zutritt. Das Wasser kann ohne Schaden zur Untersuchung von Geweben, die mit Osmiumsäure, Chromsäure oder Salzen der Schwermetalle konservirt worden sind, gebraucht werden, taugt dagegen absolut nicht für frische Gewebe. Es ist durchaus nicht indifferent: die Endorgane der Nerven verändern sich darin erheblich, die rothen Blutkörperchen gehen darin zu Grunde, etc.

**376. Allgemeines über die „indifferenten“ Medien.** Kein einziges Medium ist ohne Wirkung auf die Gewebe, ausgenommen der Saft, der sie im Leben umgibt, und selbst dieser ist es nur, so lange er in situ wirkt; bringt man hingegen ein Stück frischen Gewebes auf den Objektträger, so schafft man schon künstliche Bedingungen. Daher gibt es keine wirklich indifferenten Medien.

Um Wasser für frische Gewebe unschädlich zu machen, muß man ihm so viele Salze und Kolloide zusetzen, daß es dem Gewebesaft möglichst ähnlich wird. Diese Isotonie wird schon einigermaßen



durch Zusatz von Eiweiß und Kochsalz herbeigeführt, der natürlich je nach dem Objekte verschieden groß sein muß.

**377. Normalsalzwasser** (sogenannte physiologische Salzlösung): 0,75% Chlornatrium in destillirtem Wasser gelöst. CARNOY empfiehlt den Zusatz einer Spur von Osmiumsäure.

LOCKE (Centralbl. Phys. 10. Bd. 1896 p. 514) setzt zur isotonischen Lösung von Chlornatrium (diese ist nach HAMBURGER 0,9 bis 1%) 0,01% Chlorkalium und 0,02% Chlorcalcium. Für die Erythrocyten empfiehlt MALASSEZ (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 3 1896 p. 504 und 511) etwa 1%, für das Blut von *Rana* und *Petromyzon* DEKHUYZEN (Anat. Anz. 19. Bd. 1901 p. 533) 0,8%, für das von Säugern 0,9—0,95% Chlornatrium, für das von *Homo* WEIDENREICH (Arch. Mikr. Anat. 61. Bd. 1902 p. 472) nur 0,65%. — BREYER (Arch. Gesamte Phys. 99. Bd. 1903 p. 490) beobachtet das Flimmerepithel von *Rana* in Ringers Gemisch: Wasser 100 ccm, Chlorcalcium, Natriumbicarbonat und Chlorkalium je 0,02 g, Chlornatrium 0,8 g (mit oder ohne 0,1 g Dextrose).

Für die Selachier der Nordsee gibt MUSKENS (Tijd. Nederl. Dierk. Ver. (2) Deel 4 1894 p. 314) 2¼% Chlornatrium an; RODIER (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 131 1900 p. 1009) hat je nach der Species 1,5—2,6% ermittelt, BOTTAZZI (Arch. Fis. Firenze Vol. 3 1906 p. 501) 2% Chlornatrium, BAGLIONI (Centralbl. Phys. 19. Bd. 1905 p. 386) dasselbe plus 2,2% Harnstoff (zur Lösung muß aber Leitungswasser genommen werden); DAKIN (Biochem. Journ. London Vol. 3 1908 p. 258 u. 473) läßt ihr Blut ungefähr dem Seewasser entsprechen.

Für die wirbellosen Wasserthiere scheint allgemein das äußere Medium isotonisch zu sein.

**378. Chlormangan** nach PICTET (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 89): 5—10%ige Lösung von Chlormangan in destillirtem Wasser. — Nach meiner (LEE) Erfahrung ist es ausgezeichnet. Indessen hat die Lösung nur für Seethiere die richtige Konzentration, für Landthiere sollte sie schwächer sein (1—3%).

**379. Jodserum**, von SCHULTZE (Arch. Path. Anat. 30. Bd. 1864 p. 263) eingeführt. RANVIER (Traité 1. Ed. p. 76) läßt frisches Amnioswasser von Säugethieren einige Tage hindurch mit Stückchen Jod unter häufigem Umschütteln in Berührung, oder mischt Serum mit viel Jodtinktur, läßt absetzen, filtrirt und gibt hiervon alle 2—3 Tage ein wenig zu dem Serum, das man benutzen will. Zum Maceriren darf es nur hellbraun sein, verliert es aber dabei seine Farbe, so muß man frisches hinzufügen.

**380. Humor aqueus. Hühnereiweiß.** Beide brauchen nur filtrirt zu werden. Jodirung nach Belieben. Für Sporozoen nimmt WASIELEWSKI (Sporozoenkunde Jena 1896 p. 153) das Gemisch von 20 ccm Hühnereiweiß, 200 ccm Wasser und 1 g Kochsalz, für Cercariäen HOFMANN (Z. Jahrb. Abth. Syst. 12. Bd. 1899 p. 176) 1 Th. Eiweiß und 9 Th. Normalsalzwasser (dazu etwas Kampher).



**381. Künstliches Jodserum** nach FREY (Mikroskop 6. Aufl. Leipzig 1877 p. 75): destillirtes Wasser 270 ccm, Eiweiß 30 ccm, Chlornatrium  $2\frac{1}{2}$  g; man filtrirt und setzt Jodtinktur hinzu.

**382. Künstliches Serum** nach KRONECKER (s. Vogt & Yung, Lehrb. Vergl. Anat. 1888 1. Bd. p. 473): Kochsalz 6 g, Ätznatron 0,06 g, Wasser 1 Liter. — BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 5. Aufl. 1904 p. 4) nehmen statt des Ätznatrons die gleiche Menge Natriumcarbonat.

**383. Blutserum.** MOORE (Journ. Morph. Boston Vol. 13 1897 p. 342) verwendet für *Bdellodrilus*, speziell seine Nephridien, ein Gemisch gleicher Theile von destillirtem Wasser und Blut von *Astacus fluviatilis*.

GARBINI (Manuale Tecn. Mod. Micr. 4. Ed. Milano 1899 p. 75) empfiehlt als „Muschelwasser“ das Blut von Muscheln (mit etwas Natriumsalicylat als Antisepticum). — S. auch MIGULA (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1890 p. 172).

**384. Zuckersaft.** Zucker wird im gleichen Gewicht Wasser heiß gelöst. Gegen den Schimmel setze man 1—7% Chloralhydrat, 1% Karbolsäure oder etwas Formol hinzu.

**385. Chlorealcium** nach SCHACHT (Mikroskop Berlin 1862 p. 279) und HARTING (Mikroskop 2. Aufl. 1886 2. Bd. p. 297): die wässerige Lösung entweder gesättigt oder mit 4—8 Theilen Wasser verdünnt. Bricht das Licht ziemlich schwach (s. oben p. 68) und trocknet nicht ein.

**386. Kaliumacetat** nach M. SCHULTZE (Arch. Mikr. Anat. 7. Bd. 1872 p. 180). Die nahezu gesättigte Lösung in Wasser, trocknet nicht ein, bricht das Licht nicht so stark wie Glycerin (s. oben p. 68) und soll die Schwärzung der mit Osmiumsäure konservirten Objekte verhindern. — O. SCHULTZE (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 7) zerzupft macerirte Gewebe im Gemisch gleicher Volumina von „Kaliumacetat, Methylalkohol und destill. Wasser“ und schließt sie darin mit „Deckglaskitt“ ein.

**387. Chloralhydrat.** Wässerige Lösung: entweder 5% (LAWDOWSKY in: Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 p. 359) oder 1% (MUNSON in: Journ. R. Micr. Soc. London f. 1881 p. 847).

**388. Alkohole.** Zum Einschluß nicht besonders geeignet, da sie schwach nicht gut konserviren, stark aber den Kitt um das Deckglas angreifen. Der Methylalkohol ist wegen seiner schwachen Lichtbrechung (s. oben p. 68) unter Umständen wichtig (s. RABL in: Anat. Anz. 4. Jahrg. 1889 p. 30). S. auch § 386.

**389. Formaldehyd.** S. oben p. 59.

**390. Gemisch von Gilson** (Carnoy, Biologie cellulaire p. 94): 60%iger Alkohol 60 ccm, Wasser 30, Glycerin 30, Essigsäure (15 Th. Eisessig und 85 Th. Wasser) 2 ccm, Sublimat 0.15 g. Nur zum Studium fixirter Objekte, nicht aber zum Aufbewahren (dies gilt auch von den folgenden Gemischen in § 391—393).



**391. Eiweiß und Sublimat** nach GAGE (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 223): Eiweiß 15 ccm, Wasser 200 ccm, Kochsalz 4 g, Sublimat 0,5 g. Zu filtriren und kühl aufzubewahren. Für Blutkörperchen und Flimmerzellen.

**392. Gemische von Pacini** (Giorn. Internaz. Sc. Med. (2) Vol. 2 1880; \*Journ. Microgr. Paris Tome 4 1880 p. 136, 191 und 235). Sublimat ( $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$  %) in Wasser gelöst mit Kochsalz oder Essigsäure. Überflüssig.

**393. Gemisch von Goadby** (s. Harting, Mikroskop 2. Aufl. 1866 3. Bd. p. 418). Eine Lösung von Kochsalz, Alaun und ganz wenig Sublimat in Wasser. Ganz ungeeignet für histologische Zwecke. — **Gemisch von Owen** (Vogt & Yung, Lehrb. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 18). Ähnlich dem vorigen.

**394. Kupfersalze** nach RIPART & PETIT (Carnoy, Biologie cellulaire p. 95): Kampherwasser und dest. Wasser je 75 ccm, Eisessig 1 g, Kupferacetat und Chlorkupfer je 0,30 g. Für zarte frische Gewebe werthvoll; kann auch mit Methylgrün zusammen angewandt werden. Eine Spur Osmiumsäure oder Sublimat erhöht die Wirkung als Fixirmittel. S. auch oben § 86.

**395. Methylgrün.** In starker wässriger Lösung ist es recht gut zum Beobachten frischer Gewebe, die es leidlich fixirt, noch besser allerdings durch Zusatz einer Spur von Osmiumsäure. S. auch § 269.

**396. Gemisch von Wickersheimer** (Z. Anz. 2. Jahrg. 1879 p. 670). Ganz unbrauchbar.

**397. Gemische von Meyer** (Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1876 p. 868): Holzessig mit etwas Salicylsäure darin, dazu viel Glycerin und Wasser. Soll sich gut zum Aufheben von Infusoren, Nematoden, *Hydra* etc. eignen.

**398. Gemisch von Noll** (Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 472): gleiche Theile des einen Gemisches von Meyer (§ 397) und des von Farrants (§ 401). Für kleine Crustaceen, Hydroiden und andere Cölenteraten.

**399. Gemisch von Hoyer** (Biol. Centralbl. 2. Jahrg. 1882 p. 23). Ein hohes Glas mit weitem Halse wird zu  $\frac{2}{3}$  mit Stücken von Gummi arabicum gefüllt und voll gegossen entweder mit Lösung von Kaliumacetat (oder Ammoniumacetat) oder mehrprozentiger Lösung von Chloralhydrat, die 5—10% Glycerin enthält. Unter Umschütteln löst sich das Gummi in einigen Tagen zu einem Syrup, der, durch „Wollpapier“ (dicken Filz von Filtrirpapier) filtrirt, sich lange klar hält; sollten sich Pilze zeigen, so wird das Chloralhydrat zugesetzt und nochmals filtrirt. Das Gemisch mit Chloralhydrat dient für Präparate, die mit Karmin oder Hämateinthonerde gefärbt sind, das andere für die mit Theerfarbstoffen tingirten.

**400. Gemisch von Langerhans** (Z. Anz. 2. Jahrg. 1879 p. 575): Gummi arabicum, Wasser und Glycerin je 5 g, 5%ige Lösung von Karbolsäure 10 g.

**401. Gemisch von Farrants** (\*Beale, How to work etc. p. 58): auserlesene Stücke von Gummi arabicum und Wasser je 10, Glycerin 5 g, dazu ein Stück Kampher oder etwas arsenige Säure.



**402. Gemisch von Apáthy** (s. oben p. 190). Dieses Gemisch von gleichen Gewichtstheilen Gummi, Zucker und 1%iger Formollösung wird von Apáthy zum Einschließen von Präparaten empfohlen. Es wird sehr hart und kann zum Umrahmen von Glycerinpräparaten dienen. Allerdings ist es stark sauer.

Ich (MAYER) habe vor etwa 12 Jahren mit diesem Syrup ein in Methylsalicylat liegendes Präparat umrahmt; es ist noch jetzt unverändert. — Zum direkten Einschluß von Membranen etc. ist er zu dick; man muß vorher Verdünnungen von 1 Theil Syrup und 2 Th. Wasser, 1 Th. Syrup und 1 Th. Wasser, und 2 Th. Syrup und 1 Th. Wasser anwenden. Ein anderer Übelstand ist, daß sich namentlich bei großen Gewebstücken in das Präparat leicht Luftblasen einschleichen und (im Gegensatze zum Balsam) nicht mehr daraus entweichen.

JACKSON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 14 1874 p. 139) setzt dem Zuckersyrup, um das Kristallisiren zu verhüten, 3—4% Chlorcalcium zu. Nach meinen (MAYER) Erfahrungen vergeblich.

**403. Gemisch von Fabre-Domergue** (\*La Nature 1889 No. 823): Syrup von Traubenzucker (spez. Gew. 1,20) 10, Methylalkohol 2, Glycerin 1 Theil, Kampher, so viel sich löst. Mit etwas Soda oder Pottasche zu neutralisiren. Es soll fast alle Farben unverändert konserviren.

**404. Gemisch von Brun** (\*Fabre-Domergue, Prem. principes du microscope Paris 1889 p. 123): destill. Wasser 14, Traubenzucker 4, Kampherspiritus und Glycerin je 1 Theil; der ausfallende Kampher wird abfiltrirt. — Nach HENNEGUY zieht es die Theerfarbstoffe, auch Methylgrün, nicht aus.

**405. Lävulose** (Fruchtzucker), bereits von WEDL (Arch. Path. Anat. 74. Bd. 1878 p. 143) angewandt, wird von SCHIEFFERDECKER (Das Mikroskop etc. 1889 p. 224) empfohlen. Sie kristallisirt nicht, schadet den Färbungen mit Karmin und Theerfarbstoffen nicht und bricht das Licht etwas stärker als das Glycerin. Die Objekte kann man direkt aus Wasser hineinlegen.

MICHAELIS (Encyclop. 2. Bd. p. 79) löst den Fruchtzucker warm in etwas weniger als der gleichen Menge Wasser und rühmt dem Syrup nach, daß er rasch eindringe, auch die metachromatischen Färbungen nicht schädige und allmählich ganz fest werde, also keinen Lackrand nöthig mache.

**406. Laktophenol** nach AMANN (Phenol und Milchsäure je 20, Glycerin 40, Wasser 20 g) wird von LANGERON (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 58 1905 p. 750) zum Aufhellen von Nematoden, Acariden etc. empfohlen. Die Thiere werden in 5%igem Formol fixirt, dann in Wasser gebracht, dem 2mal täglich tropfenweise das L. zugesetzt wird, und zuletzt in Glyceringelatine eingeschlossen.

**407. Glycerin.** Mit Wasser verdünntes Glycerin dient als Medium zum Untersuchen und Einschließen; die Verdünnung ist oft rathsam, da die Verringerung der Brechbarkeit des Glycerins manche Einzelheiten in den Objekten besser sichtbar macht. Will man aber einen sicheren Einschluß haben, so wähle man das Glycerin konzentriert.



Glycerin löst in Präparaten mit Kalknadeln etc. etwas Calciumcarbonat auf, ist daher in solchen Fällen zu vermeiden.

**408. Gemisch von Henking** (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1893 p. 165) zum Untersuchen des Inhaltes frischer Eier von Insekten: Wasser 80 ccm, Glycerin 16, Ameisensäure 3, 1%ige Osmiumsäure 1 ccm, Dahlia 0,04 g; die Präparate lassen sich durch Aufkitten des Deckglases permanent machen.

**409. Besonders stark lichtbrechendes Glycerin.** Der Index von Glycerin (1,47) kann durch Zusatz von Chlorcadmium auf 1,504, von Chloralhydrat (bis zur Sättigung) auf 1,51, von Zinkjodat auf 1,56 erhöht werden.

**410. Glycerin und Alkohol.** Gemische dieser beiden Stoffe machen die Überführung zarter Objekte von schwachem in starkes Glycerin möglich: man legt diese direkt aus dem Alkohol in eine hinreichende Menge davon ein und läßt den Alkohol allmählich verdunsten, worauf man das Präparat umrahmt oder die Objekte in reines Glycerin (oder Glyceringelatine) bringt. S. auch oben p. 8.

a) nach Calberla (Zeit. Wiss. Z. 30. Bd. 1878 p. 442): Glycerin 1, Alkohol (Stärke nicht angegeben) 2, Wasser 3 Theile; b) nach Lee: Glycerin und Alkohol von 96% je 1, Wasser 2 Theile; für sehr zarte Objekte empfehlenswerth; c) nach Hantsch (\*Reinicke, Beiträge neu. Mikrosk. 1862 Heft 3 p. 37): Glycerin 1, absol. Alkohol 3, Wasser 2 Theile; d) nach Jäger (Vogt & Yung, Lehrb. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 16): Glycerin und Alkohol je 1, Seewasser 10 Theile.

**411. Glyceringelatine.** Sie ist bereits 1862 von SCHACHT (Mikroskop Berlin p. 281) und 1869 von KLEBS (Arch. Mikr. Anat. 5. Bd. p. 166) zum Einschließen empfohlen worden.

Klebs mischt eine konzentrierte Lösung von Hausenblase mit dem halben Volumen Glycerin. — BEHRENS (Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 70) löst 25 g Hausenblase in 100 ccm heißen Kampherwassers, gibt 100 ccm Glycerin hinzu, kocht unter Umrühren bis zum Schäumen und filtrirt heiß durch feuchte Glaswolle; ebenso BEALE (\*How to work etc. p. 57).

Meist nimmt man jedoch gewöhnliche Gelatine, nämlich

1. SCHACHT (l. c.): 1 Th. Gelatine, 3 Th. Wasser, 4 Th. Glycerin.  
2. DEANE (Frey, Mikroskop 6. Aufl. Leipzig 1877 p. 134): 1 g Gelatine, 2 g Wasser, 4 g Glycerin; LAWRENCE klärt die Gelatinelösung durch Kochen mit Eiweiß, filtrirt sie und setzt ihr etwas Kampherwasser zu.

3. BEALE (\*How to work etc. p. 57) läßt (Hausenblase oder) Gelatine quellen, bringt sie zum Schmelzen (klärt sie, falls erwünscht, nach Lawrence) und gibt das gleiche Volumen Glycerin hinzu.

4. BRANDT (\*Zeit. Mikr. Berlin 2. Bd. 1880 p. 69): geschmolzene Gelatine 2, Glycerin 3 Theile. Man filtrirt durch Glaswolle, während der Trichter warm gehalten wird, setzt zum Filtrat etwas Karbolsäure und durchtränkt die Objekte, bevor man sie auf den Objektträger bringt, mit der warmen Gelatine.



5. KAISER (\*Bot. Centralbl. 1. Jahrg. 1880 p. 25) weicht 7 g Gelatine 2 Stunden lang in 42 g destill. Wasser ein, gibt 50 g Glycerin und 1 g Karbolsäure hinzu, erwärmt unter Umrühren 10—15 Minuten und filtrirt heiß durch befeuchtete feinste Glaswolle.

6. FOL (Lehrbuch p. 138) gibt gleich drei Vorschriften: a) 1 Volumen von Beales Gelatine und  $\frac{1}{2}$  Volumen Wasser, als Antisepticum Salicylsäure, Karbolsäure oder Kampher; b) Gelatine 30, Wasser 70, Glycerin 100 Theile zu mischen, nachher dazu Kampherspiritus 5 Theile; c) Gelatine 20, Wasser 150, Glycerin 100, Kampherspiritus 15 Theile.

7. GERLACH (Beitr. Morphol. Morphogen. 1. Bd. Stuttgart 1884 p. 118): Gelatine 40 g, konzentrierte Lösung von arseniger Säure 200 ccm, Glycerin 120 ccm. Mit Eiweiß zu klären. Die in Alkohol gehärteten Objekte werden vorher mit verdünntem Glycerin so lange durchtränkt, bis aller Alkohol entfernt ist.

8. SQUIRE (Methods p. 84): man weicht 100 g Gelatine in Chloroformwasser ein, läßt dieses, wenn sie weich geworden, ablaufen und löst die Gelatine warm in 750 g Glycerin auf. Dann fügt man ein Gemisch von 400 g Chloroformwasser und etwa 50 g frischen Hühnereiweißes hinzu, kocht das Ganze 5 Minuten lang, füllt mit Chloroformwasser bis zu 1550 g auf und filtrirt warm.

9. GILSON (nach Mittheilung an Lee): zu gleichen Volumina geschmolzener Gelatine und konzent. Glycerins gibt man so viel Chloralhydrat, bis das Volumen sich um die Hälfte vermehrt, und erwärmt bis zur Lösung. Das Gemisch bricht das Licht sehr stark. — Ähnlich GEOFFROY (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 476): 3—4 g Gelatine, 100 ccm 10%iger Lösung von Chloralhydrat.

10. HEIDENHAIN (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 328): Gelatine 9, Glycerin 7, Wasser 42 Theile; zum Filtrat tropfenweise unter Umrühren 14 Th. absol. Alkohols.

So angenehm es auch sein mag, in ein Medium einschließen zu können, das, ohne ein Harz zu sein, kalt einigermaßen hart ist, so möchte ich (MAYER) für feinere Arbeiten doch von der Glycerin-gelatine abrathen. Denn nicht nur ist sie nicht leicht ganz klar zu bekommen und zu erhalten, sondern man muß sie natürlich auch warm verwenden. Ferner ist das Durchtränken der Objekte mit ihr vor dem definitiven Einschließen recht mühsam. Speziell für Zupfpräparate oder feine Dissektionen von kleinen Crustaceen, Würmern etc., wofür sie besonders in England sehr gebräuchlich ist, ziehe ich ihr reines oder verdünntes Glycerin vor.

**412. Kaliumquecksilberjodid** nach STEPHENSON (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 2 1882 p. 167). Jodkalium und Quecksilberjodid werden zusammen in Wasser gelöst, aber so, daß von beiden ein Theil ungelöst bleibt. Die Flüssigkeit hat dann ein specif. Gewicht von 3,02 und den Refraktionsindex  $n = 1,68$ . Durch Verdünnen mit Wasser lassen sich alle niedrigeren Indices erhalten. Die Deckgläser sind mit Wachs zu verkitten und mit 2 oder 3 Anstrichen von Goldgrund (§ 442) und einem von Schellack zu versehen.



Nach meinen (LEE) Versuchen taugen diese Lösungen für permanente Präparate nicht, weil sich Präzipitate bilden. Dagegen mögen sie zum Beobachten gute Dienste leisten, da ja die Gewebe ohne Entwässerung darin als in einem Medium liegen, das das Licht stärker bricht als irgend ein Harz.

BEHRENS (Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 71) gibt die Vorschrift: 65 g Quecksilberjodid, 50 g Jodkalium, 25 ccm Wasser; zu filtrieren. Der Index ist 1,712; wird aber (nach AMANN in: Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 21) statt Wasser Glycerin genommen, so erhöht er sich auf 1.78 bis 1.80.

**413. Monobromnaphthalin.** S. FLESCH (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 555), ABBE und VAN HEURCK (Journ. R. Micr. Soc. London Vol. 3 1880 p. 1043; ibid. f. 1898 p. 246).

**414. Andere stark lichtbrechende Medien.** Das von THOMPSON (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1892 p. 902) besteht aus Brom, Schwefel und arseniger Säure. — MADAN (ibid. f. 1898 p. 273) empfiehlt Methylenjodid ( $\text{CH}_2\text{I}_2$ ) = 1.743 zum temporären Aufbewahren von Präparaten, und zum definitiven das Gemisch von 4 Th. Piperin und 1 Th. Kanadabalsam (Index = 1.657). — S. auch § 876 (MOŽEJKO).

## Öle, Harze und Balsame.

**415. Allgemeines.** Harze und Balsame sind Lösungen von glasigen oder amorphen Substanzen in ätherischen Ölen. Durch Destillation oder Trocknen an der Luft verlieren sie das Öl und werden fest. Nur diese festen Harze sollten in der Mikrotechnik verwandt werden; die rohen Harze enthalten nämlich stets etwas Wasser, das ihre Löslichkeit erschwert und besonders den gefärbten Präparaten schädlich ist. Man trockne also das Harz (den Balsam) bei gelinder Wärme, sodaß es in der Kälte spröde ist, und löse es dann in einem geeigneten Mittel. Solche harten Harze findet man auch käuflich.

Die Lösungen in flüchtigen Medien, z. B. Benzol oder Chloroform, werden rasch wieder hart, aber auch brüchig. Nimmt man dagegen zur Lösung ein weniger flüchtiges Medium, z. B. Terpentinöl, so ist das erst viel später der Fall. Man brauche daher jene nur, wenn das Präparat rasch trocken werden soll, diese dagegen immer, wenn man in erster Linie ein möglichst dauerhaftes Präparat haben will.

FOL (Lehrbuch p. 139) nimmt zum Lösen Eucalyptusöl, das nach ihm ähnlich dem Terpentinöl wirkt.

Über die bekannte Thatsache, daß sich die Luftbläschen, die beim Einschließen der Objekte in Harz leicht in letzterem auftreten, nach kurzer Zeit von selbst wieder verlieren, s. ZOTH (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 192). Nicht zu verwechseln damit ist die fatale Erscheinung, daß sich Objekte mit schwer durchlässigen Wänden, z. B. Arthropoden mit dickem Chitin, oft schon beim Übertragen aus dem Alkohol in das Intermedium, meist aber erst im Harz,



ja zuweilen erst, nachdem sie bereits Jahre darin gelegen haben, ganz oder zum Theil mit Luft (oder Gas, aus dem Intermedium frei geworden?) füllen und dadurch undurchsichtig werden. S. auch oben p. 66.

**416. Wahl des Einschließmittels.** Kein einziges Medium von den vielen, die bereits seit lange im Gebrauch sind, kann allen Ansprüchen genügen. Es handelt sich also zunächst darum, diese zu präzisiren.

Bedarf man eines Mediums von hohem Refraktionsindex, so nehme man entweder Kanadabalsam in Xylol (oder einem anderen stark brechenden Kohlenwasserstoff) gelöst oder Cedernöl. Letzteres wird mit dem Alter dick genug, um das Deckglas fest zu halten; auch kann man ja die Präparate mit einem Kitt umrahmen. Schwächere Indices gewähren dagegen Dammarharz, Terpeneol sowie Kolophonium in Terpentinöl gelöst.

Hat man mit zarten Färbungen zu thun, so ist bei den Theerfarbstoffen in der Regel Harz in Chloroform gelöst nicht brauchbar; ebenso ist den Färbungen mit Hämateinthonerde meist das Terpentinöl als Solvens des Harzes schädlich. S. auch § 482.

Will oder muß man die Präparate rasch hart haben, so nehme man Chloroform oder Benzol zum Lösen des Harzes. Aber dann muß man zuweilen zwischen Deckglas und Objekträger Papierstreifen legen, um die Schnitte vor dem Zerdrücken beim Austrocknen des Balsams zu schützen. Das ist bei Terpentinöl oder Xylol nicht nöthig. Auch behalten die Harzlösungen dann ihren Refraktionsindex viel länger bei, als die mit flüchtigen Medien, in denen mit dem Alter die Präparate oft zu durchsichtig werden.

Man kann solche Präparate wieder gut machen, indem man sie, ohne das Deckglas abzunehmen, auf 1—2 Tage in Benzol legt; dieses dringt in den Balsam ein und erniedrigt seinen Index. Die Sichtbarkeit feiner Einzelheiten wächst nämlich mit der Differenz zwischen dem Index des Objektes und des Mediums; da nun die fixirten Gewebe meist einen etwas höheren Index haben als Kanadabalsam, so ist die Herabsetzung des Index des Balsams vortheilhaft, darf allerdings nicht so weit getrieben werden, daß sie die homogenen Immersionsysteme in ihrer Leistung beeinträchtigt.

In vielen Fällen endlich läßt sich das Intermedium ganz umgehen, indem man die Objekte direkt aus dem Alkohol in das Harz bringt. Letzteres muß natürlich selber mit Alkohol mischbar sein, und das gilt sowohl von Vossellers Terpentin als auch vom Euparal. Geht es also irgendwie an, so soll man ja das Intermedium vermeiden, besonders am Meeresstrande, wo nur allzu leicht, just bevor man das Deckglas auflegt, sich etwas Wasserdampf auf den Präparaten niederschlägt.



Einen eigenen Weg geht HOTTINGER (Dissert. Zürich 1904 p. 12): er bringt auf die mit Sudan III gefärbten, noch nassen Schnitte 1 oder 2 Tropfen einer Lösung von Gummi arabicum, läßt sich die Schnitte damit durchtränken, trocknet sie im Thermostaten, bis man mit dem Finger glatt über die Gummischicht hingleiten kann, und schließt sie in dickflüssigen Balsam ein. Das Fett wird so nicht gelöst. — Ähnlich RENAUT (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 9 1907 p. 511).

UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. Ergänzungsh. 1885 p. 47 ff.) folgert aus seinen Versuchen über die Haltbarkeit der Färbung mit Fuchsin in Ölen etc., daß die Entfärbung in den Balsamen auf ihrem „Sättigungsbestreben für Sauerstoff“ beruht. Am stärksten ist dieses bei Nelkenöl, Balsam in Chloroform oder Terpentinöl gelöst, Dammar in Terpentinöl, Balsam in Gaultheriaöl oder Benzol etc., viel geringer bei Dammar in Xylol, bei Xylol, Cedernöl und Gaultheriaöl, gar nicht vorhanden bei Benzol etc.

**417. Kanadabalsam.** Man löse festen Balsam (§ 415) in Xylol, Benzol, Chloroform oder Terpentinöl bis zur gewünschten Konsistenz auf. Terpentinöl nehme man nur, wenn man ein sehr langsam erhärtendes Medium haben will. Für die meisten Objekte ist Xylol am besten, und Benzol hat nur dann einen Zweck, wenn man sehr eilig ist, denn Benzolbalsam wird viel rascher hart als Xylolbalsam.

SAHLI (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 5) empfiehlt zur Lösung Cedernöl, WILHELMI (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 18) verwendet Apáthys Gemisch: Balsam 2, optisches Cedernöl 1, Chloroform 1 Theil. — S. auch § 618 (EISIG) und über Seilers Alkoholbalsam § 418 der 3. Auflage dieses Buches.

Chloroform zum Lösen des Balsams hat bereits 1865 BÖHMER (Arch. Mikr. Anat. 4. Bd. 1868 p. 346) benutzt.

Neutraler Balsam. UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. Ergänzungsh. 1885 p. 58) hat den Balsam durch Ammoniak zu neutralisiren versucht. COLUCCI (Giorn. Ass. Med. Natural. Napoli Anno 7 1897 p. 172) neutralisirt ihn durch Natrium- oder Kaliumcarbonat. Ich (MAYER) habe von C. selber solchen Balsam zur Probe gehabt: er bleibt in nicht zu großen Gefäßen bei Abschluß von der Luft ganz neutral, wird aber beim Trocknen wieder leicht sauer. — S. auch MYERS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1902 p. 372).

Grübler & Hollborn bereiten ebenfalls einen neutralen Kanadabalsam, in dem sich mir (MAYER) sehr empfindliche Präparate, die in jeder anderen Art von Balsam sofort verblaßten, viele Monate unverändert gehalten haben. Zwar wird sowohl der trockene Balsam als auch seine Lösung nach einiger Zeit wieder etwas sauer, aber der gewöhnliche Balsam reagirt doch so sehr viel saurer als der neutrale, daß letzterer für zarte Färbungen zu empfehlen ist.

**418. Dammarharz.** Die Medien zum Lösen sind dieselben wie bei Kanadabalsam; man macht die Lösungen genau so wie dort, am besten mit Xylol; das Harz löst sich darin auch ohne Erwärmen.



FLEMMING, PFITZNER etc. nehmen ein Gemisch von Benzol oder Benzin und Terpentinöl (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 322; Morph. Jahrb. 6. Bd. 1880 p. 479, etc.), MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 156) nur Xylol, setzt aber hinterher Terpentinöl zu. Vor der Lösung in Chloroform warnt mit Recht FOL (Lehrbuch p. 139).

Gerne erkenne ich (LEE) die besonders scharfe Definition an, die man mit Lösungen von Dammar erhält, bin aber fest davon überzeugt, daß man sich für Dauerpräparate auf keine davon verlassen kann: oft schon nach Tagen oder Wochen, spätestens nach Jahren, treten Körnchen darin auf. — Nach meinen (MAYER) allerdings nur geringen Erfahrungen mit Dammar halten sich Präparate und Lösung (in Xylol) ebenso gut wie die mit Kanadabalsam. — GARBINI (Manuale Tecn. Mod. Micr. 4. Ed. Milano 1899 p. 137) rühmt sehr ein Gemisch gleicher Theile von Dammar in Terpentinöl und Kanadabalsam in Xylol gelöst.

**419. Gum Thus** („from a Pinus indigenous tho the eastern United States“) ist nach EISEN (Zeit. Wiss. Mikr. 14 Bd. 1897 p. 201) besser und viel billiger als Kanadabalsam. Lösung in Xylol.

Nach meinen (MAYER) Versuchen mit der Lösung in Xylol und dem Harze (beide mir von Eisen zugesandt) ist Thus dem Balsam wohl gleichwerthig. Es löst sich auch in absolutem Alkohol, aber in den Präparaten treten schon bald Kristalle auf. Durch Neutralisirung mit Natronhydrat wird es zu braun.

**420. Kolophonium.** Die Lösung in Terpentinöl wurde von KLEINENBERG (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 19 1879 p. 208) eingeführt. Ich (LEE) empfehle sie auf das Beste. Sie wird so langsam hart, daß man die Objekte in aller Ruhe darin hinlegen und ordnen kann. Allerdings ist das vom Übel, wenn man die Präparate gleich nach dem Einschluß mit einer Ölimmersion studiren muß. Wie alle Balsame mit Terpentinöl, so schadet auch dieser den Färbungen mit Alaunhämatoxylinen.

VOSSELER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 297) legt, um dem Verschieben des Deckglases vorzubeugen, ein heißes Stück Draht nach einander der Länge nach an zwei oder alle vier Seiten des Deckglases an: das flüssige Harz kommt hier sofort ins Kochen und erstarrt nachher gleich.

Kleinenberg und MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 24) warnen vor dem absoluten Alkohol zur Lösung: die Präparate sind erst schön, aber bald scheiden sich darin Kristalle oder amorphe Massen aus. Die Lösung in Terpentinöl hingegen bleibt völlig klar und gibt eine sehr gute Definition des Bildes. Ich (LEE) werfe in warmes Terpentinöl (im Einbettofen) kleine Stücke von recht hellem Kolophonium und filtrire die Lösung, wenn sie dick genug ist, zweimal warm; das kostet etwa 14 Tage.

REHM (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 387) empfiehlt 1 Theil Kolophonium in 10 Theilen Benzin gelöst. Er erwärmt den Objektträger über der Flamme, bis alles Benzin verdampft ist, und legt dann das Deckglas auf. Auch Kolo-



phonium in Chloroform ist brauchbar. — NISSL (Encyclop. 2. Bd. p. 274) läßt Xylol über gepulvertem Kolophonium stehen, gießt später die klare Lösung ab und läßt sie sich an der Luft eindicken.

**421. Terpentin** nach VOSSELER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 292). Man mischt käuflichen venetianischen Terpentin (von *Pinus larix*) in einem hohen Cylinder mit dem gleichen Volumen 96%igen Alkohols, läßt das Gemisch 3—4 Wochen an einem warmen Orte stehen und gießt es klar ab. Die Präparate kann man direkt aus Alkohol hinein legen. Der Brechungsindex ist niedriger als der von Kanadabalsam etc., und so treten feine Einzelheiten besser hervor.

SUCHANNEK (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 463) nimmt zur Lösung das gleiche Volumen absoluten, mit geglühtem Kupfervitriol und gebranntem Kalk neutralisirten Alkohols, schüttelt das Gemisch öfter um und läßt es 1 bis 2 Tage warm stehen, bis es ganz klar und dick genug geworden ist.

Die Färbungen mit Hämateinthonerde verblassen leider meist in Terpentin rasch, und für Theerfarbstoffe ist er natürlich gar nicht zu brauchen. Mit dieser Einschränkung aber hat Vosseler sein Mittel wohl nicht zu sehr gerühmt. Was es mir (MAYER) am Meeresstrande besonders werthvoll macht, ist seine Eigenschaft, etwas Wasser zu vertragen: man braucht, wie schon Vosseler hervorhebt, die Objekte nicht in ein Intermedium zu bringen, ja nicht einmal sorgfältig zu entwässern und vermeidet so bei ganzen Thieren die Schrumpfung.

Nach Vosseler kann man Celloidinschnitte direkt aus 96%igem Alkohol einlegen, ebenso die mit Eiweißglycerin aufgeklebten Paraffinschnitte direkt nach dem Wegschaffen des Paraffins, da die Spur Glyzerin im Terpentin keine Trübungen hervorruft.

Nach meinen (MAYER) Versuchen mit neutralem Terpentin, den mir Grübler & Hollborn mehrere Male eigens angefertigt haben, ist von seiner Verwendung abzurathen, da in den Präparaten trübe Stellen auftreten.

**422. Euparal.** Dieses Gemisch von Paraldehyd, Eucalyptol und Sandarak empfiehlt GILSON (La Cellule Tome 23 1906 p. 429), leider ohne genauere Angabe der Zusammensetzung. Es ist bei Grübler & Hollborn käuflich. Index = 1,483. Die Objekte lassen sich direkt aus 80%igem (zur Noth sogar aus 70%igem) Alkohol einlegen, und selbst zarte Färbungen halten sich.

Für empfindliche Objekte dient als Intermedium ein Gemisch von Paraldehyd und Eucalyptol. Ferner stammt von GILSON (ibid. p. 428) ein Gemisch von „Camsal“ (Kampher und Phenylsalicylat; Brechungszahl = 1,536), Sandarak und Propyl- oder Isobutylalkohol, worin aber Färbungen mit Eosin, Safranin etc. nicht haltbar sind. Auch diese Substanzen sind bei Grübler & Hollborn zu haben.



Soweit meine (MAYER) Erfahrungen reichen, ist Euparal ebenso gut wie Vossellers Terpentin; ob allerdings den Präparaten eine ebenso lange Lebensdauer beschieden sein mag, ist noch fraglich, besonders im Hinblick auf die böse Eigenschaft des Sandaraks (s. § 424).

**423. Cedernöl.** Ich (LEE) empfehle es als Medium für zeitweilige Beobachtungen und zu dauerndem Einschluß (s. oben p. 234). Auch ISRAEL (Arch. Path. Anat. 105. Bd. 1886 p. 171) verwendet es eingedickt statt Balsam.

**424. Sandarak.** KELLER (Zeit. Wiss. Z. 33. Bd. 1879 p. 333) verwendet ihn in absolutem Alkohol gelöst zum Einlegen von Eiern, die noch von allen Seiten beobachtet werden sollen, also gerollt werden müssen. — Nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 24) erhalten die Präparate im Laufe der Zeit Luftblasen und blättern zuletzt ganz ab. Ähnliches gibt FOL (Lehrbuch p. 139) an. — S. auch § 422.

**425. Styrax und Liquidambar.** S. FOL, Lehrbuch p. 141, ferner \*Bull. Soc. Belge Micr. 1884 p. 178 und Journ. R. Micr. Soc. London f. 1883 p. 741; f. 1884 p. 318, 475, 655, 827; f. 1898 p. 246; auch WITT in: Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 196. Sie brechen das Licht sehr stark, taugen daher im Allgemeinen für histologische Zwecke nicht.

**426. Flüssiges Terpeneol.** Nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1910 p. 523) ist sein Index nur 1.481—1.484, also etwa gleich dem von Rizinusöl und Glycerin. Es ist und bleibt farblos, verträgt sich mit 90 % igem, zur Noth mit 80 % igem Alkohol einerseits, Benzol etc. andererseits, kann also als Medium dienen, bevor man die Präparate definitiv in Balsam bringt. Sollen sie jedoch im Terpeneol bleiben, so umrahmt man sie mit Apáthys Gummisyrup (s. § 402).

**427. Rizinusöl.** Wurde zuerst von BÖHMER (s. oben § 249), dann von GRENACHER (Abh. Nat. Ges. Halle 16. Bd. 1886 p. 215) speziell für Schnitte von Cephalopodenaugen empfohlen, da der niedrige Brechungsindex (1.48, bei Kanadabalsam 1.54) die Sichtbarkeit der stärker brechenden Gewebe erhöht. Ich (LEE) habe an anderen Objekten keine guten Resultate erzielt.

**428. Leinöl** mit dem Index 1.47 empfiehlt zum Einschließen GILTAY (Arch. Néerland. Tome 18 1883 p. 443).

**429. Methylsalicylat** nach Guéguen (oben § 127) mit dem Index 1.537 ist nach meinen (MAYER) geringen Erfahrungen ein brauchbares Einschließmittel; es verändert die Färbungen mit Hämateinthonerde nicht. Zum Umrahmen des leicht verdunstenden Öles empfehle ich Apáthys Gummisyrup (s. § 402).

**430. Paraffinum liquidum.** Durch seinen ziemlich geringen Brechungsindex (1.471) mag es mitunter nützlich werden. STRANSKY (Neur. Centralbl. 20. Jahrg. 1901 p. 984) untersucht in ihm die mit Safranin gefärbten Zupfpräparate von Nerven, weil der Farbstoff nicht ausgezogen wird. Als Intermedium dient Xylol. — S. auch p. 191 (SCHMIDT).



## 18. Kapitel.

**Kitte und Firnisse.**

**431. Allgemeines.** Dank dem Eifer der Dilettanten, speziell der englischen, gibt es sehr viele Rezepte für Kitte und Firnisse. Indessen sind wohl nur wenige wirklich gut und nützlich, während die meisten lediglich auf die Schönheit der Präparate abzielen, besonders wenn es sich darum handelt, sie für den Verkauf herzustellen.

Überflüssig, obwohl hie und da noch im Gebrauch, ist der Verschuß von Präparaten, die in Harz liegen, durch einen Firniß. Ebenso selten kommt, abgesehen von Präparaten für und von Dilettanten, der luftdichte Abschluß von Alkohol oder Wasser in Frage. Vielmehr wird meist von den Kitten und Firnissen nur verlangt, daß sie 1) die Verdunstung des verdünnten Glycerins, Kaliumacetats etc. verhindern oder 2) umgekehrt dem konzentrierten Glycerin nicht gestatten, Wasser aus der Luft anzuziehen, 3) Deckglas und Objekt vor Verschiebungen auf dem Objektträger bewahren. Das setzt natürlich eine innige Adhäsion des Kittes an das Glas voraus, und die ist nur auf absolut trocknen, sorgfältig gereinigten Objektträgern gut zu erreichen.

Auch wenn es gelungen ist, den Kitt fest aufzutragen, so folgt noch nicht, daß er für immer haftet. Denn zunächst kommen hier die nicht geringen Temperaturschwankungen in Betracht, denen die Präparate im Laufe des Jahres ausgesetzt sind: sie haben eine Veränderung im Volumen des Glycerins (oder Kaliumacetats etc.) zur Folge, sodaß sich unter Umständen der Zusammenhang zwischen Deckglas, Objektträger und Kitt lockert. Einigermassen läßt sich dieser Gefahr dadurch begegnen, daß man recht dünne Deckgläser nimmt, die sich ein klein wenig aus- oder einbuchten können — ich (MAYER) finde denn auch, daß große Präparate hierunter weniger leiden als kleine — oder absichtlich eine Luftblase von der richtigen Größe ins Präparat ein-



schmuggelt, was freilich oft beim besten Willen nicht geräth. — Ferner ist die Wirkung des wässerigen Einschließmediums, besonders des Glycerins, auf die Objekte sehr zu beachten. Wenn diese im Laufe der Zeit zu quellen beginnen, so wird bald schon das Deckglas vom Kitt — sei es auch der beste — oder dieser vom Objektträger abgehoben. Man sollte also das Objekt längere Zeit vor dem definitiven Einrahmen mit Glycerin von der gewünschten Stärke sorgfältig durchtränken, nicht aber es direkt aus Alkohol oder Wasser in Glycerin legen und sofort einlacken. — S. im Übrigen ROUSSELET in: Journ. Quekett Micr. Club (2) Vol. 7 1898 p. 93 und 129.

**432. Zähigkeit der Kitte.** BEHRENS (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 55) hält den Bernsteinlack für den besten und ist gegen alle, die Chloroform, Benzol, Äther und Alkohol enthalten, da sie brüchig werden; besser sind die mit Terpentin oder Leinöl, daher ist ein guter Asphaltlack auch zu empfehlen. — AUBERT (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 6 1885 p. 227) setzt Millers Kautschuk Kitt obenan, dann kommt ihm Lovetts Kitt und zuletzt der Zinkweißkitt, der nur  $\frac{1}{4}$  so zäh sei wie der Kautschuk Kitt. — Die Formeln für viele Kitte und Firnisse s. bei AUBERT (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1891 p. 692) und BEHRENS (Tabellen 3. Aufl. 1898 p. 78).

**433. Wachszellen.** Um das Vordringen des flüssigen Kittes oder Firnisses unter das Deckglas zu verhindern, muß man das Glycerin (oder Kaliumacetat etc.) zuvor nach außen abschließen. Dazu dient nach meinen (MAYER) Erfahrungen am besten Paraffin, Wachs oder ein hartes Fett. Besonders bequem finde ich die ganz dünnen, langen, gewöhnlich zu Spiralen aufgewundenen Wachskerzen. Von diesen zündet man ein kurzes Stück an, bläst es aus und läßt sofort von dem noch heißen Docht auf das Deckglas an allen 4 Ecken je ein Tröpfchen Wachs abfließen. Sobald diese erstarrt sind, fährt man mit der eventuell von Neuem in einer Flamme erwärmten Kerze an den Rändern des Deckglases entlang und schließt so das Glycerin ganz ein. Nun kann man vorsichtig das etwa ausgetretene Glycerin mit Fließpapier und Wasser entfernen und dann den Firniß auftragen.

Bei dicken Objekten zieht man auf dem trockenen Objektträger in der nämlichen Art mit Wachs einen Rahmen von der Größe des Deckglases; wenigstens 3 Seiten sollten auch annähernd die nöthige Höhe haben. Erst jetzt bringt man das Objekt mit möglichst wenig



Flüssigkeit in diese Zelle, gibt ihm die richtige Lage, legt das Deckglas auf und hält dieses mit einer Nadel oder einem kleinen Gewicht so lange unbeweglich, bis man es durch einige Tröpfchen Wachs auf der Zelle angekittet hat. Zuletzt füllt man von der offenen Seite mit einer feinen Pipette das Glycerin vorsichtig ein und schließt die Zelle ganz.

Um in dieser Weise Präparate sauber herzustellen, bedarf es einiger Praxis, namentlich bei dicken Objekten. S. auch oben p. 13.

Über brauchbare Firnisse zum definitiven Bestreichen der Wachszelle s. § 440 u. 441.

Eine unbequemere Methode mit Paraffin gibt RANVIER (Traité 1. Ed. p. 140) an. — WELKER hat schon 1856 Wachs verwandt (s. Schacht, Mikroskop Berlin 1862 p. 286). S. auch RAWITZ, Leitfaden 2. Aufl. Jena 1895 p. 86.

**434. Papierzellen.** Nach meiner (LEE) Erfahrung umrahmt man Flüssigkeiten am besten wie folgt. Mit 2 Punzen schlägt man aus Papier Ringe von etwa 1 mm Breite aus, die etwa 1 mm enger sind als das Deckglas. Dann befeuchtet man einen Ring mit dem Einschließmittel, legt ihn auf den Objektträger an der richtigen Stelle auf, füllt die so gebildete Zelle mit einem Einschließmittel, legt das Objekt hinein, das Deckglas darauf, füllt den Raum zwischen Papier und Rand des Deckglases mit Glyceringelatine an und zieht, sobald diese erstarrt ist, einen Ring von Goldgrund und später einen anderen von Bellschem Kitt darum. Um ganz sicher zu gehen, kann man die Gelatine nach MARSH (\*Sectioncutting, 2. Ed. London 1882 p. 104) mit 2 %iger Lösung von Kaliumbichromat bepinseln und durch Einwirkung des Tageslichtes unlöslich machen.

**435. Gummisyrup** nach Apáthy. S. oben § 402.

**436. Firniß** nach ROUSSELET (Journ. Quekett Micr. Club (2) Vol. 7 1898 p. 96). Zuerst wird das Deckglas mit einer Lösung von Dammar in Benzol, die auf feuchtem Glase haftet, umzogen; nach dem Trocknen wird das Präparat außen mit Wasser sorgfältig vom Glycerin befreit, wieder getrocknet, mehrere Male mit Schellack (in starkem Alkohol gelöst) und wenigstens 6 Mal ganz dünn mit Goldgrund bepinselt. Oder aber: zuerst Dammar, dann ein Gemisch von diesem und Goldgrund, dann 3 oder 4 Male nur Goldgrund, zuletzt Schellackkitt (zu haben bei E. Ward, Oxford Road, Manchester). Jedenfalls recht umständlich.

**437. Kitt von Bell.** Nach AUBERT (l. c.) wohl eine Lösung von Schellack; zu haben bei J. Bell & Co. in London (Oxford Street 338) oder bei Grübler & Hollborn in Leipzig. Fließt leicht aus dem Pinsel und erstarrt rasch, ist löslich in Äther oder Chloroform, wird von Cedernöl nicht angegriffen.



**438. Kautschuk Kitt** von MILLER. Sehr zäh, trocknet rasch. Läßt sich mit einem Gemisch gleicher Theile von Chloroform und starkem Alkohol verdünnen (ROUSSELET in: Journ. Quekett Micr. Club (2) Vol. 6 1895 p. 12).

**439. Kitt von Clarke.** Zu haben bei J. Bolton in Birmingham (Balsall Heath Road 25). Nach ROUSSELET (l. c.) für spirituöse Flüssigkeiten der beste, aber für wässerige nicht dicht.

**440. Asphaltlack.** Ohne Zweifel einer der besten Kitte oder Firnisse, wenn er gut ist. Zu haben bei Grübler & Hollborn. — KITTON (\*Month. Micr. Journ. London Vol. 11 1874 p. 34) empfiehlt den Asphalt in Benzol zu lösen und etwas Goldgrund zuzufügen.

**441. Maskenlack.** Der schwarze Maskenlack N. 3 von Beseler in Berlin, Schützenstr. 66, wurde zuerst von SCHACHT (Mikroskop, Berlin 1862 p. 282) empfohlen. Wahrscheinlich ist es eine Lösung von Schellack. — Ich (MAYER) besitze noch heute einige intakte Präparate von 1876 und wende den direkt vom Verfertiger bezogenen Lack auch gegenwärtig mit gutem Erfolge an.

**442. Goldgrund** (Gold size). Ist im Wesentlichen gekochtes Leinöl und daher, wenn es gut ist, zähe, nicht brüchig, also zu empfehlen. Zu haben bei Grübler & Hollborn. Löslich in Terpentinöl.

**443. Marineleim.** Im Handel zu haben. Nach CARPENTER ist der beste G K 4. Löslich in Äther oder Kalilauge. Dient zum Kitten von Glas auf Glas.

**444. Mendelejeffs Kitt.** Gleichfalls zur Anfertigung von Glaszellen brauchbar und, weil viel leichter schmelzbar, bequemer in der Anwendung. Scheint eine Mischung von Eisenoxyd und einer talgartigen Substanz zu sein.

**445. Terpentin.** PARKER (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 2 1881 p. 229) verwendet eingedickten venetianischen Terpentin, CSOKOR (Arch. Mikr. Anat. 21. Bd. 1882 p. 353) „gewöhnlichen käuflichen verharzten Terpentin“, der brüchig und dunkelbraun sein muß. Man erhitzt das Ende eines Drahtes, das rechtwinklig umgebogen ist (der kurze Schenkel soll so lang wie das Deckglas sein), in der Flamme, stößt es in den Kitt und legt es dann flach auf den Objektträger an den Rand des Deckglases. Ist das überflüssige Glycerin vorher schon sauber weggewischt worden, so legt sich der Kitt glatt an und wird sofort hart. Er soll sicher schließen und nie unter das Deckglas treten.

**446. Terpentin und Wachs** nach VOSSELER (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 462): weißes Wachs mit  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$  an venetianischem Terpentin. Sehr geschmeidig.

**447. Kolophonium und Wachs** nach KRÖNIG (Arch. Mikr. Anat. 27. Bd. 1886 p. 657): 2 Theile Wachs und 7—9 Theile Kolophonium. Beim Gebrauch stellt man das Gefäß in heißes Wasser.



**448. Paraffin und Kanadabalsam** nach APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 171). Gleiche Teile Balsam und Paraffin (von 60° Schmelzpunkt) werden in einer Porzellanschale erhitzt, bis keine Dämpfe von Terpentinöl mehr aufsteigen. Die Masse wird warm mit einem Glasstabe oder Messingspatel aufgetragen. Der Kitt läuft nicht in das Glycerin hinein und springt nicht.

**449. Bernsteinlack** von E. Pfannenschmidt in Danzig. Wird als sehr zähe von BEHRENS (§ 432) und AMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 21) empfohlen. Zu haben bei Grübler & Hollborn.

**450. Bernstein- und Kopalfirniß** nach HEYDENREICH (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 338). Darstellung äußerst kompliziert. — Über Kopalfirniß s. auch Journ. R. Micr. Soc. London f. 1898 p. 247.

**451. Schellackfirniß** nach BEALE (\*How to work etc. p. 28): eine dicke Lösung von Schellack in Alkohol, soll durch ein wenig Rizinusöl (20 Tropfen auf 30 ccm) besser werden. Er ist unzuverlässig, schützt aber jedenfalls die Balsampräparate vor Cedernöl. — Eine Methode zur Bereitung reinen Schellacks gibt WITT an (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 199). — Schellackkitt für Metall auf Glas s. bei SEAMAN (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1888 p. 520).

**452. Siegellack.** Nach RANVIER (Traité 1. Ed. p. 140) wird bestes, grob zerkleinertes Siegellack in starkem Alkohol aufgelöst. — APÁTHY (Mikrotechnik p. 174) umrandet die Glycerinpräparate mit einer dicken Lösung von der „allerfeinsten“ Sorte Siegellack in absol. Alkohol.

**453. Tolubalsam** nach CARNOY (Biol. cellul. p. 129). Tolubalsam 2 Theile, Kanadabalsam 1 Theil, gesättigte Lösung von Schellack in Chloroform 2 Theile werden gemischt und mit Chloroform bis zur Syrupdicke verdünnt.



## 19. Kapitel.

**Injizieren.**

**454. Allgemeines.** Die Massen zum Injizieren bestehen aus der Farbmasse selber und ihrem Vehikel. Nach der Art des letzteren sind in den folgenden Paragraphen die Formeln geordnet worden.

Bei Injektionen der Gefäße von Wirbelthieren hält man sich mit Vortheil an die Praxis von Robin, Ranvier und Fol. Für Wirbellose (und wenn bei Wirbelthieren außer den Gefäßen die Struktur des umgebenden Gewebes studirt werden soll) sind aber kalt flüssige Massen meist besser als die Gelatinemassen, die von jenen Autoren hauptsächlich empfohlen wurden; als besonders praktisch erscheinen mir (LEE) die Vorschriften von Beale für Glycerinmassen (§ 476—478).

Von den Formeln der ganz undurchsichtigen Massen sowie deren, die nur zu gröberen Injektionen (von Leichen etc.) dienen, sind hier absichtlich nur wenige aufgeführt, da sie das mikroskopische Studium der Gefäße nicht mit Vortheil zulassen. — Über die sogenannten physiologischen Injektionen mit Ammoniakkarmin etc. s. unten § 801.

Eine sehr ausführliche Darstellung der Injektionstechnik gibt HOYER (Encyclop. 1. Bd. p. 634 ff.), berücksichtigt darin auch die Spritzen und anderen Apparate. S. ferner KNOWER (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 2 1908 p. 207.)

**455. Ausspülen der Gefäße.** In manchen Fällen ist es nöthig oder wenigstens gut, vor der Injektion die Gefäße vom Blute zu befreien und zugleich ihre Wände schlaff zu machen. Zu letzterem Zweck verwenden OVIATT & SARGENT (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1887 p. 341) Amylnitrit: sie betäuben das Thier mit einem Gemisch von Äther und Amylnitrit, tödten es mit reinem A. und injizieren dann zunächst Normalsalzwasser nebst etwas A., fügen auch wohl der Injektionsmasse kurz vor dem Gebrauch ein wenig A. zu.

FISCHER (Centralbl. Allg. Path. 13. Bd. 1902 p. 977) spült die Gefäße mit 8%iger wässriger, sorgfältig filtrirter Lösung von Natriumsulfat oder -nitrat



aus. — VASTARINI-CRESI (Anastomosi Napoli 1903 p. 42) nimmt die nach Köppe isotonische 3,3 %ige Lösung von Natriumsulfat und setzt ihr als Vasodilatator auf je 100 ccm 1 ccm Milchsäure zu. S. hierzu auch § 732 (HILL) und über Atropinsulfat § 480.

### Warm flüssige Massen mit Gelatine.

**456. Gelatine als Vehikel** nach ROBIN (Traité du Microscope Paris 1871 p. 30). 1 Theil Gelatine wird in 7—10 Theilen kalten Wassers eingeweicht und im Wasserbade verflüssigt. Gegen Schimmel helfen, falls die Farbmasse nicht schützt, auf die Dauer weder Kampher und Karbolsäure, noch auch Chloralhydrat (s. §§ 463 und 464).

**457. Glyceringelatine als Vehikel** nach ROBIN (Traité p. 32). In 300 ccm Wasser, worin etwas arsenige Säure gelöst worden ist, löse man 50 g Gelatine und setze 150 g Glycerin und einige Tropfen Karbolsäure zu.

FRANKL (Zeit. Wiss. Z. 63. Bd. 1897 p. 28) läßt 10—15 Platten Gelatine aufquellen, setzt das gleiche Quantum Glycerin zu, kocht die Masse kurze Zeit, fügt ihr 4—5 g konzentrierte Sublimatlösung zu, gießt sie durch Leinwand, vermischt sie mit einer Lösung von löslichem Berlinerblau (1:20) oder von Karmin (1:20), erwärmt und filtrirt wieder, senkt in die noch halbflüssige Masse einen Thymolkristall und hebt sie so Jahre lang unverändert auf.

**458. Gelatine und Formol.** Nach FRIEDENTHAL (Centralbl. Phys. 13. Bd. 1899 p. 267) dient 10 %ige gefärbte Gelatine, die mit 4 %igem Formol zu gleichen Theilen versetzt ist, gleichzeitig zum Injizieren und Härten der Gewebe.

**459. Karminmasse** nach ROBIN (Traité p. 33). Man verreibt 3 g Karmin mit etwas Wasser und so viel Ammoniak, wie zur Lösung erforderlich ist, setzt 50 g Glycerin zu und filtrirt. Dann fügt man von saurem Glycerin (5 g Essigsäure auf 50 g Glycerin) soviel hinzu, bis sehr empfindliches Lakmuspapier, das man anfeuchtet und darüber hält, sich röthet. Von dieser Masse setzt man zu den obigen Vehikeln (§ 456 oder 457) 1 Theil auf 3—4 Theile.

**460. Ferrocyanakupfermasse** nach ROBIN (Traité p. 34). Konzentrierte Lösung von Ferrocyankalium 20 ccm und Glycerin 50 ccm werden gemischt, ebenso konzentr. Lösung von Kupfersulfat 35 ccm und Glycerin 50 ccm; beide Gemische werden langsam unter Umrühren zusammengegossen und kurz vor der Injektion mit dem dreifachen Volumen an Vehikel (§ 456 u. 457) vermischt.

**461. Berlinerblaumasse** nach ROBIN (Traité p. 35). Konzentrierte Lösung von Ferrocyankalium 90 ccm und Glycerin 50 ccm werden gemischt, ebenso flüssiges Eisenchlorid von 30° Baumé 3 ccm und



Glycerin 50 cem; beide Gemische werden langsam zusammengegossen und mit dem dreifachen Volumen an Vehikel (§ 456 u. 457) vermischt. Man thut gut daran, einige Tropfen Salzsäure hinzuzufügen.

**462. Karmingelatine** nach RANVIER (Traité 1. Ed. p. 116). Man läßt 10 g Gelatine in Wasser quellen, wäscht sie, läßt das Wasser ablaufen und schmilzt sie im Wasserbade; dann setzt man unter Umrühren Karminlösung hinzu (5 g Karmin mit Wasser angerieben und tropfenweise Ammoniak hinzugefügt, bis eine klare Lösung entsteht) und erhält so etwa 30 cem rothe Gelatine; noch auf dem Wasserbade gibt man tropfenweise Essigsäure hinzu (1 Theil Eisessig und 2 Theile Wasser; nähert man sich der Neutralisation, so nimmt man die Essigsäure schwächer). Sobald der Geruch nach Ammoniak dem nach Säure weicht, hört man mit dem Zusatz der Essigsäure auf und prüft die Masse unter dem Mikroskop: enthält sie Körnchen von Karmin, so taugt sie nichts. (Die genaue Neutralisation lernt man nur durch die Praxis; die Menge der Säure läßt sich nicht vorher bestimmen, weil das Ammoniak nie gleich stark ist, und die Gelatine oft sauer reagirt.) Die Masse wird durch ungebrauchten Flanell gepreßt. — S. auch LANDAU (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 24. Bd. 1908 p. 437).

Nach VILLE (\*Gaz. hebdom. Sc. Méd. Montpellier 1882) wird bei der Lösung von Karmin in Ammoniak ein Theil des letzteren gebunden, also muß nur der Überschuß neutralisirt werden. Die Säure in der Gelatine läßt sich durch Auswaschen unter der Wasserleitung etwa 1 Stunde lang, wobei die Gelatine aber ganz unter Wasser bleiben muß, leicht entfernen. Die Neutralität wird am besten durch empfindliches violettes Lakmuspapier ermittelt: sobald dieses nur noch ganz langsam blau wird, darf man keine Säure mehr zusetzen.

**463. Karmingelatine** nach HOYER (Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882 p. 21). Zu konzentrirter Lösung von Gelatine gebe man die „entsprechende“ Menge von Hoyers konzentrirter neutraler Karminlösung (l. c. p. 17), halte das Gemisch im Wasserbade so lange warm, bis die dunkelviolette Farbe hellviolett wird, füge  $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$  Volumen Glycerin und wenigstens 2% Chloralhydrat (in konzentrirter Lösung) hinzu und filtrire die Masse durch Flanell.

**464. Karmingelatine** nach FOL (Zeit. Wiss. Z. 38. Bd. 1883 p. 492). Sie kann trocken beliebig lange aufbewahrt werden; der Zusatz von Chloralhydrat zur feuchten Masse schützt nach Fol nicht genug.

1 Kilogramm Gelatine weicht man in Wasser etwa 2 Stunden lang ein, läßt das Wasser ablaufen, schmilzt die Gelatine auf dem Wasserbade und rührt langsam 1 Liter konzentrirter Lösung von Karmin in Ammoniak darunter. (Zur Lösung verdünnt man 1 Theil starkes Ammoniak mit 3—4 Theilen Wasser, löst darin möglichst viel Karmin und filtrirt direkt vor der Verwendung.) Dann gibt



man zu dem Gemisch in bekannter Weise Essigsäure, bis die Farbe blutroth wird. Genau zu neutralisiren ist nicht nöthig. Ist die Masse erstarrt, so wird sie in Stücke geschnitten; diese bindet man in ein feines Netz und treibt sie durch kräftiges Drücken mit der Hand unter angesäuertem Wasser ( $\frac{1}{1000}$  Essigsäure, sonst wäscht sich das Karmin heraus; s. Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 4 1884 p. 474) durch die Maschen in Gestalt von feinen Nudeln, die man noch mehrere Stunden lang in einem Siebe unter fließendes Wasser stellt, um jede Spur von Ammoniak oder Säure zu entfernen. Dann schmilzt man die Nudeln, gießt die Masse auf Pergamentpapier, das mit Paraffin getränkt ist, trocknet sie an einem luftigen Orte, löst sie vom Papier ab, schneidet sie in Streifen und bewahrt sie, vor Staub und Feuchtigkeit geschützt, auf.

Einfacher (FOL, Lehrbuch p. 13) weicht man in der obigen Karminlösung Gelatineplatten 2 Tage lang ein, wäscht sie ab, legt sie auf einige Stunden in das mit Essigsäure angesäuerte Wasser, wäscht sie auf einem Siebe mehrere Stunden lang unter der Wasserleitung, trocknet sie auf dem Pergamentpapier und hebt sie, wie gemeldet, auf.

KRAUSE (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 2) läßt 100 g Gelatine in Wasser quellen, legt sie auf 2—3 Tage in Boraxkarmin (15 g Karmin, 100 g Borax, 2 Liter Wasser), wäscht sie aus, behandelt sie kurz mit 2% iger Salzsäure, wäscht sie nochmals, schmilzt sie und bewahrt sie (mit Kampher) auf.

**465. Karmingelatine** nach GERLACH (Ranvier, Traité 1. Ed. p. 118); nach THIERSCH (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 148).

**466. Berlinerblaugelatine** nach RANVIER (Traité 1. Ed. p. 119). Gesättigte Lösung von Eisenoxydsulfat in destill. Wasser wird langsam in eben solche von Ferrocyankalium gegossen, jedoch muß von letzterer ein Überschuß bleiben, also, wenn sich das Berlinerblau etwas abgesetzt hat, ein weiterer Zusatz der Eisenlösung noch einen Niederschlag geben. Man filtrirt die Flüssigkeit sammt dem Berlinerblau durch ein Filzsieb, das über einem Trichter mit einem Filter darin angebracht ist. Ist die gelbe Flüssigkeit abgelaufen, so gießt man nach und nach destillirtes Wasser so lange auf, bis — nach einigen Tagen — auch durch das Filter blaue Flüssigkeit geht. Dann taucht man das Sieb umgedreht in destillirtes Wasser, worin sich das jetzt löslich gewordene Berlinerblau ganz löst, wenn man genug Wasser genommen hat. Die Lösung kann als solche aufbewahrt oder eingedampft und als Pulver aufgehoben werden. Benutzt man sie ohne weiteren Zusatz zum Injiziren, so muß sie konzentriert sein und geht dann nie durch die Gefäßwände hindurch; man kann sie aber auch mit  $\frac{1}{4}$  Volumen Glycerin



oder mit Gelatine (1 Theil trockene G. auf 25 Theile des konzentrirten Blaues) versetzt brauchen. Die Gelatine löst man nach dem Aufweichen in Wasser in ihrem eigenen Wasser durch Erwärmen, bringt die Lösung von Berlinerblau auf dieselbe Temperatur und gießt sie allmählich unter Umrühren mit einem Glasstabe in jene. Das Präzipitat, das zu Anfang immer entsteht, muß bei weiterem Erwärmen verschwinden, sodaß der Glasstab beim Herausnehmen aus der Flüssigkeit keine Klümpchen mehr zeigt. Dann filtrirt man die Masse durch neuen Flanell.

**467. Berlinerblaugelatine** nach BRÜCKE (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 88). Man mache a) eine Lösung von Ferrocyankalium in Wasser, die in 1 Liter 217 g enthält, b) von 1 Theil festen Eisenchlorids in 10 Theilen Wasser, nehme von a und b gleiche Volumina, setze zu jedem 2 Volumina gesättigter Lösung von Natriumsulfat und gieße unter Umrühren die Eisenlösung in die andere. Dann wasche man auf einem Filter den Niederschlag, bis er blau durchläuft, presse ihn zwischen Filtrirpapier und trockne ihn an der Luft. Vom trocknen Blau mache man eine konzentrirte Lösung und versetzt diese mit so viel Gelatine, daß die Masse kalt erstarrt.

**468. Berlinerblaugelatine** nach THIERSCH (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 148). Man bereite eine Lösung von 1 Theil Gelatine in 2 Theilen Wasser, mische dann a) bei etwa 30° C. 2 ccm konzentrirter Lösung von Eisenvitriol mit 5 ccm dieser flüssigen Gelatine, sowie b) 4 ccm konzentrirter Lösung von Ferrocyankalium mit 10 ccm der Gelatine, gebe zu dieser erst 4 ccm konzentr. Lösung von Oxalsäure, dann unter Umrühren das Gemisch a und rühre fortwährend um, bis alles Berlinerblau entstanden ist. Endlich erwärme man die Masse auf dem Wasserbade bis auf etwa 90° C. und gieße sie durch Flanell.

**469. Berlinerblaugelatine** nach FOL (Zeit. Wiss. Z. 38. Bd. 1883 p. 494). Eine Modifikation der Vorschrift von THIERSCH (§ 468). Die fertige Masse wird ähnlich wie die Karminmasse von Fol (§ 464) gewaschen, getrocknet und in Streifen geschnitten.

**470. Silbergelatine** nach HOYER (Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882 p. 19). Zu konzentrirter Lösung von Gelatine gibt man das gleiche Volumen 4%iger wässriger Lösung von Silbernitrat, erwärmt die Masse und fügt ein wenig Pyrogallussäure in Wasser gelöst hinzu. Das Silber wird fast sofort reduziert; dann setzt man Glycerin und Chloralhydrat hinzu wie bei der Karminmasse (§ 463). Die Masse ist in den Kapillaren gelb, in den größeren Gefäßen braun; die Farbe ist haltbar.

VASTARINI-CRESI (Anastomosi Napoli 1903 p. 42) injiziert zunächst das Gemisch gleicher Theile der Hoyerschen ammoniakalischen Silberlösung (s. oben p. 215) von 1—0,05% Gehalt an Silber und 3,3%iger Lösung von Natriumsulfat, wäscht nach 10—15 Minuten die Gefäße mit Natriumsulfat aus und schickt 10%ige Gelatine nach. — S. auch CAMINITI (Anat. Anz. 29. Bd. 1906 p. 177).



**471. Silbergelatine** nach RANVIER zu Imprägnationen (Traité 1. Ed. p. 123). Konzentrierte Lösung von Gelatine 2—4 Theile, 1%ige Lösung von Silbernitrat 1 Theil. — Eine komplizirtere Formel gibt FOL (Zeit. Wiss. Z. 38. Bd. 1883 p. 494) an.

NEUVILLE (Ann. Sc. N. (8) Tome 13 1901 p. 36) wäscht die Gefäße mit Normalsalzwasser aus und injiziert dann ein Gemisch von 100 ccm 1%iger Lösung von Silbernitrat und 10 g in Wasser gequollener Gelatine.

**472. Andere Massen.** Grüne Masse nach ROBIN (Traité p. 37: Schweinfurter Grün); nach HOYER (Biol. Centralbl. 2. Bd 1882 p. 16: durch Mischen einer blauen und einer gelben erhalten); nach THIERSCH (Arch. Mikr. Anat. 1. Bd. 1865 p. 149: ebenso). Gelbe Masse (Bleichromat) nach THIERSCH (ibid.); nach HOYER (ibid. 3. Bd. 1867 p. 136); nach FOL (Lehrbuch p. 15); nach ROBIN (Traité p. 36: Cadmiumsulfür). Blaue Masse nach GUIGNET (\*Journ. Microgr. Paris Tome 13 1889 p. 94); nach HOYER (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1876 p. 649). Weiße Masse nach HARTING (Mikroskop Braunschweig 1866 2. Theil p. 129: Bleicarbonat); nach FREY (ibid. p. 130: Baryumsulfat). Purpurne Masse nach MILLER (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 9 1888 p. 50).

### Kaltflüssige Massen mit Gelatine, Glycerin etc.

**473. Flüssige Gelatine als Vehikel.** FOL (Lehrbuch p. 17) bereitet sogenannte Metagelatine, die auch kalt flüssig bleibt, durch mehrstündiges Erwärmen der Gelatinelösung mit etwas Ammoniak auf dem Wasserbade. Man kann sie mit schwachem Alkohol verdünnen oder ihr die Farbstoffe direkt zusetzen. Die injizierten Gewebe bringt man in starken Alkohol oder Chromsäurelösung, wodurch die Masse hart wird.

Nach meinen (MAYER) Erfahrungen bleibt diese Gelatine lange Zeit sogar in 20%iger Lösung flüssig und klar, wenn man ihr nach dem Filtriren auf 100 ccm etwa 0,2 g Fluornatrium zusetzt. Sie läßt sich auch mit Essigsäure neutralisiren oder sauer machen, ohne zu verderben, ist also in der Anwendung sehr bequem, gelatinirt aber nach  $\frac{1}{2}$  Jahr überhaupt nicht mehr.

TANDLER (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 22) löst 5 g Gelatine in 100 ccm Wasser durch Erwärmen und gibt 5—6 g Jodkalium hinzu. Die Masse gelatinirt erst unter 17° C. und hält sich durch Zusatz von Thymol klar.

HOYER (Encyclop. 1. Bd. p. 666) führt dies auf das allmählich frei werdende Jod zurück. Auch ich (MAYER) finde ein Antisepticum überflüssig.

PEARL (Journ. Appl. Micr. Vol. 5 1902 p. 1736) nimmt 8—10% Jodkalium. Auch mir (MAYER) haben 6% nicht ausgereicht. Beim Zusatz einer Lösung von löslichem Berlinerblau wird dieses erst



zum größten Theile ausgefällt, löst sich aber in der Wärme langsam fast ganz wieder auf. Die Flüssigkeit filtrirt sich auffällig gut, und Seewasser schlägt das Berlinerblau nicht daraus nieder, was es aus einfacher wässriger Lösung wohl thut. — An Stelle des theuren Jodkaliums läßt sich in der nämlichen Weise Calciumnitrat verwenden: man löst 20 g davon und ebensoviel Gelatine in 100 ccm Wasser durch Erwärmen, filtrirt und fügt, da hier natürlich das Fluornatrium als Antisepticum ausgeschlossen ist, entweder einige Tropfen Xylol oder 1 g Chloralhydrat zu. Noch einfacher aber verhindert man das Gelatiniren durch letzteres: auf 100 ccm Wasser nimmt man je 10 g Gelatine und Chloralhydrat. Dieses Gemisch hält sich Jahre lang unzersetzt.

Auch manche Chloride und Bromide besitzen die Eigenschaft, die Gelatine flüssig zu halten.

Alle diese flüssigen Gelatinen haben die unangenehme Eigenschaft, nach der Injektion in den Gefäßen erst dann zu erstarren, wenn durch Diffusion das Lösungsmittel ausgetreten ist. Am besten wirkt das Einlegen des injizierten Stückes in verdünntes Formol.

**474. Karmin und Eiweiß** nach JOSEPH (57. Jahresb. Schles. Ges. Vaterl. Cultur 1880 p. 198). Filtrirtes Eiweiß wird mit 1—5 % Karminlösung versetzt. Die Masse koagulirt durch verdünnte Salpetersäure, Chromsäure oder Osmiumsäure und bleibt in den Kapillaren durchsichtig. Sie dient zur Injektion von Invertebraten.

**475. Gummi arabicum** nach BJELOUSSOW (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1885 p. 379). Man löse 1 Theil Borax in möglichst wenig Wasser, ferner 2 Theile Gummi arab. in Wasser zu einem Syrup, mische beide Flüssigkeiten, reibe die durchsichtige, fast unlösliche Masse nach und nach mit Wasser an und drücke sie durch feine Leinwand. Man wiederhole Verreiben und Durchpressen, bis die Masse ganz ohne Klümpchen ist. (Sie muß in Alkohol erstarren, aber dabei auf das Doppelte anschwellen.) Diese Masse läßt sich mit fast allen trockenen Mineralfarben mischen. Kaltblüter kann man noch lebend damit injizieren. Aus den angeschnittenen Gefäßen fließt sie nicht aus; die Präparate halten sich in Alkohol und lassen sich mit Glycerin durchsichtig machen. Will man die Masse aus einem Gefäße wegschaffen, so löst man sie durch verdünnte Essigsäure auf.

**476. Karmin mit Glycerin** nach BEALE (\*How to work, p. 95). Man löst 0,3 g Karmin in wenig Wasser mit 5 Tropfen Ammoniak, gießt es in 15 g Glycerin und setzt unter Umrühren 15 g Glycerin nebst 8—10 Tropfen Essig- oder Salzsäure (Stärke nicht angegeben) hinzu. Das Gemisch muß blaues Lakmuspapier röthen (eventuell noch etwas Säure zusetzen!); man gibt zum Schluß 15 g Glycerin, 8 g Alkohol und 24 g Wasser hinzu.



**477. Berlinerblau mit Glycerin** nach BEALE (ibid. p. 93). Man mischt 120 g Wasser mit 30 g Glycerin, löst in einem Fünftel dieses Gemisches 0,7 g Ferrocyankalium, in einem anderen  $3\frac{3}{4}$  g Tinct. ferri sesquichlorati, setzt letztere Lösung allmählich unter Umschütteln zu ersterer und fügt langsam unter Schütteln den Rest des Wassers und Glycerins sowie 30 g Alkohol von 95% hinzu. Die injizierten Präparate sind in Glycerin mit 1% Essigsäure aufzuheben.

**478. Saure Masse** nach BEALE (ibid. p. 296). Ähnlich der vorigen zu bereiten aus Glycerin 60 ccm, Wasser 30 ccm, Tinct. ferri sesquichl. 10 Tropfen, Ferrocyankalium 0,2 g, starker Salzsäure 3 Tropfen. Man kann zum Schluß 8 g Alkohol zusetzen. Das Gemisch dringt nach meinen (LEE) Erfahrungen gut ein und fließt aus angeschnittenen Capillaren nicht leicht aus.

**479. Berlinerblau und Glycerin** nach RANVIER (Traité p. 120). Lösliches Berlinerblau (§ 466) mit  $\frac{1}{4}$  Glycerin gemischt.

**480. Indigkarmin** nach THOMA (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1899 p. 270): in 50 ccm Wasser löst man 0,15 g Natriumindigsulfat, filtrirt, fügt 40 ccm Glycerin und unter Umrühren allmählich 10 ccm 20%iger filtrirter Lösung von Chlornatrium in Wasser (eventuell auch 3 ccm 1%iger Lösung von Atropinsulfat zur Erweiterung der Arterien) hinzu. Das feinkörnige Präzipitat wird sammt der Flüssigkeit injiziert.

**481. Gummigutt mit Glycerin** nach HARTING (Mikroskop Braunschweig 1866 2. Theil p. 124). Man reibt ein Stück Gummigutt auf einem Teller ab und vermischt diese Farbe mit Glycerin; oder zu einem Gemisch gleicher Theile von Wasser und Glycerin setzt man gesättigte alkoholische Lösung von Gummigutt. Das äußerst fein präzipitirte Gummigutt bleibt suspendirt. Ist die Masse zu dünn, so läßt man sie in einer offenen Schale 24 Stunden stehen.

### Rein wässerige Massen.

**482. Lösliches Berlinerblau.** Es ist in guter Beschaffenheit bei Grübler & Hollborn und anderen Firmen käuflich. In destillirtem Wasser ist es leicht löslich und wird durch Salze, daher auch durch Seewasser, wieder gefällt. Eine starke Lösung erhält man entweder nach dem Verfahren von Ranvier (§ 466) oder von Mayer (s. unten).

Nach HOFMANN (Ann. Chemie 337. Bd. 1904 p. 1) gewinnt man es durch allmählichen Zusatz von 1 Molekül Ferriammonalaun zu  $1\frac{1}{2}$  Mol. Ferrocyankalium, scheidet es aus der Lösung durch Chlorkalium ( $1\frac{1}{2}$ —2%) aus, wäscht es mit Alkohol von 60—70% und trocknet es über Schwefelsäure. Dieses Präparat ist gegen Alkali oder Ammoniak ungemein empfindlich. Ein ebenso leicht lösliches, aber haltbareres stellt man durch allmählichen Zusatz von 22 g Ferri-



alaun zu 21 g Ferrocyankalium (jedes Salz in 500 ccm Wasser gelöst) und 10 Stunden langes Warmhalten des Gemisches auf dem Wasserbade her.

MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 8. Bd. 1888 p. 310) mischt 10 ccm Liq. ferri sesquichlorati mit 500 ccm Wasser, gibt dies zu einer Lösung von 20 g Ferrocyankalium in 500 ccm Wasser, läßt 12 Stunden lang absetzen, gießt die Flüssigkeit ab, wäscht das Präzipitat auf einem Filter mit destill. Wasser, bis dieses dunkelblau durchläuft (1—2 Tage lang), und löst das Blau in etwa 1 Liter Wasser auf.

Da das Berlinerblau gegen Alkali empfindlich ist, so setzt man in allen zweifelhaften Fällen am besten der Lösung etwas Essigsäure zu. Man kann auch mit dem feinen Präzipitat injizieren, das man durch Vermischen der Lösung mit etwa der gleichen Menge 10%iger Kochsalzlösung erhält.

Aus größeren Gefäßen läuft das meiste Blau wieder aus, wenn man sie nicht zugestopft oder zugebunden hat, aber stets bleibt an den Wänden genug haften. Die injizierten Objekte bringt man direkt in Alkohol oder in wässrige (z. B. Formol) oder alkoholische Fixirgemische, die aber sauer reagiren müssen. Eine Kontrastfärbung der Gewebe in toto oder auf Schnitten ist zulässig, z. B. mit alkoholischer Karminlösung und Pikrinsäure in Alkohol.

HARRIS (Proc. R. Soc. Edinburgh Vol. 21 1897 p. 383) führt das temporäre Verblassen des injizierten Blaus auf Reduktion durch Mangel an Sauerstoff im Organismus zurück. — Aus der gleichen Ursache verlieren Balsampräparate ihre Farbe und gewinnen sie beim Einlegen in Benzol (MAYER) oder verharztes Terpentinöl (BRÜCKE, VASTARINI-CRESI) bald wieder.

**483. Berliner Blau** nach MÜLLER (Feinerer Bau der Milz. Leipzig 1865 p. 6 und 14): konzentrierte Lösung von löslichem Berlinerblau nebst der gleichen oder halben Menge 90%igen Alkohols; man injiziert die Flüssigkeit sammt dem sehr feinen, sich nur schwer absetzenden Präzipitate.

**484. Karmin** nach EMERY (Mitth. Z. Stat. 2. Bd. 1880 p. 21). Zu 10%iger ammoniakalischer Lösung von Karmin wird unter Umrühren Essigsäure zugesetzt, bis durch das ausfallende Karmin die Farbe der Flüssigkeit heller wird. Man gießt letztere von dem geringen Präzipitate ab, injiziert sie kalt und legt die Objekte (Fische) sofort in starken Alkohol, damit das Karmin rasch ausfalle. Sollen die Kapillaren nicht injiziert werden, so setzt man zur Karminlösung soviel Essigsäure, daß das Karmin zum Theil ausgefällt wird, schüttelt vor dem Injizieren die Flasche tüchtig und läßt einige Minuten lang absetzen, damit die größten Körner nicht mit in die Spritze gelangen. In den Kapillaren bleibt viel von dem feinen Sediment stecken, und so werden die Venen viel heller roth als die Arterien.

**485. Tusche** nach TAGUCHI (Arch. Mikr. Anat. 31. Bd. 1888 p. 565). Chinesische, besser noch japanische Tusche wird auf einem Abziehstein so lange gerieben, bis die Flüssigkeit, auf Filtrirpapier getropft, keine grauen Ringe um die Tropfen gibt. — GROSSER (Zeit.



Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 178) reibt für kleine Wirbelthiere die Tusche mit filtrirtem Hühnereiweiß an, HOFMANN (Zeit. Morph. Anthrop. Stuttgart 3. Bd. 1901 p. 240) mit filtrirtem Blutserum; ähnlich HAMBURGER (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 2). — DALLA ROSA (Verh. Anat. Ges. 14. Vers. 1900 p. 144) empfiehlt für die Lymphgefäße flüssige Tusche (darf mit dem 2—3fachen an Wasser verdünnt werden). — S. auch HOCHSTETTER (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 186: Füllung von Hohlräumen mit Tusche oder Luft).

**486. Milch.** FISCHER (Centralbl. Path. 13. Bd. 1902 p. 978) injiziert in die mit Salzlösungen ausgespülten (§ 455) Gefäße Milch, bindet die Gefäße zu und härtet das Objekt wenigstens 24 Stunden lang im Gemisch von 1000 Th. Wasser, 75 Th. Formol und 15 Th. Essigsäure. Die Milch gerinnt; zur Erkennung der Kapillaren in den Gefrierschnitten werden diese mit Sudan III oder Scharlach R gefärbt.

Diese Methode ist zwar sehr gut ausgedacht und auch, da ja Milch durch ein wenig Formol unbegrenzt lange haltbar wird, nicht unbequem, aber mir (MAYER) sind die Gefäße nicht lebhaft roth genug. Auch kann man keine Balsampräparate davon herstellen.

### Celloidin- und andere Massen.

**487. Celloidinmasse** nach SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 201) für Korrosionspräparate. S. die früheren englischen Auflagen dieses Buches oder Whitman, Methods. — Nach HOCHSTETTER (Anat. Anz. 1. Jahrg. 1886 p. 51).

**488. Celluloidmasse** nach FLINT (Amer. Journ. Anat. Vol. 1 1902 p. 270) für Korrosionspräparate: „celluloid colored by victoria blue“. S. auch STORCH in: \*Zeit. Thiermed. 3. Bd. 1898 p. 171. — Ähnlich KRASSUSKAJA (Anat. Hefte 2. Abth. 13. Bd. 1904 p. 521: Photoxylin 30 g, Kampher 20 g, Aceton 600 g) und HUBER (Amer. Journ. Anat. Vol. 6 1907 p. 393).

**489. Asphaltmasse** nach BUDGE (Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1870 p. 70: Asphalt in Benzol gelöst).

**490. Schellackmasse** nach HOYER (Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 p. 645); s. auch BELLARMINOW (Anat. Anz. 3. Jahrg. 1888 p. 650).

**491. Ölfarben** nach HOYER (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 346); nach GEROTA (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 219; s. auch BRUHNS in: Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. 1898 p. 60); nach POLANO (Monatschr. Geburtsh. Gynäk. 17. Bd. 1903 p. 289: Preußisch-Blau mit Äther, Kampher und Chloroform); nach SEVEREANU (Verh. Anat. Ges. 21. Vers. 1906 p. 275).



**492. Kautschuk** nach FRANÇOIS-FRANCK (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 55 1903 p. 962): in Schwefelkohlenstoff gelöst und mit Ölfarben versetzt.

**493. Leinölkitt** nach Teichmann ist nach HOYER (Verh. Anat. Ges. 9. Vers. 1895 p. 77) im Wesentlichen gekochtes Leinöl mit Kreide und Zinnober oder mit Zinkoxyd und Ultramarinblau; zum Verdünnen Schwefelkohlenstoff, Äther oder (s. TICHANOFF in: Internat. Monatschr. Anat. Phys. 15. Bd. 1898 p. 356) Benzin.

**494. Wasserglas** (Natriumsilikat) mit Kreide und Farbstoff nach JASCHTSCHINSKI (Anat. Anz. 24. Bd. 1903 p. 204).

**495. Stärke** nach PANSCH (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1877 p. 480, f. 1880 p. 232, 371, f. 1881 p. 76, f. 1882 p. 60, f. 1883 p. 265; s. auch GAGE in: Journ. R. Micr. Soc. London f. 1888 p. 1056).

**496. Natürliche Injektionen.** Um sie zu konserviren, legt man nach ROBIN (Traité p. 6) die Organe in ein Gemisch von 1 Theil Liq. ferri sesquichlorati und 10 Theilen Wasser, nach RETTERER (Journ. Anat. Phys. Paris 24. Année 1888 p. 324; ibid. 30. Année 1894 p. 336) und ZENKER (Arch. Path. Anat. 135. Bd. 1894 p. 147) in Müllers Gemisch; Z. färbt, um das Blut recht deutlich zu machen, die Präparate mit Biondis Gemisch. — S. auch TRZASKA in: Arch. Path. Anat. 153. Bd. 1898 p. 110.

---



## 20. Kapitel.

**Maceriren und Verdauen.****Maceriren.**

**497. Methoden zur Dissociation.** Mitunter ist es zur genauen Kenntniss der Elemente eines Gewebes nothwendig, diese aus ihrer Lage im Gewebe loszulösen. Häufig genügt hierzu das einfache Zerzupfen mit Nadeln nicht, denn der interstitielle Kitt ist oft zäher als die Elemente selber, und so werden diese hierbei zerrissen. Alsdann muß man maceriren, d. h. Mittel anwenden, die den Kitt oder die Elemente, die man nicht studiren will, auflösen oder wenigstens erweichen, zugleich aber die Form der Elemente, die man isolirt haben möchte, konserviren. Sind jene gut erweicht, so beendet man die Isolirung durch Zerzupfen, Schütteln in einem Reagensglase mit etwas Flüssigkeit, oder Klopfen. Besonders letzteres gibt häufig, z. B. bei Epithelien, die besten Resultate. Man bringt nämlich das macerirte Gewebe auf einen Objektträger, legt ein Deckglas darauf, das man an allen 4 Ecken durch Wachsfüße (s. unten) unterstützt, und klopft mit einer Nadel sanft auf dem Deckglas umher, sodaß dieses allmählich heruntergedrückt wird und die Zellen des Gewebes auseinander drängt. Ist dies zur Genüge geschehen, so setzt man das Einschlußmedium zu und umrahmt das Präparat. S. auch § 198.

Die Maceration wurde früher, als die Schneidetechnik noch nicht ausgebildet war, viel mehr ausgeübt als jetzt, wo sie meist über Gebühr vernachlässigt wird. Von den zahllosen Macerirgemischen — s. SPALTEHOLZ in: Encyclop. 2. Bd. p. 38 — seien hier nur die wichtigeren aufgeführt.

Das Material zu den Wachsfüßen macht man nach VOSSELER (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 461) durch Schmelzen von weißem Wachs und Hineinrühren von  $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$  seines Gewichtes an venetianischem Terpentin.



HICKSON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 25 1885 p. 244) zerzupft die in 5%igem Chloralhydrat macerirten Gewebe auf dem Objektträger in Mayers Eiweißglycerin, koagulirt dieses durch Alkohol und kann nun das Präparat bequem färben und in Balsam bringen.

**498. Wasser.** Gewöhnliches oder destillirtes Wasser ist früher viel zum Maceriren benutzt worden, theils bei gewöhnlicher Temperatur, theils warm oder sogar siedend heiß. Gegenwärtig wendet man es nur noch selten an. (Genaueres in: Encyclop. 2. Bd. p. 39).

**499. Jodserum.** Seine Zubereitung s. in § 379. Zur Maceration legt man ein Stückchen des Gewebes, kleiner als eine Erbse, in 4 bis 5 ccm schwach jodirtes Serum. Gewöhnlich kann man schon nach 24 Stunden mit Erfolg zerzupfen oder zerklopfen (s. § 497); falls nicht, so muß man länger maceriren, dann aber etwas Jod zusetzen, so oft wie das Serum zu hell wird. Diese Methode paßt nur auf frische Gewebe, wobei das Jod durch schwaches Härten des Protoplasmas als Fixirmittel wirkt. — Mit künstlichem Jodserum (§ 381) hat RANVIER (Traité 1. Ed. p. 77) keinen Erfolg gehabt.

FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 5. Bd. 1869 p. 428) macerirt die Haut von Mollusken in Gemischen von Jodserum und Kaliumbichromat oder Müllers Gemisch.

**500. Jodjodkalium** nach ARNOLD (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 135 u. 763): 10 ccm 10%iger wässriger Jodkaliumlösung werden mit 5—10 Tropfen derselben Lösung, die außerdem 5% Jod enthält, versetzt. Zur Isolirung von allerlei Zellen und Darstellung der „Granula“ darin.

**501. Alkohol.** RANVIER (Traité 1. Ed. p. 241) verwendet den sogenannten Drittelalkohol: Alkohol von 90% 1 Theil und 2 Theile Wasser. Epithelien maceriren in 24 Stunden völlig darin. Man kann auch stärkeren Alkohol (gleiche Theile von Alkohol und Wasser) oder schwächeren (z. B.  $\frac{1}{4}$ -Alkohol, zur Isolirung der Fasern in der Retina nach THIN) anwenden, indessen ist im Allgemeinen der Drittelalkohol vorzuziehen. Nach LIST (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 511) ruft er aber in den Drüsenzellen Quellungen hervor.

Zum Maceriren von Gefäßen nimmt RANVIER (Arch. Phys. Paris (2) Tome 1 1874 p. 789) statt des Wassers im Drittelalkohol 1%ige Lösung von Kochsalz, weil sich dann das Blut besser hält. — S. auch § 522 u. 523.

**502. Methylgemisch** nach SCHIEFFERDECKER (Arch. Mikr. Anat. 28. Bd. 1886 p. 305) für die Retina: 10 Theile Glycerin, 1 Theil Methylalkohol, 20 Theile dest. Wasser.



**503. Salzlösung.** Gut ist die 10%ige Lösung von Kochsalz, doch werden auch stärkere und schwächere verwendet.

E. BALLOWITZ (Zeit. Wiss. Z. 50. Bd. 1890 p. 329) fixirt die Spermien mit Dämpfen von Osmiumsäure, macerirt sie entweder nachher oder auch frisch in Kochsalzlösung (0,8—10%) und färbt sie mit Gentianaviolott.

**504. Kochsalz und Alkohol** nach MOLESCHOTT & BORME (Ranvier, Traité 1. Ed. p. 242): 5 Vol. 10%iger Lösung von Kochsalz und 1 Vol. absoluten Alkohols. Für Flimmerepithel ist dies Gemisch nach Ranvier nicht so gut wie der Drittelalkohol. — S. auch § 501.

**505. Natriumnitrat** nach LOTT (\*Unters. Phys. Inst. Graz 3. Heft 1868 p. 268): 10%ige wässerige Lösung zum Isoliren des Epithels, das nachher ohne Weiteres versilbert werden kann. Daher besser als Kochsalzlösung.

**506. Fluornatrium.** LEVI (Monit. Z. Ital. Anno 15 1904 p. 204) macerirt in 1%iger Lösung Epithel, Muskeln, Drüsen etc. bei 27° C. 12—24 Stunden lang.

**507. Formol.** GEBHARDT (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 306) braucht 4—10%ige Lösung für die Linse. — GAGE (Proc. Amer. Micr. Ass. Vol. 17 1896 p. 328) verwendet 2 Theile Formol auf 1000 Theile Normalsalzwasser. — Über Acetonchloroform s. oben § 18.

**508. Chloralhydrat.** In etwa 2—5%iger Lösung macerirt es milde. LAVDOWSKY (Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 p. 359) empfiehlt es für glatte Muskeln, HICKSON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 25 1885 p. 244) für die Retina der Arthropoden, BUTZKE (\*Arch. Psychiatrie 3. Bd. 1872) für das Gehirn, besonders nach Fixirung der Elemente durch  $\frac{1}{4}$ %ige Osmiumsäure. — TRINKLER (Arch. Mikr. Anat. 24. Bd. 1884 p. 175) nimmt gleiche Theile 5%iger Lösung von Chloralhydrat und  $\frac{1}{50}$ %iger von Chromsäure nebst etwas Essigsäure.

**509. Kali- oder Natronlauge.** Beide Lösungen müssen nach MOLESCHOTT sehr stark sein, um die Form der Zellen nur wenig zu verändern (nach SCHULTZE Kalilauge 28—40%, Natronlauge 20 bis 22%); schwach hingegen zerstören sie die Zellen, dissociiren aber Epidermis, Haare und Nägel.

Mit den starken Lösungen behandelt man die Gewebe auf dem Objektträger; will man daraus Dauerpräparate gewinnen, so neutralisirt man die Kalilauge mit Essigsäure, die damit Kaliumacetat bildet (BEHRENS, KOSSEL & SCHIEFFERDECKER, Das Mikroskop, 1. Bd. 1889 p. 156); oder man setzt direkt 60%ige Lösung von Kaliumacetat (auch wohl mit 1% Essigsäure vermischt) reichlich zu und schließt die Präparate hierin oder in Glycerin oder Glycerin-gelatine ein (GAGE in: Proc. Amer. Ass. Micr. Vol. 11 1889 p. 36).

**510. Baryt- oder Kalkwasser** nach FOL (Lehrbuch p. 110). Ersteres soll bereits in einigen Stunden den Zerfall der Nerven, Muskeln und Binde-



substauzen in Fibrillen bewirken, letzteres erst in Tagen. — **Ammoniak, Kali- und Natriumcarbonat** dienen für Hornsubstanzen.

**511. Sulfoeyanammonium oder -kalium** nach STIRLING (Journ. Anat. Phys. London Vol. 17 1883 p. 208): 10%ige Lösung 24—48 Stunden lang für Epithel. — SOULIER (Trav. Inst. Z. Montpellier (2) Tome 2 1891 p. 171) hat dagegen gute Resultate nur durch Mischen mit einem Fixirmittel erhalten, besonders mit dem von Ripart & Petit, aber auch mit Sublimat etc. Andererseits wirke das Gemisch von Ripart & Petit gut im Verein mit dem künstlichen Serum von Kronecker oder mit Pepsin, Eau de Javelle, 10%iger Lösung von Natriumsulfat oder 1½%iger Natronlauge. Überhaupt gelange man durch richtiges Kombiniren eines Macerirgemisches mit den gebräuchlichen Fixirmitteln stets zu einem „wirksamen Dissociirgemisch“.

**512. Ammoniummolybdat** nach KRAUSE (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 153): 5%ige wässerige Lösung für Speicheldrüsen, Retina etc.

**513. Künstlicher Speichel** nach CALBERLA (Arch. Mikr. Anat. 11. Bd. 1875 p. 449) für embryonale Muskeln und Nerven.

**514. Ammoniumchromat** nach LANDOIS (Arch. Mikr. Anat. 25. Bd. 1885 p. 445). Gesättigte Lösung von Kaliumphosphat, Natriumsulfat und neutralem Ammoniumchromat je 5 Theile, destillirtes Wasser 100 Theile. Man macerirt darin kleine Stücke 1—5 Tage und legt sie darauf in ein Gemisch gleicher Theile von Ammoniakkarmin und obigem Gemisch. — GIERKE empfiehlt es für jegliches Gewebe, speziell das Centralnervensystem; ebenso NANSSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 242). Mir (MAYER) hat es sich für Wirbelthiere ebenfalls sehr dienlich erwiesen.

**515. Kaliumbichromat.** Es wird meist in schwacher Lösung (0,01—1%) angewandt. EISIG (Fauna Flora Golf. Neapel 16. Monogr. 1887 p. 297) macerirt die Capitelliden in ½—1%iger Lösung Monate, selbst Jahre lang (gegen Schimmel Thymol!), zerzupft sie in der Lösung, wäscht diese unter dem Deckglas mit ½ Glycerin und ½ Wasser aus, färbt mit Eosin und schließt in Glycerin oder das Gemisch von Farrants (§ 401) ein. — BROCK (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 349) nimmt für das Nervensystem von Mollusken gleiche Theile 10%iger Lösung von Kaliumbichromat und Blut des Thieres, MÖBIUS (Morph. Jahrb. 12. Bd. 1887 p. 174) für Muscheln aus der Ostsee Ostseewasser 1 Theil und ½%ige Lösung von Kaliumbichromat 4—6 Theile. — S. auch § 499.

**516. Müllers Gemisch.** Auf 1/10 verdünnt oder unverdünnt. — APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 49) macerirt *Ascaris* zur Isolirung der Muskeln im verdünnten Gemisch Monate lang. S. auch § 499.



**517. Chromsäure.** Gewöhnlich als Lösung von 1:5000 verwandt (M. SCHULTZE 1856); besonders gut für Nerven und glatte Muskeln. Für Nerven genügen 24 Stunden; man nimmt auf ein Stück Gewebe von 5 mm Seite etwa 10 ccm Lösung (RANVIER). — S. auch § 508.

**518. Osmiumsäure.** Sie wird in  $\frac{1}{10}$ —1 % iger Lösung verwandt. PRENANT (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 362; ibid. 9. Bd. 1892 p. 28) nimmt für Hoden und Cochlea erst 1 % ige Lösung 12 Stunden lang, dann  $\frac{1}{5}$  % ige 2—14 Tage oder  $\frac{1}{10}$  % ige 4—5 Tage lang. — O. SCHULTZE (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 7) legt die in schwacher Osmiumsäure macerirten Gewebe in  $\frac{1}{2}$  % ige Lösung von Kaliumbichromat, dann in 50 % igen Alkohol, von da in  $\frac{1}{2}$  % ige alkoholische Lösung von Hämatoxylin, wäscht sie mit Alkohol ab und zerzupft sie in seinem Gemisch (s. § 386).

**519. Osmiumsäure und Essigsäure** nach HERTWIG (Nervensyst. Medusen Leipzig 1878 p. 5; Jena. Zeit. Naturw. 13. Bd. 1879 p. 462): gleiche Theile  $\frac{1}{20}$  % iger Osmiumsäure und  $\frac{1}{5}$  % iger Essigsäure. Die Medusen werden auf 2—3 Minuten hineingelegt, mit  $\frac{1}{10}$  % iger Essigsäure gewaschen, auch 1 Tag lang darin gelassen, in Beales Karmin gefärbt und in Glycerin aufbewahrt. Für Aktinien löst man die Osmiumsäure ( $\frac{1}{25}$  % ige) und Essigsäure in Seewasser und wäscht in  $\frac{1}{5}$  % iger Essigsäure aus. Ist die Maceration beendet, so färbt man mit Pikrokarmin, sonst mit Beales Karmin.

**520. Chromosmiumessigsäure.** MÖBIUS (Morph. Jahrb. 12. Bd. 1887 p. 174) löst ihre Bestandteile in Ostseewasser und macerirt darin Muscheln aus der Ostsee mehrere Tage.

**521. Essigsäure.** In Dampfform oder im Gemisch mit Wasser ( $\frac{1}{3}$ —3 % ige) oder mit Wasser und Alkohol oder mit Wasser (2 Theile) und Glycerin (1 Theil auf 1 Th. Essigsäure nach HALLER in: Morph. Jahrb. 11. Bd. 1886 p. 321). S. auch § 834 (BERGH).

**522. Pikrinsäure und Alkohol** nach GAGE (Proc. Amer. Soc. Micr. Vol. 12 1890 p. 122): 250 Theile Alkohol von 95 %, 750 Theile Wasser, 1 Theil Pikrinsäure. Besonders gut für Epithelien und Muskeln. Einige Stunden genügen.

**523. Salicylsäure.** Gesättigte wässerige Lösung für Flimmerzellen (ENGELMANN). — FRORIEP (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1878 p. 422) gibt eine komplizierte Methode zur Isolirung von quergestreiften Muskeln an: erst Einlegen in eine alkoholische, dann Kochen in einer wässerigen Lösung etc.

**524. Gerbsäure** nach MOTTA-COCO & FERLITO (Monit. Z. Ital. Anno 10 1899 p. 73) für Muskeln von *Rana*: 24—48 Stunden in  $1\frac{1}{2}$  % iger wässeriger Lösung.

**525. Borsäure** in gesättigter Lösung. S. § 815 (ENGELMANN).



**526. Oxalsäure** nach SCHULTZE (Abh. Nat. Ges. Halle 7. Bd. 1863 p. 89). Ganz oder halb gesättigte Lösung für die Nervenenden in der Nasenschleimhaut von Wirbelthieren.

**527. Arsenige Säure.** THIEM (\*Dissert. Greifswald 1876) isolirt die quergestreiften Muskelfibrillen in gesättigter Lösung oder auch in  $2\frac{1}{2}$ —5% iger Lösung von Ferrosulfat.

**528. Kaliumhypermanganat.** Es wirkt ähnlich der Osmiumsäure, aber energischer. Allein oder mit Alaun soll es die Fasern der Cornea am besten dissociiren (ROLLETT in: Strickers Handbuch p. 1108).

**529. Salpetersäure.** Die 20 % ige Säure ist sehr gut für Muskeln. Nach 24 Stunden schüttelt man das Objekt mit Wasser in einem Reagensglase, wäscht die isolirten Fasern mit Wasser aus und kann sie in starker Alaunlösung lange Zeit aufbewahren (GAGE in: Proc. Amer. Soc. Micr. Vol. 11 1889 p. 38). Zur Maceration genügt bei 40—50° C. oft schon 1 Stunde. — S. auch § 654.

Das Gemisch gleicher Theile von Salpetersäure, Glycerin und Wasser braucht MARCACCI (Arch. Ital. Biol. Tome 4 1883 p. 293) für glatte Muskeln. Es wird von HENDRICKSON (Bull. J. Hopkins Hosp. Baltimore Vol. 9 1898 p. 225) gerühmt. — FREUD (Centralbl. Med. Wiss. 17. Jahrg. 1879 p. 468) macerirt zur Isolirung der Nerven höherer Wirbelthiere die Gewebe 2—4 Tage lang im Gemisch von 1 Theil Salpetersäure, 1 Theil Glycerin und 3 Theilen Wasser. Die Salpetersäure muß „je nach Bedürfniß mehr oder weniger Untersalpetersäure enthalten“. Auch für Schleimdrüsen, Haare etc. brauchbar.

**530. Salpetersäure und Kaliumchlorat** (KÜHNE, Über die peripher. Endorgane Leipzig 1862 p. 6; RANVIER, Traité 1. Ed. p. 79). Etwas Kaliumchlorat übergießt man in einem Uhrglase mit dem 4fachen Volumen Salpetersäure, begräbt ein Stückchen Muskel darin auf  $\frac{1}{2}$  Stunde und schüttelt es dann mit Wasser in einem Reagensglase.

**531. Salpetersäure und Essigsäure** nach APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 49): je 3 Volumtheile Essigsäure und Salpetersäure, je 20 Wasser, Glycerin und absol. Alkohol. Blutegel werden darin 24 Stunden lang macerirt, dann direkt in 70% igen Alkohol und nach 24 Stunden in 50% iges Glycerin gebracht, das so oft gewechselt wird, wie es noch sauer reagirt. So lassen sich die Nerven vom Bauchstrang bis zur Haut im Zusammenhang isoliren. (S. auch APÁTHY in: Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 728.)

**532. Salzsäure.** KÖNIGSTEIN (Sitzungsb. Akad. Wien 71. Bd. 3. Abth. 1875 p. 301) macerirt die vergoldete Cornea im Gemisch gleicher Theile von rauchender Salzsäure, Glycerin und Wasser. — FREUD (ibid. 78. Bd. 1879 p. 102) nimmt für Goldpräparate von Nerven Salzsäure 10, Wasser 7, Glycerin 3 Theile. Das Glycerin hält die macerirten Gewebe geschmeidig. — SCHUBERG & SCHRÖDER



(Zeit. Wiss. Z. 76. Bd. 1904 p. 516) brauchen für die frischen Muskeln von Hirudineen 5%ige Salzsäure (von 37% HCl); die in Sublimat fixierten kochen sie mehrere Stunden lang in Wasser.

**533. Schwefelsäure.** SCHULTZE (Abh. Nat. Ges. Halle 7. Bd. 1863 p. 90) empfiehlt für die Nasenschleimhaut 1—10 Tropfen auf 30 ccm Wasser. Auch für die Fasern der Kristalllinse, die Stäbchen der Retina etc. — Nach ODENIUS (Arch. Mikr. Anat. 2. Bd. 1866 p. 463) ist sehr schwache Säure das beste Mittel für die Nervenenden in Tasthaaren: man maceriert die Haarfollikel 8—14 Tage darin. — Heiße konzentrierte Säure isoliert verhornte Gewebe (Horn, Haare, Nägel) gut. S. auch § 767 (Knochen) und § 815 (Mollusken).

**534. Schweflige Säure.** SANDMANN (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1885 p. 243) benutzt sie „in der Concentration, wie sie im Handel zu haben ist“ für Muskeln. Diese läßt er 1—8 Tage darin macerieren, wäscht sie aus und kocht sie in Wasser auf. Zur Vergoldung legt er die isolierten Fasern auf einige Minuten in Goldchlorid (1—3 Tropfen 1%iger Lösung auf 10 ccm Wasser), wäscht sie aus und läßt sie in Wasser (mit einer Spur Essigsäure) einige Minuten lang kochen.

**535. Lysol** nach REINKE (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 532). Lysol (die 50%ige Lösung der Kresole des Theeröls in neutraler Seife) soll als 10%ige Lösung in Wasser oder in Wasser, Alkohol und Glycerin sehr rasch macerieren, z. B. schon in wenigen Minuten die Rindenzellen der Haare, fast augenblicklich die Epithelzellen von *Salamandra*.

## Verdauen.

**536. Pepsin.** Nach BEALE (\*Arch. of Med. Vol. 1 1858 p. 296) wird der Saft aus den Magendrüsen des Schweines rasch auf Glasplatten getrocknet und pulverisirt. Gut verschlossen hält er sich Jahre lang; 1 Theil löst etwa 120 Theile coagulirten Eiweisses auf. Man löst das Pulver in destill. Wasser und filtrirt, oder löst es in Glycerin. Man digerirt die Objekte in der Lösung bei 37° C. einige Stunden lang. — BRÜCKE (Carnoy, Biologie cellul. p. 24) nimmt Glycerinextrakt vom Schweinemagen 1 Volumen,  $\frac{1}{5}$  %ige Salzsäure 3 Volumina, dazu etwas Thymol. — Nach BIKFALVI (Centralbl. Med. Wiss. 21. Jahrg. 1883 p. 436 und 833) wird 1 g mit Alkohol behandelter und getrockneter Mucosa des Magens vom Hunde mit 20 ccm  $\frac{1}{2}$  %iger Salzsäure 3—4 Stunden in einem Brütöfen digerirt und dann filtrirt. Das Objekt macerirt man in dieser Flüssigkeit  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang.

KUSKOW (Arch. Mikr. Anat. 30. Bd. 1887 p. 32) löst 1 Theil Pepsin in 200 Theilen 3%iger Oxalsäure und bringt das Objekt



hinein; Schnitte von gehärtetem Ligamentum nuchae sind bei gewöhnlicher Temperatur in 10—40 Minuten digerirt.

S. auch GEDOELST in: La Cellule Tome 3 1887 p. 205; Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 57. — Über Lab und seine Bereitung s. LÖRCHER (Arch. Gesamte Phys. 69. Bd. 1897 p. 141).

**537. Pankreatin.** SCHIEFFERDECKER (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 483) digerirt in gesättigter, filtrirter Lösung von Pankreatin (siccum, von Witte in Rostock) in Wasser Epidermis 3—4 Stunden lang bei etwa 37° C.

Nach MAAS (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 211) zerstört Pankreassaft bei Körperwärme die Bindegewebsfasern in der Darmwand von *Myxine*, nicht aber die Zellen, während bei 4—6° C. das Gerüst intakt bleibt und die Zellen verdaut werden.

Zur Demonstration des adenoiden Gewebes macerirt HOEHL (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1897 p. 136) Paraffinschnitte (mit Wasser aufgeklebt) 10—24 Stunden lang bei 20—37° C. in schwach alkalischer (0,3% Soda)  $\frac{1}{5}$ - bis  $\frac{2}{5}$ %iger Lösung des Pankreatinfermentes von Mall (oder von Merck in Darmstadt), wäscht sie 10—20 Minuten lang vorsichtig aus und färbt sie mit Eisenhämatoxylin oder Orceïn etc.

S. auch GEDOELST (La Cellule Tome 3 1887 p. 205; Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 57) und FLINT (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1903 p. 63).



## 21. Kapitel.

**Korrodiere, Entkalken, Entkieseln, Bleichen.****Korrodiere.**

**538. Kalilauge, Natronlauge, Salpetersäure.** Kochen oder langes Einweichen in einer starken Lösung von einem dieser drei Reagentien ist ein wirksames Mittel zur Entfernung der Weichtheile vom Skelette bei Arthropoden, Schwämmen etc.

**539. Eau de Javelle** (Kaliumhypochlorit) nach NOLL (Z. Anz. 5. Jahrg. 1882 p. 528) zum Entfernen der Weichtheile von Schwämmen. Man läßt ein Stückchen des Schwammes auf dem Objektträger so lange (bei dünnen Stückchen 20—30 Minuten) in einigen Tropfen Eau de Javelle liegen, bis sich alle Weichtheile gelöst haben. Dann bringt man vorsichtig Essigsäure hinzu, um die etwaigen Niederschläge aufzulösen, und führt das Präparat in Balsam über.

**540. Eau de Labarraque** (Natriumhypochlorit) kann in ähnlicher Weise verwandt werden. Nach LOOSS (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 333) lösen beide Flüssigkeiten konzentriert (s. unten § 560) und kochend Chitin rasch auf; verdünnt man sie hingegen mit dem 4—6 fachen an Wasser und maceriert darin die Gewebe 24 Stunden oder länger, je nach der Größe, so wird das Chitin durchsichtig, weicher und für Färbmittel durchlässiger. (Dabei sollen sogar die Nervenenden nicht leiden.) Auch ist die Methode verwendbar für Nematoden und ihre Eier, zur Auflösung der Gallerte um die Eier der Amphibien (§ 580) u. s. w.

**541. Korrosion** nach ALTMANN (Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 471): Imprägnation mit Öl, dann Osmiumsäure, zuletzt Eau de Javelle. — Über Injektionen für Korrosionspräparate s. REJSEK (Bibliogr. Anat. Paris 4. Année 1897 p. 229). S. ferner oben § 487—489 und § 797 (MÜLLER) sowie BRÜHL (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 418: leicht schmelzbares Metall), DENKER (Anat.



Hefte 2. Abth. 9. Bd. 1900 p. 300: Wachs oder leicht schmelzbares Metall), THOMA & FROMHERZ (Arch. Entwicklungsmech. 7. Bd. 1898 p. 678: Paraffin) und PEABODY (Z. Bull. Boston Vol. 1 1897 p. 164: Celloidin mit Berlinerblau, nachher 20%ige Salpetersäure).

## Entkalken.

**542. Allgemeines.** Man nehme stets nur wirklich gut fixirte und gehärtete Gewebe und verlasse sich nicht auf Reagentien, von denen es heißt, sie entkalken und härten frische Gewebe zugleich.

ROUSSEAU (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1887 p. 207) bettet vor dem Entkalken die höchstens 2 cm großen Objekte in Celloidin ein, bringt sie in 85%igen Alkohol und entkalkt sie im Gemisch von Salpetersäure (15—50 Th.  $\text{HNO}_3$  von 1,4 spez. Gew.) und Alkohol (100 Th.), entsäuert sie in Alkohol durch Zusatz von präcipitirtem Calciumcarbonat, wäscht sie mit Alkohol und schneidet sie. Die Methode eignet sich für Poriferen, Korallen, Echinodermen etc. Die Gewebe sollen dabei gut erhalten bleiben. — STEIN (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 398) wendet diese Methode auf das Schläfenbein von Säugethieren an. — S. auch KISHI (Zeit. Wiss. Z. 71. Bd. 1902 p. 459).

Speziell für Knochen und Zähne kommen nach SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 460 ff.; s. auch Encyclop. 1. Bd. p. 730) nur in Betracht Salz-, Salpeter-, Trichloressig- und schweflige Säure (nach dem Lösungsvermögen für Kalk angeordnet). Am besten wirkt 5%ige wässrige Salpetersäure; für zartere Objekte empfiehlt sich die vorherige Einbettung in Celloidin. In die Säure sollen nur gut fixirte Objekte aus Wasser eingelegt und in ihr bewegt werden, um die Entkalkung zu beschleunigen. Von da werden die Objekte auf 24 Stunden in eventuell zu wechselnde 5%ige Lösung von Lithium- oder Natriumsulfat (auch wohl Alaun) gebracht und dann 48 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen. Die beste Methode zur Entfernung der Säure und gelösten Kalksalze aus den Geweben sei nämlich weder direktes Auswaschen mit Wasser noch der Zusatz von Calciumcarbonat nach Thoma (§ 544), sondern ihre Verdrängung durch eine Lösung der genannten Salze.

**543. Salpetersäure.** BUSCH (Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 p. 482) zieht sie allen anderen Säuren vor, da sie keine Quellungen verursache, sehr wirksam sei und die Gewebe nicht stark angreife. Man verdünnt für große und zähe Knochen 1 Vol. der reinen Säure



von 1.25 spez. Gewicht mit 10 Vol., für junge Knochen mit bis 100 Vol. Wasser. Frische Knochen kommen auf 3 Tage in 95 %igen Alkohol, dann auf 8—10 Tage in die Säure, die man täglich wechselt. Sobald sie entkalkt sind, nimmt man sie heraus, wäscht sie 1—2 Stunden unter der Wasserleitung und bringt sie in 95 %igen Alkohol. Junge oder fötale Knochen fixirt man in wässriger Lösung von 1 % Kaliumbichromat und 1 %<sub>00</sub> Chromsäure und entkalkt sie in 1—2 %iger Salpetersäure unter Zusatz von 1 %<sub>00</sub> Chromsäure oder 1 % Kaliumbichromat.

SCHRIDDE (Hämatol. Technik Jena 1910 p. 21) bringt die bei Körperwärme in Formol oder „Formalin-Müller“ fixirten Knochen von Säugern auf 24 Stunden in 75 %igen Alkohol, entkalkt sie ebenfalls warm im Gemische von 1 Th. Formol, 2 Th. Salpetersäure und 9 Th. Wasser und entsäuert sie 24 Stunden lang unter der Wasserleitung.

Nach SCHAFFER (l. c.) quellen durch direktes Auswaschen mit Wasser die Objekte zunächst stark; daher ist der Zusatz von Alkalisulfaten oder Alaun nöthig (§ 542).

**544. Salpetersäure und Alkohol.** Ich (MAYER) brauche schon seit vielen Jahren für Wirbellose und Fische 5 %ige Salpetersäure in 90 %igem Alkohol und habe dies auch mündlich viel empfohlen. Neuerdings rühmt GAGE (s. § 545) sehr 67 %igen mit 3 % Säure.

THOMA (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 191) bringt die beliebig fixirten oder gehärteten Knochen in das Gemisch von 5 Volumina 95 %igen Alkohols und 1 Volumen konz. reiner Salpetersäure, das er alle 2—3 Tage wechselt, bis sie ordentlich entkalkt sind (spätestens in 2—3 Wochen). Er wäscht sie dann in 95 %igem Alkohol, der einen Überschuß von präzipitirtem Calciumcarbonat enthält, noch einige Tage länger, als blaues Lakmuspapier sich in dem Alkohol nicht mehr röthet. — Nach SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 325) verzögert der Alkohol die Entkalkung; man müsse also die Objekte der Säure gar zu lang aussetzen; auch der tägliche Wechsel der Säure sei unnöthig.

Gegen SCHAFFER (Encyclop. 1. Aufl. p. 654), dem zufolge mit Ausnahme des Phloroglucins (§ 546) jeder die Quellung hemmende Zusatz zur Säure die Entkalkung verzögert, starker Alkohol außerdem Schrumpfung hervorrufen, wende ich (MAYER) ein, daß natürlich die Objekte, die man entkalken will, gut fixirt und gehärtet sein müssen. Ich habe solche fatale Nebenwirkungen nur an unfixirten, getrockneten Knochen von Säugethieren bemerkt.

**545. Salpetersäure und Alaun nach GAGE** (Proc. Amer. Micr. Soc. Vol. 14 1892 p. 121). In halbgesättigte Lösung von Alaun, die mit 5 % Salpetersäure versetzt ist, bringt man die Objekte aus Alkohol und wechselt das Gemisch alle 2—3 Tage, bis die Entkalkung beendet ist. Der Alaun wirkt der Quellung entgegen, ist aber nach meiner (MAYER) Erfahrung bei sehr kalkreichen Geweben unangebracht, da er die Bildung von Calciumsulfat veranlaßt.



**546. Salpetersäure (oder Salzsäure) und Phloroglucin** nach ANDEER (Centralbl. Med. Wiss. 22. Jahrg. 1884 p. 193 u. 579; Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 350). Das Phloroglucin soll die Gewebe vor der Wirkung der Mineralsäuren schützen, sodaß diese viel stärker genommen werden können, als sonst rathsam wäre, und sehr rasch wirken. Andeer versetzt die gesättigte Lösung in warmem Wasser (1 Messerspitze voll auf 1 Liter) je nach der Härte der Knochen mit 5—50% Salzsäure und wäscht diese nach der Entkalkung sorgfältig aus. — S. auch HAUG (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 8 und FERRERI (Bull. Accad. Med. Roma Anno 18 1892 p. 67 oder p. 275 der 3. Aufl. dieses Buches). — Nach SCHAFFER (Encyclop. 1. Bd. p. 730) ist der Zusatz von Phloroglucin zur Salpetersäure nicht nur überflüssig, sondern meist schädlich.

**547. Salzsäure.** RANVIER (Traité 1. Ed. p. 310) verwendet sie 50%ig; sie wirkt dann sehr rasch. — Gegen Quellungen setzt EBNER (Sitzungsb. Akad. Wien 72. Bd. 3. Abth. 1876 p. 58) der 1—3%igen Säure 10—15% Kochsalz zu. — HAUG (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 7) rät das Gemisch von 70 Theilen Alkohol, 30 Wasser,  $\frac{1}{2}$  Kochsalz und 1—5 Salzsäure an. — SQUIRE (Methods p. 12) nimmt für Zähne 5 Th. Salzsäure und 95 Th. Glycerin.

**548. Salzsäure und Chromsäure** nach BAYERL (Arch. Mikr. Anat. 23. Bd. 1884 p. 36). Gleiche Theile 3%iger Chromsäure und 1%iger Salzsäure. Für ossifizirenden Knorpel.

**549. Trichloressigsäure.** PARTSCH (Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 66. Vers. 2. Theil 2. Hälfte 1895 p. 26) wendet für Knochen oder Zähne 5%ige wässrige Lösung an. — NEUBERGER (Centralbl. Phys. 11. Bd. 1897 p. 494) entkalkt mit 4%iger Lösung in 24 Stunden den Kopf von *Rana*, den er 1 Tag lang in Sublimat fixirt und 2 Tage lang unter der Wasserleitung ausgewaschen hatte.

**550. Schweflige Säure.** ZIEGLER (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 51) bringt die mit Formol fixirten Knochen in gesättigte wässrige Lösung (enthält etwa 5%) von schwefliger Säure. Die feinere Struktur soll vorzüglich erhalten bleiben. — SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 328) rät zu gründlichem Auswaschen, da sonst Niederschläge in den Objekten auftreten.

**551. Pikrinsäure** löst selbst in gesättigter wässriger Lösung nur wenig Kalk auf, ist also häufig zu wechseln. Natürlich vermeidet man Pikrinschwefelsäure wegen der Bildung von Gips. Pikrinsalzsäure oder Pikrinsalpetersäure (§ 98 und 95) wirken zwar nach Mayer sehr rasch, aber die reichliche Entwicklung von Kohlensäure verletzt oft mechanisch die Gewebe; daher werde in vielen Fällen die Chromsäure vorzuziehen sein, besonders da sie das Zusammenfallen der Gewebe bei der Entfernung des Kalkes verhindert.

VOSMAER & PEKELHARING (Verh. Akad. Amsterdam (2) Deel 6 No. 3 1898 p. 43) benutzen für Kalkschwämme eine Lösung von Pikrinsäure in Alkohol.

**552. Phosphorsäure.** Wirkt nach HAUG (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 6) in 10—15%iger Lösung langsam und erschwert hinterher das Färben. ZIEGLER (l. c.) empfiehlt sie; nach SCHAFFER (Encyclop. 1. Bd. p. 728) bewirkt sie starke Quellung der Gewebe.



**553. Milchsäure.** Wenigstens 10% stark. Wirkt ziemlich rasch, konservirt gut; nach HAUG (l. c.) empfehlenswerth.

**554. Chromsäure** verwendet man  $\frac{1}{10}$ —2%ig und läßt sie auf Knochen 2—3 Wochen einwirken. Man nimmt sie zuerst schwach und verstärkt sie allmählich. Besser ist jedenfalls ein Gemisch von ihr mit einem energischeren Mittel, z. B. mit Essigsäure (SCHAFFER in: Encyclop. 1. Bd. p. 727).

**555. Chromsäure und Salpetersäure** nach SEILER (Fol, Lehrbuch p. 112): 70 Theile 1%iger Chromsäure, 3 Theile Salpetersäure, 200 Theile Wasser.

**556. Chromosmiumessigsäure** nach VAN DER STRICHT (Arch. Biol. Tome 9 1889 p. 29) und SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 179). Wenn man sie Anfangs alle 2 Tage, später langsamer wechselt, so entkalkt sie auch größere Knochen unter guter Erhaltung der Struktur.

**557. Arsensäure** nach SQUIRE (Methods p. 11): 4%ige Lösung, bei 30—40° C. zu brauchen.

### Entkieseln.

**558. Flußsäure** nach MAYER (Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 593). Man bringt die Objekte mit dem Alkohol in ein Glas, das innen mit Paraffin ausgekleidet ist (damit es nicht selbst angegriffen werde), und gibt tropfenweise Flußsäure hinzu, wobei man sich aber vor deren Dämpfen in Acht nehmen muß, da sie die Schleimhäute stark reizen.

ROUSSEAU bettet vor dem Entkieseln die Kieselschwämme in Celloidin ein und bringt (in einer Kautschukdose mit Deckel) den Block von etwa 1 cm Seitenlänge auf 1—2 Tage in das Gemisch von 50 ccm Alkohol und 20—30 Tropfen Flußsäure; zur Entsäuerung dient Alkohol (rein oder mit Lithiumcarbonat; etwaige Niederschläge werden hinterher durch etwas Salzsäure aufgelöst). — Einen Behälter aus Celluloid zur Behandlung von Kieselnadeln mit Flußsäure unter dem Mikroskope beschreiben VOSMAER & WIJSMAN (Versl. Akad. Amsterdam Deel 13 1905 p. 735).

Für kleine Objekte hat sich mir (MAYER) an Stelle der lästigen Flußsäure eine Lösung von Fluornatrium unter Zusatz von Salzsäure als bequemer erwiesen.

### Bleichen.

**559. Allgemeines.** MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 353) hat einige Bleichmittel vergleichend geprüft und findet, daß sowohl Chlorwasser, freies Chlor (§ 560) und Wasserstoffhyperoxyd, als auch die Methode von Alfieri (§ 562) sich auf Paraffinschnitte gut anwenden lassen, aus denen das Paraffin noch nicht entfernt worden ist,



und daß sich diese, ohne irgendwie zu leiden, auch nach dem Auswaschen färben lassen, also erst nach dem Überführen in Alkohol durch Xylol entparaffinirt zu werden brauchen.

**560. Freies Chlor.** MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 8) legt in einen Glastubus einige Kristalle von Kaliumchlorat, gibt 2 oder 3 Tropfen Salzsäure darauf und gießt, wenn sich das grüngelbe Gas zu entwickeln beginnt, einige ccm Alkohol von 50—70% hinzu. Nun bringt er die Objekte aus Alkohol von 70—90% in den Tubus, worin sie zunächst schwimmen, später aber untersinken. Sie bleichen je nach Umständen in  $\frac{1}{4}$  Stunde bis 1 oder 2 Tagen. Nur in hartnäckigen Fällen erwärme man die Flüssigkeit oder nehme mehr Säure. (Nimmt man statt der Salzsäure Salpetersäure, so wirkt der sich entwickelnde Sauerstoff statt des Chlors.)

Sollen aufgeklebte Schnitte gebleicht werden, so läßt man die Säure durch einen Trichter oder eine Pipette direkt auf das Kaliumchlorat fließen, aber erst dann, wenn der Objektträger bereits im Alkohol steht.

Diese Methode dient sowohl zur Entfernung natürlicher Pigmente (z. B. in Haut oder Augen von Arthropoden) als auch zur Bleichung von Objekten, die in Osmiumgemischen zu schwarz geworden sind, und ist besser als die mit Wasserstoffhyperoxyd (§ 561). Um das Chitin von Insekten zu bleichen, setzt man zu Kaliumchlorat und Salzsäure keinen Alkohol, sondern Wasser (MAYER in: Arch. Anat. Phys. 1874 p. 321). S. auch § 679 und 821.

**Chlorwasser** benutzt neuerdings MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 355) besonders für Paraffinschnitte: entweder im Gemische mit Alkohol für aufgeklebte, entparaffinirte, oder indem er sie mit dem Paraffin dem aus dem Chlorwasser aufsteigenden Gase aussetzt und erst später in Xylol etc. bringt. — S. auch § 827 (WIDMANN).

**Chlorsäure** ( $\text{HClO}_3$ ) in 20%iger Lösung verwenden GRYNFELT & MESTREZAT (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 61 1906 p. 87): sie setzen davon 2 ccm zu 15 ccm Alkohol von 90% und lassen damit bei 42° C. die aufgeklebten Schnitte (Retina) über Nacht in Berührung.

**Eau de Labarraque. Eau de Javelle** (s. § 539 u. 540). Bereitung nach CIACCIO & CAMPARI (Mem. Accad. Bologna (4) Tomo 7 1887 p. 773) durch Einleiten von Chlor in die in Schnee und Salz stehende 8%ige Natronlauge; enthält etwa 7½% Natriumhypochlorit. — Einfacher durch Zerreiben von 20 Theilen Chlorkalk (28—30%) mit 100 Theilen Wasser, Zusatz von 25 Theilen Soda und 500 Theilen Wasser und Abgießen der klaren Flüssigkeit nach 24 Stunden.

**561. Wasserstoffhyperoxyd.** POUCHET (s. Duval, Précis p. 234) bringt die Objekte in Glycerin mit etwas Wasserstoffhyperoxyd (etwa



6 Tropfen auf ein Uhrglas voll). Auch UNNA (\*Monatshefte Prakt. Derm. 1883) und SOLGER (Centralbl. Med. Wiss. 21. Jahrg. 1883 p. 177) empfehlen es; Solger nimmt es in 3%iger Lösung.

MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 353) findet selbst das 30%ige nicht sonderlich gut, weder so wie es neuerdings im Handel vorkommt, noch mit Wasser oder Alkohol verdünnt. — Nach FÜRST (Morph. Arb. Jena 6. Bd. 1896 p. 529) macerirt es bei langer Einwirkung. — Über das Entfernen von Chrom- oder Osmiumfärbungen aus den Geweben s. oben p. 33 und 30.

**562. Andere Oxydantia.** Von den Hypersulfaten habe ich (MAYER) das Ammoniumsalz mit gutem Erfolg zum Bleichen verwandt. Die geringe Menge Schwefelsäure, die bei der Benutzung in Alkohol (oder Wasser) frei wird, ist ungefährlich. — Das Magnesiumhyperoxyd habe ich ebenfalls als ein zwar langsam aber zart bleichendes Mittel erprobt. Man verfährt damit ähnlich wie bei meiner Methode mit Chlor (oben § 560) und kann durch den rascheren oder langsameren Zusatz von Salzsäure den Prozeß beliebig regeln. S. auch oben p. 31.

Das Natriumhyperoxyd nach CARAZZI (Z. Anz. 17. Jahrg. 1894 p. 135) ist nur bei ganz vorsichtiger Anwendung brauchbar. — Über das Natriumhyperborat s. oben p. 31. — CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 17 1900 p. 209) bleichen Schnitte durch Eier von Amphibien mit Bromwasser.

Kaliumhypermanganat und Oxalsäure. ALFIERI (Monit. Z. Ital. Anno 8 1897 p. 57) legt Celloidinschnitte durch die Chorioidea etc. auf 8—24 Stunden in Lösung von Kaliumhypermanganat (1:2000) und entfärbt sie dann in Lösung von Oxalsäure (1:300 oder schwächer). — Für Paraffinschnitte sind nach HERZOG (Arch. Mikr. Anat. 60. Bd. 1902 p. 523) die Lösungen auf das 5—10 fache zu verdünnen. — Nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 354) lösen sich die Schnitte oft los, sonst aber ist die Methode empfehlenswerth.

**563. Schweflige Säure.** WADDINGTON (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 3 1883 p. 185) empfiehlt die konzentrierte Lösung des Gases in Alkohol zum Bleichen. S. auch oben p. 30 und 33.

**564. Natronlauge.** RAWITZ (Leitfaden Hist. Unters. 2. Aufl. Jena 1895 p. 29) verwendet zum Lösen des Pigmentes am Mantelrande der Muscheln 3—9 Tropfen officinelle Natronlauge auf 15—20 ccm Alkohol von 96%.

**565. Salzsäure oder Salpetersäure.** GRENACHER (Abh. Nat. Ges. Halle 16. Bd. 1886 p. 214) bleicht die Retina von Cephalopoden in toto im Gemisch von 1 Theil Glycerin mit 2 Th. 80%igen Alkohols und 2—3% Salzsäure.



PARKER (Bull. Mus. Comp. Z. Harvard Coll. Vol. 13 1887 p. 175) bleicht die mit Kollodium aufgeklebten Schnittserien durch die Augen von Skorpionen in 1 Minute im Gemisch etwa gleicher Theile Salpetersäure und Alkohol oder von 18 Salpetersäure, 18 Salzsäure und 65 Alkohol. (Man gieße die Säuren in den Alkohol und halte das Gemisch kühl.) — HENNINGS (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 326) bleicht Schnitte durch Augen von Arthropoden bei 35 ° C. im Gemisch von 33 Vol. Glycerin, 67 Vol. Alkohol von 80% und 2 Vol. Salpetersäure.

**566. Chromsalpetersäure.** Das Gemisch von Seiler (oben § 555) benutzt JANDER (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1898 p. 163) für die Augen von Arthropoden, den Mantel von Lamellibranchiaten und das Peritoneum von Eidechsen. Er wäscht die Säure im Dunkeln aus.



## 22. Kapitel.

**Methoden zu embryologischen Untersuchungen. \*)**

**567. Künstliche Befruchtung.** Sie dient zur Erlangung der frühesten Stadien und läßt sich bei den Anuren, Teleostiern, Cyclostomen, Echinodermen und vielen Würmern und Cölenteraten leicht ausführen.

Handelt es sich um Amphibien, so öffnet man ein Männchen und ein Weibchen, nimmt die Eier aus dem Uterus, bringt sie in eine Schale und gießt das Wasser, womit man die Hoden, besser noch die Vasa deferentia, des Männchens zerzupft hat, hinzu. — Aus den Weibchen der Knochenfische lassen sich meist durch sanften Druck auf den Bauch die Eier leicht austreichen, ebenso aus den Männchen das Sperma. Da letzteres in Wasser gewöhnlich sehr rasch abstirbt, so gibt man es am besten direkt zu den Eiern, setzt etwas Wasser hinzu und bringt nach einigen Minuten das Ganze in einen Brütapparat mit fließendem Wasser.

Die Invertebraten machen in der Regel ebenfalls keine Schwierigkeiten. Manchmal läßt sich die Befruchtung sogar unter dem Mikroskop vornehmen und so das Eindringen des Samenfadens beobachten.

**568. Beobachtungen am lebenden Objekte.** Bei manchen Knochenfischen, Crustaceen, Ascidien, Mollusken, Cölenteraten etc. läßt sich die Entwicklung einigermaßen an den lebenden Eiern unter dem Mikroskope verfolgen. Die Eier einiger Insekten und Arachniden, die

---

\*) Den Abschnitten über Säugethiere, Vögel und Fische liegen theilweise die Angaben von HENNEGUY (in: Lee & Henneguy, *Traité* 2. Ed. 1896) zu Grunde. S. hierüber auch p. IV der 1. Auflage. Sehr ausführlich behandelt das gesammte Kapitel RÖTHIG in seinem Handbuch der embryologischen Technik (Wiesbaden 1904 287 pgg. 34 Figg.). — S. auch unten § 877.



sonst völlig undurchsichtig sind, werden in einem Tropfen Öl durchsichtig, und sorgt man dafür, daß das Öl nur die Oberfläche imprägnirt und nicht tiefer eindringt, so geht die Entwicklung normal weiter (BALBIANI).

**569. Fixiren der Eier und Embryonen.** Hierüber ist bei der großen Verschiedenheit der Objekte nicht viel Allgemeingültiges zu sagen. Kleine Embryonen fixirt Osmiumsäure allein oder mit anderen Reagentien zusammen recht gut, nicht aber große. Sie bringt die Zellen etwas zum Schrumpfen und läßt so die Spalten zwischen den Keimblättern hervortreten, ebenso Kanäle oder Hohlräume, die in der Bildung begriffen sind. Ferner mag sie, da sie das Myelin schwärzt, beim Studium der Entwicklung des Nervensystems dienlich sein.

Chromsäure ist für die Untersuchung der äußeren Gestalt der Embryonen unentbehrlich: sie läßt Erhöhungen und Vertiefungen klar hervortreten, erhält dagegen durchaus nicht immer die Form der Zellen, bildet auch ein Hindernis für das Färben in toto.

Pikrinsäure (und Gemische damit) wirkt entgegengesetzt wie Osmiumsäure: sie bringt die Zellen etwas zum Quellen, verdeckt daher etwaige leere Räume in den Geweben.

Sublimat allein oder mit Essigsäure und anderen Reagentien fixirt im Allgemeinen vorzüglich und erlaubt hinterher die Färbung in toto meist sehr gut.

RABL (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 165) empfiehlt besonders für die Embryonen von Wirbelthieren das Gemisch von 1 Vol. 1%iger Platinchloridlösung, 1 Vol. gesättigter Sublimatlösung und 2 Vol. dest. Wassers (ältere Embryonen von Teleostiern fixirt er in der heißen Flüssigkeit), ferner sein Gemisch von Pikrinsäure und Sublimat (§ 64) besonders für etwas ältere Embryonen. Die Embryonen bleiben meist etwa 12 Stunden, jüngere kürzer, ältere bis zu 48 Stunden darin, werden in Wasser ausgewaschen und gradatim in Alkohol gebracht, sodaß sie erst nach 24 Stunden in 80—90%igem liegen.

Formol ist besonders dann sehr nützlich, wenn Form und Aussehen der Eier und Embryonen möglichst naturgetreu erhalten bleiben sollen.

Einen Apparat zur automatischen Fixirung von Eiern und Embryonen in bestimmten Intervallen (auch Nachts) gibt SANZO (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 449) an.

Um eine Menge Eier von Echiniden gleichzeitig färben, einbetten und schneiden zu können, wickelt BOVERI (Verh. Physik. Med. Ges. Würzburg 29. Bd. 1895 p. 4) sie in Fetzen der Epidermis von *Cryptobranchus*. — SOBOTTA (Arch. Mikr. Anat. 50. Bd. 1897 p. 21) verwendet für die Eier von *Amphioxus* das Amnion von Säugethieren, COE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 12. Bd. 1899 p. 427) für die Eier von *Cerebratulus* abgeworfene Hautfetzen von *Rana* oder *Triton*.



**570. Rekonstruktion der Embryonen nach Schnitten.** Zur Gewinnung genauer Einsicht in den Bau der Embryonen höherer Thiere ist es oft nützlich oder sogar nöthig, sich der Rekonstruktion aus den Schnittserien zu bedienen. Die Technik hierzu wird besonders eingehend von PETER (Methoden der Rekonstruktion Jena 1906) erläutert.

A. Graphische Rekonstruktion. Für einfache Fälle mag man nach SCHAEFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 342) die Schnitte auf Pauspapier zeichnen, sie richtig übereinander schichten und gegen das Licht halten, um den Verlauf der Organe durch alle Papiere hindurch zu verfolgen. — VOSMAER (Anat. Anz. 16. Bd. 1899 p. 269) zeichnet die Schnitte auf Celluloidplatten, KERR (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1901 p. 4) mit Wasserfarben auf mattes Glas und macht dieses hinterher durch Nelkenöl durchsichtig. BUDGETT (Trans. Z. Soc. London Vol. 16 1902 p. 318) nimmt statt dessen ein Gemisch von Fenchel- und Cedernöl. — Wahrscheinlich leistet Terpeneol eben so gute Dienste.

WOODWORTH (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 15) rekonstruiert aus Serien von Querschnitten die Umrisse des Objektes und seiner Organe im optischen Längsschnitt durch Messungen mit dem Mikrometer und Auftragung der Zahlen im richtigen Verhältnis als Linien quer zur Längsaxe des Objektes. — S. auch in der 1. Auflage dieses Buches p. 270 die Methode von FOL (Lehrbuch p. 85); ferner KASTSCHENKO (Anat. Anz. 2. Jahrg. 1887 p. 426 und 579) und STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 179; 4. Bd. 1887 p. 168).

B. Plastische Rekonstruktion. Sie wird in der Regel nach Paraffinschnitten ausgeführt, gewährt aber nur bei ganz sorgfältigen Schnittserien guten Erfolg. Wesentlich handelt es sich dabei um das Zeichnen sämtlicher oder wenigstens der hauptsächlichsten Schnitte auf Wachs, Pappe oder ähnliches Material, das Ausschneiden der Zeichnungen mit Scheere, Hohlmeißel etc. und das Aufeinanderbauen und Verkitten der ausgeschnittenen Platten in der richtigen Reihenfolge zu einem Ganzen, das bei genauer Innehaltung sämtlicher Vorschriften dem vergrößerten Objekt gleich sein wird und eventuell hinterher nach anderen Richtungen zerschnitten werden kann. Man hat natürlich in erster Linie darauf zu achten, daß die Dicke der plastischen Platten genau im Verhältnis zur Dicke der Schnitte und zur Vergrößerung der Zeichnungen steht. Ferner dürfen die Schnitte keine Falten haben und nicht verzerrt sein; endlich sind am Paraffinblock Richtebeinen oder Richtlinien anzubringen, die beim Schneiden als Linien oder Punkte



erscheinen und auf den Zeichnungen reproduziert werden müssen, um beim Aufbau der Platten als Marken zu dienen.

Für die Platten nimmt man meist gelbes Wachs, das (nach Strasser und Born) auf einer oder beiden Flächen mit Papier überzogen ist; solche Platten sind bei Grübler & Hollborn zu haben, aber auch mit dem Apparat von BORN (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 448; Encyclop. 2. Bd. p. 464) nach einiger Übung ziemlich leicht herzustellen.

SCHÖNEMANN (Anat. Hefte 1. Abth. 18. Bd. 1901 p. 117) empfiehlt nach Strasser Platten aus Wachs, Mehl und feinem Kleienpulver, HARMER (Siboga Exp. Leiden Monogr. 26 bis 1905 p. 21) solche von Plasticin (modelling clay), die bequemer und billiger seien, GAGE (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 1 1907 p. 167) Löschpapier und durchtränkt das fertige Modell mit Paraffin.

Zum Schneiden der Richtebenen am Block dient der Apparat von Kastschenko oder der Zuschneider von Schaffer (oben p. 97) etc. Oder man orientiert nach BORN & PETER (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 39) das Objekt beim Einbetten in einer genau rechteckigen Form so, daß man später die Basis des Blockes als Richtebene benutzt; die Grundplatte der Form trägt daher parallele Linien eingeritzt, die auf dem Block erhabene Richt- oder Definirlinien bilden.

Damit die Richtebenen oder -linien auf den Schnitten kenntlich bleiben, müssen sie mit einer dunklen Farbe überzogen werden, die sich in Xylol und Balsam, eventuell auch in Alkohol und wässerigen Färbelösungen nicht verwischen darf. Man nimmt dazu in der Regel Ruß, in Kollodium oder Celloidinlösung eingerührt, oder Zaponlack mit Ruß (NEUMAYER in: Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 459) oder Schuhlack (PETER in: Verh. Anat. Ges. 13. Vers. 1899 p. 136) etc. Nachher taucht man den Block in geschmolzenes Paraffin, um die Richtfläche beim Schneiden zu schützen. Die Schnitte zeigen dann neben dem Objekte eine oder mehrere dunkle Linien oder Punkte als Marken beim Rekonstruieren. — Für Celloidinblöcke brauchen BORN & PETER (l. c. p. 48) ein Gemisch von Berlinerblau, Terpentinöl und Äther, gegenwärtig PETER (Methoden der Rekonstruktion Jena 1906 p. 51) wie für die Paraffinblöcke nur noch den Schuhlack „Nubian Waterproof Blacking“ (bei Grübler & Hollborn käuflich).

Werden die Paraffinschnitte nicht unter 20  $\mu$  dünn gemacht, so vermeidet man Verzerrungen so gut wie ganz. Man klebt sie mit Wasser auf, läßt dieses aber nicht über 40° C. warm werden. Nach dem Trocknen überstreichen BORN & PETER (l. c. p. 47) sie noch mit Kollodium nach Strasser (oben § 191), doch ist dies nicht absolut nöthig.



Solidere Mittel als Lack für die Definirlinien sind: nach ALEXANDER (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 340) sorgfältig zugeschnittene, an den Paraffin- oder Celloidinblock geklebte Streifen von Leber, nach WILSON (ibid. 17. Bd. 1900 p. 171; 27. Bd. 1910 p. 227) und NEUMAYER (ibid. 24. Bd. 1907 p. 142) durch Osmium geschwärzte Nervenfasern, nach STRASSER (s. Schönemann in: Anat. Hefte 1. Abth. 18. Bd. 1901 p. 117) feine Grasblätter. S. auch oben p. 89 (YATSU).

Die plastische Rekonstruktion führt erst bei großer Ausdauer zum Ziele und kostet selbst in geübter Hand sehr viel Zeit, mitunter auch nicht wenig Geld. Sie wird, obwohl seltener, auch für verwickelte Einzelheiten im Bau erwachsener Thiere angewandt.

S. ferner BORN (Morph. Jahrb. 2. Bd. 1876 p. 579; Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 433); HIS (Anat. Anz. 2. Jahrg. 1887 p. 382); STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 186; 4. Bd. 1887 p. 168 u. 330); KASTSCHENKO (ibid. 5. Bd. 1888 p. 173); SCHAPER (ibid. 13. Bd. 1897 p. 446); ALEXANDER (ibid. 14. Bd. 1897 p. 334; 15. Bd. 1899 p. 446); BROMAN (Anat. Hefte 1. Abth. 11. Bd. 1899 p. 557); PETER (Morph. Jahrb. 25. Bd. 1898 p. 557; Encyclop. 2. Bd. p. 462; Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1906 p. 530).

HILL (Bull. J. Hopkins Hosp. Baltimore Vol. 17 1906 p. 114; Amer. Journ. Anat. Vol. 6 1907 p. 441) macht die Embryonen von Säugethieren, eventuell nach Injektion der Gefäße, Gallengänge etc. mit Tusche, durch Einlegen aus 95%igem Alkohol in 1%ige Kalilauge (unten § 766) durchsichtig und umgeht so das Schneiden und Rekonstruieren.

## Säugethiere.

**571. *Lepus cun.*** Die ganz jungen Eier sucht man in den Tuben. Hat man diese und den Uterus herausgeschnitten, so wartet man, bis die Kontraktionen aufgehört haben, präparirt die Peritonealhülle ab, legt die Tuben auf ein Stück Glas, schneidet sie auf und durchsucht ihre Mucosa mit einer schwachen Linse. Hat man ein Ei gefunden, so gibt man einen Tropfen einer „indifferenten“ Flüssigkeit (Peritonealfüssigkeit der Mutter, Humor aqueus, Amnioswasser etc.) darauf und nimmt es mit Messer, Nadel oder Pipette fort. Findet man aber die Eier nicht gleich, so schabt man das Epithel ab, mischt es mit etwas indifferenter Flüssigkeit und sucht darin die Eier unter dem Mikroskop bei durchfallendem Lichte.

KÖLLIKER injiziert Müllers Gemisch oder schwache Osmiumsäure in den Ovidukt und fängt die auslaufende Flüssigkeit in Uhrgläsern auf, worin sich dann die Eier unter dem Mikroskop leicht finden lassen.



So lange die Eier noch frei, mit bloßem Auge sichtbar, in den Uterushörnern liegen, sind sie auf die obige Weise leicht zu erhalten. Später aber treiben sie die Wand vor; man zerschneidet dann die Hörner in so viel Stücke, wie Hervorragungen da sind, befestigt sie in einer Secirschale mit Nadeln so, daß die Wölbungen nach oben schauen, füllt die Schale mit Serum, Müllers Gemisch, 1 % iger Osmiumsäure etc., schneidet die Wand der Wölbungen bis auf die Muskelschicht an, zerzupft die Mucosa und legt so das Ei frei.

Sobald die Eier sich im Uterus festgesetzt haben, muß man, da der Embryo immer an der mesometralen Seite liegt, die Wölbung durch einen Kreuzschnitt öffnen und den Streifen der Mucosa, woran der Embryo sitzt, in der Secirschale feststecken. Nach VAN BENEDEN & JULIN (Arch. Biol. Tome 5 1885 p. 308) bleibt der Embryo in blutwarmem Serum von Kronecker (§ 382) Stunden lang am Leben.

RETTERER (C. R. Soc. Biol. Paris (8) Tome 4 1887 p. 99) öffnet bei Eiern vom 7. Tage die Stücke des Uterus von der Mesometralseite her, läßt mit einer Pipette Pikrinschwefelsäure zwischen Ei und freie Fläche des Uterus fließen und erhält so das Ei als geschlossene Blase.

Zu Dauerpräparaten bringt VAN BENEDEN (Arch. Biol. Tome 1 1880 p. 149) das lebende Ei auf den Objektträger in einen Tropfen 1 % iger Osmiumsäure und von da in Müllers Gemisch, Pikrinschwefelsäure oder Ammoniumbichromat. Nach einer Stunde wechselt er die Flüssigkeit und legt den Objektträger auf 2—3 Tage in eine feuchte Kammer. Dann fügt er allmählich stärkeres Glycerin hinzu und hebt das Ei definitiv in reinem Glycerin mit etwas Ameisensäure auf. Um die Grenzen der Blastodermzellen gut zu sehen, bringt er das lebende Ei auf  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten (je nach dem Alter) in  $\frac{1}{3}$  % ige Lösung von Silbernitrat, dann in Wasser und setzt es dem Lichte aus; die Präparate sind aber nicht haltbar. Vier Tage alte und ältere Keimblasen öffnet er mit Nadeln, färbt das Blastoderm und bringt es in Glycerin oder Balsam, oder vergoldet es.

Um Schnitte zu erhalten, fixirt van Beneden 24 Stunden lang mit Chromsäure (1:400, sorgfältig auswaschen und in immer stärkeren Alkohol überführen) oder Pikrinschwefelsäure. Letztere brauchen auch KÖLLIKER (Festschr. Univ. Würzburg Leipzig 1882 Sep. p. 6; Z. Anz. 3. Jahrg. 1880 p. 372) und HENNEGUY. Fols Modifikation von Flemmings Gemisch, ferner Osmiumsäure und Alkohol (s. oben p. 29) sind nach Henneguy ebenfalls brauchbar.



PIERSOL (Zeit. Wiss. Z. 47. Bd. 1888 p. 155) verwendet Pikrinschwefelsäure oder für junge Stadien 3%ige Salpetersäure nach Altmann (oben p. 37).

WINIWARTER (Arch. Biol. Tome 17 1900 p. 39) fixirt die Embryonen unter Anderem 6 Stunden lang mit dem Gemisch aus 50 ccm gesättigter Sublimatlösung (in Kochsalzlösung von  $\frac{1}{2}$  %), 50 ccm Alkohol von 95 %, 20 ccm 1%iger Lösung von Platinchlorid und 5 ccm Essigsäure.

SOBOTTA (Anat. Hefte 1. Abth. 8. Bd. 1897 p. 476) fixirt zum Studium der Corpora lutea die Ovarien entweder unaufgeschnitten mit Pikrinsublimat (gleiche Theile gesättigter wässriger Lösung von Pikrinsäure und Sublimat) + 2% Eisessig, oder nach Anbringung tiefer Einschnitte mit Flemmings schwachem Gemisch. — S. auch CLARK (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1898 p. 104: Corpora lutea von *Lepus*, *Cavia* und *Mus*; Verdaumethode nach Hoehl).

**572. Andere Säugethiere.** SELENKA (Studien Entw. Thiere 1. Heft Wiesbaden 1883 p. 5) fixirt die Uteri von *Mus* uneröffnet in Pikrinschwefelsäure, SOBOTTA (Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 24) Ovarien, Tuben und Uterus von *Mus musculus* in schwachem Gemisch von Flemming 24 Stunden lang (dann Wasser, Alkohol von 60—70 % etc.; Pikrinschwefelsäure taugt nicht). — WIDAKOWICH (Zeit. Wiss. Z. 94. Bd. 1909 p. 243) fixirt die Embryonen von *Mus rattus* in Zenkers Gemisch oder nach Schaffer mit dem Gemisch von 1 Th. Formol und 2 Th. Alkohol von 80 %. Die ganz jungen Eier gewinnt er durch vorsichtiges Ausstreichen kleiner Stücke der Tuben mit einer Nadel.

SPEE (Encyclop. 1. Bd. p. 353) fixirt das Uterushorn von *Cavia* in Sublimatlösung 12—24 Stunden lang, spült es ab, läßt es in  $\frac{1}{2}$  % iger Osmiumsäure im Dunkeln so lange verweilen, bis es durch und durch hellbraun geworden ist, wäscht es aus und bringt es in Jodalkohol; in diesem reduziert sich das Osmium. Die Sublimatlösung wirkt rascher, wenn sie in die vorher ausgespülten Uterusgefäße injiziert wird.

KEIBEL (Morph. Arb. Jena 2. Bd. 1893 p. 11) steckt die Uteri von *Sus* mit der Mesometralseite nach unten in einer Wanne fest, schneidet von der Muscularis einen Längsstreifen aus, sodaß die Schleimhaut frei liegt, füllt in die Wanne Pikrinschwefelsäure oder 4%ige Salpetersäure, öffnet die Schleimhaut und fixirt die herauspräparirten Embryonen in diesen Gemischen oder in Sublimat.

BONNET (Anat. Hefte 1. Abth. 9. Bd. 1897 p. 426) öffnet den Uterus von *Canis* unter warmem Normalsalzwasser mit spitzen Pincetten und überträgt die Keimblasen sofort in das Fixirgemisch (am besten „gesättigte Sublimatkochsalzlösung“); sitzen diese aber bereits fest, so



fixirt er den ganzen Uterus. Der kurze Aufenthalt im Salzwasser schadet den Keimblasen nicht. Dies gibt auch WEYSSE (Proc. Amer. Acad. Arts Sc. Vol. 30 1884 p. 285) von *Sus* an und verwendet zum Fixiren Pikrinschwefelsäure. Letztere braucht ferner HUBRECHT für *Sorex*, *Erinaceus* und *Talpa*.

SELENKA (Studien Entw. Thiere 4. Heft Wiesbaden 1887 p. 107) fixirt die Keimblasen von *Didelphys* in Pikrinschwefelsäure, der  $\frac{1}{10}$  % Chromsäure zugesetzt ist. Die Uterushörner müssen vorher uneröffnet 5—7 Minuten lang in absolut. Alkohol liegen, damit die Muskulatur abstirbt.

NEUMAYER (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 458) fixirt die Embryonen von *Ovis* mit Carnoys Gemisch (Chloroform, Alkohol und Essigsäure, s. § 83).

S. auch oben p. 275 (HILL) und p. 277 (CLARK).

STRASSER (s. Schönemann in: Anat. Hefte 1. Abth. 18. Bd. 1901 p. 115) legt die Köpfe von Embryonen auf 24 Stunden in Formol (1 Th. und 3 Th. Wasser), dann auf 12—24 Stunden in Sublimat (Lösung in Normalsalzwasser), wäscht sie mit Normalsalzwasser aus und bringt sie in Alkohol.

### Vögel (besonders *Gallus*).

**573. Beobachtung am lebenden Objekte.** Anleitung hierzu geben FOSTER & BALFOUR (Grundzüge der Entwicklungsgeschichte der Thiere, deutsch von Kleinenberg, Leipzig 1876 p. 238—262). Hier seien nur einige neuere Daten nachgetragen.

Um den lebenden Embryo bei durchfallendem Lichte zu studiren, öffnet man das Ei unter Salzwasser, entfernt ein wenig Eiweiß durch das Fenster (s. unten § 574), nimmt das Ei heraus und legt einen Ring von gummirtem Papier so auf den Dotter, daß er den Keimhof umgibt. Sobald (nach wenigen Minuten) das Papier an der Dotterhaut haftet, schneidet man das Blastoderm nach außen vom Papier rings durch, legt das Ei in das Salzwasser zurück, nimmt den Ring mit dem Blastoderm heraus und bringt ihn in einem Uhrglase oder auf einem Objektträger unter das Mikroskop (DUVAL).

**574. Fenster nach Gerlach** (Sitzungsb. Physik. Med. Ges. Erlangen 17. Heft 1885 p. 53). Mit einer Scheere nehme man vom spitzen Ende des Eies die Schale fort, gieße ein wenig Eiweiß aus, gebe es aber, sobald sich die Keimscheibe unter die Öffnung geschoben hat, wieder ins Ei zurück. Nun bestreiche man die Ränder des „Fensters“ mit Gummischleim, baue einen Wall von Watte darum, lege hierauf ein kleines Uhrglas oder rundes Deckglas und



kitte es mit Gummi fest; ist das Gummi trocken, so streiche man erst Kollodium, dann Bernsteinfirnis darüber und bringe das Ei in den Brütoven zurück. Durch dieses Fenster kann man die Entwicklung bis zum 5. Tage verfolgen. — Über das Embryoskop von GERLACH s. Anat. Anz. 2. Jahrg. 1887 p. 591.

**575. Präparation des Embryos.** Während des ersten Brüttages läßt sich das Blastoderm nur schwer vom Dotter abheben, wird daher besser mit ihm zusammen fixirt. Später geht es leicht los. Um das Ei zu öffnen, schlage man mit raschem Hiebe die Schale am breiten Ende auf und nehme sie von dort aus vorsichtig in kleinen Stücken mit einer Pincette weg, bis das Blastoderm freiliegt. Dies muß unter Salzwasser (von 0,75 %) geschehen, dann aber hebt man das Ei ein wenig heraus, sodaß das Blastoderm nicht mehr davon gespült wird, und tropft auf dieses mit einer Pipette das Fixirgemisch (1 %ige Osmiumsäure, Pikrinschwefelsäure, 10 %ige Salpetersäure etc.). Indem man das obere Ende der Pipette geschlossen, das untere in Kontakt mit der Flüssigkeit auf dem Blastoderm hält, kann man dieses leicht so lange unter der Flüssigkeit halten, bis es hart genug ist, um herausgeschnitten zu werden. (Natürlich kann man auch das Ei direkt in der Fixirflüssigkeit öffnen.) Nun legt man das Ei wieder in das Salzwasser zurück, schneidet rund um den Keimhof herum, löst das Blastoderm los und schwemmt es in ein Uhrglas hinein; bevor man es aber in ein Härtgemisch bringt, sollte man mit einer Pincette unter Schütteln die Dotterhaut vom Blastoderm entfernen. Das Fixiren mit 10 %iger Salpetersäure erleichtert nach HOFFMANN (Arch. Mikr. Anat. 41. Bd. 1893 p. 46) die Ablösung des Blastoderms sehr; man läßt die Säure 10 Minuten lang wirken und ersetzt sie vorsichtig durch 2 %ige Lösung von Alaun.

VIALLETON (Anat. Anz. 7. Jahrg. 1892 p. 624) öffnet das Ei unter Salzwasser, schneidet das Blastoderm heraus, behandelt es auf einer Glasplatte mit 1 %iger Lösung von Silbernitrat, wäscht es mit Wasser und bringt es auf 6 bis 12 Stunden in 70 %igem Alkohol ins Dunkle. Färben in Boraxkarmin, Einschließen in Dammar. — BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 3. Aufl. 1896 p. 180) fixiren den Embryo 2—3 Stunden lang im Gemisch von 1 ccm 1 %iger Silbernitratlösung und 10 ccm 3—5 %iger Salpetersäure. — HOSKINS (Kansas Univ. Sc. Bull. Lawrence Vol. 4 1907 p. 176) fixirt die bis 72 Stunden alten Embryonen in situ (nach Wegnahme der Schale) 5—15 Minuten lang im Gemisch von 3 Th. 10 %igen Formols und 1 Th. 10 %iger Salpetersäure, schneidet aus der Dotterhaut das Stück mit dem Embryo heraus und wäscht es aus oder härtet es vorher in 10 %igem, mit Sublimat gesättigtem Formol.

ANDREWS (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 177) spritzt mit einer gebogenen Pipette erst zwischen Dotterhaut und Blastoderm, dann unter dieses



Pikrinschwefelsäure, holt das Blastoderm heraus, sobald es hart genug ist, und entfernt nun die Reste des Dotters behutsam. — HIROTA (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 6 1894 p. 367) erweicht zur Untersuchung der Embryonalhäute die Schale in Pikrinschwefelsäure.

FOSTER & BALFOUR (l. c.) brauchen zum Härten Pikrinschwefelsäure (5 Stunden lang, dann direkt Alkohol); oder  $\frac{1}{10}$  %ige Chromsäure (24 Stunden), dann  $\frac{3}{10}$  %ige (24 Stunden), 70 %igen Alkohol (ebenso lang), 90 %igen (2 Tage), endlich absoluten; oder  $\frac{1}{2}$  %ige Osmiumsäure ( $2\frac{1}{2}$  Stunden im Dunkeln), Wasser, absoluten Alkohol. — SUSCHKIN (Nouv. Mém. Soc. Natural. Moscou Tome 16 1899 p. 34) nimmt Sublimat und färbt mit Hämacalcium (bei kleineren Embryonen mit Alkohol auf das Doppelte, bei größeren auf das 4—5fache verdünnt) bis 5 Tage lang durch.

Färben und Schneiden wie gewöhnlich. Junge Embryonen kann man ganz in Glycerin oder Balsam einschließen.

**576. Orientirung des Embryos.** DUVAL (Ann. Sc. N. (6) Tome 18 1884 Art. No. 1 p. 3) ist der Ansicht, daß der Embryo fast stets auf dem Dotter das stumpfe Ende des Eies zur linken, das spitze zur rechten Seite habe, und bezeichnet nun die Lage des Blastoderms auf folgende Weise. Einen Streifen Papier von 5 mm Breite und 50 mm Länge faltet er zu einem dreieckigen Trog ohne Boden, setzt ihn auf den Dotter so auf, daß die Basis des Dreiecks dem Vorderende des Embryos entspricht, die Spitze dem Hinterende, füllt ihn durch eine Pipette mit  $\frac{3}{10}$  %iger Osmiumsäure und legt, sobald das Blastoderm dunkel wird, das Ei in schwache Chromsäure, entfernt das Eiweiß und bringt den Dotter auf einige Tage in frische Chromsäure. Alsdann zeigt sich auf dem Dotter ein schwarzes Dreieck um die Keimscheibe. — Nach RABAUD (Arch. Z. Expér. (4) Tome 9 1908 Notes p. 1) trifft aber Duvals Regel nur in 9 % aller Fälle zu, die genau entgegengesetzte Lage des Embryos dagegen in 12 %!

KIONKA (Anat. Hefte 1. Abth. 3. Bd. 1894 p. 414) öffnet das Ei unter 0,6 % igem Salzwasser, befreit es von Schale und Eiweiß und bezeichnet die Pole, indem er etwa 1 cm weit von der Keimscheibe Igelstacheln einsticht, von denen der am stumpfen Pole einen rothen Faden trägt. Dann legt er es in Wasser von 90° C. auf Watte, bringt es nach 10 Minuten in 70 %igen Alkohol und schneidet 24—36 Stunden später die Keimscheibe als gleichschenkliges Dreieck heraus, dessen Basis das vordere Ende der Keimscheibe anzeigt. (Einbettung durch Cedernöl in Paraffin, Färbung mit Boraxkarmin, Entfärbung mit saurem Alkohol, dem etwas Orange G zugesetzt ist, um den Dotter zu färben.)

MITROPHANOW (ibid. 12. Bd. 1899 p. 200) beträufelt die Keimscheibe nach vorsichtigem Aufbrechen der Schale in situ mit 3 %iger Salpetersäure (das koagulierte Eiweiß wird mit einem Pinsel entfernt), schneidet sie nach  $\frac{1}{2}$  Stunde mit der Dotterhaut als Fünfeck oder Dreieck aus und bringt sie in 30 %igen, von da allmählich in stärkeren Alkohol. Oder er härtet die Keimscheibe nach der Fixirung in situ mit Pikrinsublimat oder Flemmings Gemisch  $\frac{1}{2}$  Stunde



lang. Will man die Scheibe ohne Dotterhaut haben, so muß man vor deren Loslösung das Kopfbende durch einen Einschnitt bezeichnen.

**577. Anas.** FISCHER (Morph. Jahrb. 24. Bd. 1896 p. 371) fixiert die Embryonen in Rabls Sublimatplatinchlorid (oben § 69), wäscht sie mit Wasser und führt sie durch Alkohol in Nelkenöl über.

**Columba.** PATTERSON (Biol. Bull. Woods Holl Vol. 13 1907 p. 252) fixiert das Ei 1 Stunde lang mit dem Gemisch von 8 Th. Essigsäure und 92 Th. Pikrinschwefelsäure, legt es auf mehrere Stunden in 70 %igen Alkohol, schneidet in 80 %igem Blastoderm plus Dotter heraus und bettet dieses durch Cedernöl in Paraffin.

### Reptilien.

**578. Allgemeines.** Die oben für die Vögel angegebenen Methoden sind auch für die Reptilien anwendbar, soweit sie Eier legen. Die frühesten Stadien fixiert man in situ auf dem Dotter; ältere Embryonen kann man für sich fixieren.

BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 4. Aufl. 1900 p. 186) fixieren die unter Normalsalzwasser geschälten Eier in Sublimatlösung mit 20 % Eisessig oder in Sublimatchromsäure nach Lo Bianco (oben § 67) oder in Pikrinschwefelsäure; die Keimscheibe schneiden sie nachher in Wasser aus oder (bei ganz jungen Stadien) erst nach der Härtung des Eies im Alkohol mit dem Rasirmesser ab. Auch bringen sie wohl die ganzen Eier auf 5—6 Stunden in Pikrinschwefelsäure oder auf 24 Stunden in Pikrinessigsäure, entfernen dann unter Wasser die Schale und behandeln den Embryo allein weiter.

**579. Spezielle Fälle.** MITSUKURI (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 6 1894 p. 229) fixiert die Embryonen von Schildkröten hauptsächlich mit Pikrinschwefelsäure. Handelt es sich um das Blastoderm, so nimmt er die Schale und vom Eiweiß möglichst viel fort, bezeichnet die Stelle, wo jenes liegt, mit einem Haar, bringt das Ei mit dem Blastoderm nach oben in die Säure, schneidet letzteres nach einigen Stunden heraus und härtet es allein. Junge Embryonen haften meist der Schale an, werden also mit dem Stück von ihr wie in einem Uhrglase fixiert, nach  $\frac{1}{2}$  Stunde von der Schale abgelöst und weiter gehärtet. Sind aber schon die Embryonalhüllen vorhanden, so wird die Schale an einer Stelle abgeschabt und mit Pikrinschwefelsäure behandelt, bis ein kleines Loch entsteht; von hier aus fährt man mit Schaben und Auftröpfeln der Säure fort, bis sich ohne Verletzung der Hüllen die ganze Schale entfernen läßt.



WILL (Z. Jahrb. Abth. Morph. 6. Bd. 1892 p. 8) öffnet die Eier von *Platydictylus* im Fixirgemisch (Chromsäure oder Chromosmiumessigsäure, die aber nur wenig Osmiumsäure enthält) und härtet die Embryonen sammt dem Dotter. Die von *Cistudo* und *Lacerta* behandelt er (1893 u. 1895) ebenso. — MEHNERT (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 257) ist mit Wills Methoden nicht einverstanden; seine eigenen sind beschrieben in: \*Morph. Arb. Jena 1. Bd. 1891 p. 370).

KUPFFER (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 4) öffnet die dem Ovidukt entnommenen Eier von *Lacerta*, *Emys*, *Coluber* etc. unter Osmiumsäure (1:1000), entfernt das Eiweiß möglichst gut, bringt den Dotter auf 24 Stunden in Chromsäure (1:300), schneidet um das Blastoderm herum ein, hebt es heraus, wäscht es in Wasser, legt es auf 3 Stunden in Glycerin, Alkohol und Wasser zu gleichen Theilen, endlich in Alkohol von 90%.

STRAHL (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1881 p. 123) verwendet für *Lacerta* Pikrinschwefelsäure. — BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 5. Aufl. 1904 p. 211) legen die Eier von *Lacerta* und *Anguis* auf 2—3 Stunden in Sublimat-Eisessig (§ 578), dann auf 8—24 Stunden in 1%ige wässrige Lösung von Pikrinsäure, lösen unter Wasser die Schale ab und bringen die Eier oder nur die Embryonen direkt in 70%igen Alkohol.

GERHARDT (Anat. Anz. 20. Bd. 1901 p. 244) fixirt die Eier von *Tropidonotus* mit dem Gemische von Nowak (oben § 111 a) 24 Stunden lang, wässert sie ebenso lange aus, bringt sie in Alkohol von 70%, dann von 85% mit Jod und schneidet den Dotter mit dem Rasirmesser ab. — BALLOWITZ (Entwickl. Kreuzotter Jena 1903 p. 19) bringt die zwischen je 2 Eiern quer durchgeschnittenen Uteri von *Pelias* auf 1—2 Stunden in das Fixirgemisch (meist gesättigte Sublimatlösung mit 5% Eisessig, auch wohl Zenkers oder Rabls Gemisch, seltener 4%iges Formol oder das Gemisch von 1 Th. 1%iger Chromsäure und 3 Th. 3%iger Salpetersäure), reißt dann ihre Wandung mit Pincetten ein, isolirt vorsichtig die Eier, legt sie auf 6—24 Stunden in dasselbe Fixirgemisch (die Eischale kann ebenfalls eingerissen werden) und von da in Alkohol (von 40% ab). Einbetten durch Chloroform in Paraffin von 52° Schmelzpunkt.

## Amphibien.

**580. Allgemeines.** Zunächst muß man die dicke Gallerte um die Eier entfernen, z. B. durch Einlegen des Laiches in 1%ige Chromsäure auf 2—3 Tage und häufiges Schütteln (die Eier werden dabei sehr brüchig) oder nach GUYER (Amer. Natural. Vol. 41 1907 p. 400)



und OGUSHI (Anat. Anz. 32. Bd. 1908 p. 500) durch Rollen des frischen oder fixirten, aber noch nicht in Alkohol gebrachten Eies auf Fließpapier. — KALLIUS (ibid. 33. Bd. 1908 p. 31) legt zu diesem Zwecke die Eier auf 8—14 Tage oder länger in Zenkers Gemisch; WHITMAN (Amer. Natural. Vol. 22 1888 p. 857) bringt die fixirten Eier in 10%ige Lösung von Natriumhypochlorit, die mit dem 5—6 fachen an Wasser verdünnt ist, auf so lange, bis man sie durch Schütteln frei machen kann; BLOCHMANN (Z. Anz. 12. Jahrg. 1889 p. 269) legt die mit Flemmings Gemisch fixirten Eier auf 15—30 Minuten in verdünnte Eau de Javelle (1 Theil und 3—4 Theile Wasser) und bewegt sie darin; LEBRUN (La Cellule Tome 20 1903 p. 12) legt den Laich von *Diemyctylus* auf über 2 Stunden in Gilsons Gemisch (§ 63), schneidet die Hüllen an und preßt die Eier heraus. — Einige andere Methoden sind in den nächsten §§ angegeben. S. ferner oben § 63 (LEE).

CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 12 1897 p. 212) legen die angeschnittenen Eierstöcke der Batrachier auf  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde in Gilsons Gemisch (§ 63), waschen sie 1 Stunde lang aus und bringen sie allmählich in 80%igen Alkohol; von da, um den Dotter nicht brüchig zu machen, auf  $\frac{1}{4}$  Stunde in 95%igen, auf 5 Minuten in absoluten Alkohol, dann in ein Gemisch von Alkohol und Chloroform zu gleichen Theilen, und sobald sie darin untergesunken sind, in reines Chloroform, dem sie bereits nach 3—15 Minuten das gleiche Volumen Paraffin hinzufügen; endlich in den Thermostaten bei 35—36° C. und nach  $2\frac{1}{2}$ —3 Stunden auf höchstens 5 Minuten in Paraffin, das bei 52° C. geschmolzen ist. (S. hierzu auch § 154 JOHNSTON und § 584 CORNING.) Die Schnitte färben sie mit ihrem Hämäteingemisch (ähnlich dem von Delafield, nur stärker)  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten lang, korrigiren die Überfärbung mit Jodwasser und schließen sie aus Cajeputöl in Kolophonium ein. Die ganzen Eier färben sie mit dem stark verdünnten Hämäteingemisch 24 Stunden lang. — LEBRUN (ibid. Tome 19 1902 p. 317) läßt die Eier im 96%igen Alkohol nur so lange, bis der Zusatz von Chloroform keine Trübung hervorruft, und vermeidet den absol. Alkohol ganz, wechselt aber das Paraffin einmal mehr. — S. auch oben § 562 (CARNOY & LEBRUN).

**581. Siredon.** FICK (Zeit. Wiss. Z. 56. Bd. 1893 p. 529) fixirt die ganzen Eier 24 Stunden lang in Chromessigsäure (250 Th. 1%ige Chromsäure, 750 Th. Wasser, 1 Th. Eisessig), präparirt die Hüllen ab, wäscht die Eier 24 Stunden lang in fließendem Wasser und bringt sie auf je ebenso lange in 60%igen und 80%igen Alkohol. Dann Boraxkarmin; Einbettung aus Bergamottöl in Paraffin von 50° Schmelzpunkt (nur  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang). — S. auch § 584 (SCHULTZE).

**582. Triton.** SCOTT & OSBORN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 19 1879 p. 449) schneiden die Gallertschichten um das Ei durch, holen



das Ei hervor und fixiren es mit Pikrinschwefelsäure. — HERTWIG (Jena. Zeit. Naturw. 15. Bd. 1881 p. 291) legt die Eier auf 10 Stunden in das Gemisch von „2 % Essigsäure und 0,5 % Chromsäure“, schneidet die Hüllen durch, öffnet das innere Chorion an einem Ende, holt die Embryonen heraus und bringt sie in Alkohol von 70—90 %. — BRAUS (ibid. 29. Bd. 1894 p. 443) durchsticht die Gallerte mit einer Insektennadel, steckt das Ei auf einem Stück Leber fest und schneidet mit einem Rasirmesser die Gallerte so durch, daß das Ei hervortritt. Fixirung mit Sublimat-smiumsäure nach Drüner (§ 66). — MICHAELIS (Arch. Mikr. Anat. 48. Bd. 1896 p. 528) fixirt die Eier sammt den Hüllen im Gemisch von konzentrierter Sublimatlösung und konz. Pikrinsäurelösung je 20, Eisessig 1 und Wasser 40 Theilen, präparirt aber vor dem Einlegen in Alkohol die Hüllen ab. — S. auch § 584 (SCHULTZE).

Nach LUBOSCH (Jena. Zeit. Naturw. 37. Bd. 1902 p. 222) liefert für das unreife Ei von *Triton* und *Petromyzon* Chromsäure ( $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{3}$  % bei 80° angewandt) die beste Fixirung und die schlechteste Färbbarkeit, Flemmings Gemisch gerade umgekehrt; Gilsons Gemisch steht in der Mitte.

**583. Salamandra.** S. RABL (Morph. Jahrb. 12. Bd. 1886 p. 252); seine neueren Methoden s. in § 569.

GRÖNROOS (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 461) fixirt die Eier mit dem Gemisch von gesättigter Sublimatlösung und  $\frac{1}{2}$  % iger Chromsäure je 50 Theile und Eisessig 1 Theil. Dies sei besonders gut für Oberflächenbilder.

**584. Anuren.** HERTWIG (Jena. Zeit. Naturw. 19. Bd. 1883 p. 249) bringt den Laich auf 5—10 Minuten in Wasser von 90—96° C., schneidet die Hüllen durch, holt die Eier heraus und härtet sie entweder in  $\frac{1}{2}$  % iger Chromsäure (höchstens 12 Stunden lang) oder in Alkohol von 70, 80 und 90 %. — MORGAN (Development of the Frog's Egg. New York 1897 p. 171) schneidet die Eier einzeln aus dem Laich heraus, bringt sie auf 1—12 Stunden in gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 70 % igem Alkohol, der mit 2 % Schwefelsäure versetzt ist, und von da in 70 % igen und 80 % igen Alkohol; hierin schwillt die innere Hülle so, daß man sie anstechen und das Ei herausholen kann. Einbettung: nur 2—5 Stunden in absoluten Alkohol, ebenso lange in Terpentinöl, von da auf je  $\frac{1}{2}$  Stunde in weiches und hartes Paraffin. Schneidet man sie bei 24—26° C. (das Mikrotom stellt man eventuell in die Sonne), so ist der Dotter nicht brüchig. — HOSKINS (Kansas Univ. Sc. Bull. Lawrence Vol. 4 1908 p. 373) bettet die Eier ebenfalls durch Terpentinöl in Paraffin von 54° Schm., dann nochmals in



solches von 62°, aber nur so lange, bis der Embryo, nicht auch der Dotter, durchtränkt ist; beim Bänderschneiden wird der Block eventuell durch eine elektrische Glühlampe erwärmt.

CORNING (Morph. Jahrb. 27. Bd. 1899 p. 174) fixiert die Embryonen in Rabls Pikrinsublimat (oben § 64), färbt sie mit Alauncochenille durch und bringt sie aus Chloroform auf je 20 Minuten in Paraffin von 45° und in ein Gemisch von 52° und 56° Schmelzpunkt. — SCHULTZE (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1899 p. 174) fixiert den Laich von *Rana* 5 Minuten lang in 2%igem Formaldehyd bei 75—80° C., präpariert die Hülle ab, bringt die Eier auf mindestens je 2 Stunden in Alkohol von 70%, von 95% und Bergamottöl, dann auf 20 Minuten in warmes Paraffin, das nach 10 Minuten durch frisches ersetzt wird. — S. ferner WHITMAN, Methods p. 156, und SCHULTZE in: Zeit. Wiss. Z. 45. Bd. 1887 p. 185 (Eier von *Triton*, *Siredon*, *Rana* und *Bufo* 24 Stunden mit Flemmings Gemisch, gut ausgewaschen, dann Alkohol von 50—95%).

KING (Journ. Morph. Boston Vol. 17 1901 p. 295) fixiert den Laich von *Bufo* 5—10 Minuten lang in Sublimat (gesättigte Lösung mit 5% Essigsäure), wäscht ihn, bringt ihn in Alkohol von 50% und 80% und entfernt die Gallerte einige Tage später; die Ovarialeier fixiert sie nach Jordan in 80° heißem Wasser 1/2 Minute lang und bringt sie in Alkohol von 35—80%; die Befruchtungstadien in Chromessigsäure (1%ige Chroms. 5, Essigs. 2, Wasser 13 Th.) 18—24 Stunden lang, dann Alkohol von 35—80%. Einbettung: 2—3 St. in Terpentinöl, dann je 15 Minuten in Paraffin von 48, 52 und 56°, zuletzt in ganz hartes. — S. auch KING (ibid. Vol. 19 1908 p. 370: Gilsons Gemisch ist nicht gut, am besten Flemmings, Zenkers oder Hermanns, aber nach der Dotterbildung die Chromessigsäure oder das Sublimatgemisch).

ADLER (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 18. Bd. 1901 p. 20) fixiert die Eier von *Bufo* im Gemisch gleicher Theile konzentr. Sublimatlösung und 1/2%iger Chromsäure, entfernt die Gallerte durch Eau de Javelle, färbt die Eier mit Alauncochenille und bringt sie in Paraffin. Im absol. Alkohol, Chloroform und Chloroform-Paraffin können sie Tage lang bleiben, ohne brüchig zu werden, dürfen aber nur 15—30 Minuten im definitiven geschmolzenen Paraffin verweilen.

Über die Gemische von REMAK und GÖTTE s. p. 295 der 3. Auflage dieses Buches.

BLES (Trans. R. Soc. Edinburgh Vol. 41 1905 p. 792) fixiert die Embryonen und Larven von Anuren in seinem sauren Alkohol (§ 111c) und überträgt sie dann in Alkohol von 50%, 70% etc. Für die Eier ist am besten 10%iges Formol. — S. auch oben § 111e (BOUIN).



### Fische, Cyklostomen, Akranier.

**585. Dipnoer.** KERR (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1901 p. 4) fixirt die Eier in 5—10 % igem Formol und legt sie dann auf 2 Stunden in Sublimatlösung, um ihre Färbbarkeit zu erhöhen.

**586. Selachier.** Man fixirt die Embryonen recht gut in gesättigter wässriger Sublimatlösung ohne oder mit Essigsäure (5 %) und bringt sie von da auf ganz kurze Zeit in Wasser, dann in Alkohol von 50, 70 und 90 %. In letzterem behandelt man sie mit Jodjodkalium. Durchfärbung mit Hämalan oder Karmalan, Gegenfärbung der Schnitte mit Eosin, Lichtgrün, Indigkarmin oder Orange G.

Damit die älteren Embryonen sich möglichst gerade strecken, schiebe ich (MAYER) sie, während sie just im Sterben begriffen sind, mit einem Pinsel oder Hornspatel vorsichtig mit dem Schwanz zuerst in den keilförmigen Raum zwischen 2 Glasklötzen, die in der Schale mit der Sublimatlösung bereit liegen, bis etwa zur Kiemenregion hinein.

Über die Methode von Rabl s. oben § 569.

Zu Beobachtungen am lebenden Embryo schabt man nach HIS (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1897 p. 3) und KASTSCHENKO (Anat. Anz. 3. Jahrg. 1888 p. 445) die Schale mit einem Messer möglichst dünn. — S. auch BRAUS (Morph. Jahrb. 35. Bd. 1906 p. 250).

**587. Knochenfische im Allgemeinen.** KOWALEWSKI (Zeit. Wiss. Z. 48. Bd. 1886 p. 434) bringt die Eier auf 1 $\frac{1}{4}$  Stunde in das Gemisch von 8 Vol. Pikrinschwefelsäure und 1 Vol. 1 % iger Chromsäure, dann auf 12 Stunden in öfters gewechselten Alkohol von 20 %, der in etwa 10 Stunden allmählich auf 70 % verstärkt wird. Vor dem Färben entfernt er das Chorion. — SUMNER (Mem. New York Acad. Sc. Vol. 2 1900 p. 78) legt die Eier auf etwa 1 Minute in saure Sublimatlösung (10 % Essigsäure), dann in 10 % iges Formalin. So wird der Embryo gut fixirt, der Dotter nicht hart. — S. auch oben § 569 (RABL) und unten § 631 (BATAILLON & KÖHLER).

SOBOTTA (Anat. Hefte 1. Abth. 19. Bd. 1902 p. 586) ändert Virchows Methode (unten p. 287) etwas ab und wendet sie auch auf *Belone* an.

GUDGER (Proc. U. S. Nation. Mus. Vol. 29 1906 p. 448) fixirt die späten Stadien in Worcesters Gemisch (1. Th. Eisessig und 9 Th. gesättigter Lösung von Sublimat in 10 % igem Formol)  $\frac{1}{2}$ —1 St. lang, wäscht sie mit Wasser und führt sie allmählich in 70 % igen Alkohol über. Für Blastoderme ist besonders gut frisches Gemisch von Perényi, da der Dotter weich bleibt. Die in Formol fixirten Eier müssen recht bald in Paraffin eingebettet werden, da der Dotter in Alkohol zu hart wird.



**588. Salmoniden.** HENNEGUY (Journ. Anat. Phys. Paris 24. Année 1888 p. 416) legt die Eier auf einige Minuten in 1—2%ige Essigsäure, dann in 1%ige Chromsäure, öffnet nach 3 Tagen die Kapsel an dem dem Embryo entgegengesetzten Ende, entfernt sie, wäscht das Ei 1 Tag lang mit Wasser und härtet es in Alkohol. — Zum Schneiden fixirt er die Eier im Gemisch von 10 Theilen Pikrinschwefelsäure und 1 Theil Essigsäure, öffnet sie 10 Minuten später unter 10%iger Essigsäure, die den Dotter löst, bringt die Embryonen in reine Pikrinschwefelsäure und von da in Alkohol.

BÖHM (Sitzungsb. Ges. Morph. Phys. München 7. Bd. 1891 p. 64) fixirt die Eier mit Boveris Pikrinessigsäure (oben § 99) oder mit Sublimatessigsäure: auf  $\frac{1}{2}$  Minute in ein starkes Gemisch (4 Th. gesättigter Sublimatlösung und 1 Th. Essigsäure), dann in ein schwaches (mit nur 5% Essigsäure), nach etwa je  $\frac{3}{4}$  Stunden in Alkohol von 70 und 80%; vorher wird mit dem Rasirmesser der Embryo vom Dotter abgelöst.

HARRISON (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 505) fixirt die Embryonen in gesättigter Lösung von Sublimat in 5%iger Essigsäure; Färbung mit Delafields Hämatoxylin, nachher mit Pikrinsäure. — FELIX (Anat. Hefte 1. Abth. 8. Bd. 1897 p. 252) fixirt die Eier mit Sublimat-Eisessig  $\frac{3}{4}$  Stunden lang, die abpräparirten Embryonen in Zenkers Gemisch (wobei er den Dotter aus der Bauchhöhle mit einem Pinsel entfernt). Färbung mit Boraxkarmin und Jodgrün (2% in 50%igem Alkohol). Erst kurz vor dem Einbetten kommen die Objekte in stärkeren als 80%igen Alkohol.

RABL-RÜCKHARD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1882 p. 118) fixirt die Eier  $\frac{1}{4}$  Stunde lang in 10%iger Salpetersäure, entfernt die Hüllen, bringt die Eier auf 1 Stunde in die Säure zurück, wäscht sie mehrere Stunden lang mit 1—2%iger Alaunlösung und härtet sie in Alkohol. — GORONOWITSCH (Morph. Jahrb. 10. Bd. 1884 p. 381) legt für Totalansichten der Embryonen die Eier auf etwa 3 Minuten in 5%ige Salpetersäure, dann auf 1 Stunde in 5%ige Alaunlösung, halbirt sie, um den Dotter sich im Alaun auflösen zu lassen, und bringt die Keimscheiben in 10%iges Glycerin mit etwas Sublimat. Für Schnitte fixirt er mit Pikrinschwefelsäure 3 Stunden lang, entfernt aber schon nach 10 Minuten das Chorion; später Alkohol von 40, 70, 90%. — Ebenfalls für die Oberflächenbilder legt VIRCHOW (Arch. Mikr. Anat. 51. Bd. 1897 p. 184) die Eier 5 bis 10 Minuten lang in Chromessigsäure (Chromsäure 1, Eisessig 50, Wasser 450), bringt sie provisorisch in Chromsäure von 1:500, entfernt in Salzwasser (0,7 bis 1%) Eischale und Dotter und legt die Embryonen wieder in die Chromessigsäure oder in konzentrirte Sublimatlösung. — BEHRENS (Anat. Hefte 1. Abth. 10. Bd. 1898 p. 233) verfährt wie Virchow, fixirt aber die Keimscheiben in Rabls Pikrinsublimat (§ 64). Beim Einbetten aus Chloroform läßt er sie höchstens  $\frac{1}{2}$  Minute lang im warmen reinen Paraffin.

KOLLMANN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1885 p. 296) legt die Eier auf 12 Stunden in das Gemisch von 5 Theilen Kaliumbichromat, 2 Th. Chrom-



säure, 2 Th. Salpetersäure und 100 Th. Wasser, wäscht sie ebenso lange in Wasser, entfernt das Chorion und bringt sie in 70%igen Alkohol.

BOUIN (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 55 1903 p. 1691) legt jedes Ei einzeln auf Watte in etwa 5 ccm seines Formolgemisches (oben § 111b), wäscht es 36—48 Stunden später unter der Wasserleitung 3—4 Stunden lang aus, präpariert die Keimscheibe bequem ab und bringt sie in Alkohol von 60%.

**589. Pelagische Fischeier.** WHITMAN (Amer. Natural. Vol. 17 1883 p. 1204; Methods p. 152) legt die Eier auf 5—10 Minuten in das Gemisch gleicher Theile von  $\frac{1}{2}$ %iger Osmiumsäure und Seewasser, dann in Eisig-Merkelsches Gemisch (oben § 72) auf 1—2 Tage, sticht die Eikapsel an und bringt das Ei in Alkohol. — S. auch AGASSIZ & WHITMAN (Proc. Amer. Acad. Vol. 20 1884 p. 28).

COLLINGE (Ann. Mag. N. H. (6) Vol. 10 1892 p. 228) tödtet die Eier von marinen Teleostiern durch Zusatz gesättigter, mit 5% Salzsäure vermischter Pikrinsäurelösung zum Seewasser (zu 30 ccm 3 oder 4 Tropfen), läßt sie hierin höchstens 3 Minuten unter Umrühren, wäscht sie gut in Wasser und härtet sie im Gemisch von Kampherspiritus 1 Theil, 2%iger Essigsäure und Alkohol je 4 Theilen. (Er gibt mehrere andere Gemische an.) — RAFFAELE (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1895 p. 169) fixirt die Eier hauptsächlich mit dem Gemisch von Hermann (1—3 Tage lang) oder von Mingazzini (oben § 62d).

Nach HEINCKE & EHRENBAUM (Wiss. Meeresunt. Komm. Wiss. Unt. D. Meere (2) 3. Bd. Abth. Helgoland 1900 p. 205 u. 213) schrumpfen die Eier in Perényis Gemisch beträchtlich, dagegen so gut wie gar nicht im Gemisch von 1 Vol. Formol und 39 Vol. Seewasser.

**590. Cyclostomen.** Über die Eier von *Petromyzon* s. oben § 582 (LUBOSCH). — KOLTZOFF (Bull. Soc. Natural. Moscou (2) Tome 15 1902 p. 264) fixirt die Embryonen in Gilsons Gemisch oder Sublimatlösung (mit 5% Essigsäure); Hermanns Gemisch findet er nur für die Nerven brauchbar. Färbung in toto mit Boraxkarmin, Einbettung in Celloidin, dann durch Chloroform in Paraffin von weniger als 55° Schmelzpunkt.

**591. Amphioxus.** Nach SOBOTTA (Arch. Mikr. Anat. 50. Bd. 1897 p. 20) werden die Eier am besten in Flemmings Gemisch 24 Stunden lang fixirt. Über Färben etc. s. oben p. 272 (SOBOTTA).

MAC BRIDE (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 40 1898 p. 593) hält zum Fixiren nur Osmiumsäure für gut; die Larven bettet er in Celloidin und Paraffin ein.

LEGROS fixirt (nach Mittheilung an Mayer) die Larven und jungen Exemplare von *Amphioxus* nur nach sehr sorgfältiger Betäubung durch Zusatz einer Lösung von Cocaïn in Seewasser, da sonst Verzerrungen und Krümmungen unvermeidlich sind. (Vor der Betäubung sollten die jungen Thiere 1 Tag lang in filtrirtem Seewasser gelebt haben, um ihren Darm besser zu entleeren.) Die Eier und Embryonen fixirt



er mit Lo Biancos Gemisch gleicher Theile von Formol und Flemmings Gemisch, aber nur einige Minuten lang; Färbung mit Eisenhämatoxylin, hinterher mit Orange G. Auch für die späteren Stadien kommen besonders Osmiumgemische in Betracht; die gebräuchlichen Sublimatgemische sind zu stark und müssen verdünnt angewandt werden; deshalb wirken Rabls Gemische besser. Der spätere Aufenthalt im Alkohol hat mit Rücksicht auf die gute Schneidbarkeit der Gewebe, besonders der Chorda, möglichst kurz zu sein. Einbettung erst in Celloidin, dann in Paraffin.

CERFONTAINE (Arch. Biol. Tome 22 1906 p. 287) färbt die Schnitte durch die in Flemmings oder Hermanns Gemisch fixirten Eier oder Larven erst mit Eisenhämatoxylin, dann mit Eosin in absol. Alkohol. Die in toto zu studirenden Eier orientirt er auf dem Objektträger in Kollodium + Nelkenöl, fixirt sie darin durch Chloroform und gibt Balsam darüber; zum Schneiden orientirt er sie in der nämlichen Weise auf einem mit Paraffin überzogenen Deckglase und bettet sie im Kollodium in Paraffin ein.

### Tunikaten.

**592. Eier.** DAVIDOFF (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1899 p. 118) fixirt die Eier von *Distaplia* im Gemisch von 3 Theilen konzentrirter wässeriger Sublimatlösung und 1 Theil Eisessig  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde lang, wäscht sie einige Minuten mit Wasser und bringt sie in immer stärkeren Alkohol. Oder: 3—4 Stunden lang im Gemisch von 3 Th. 1 %iger Lösung von Pikrinsäure und 1 Th. Eisessig; nachher direkt 70 %iger Alkohol. — KOROTNEFF (ibid. 17. Bd. 1905 p. 297) fixirt die Eier und Embryonen von *Pyrosoma*  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in halbgesättigter Lösung von Sublimat in Seewasser, bringt sie nach dem Auswaschen auf 1 Stunde in Perényis Gemisch und von da in Alkohol. Zur Auflösung des Dotters legt er die Eier in 5 %iges Formol.

MORGAN (Journ. Morph. Boston Vol. 4 1891 p. 195) zerzupft die Ovarien von Ascidien in schwacher Osmiumsäure, wäscht sie mit destillirtem Wasser, behandelt sie  $\frac{1}{2}$  Stunde lang mit 1 %iger Lösung von Höllenstein, ferner ebenso lange mit 2 %iger Essigsäure und reduziert am Licht. Hierdurch treten die Grenzen der Follikelzellen klar hervor.

CASTLE (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 27 1896 p. 213) empfiehlt für die Eier von *Ciona* Perényis Gemisch (20 Minuten lang, dann Alkohol von 70%, nach 24 Stunden von 90%), für die Larven Pikrinsalpetersäure. Färbung mit Orths Pikrolithionkarmin (6—24 Stunden lang, dann Wasser); die gefärbten Eier werden nach Chabry zur Sprengung der Hüllen in eine Kapillare aufgesaugt, die gerade weit genug ist, um sie nackt durch zu lassen. Einschluß in Balsam; eventuell wird dieser durch Xylol wieder entfernt, und das in toto studirte Ei



in einem mit Glycerin bestrichenen Uhrglas 15—20 Minuten lang mit flüssigem Paraffin behandelt. Nachfärbung der Schnitte mit Ehrlichs Hämatoxylingemisch.

**593. Knospen.** PIZON (Ann. Sc. N. (7) Tome 14 1893 p. 5) studirt die Knospen bei den zusammengesetzten Ascidien entweder an den ganzen Stöcken nach Bleichung durch Wasserstoffhyperoxyd und Färbung, oder auf Schnitten nach Betäubung der Kolonien mit Cocaïn (1:1000), Fixirung in Eisessig, Pikrinschwefelsäure oder Flemmingschem Gemisch, und Färbung in toto mit Borax- (oder Alaun-)karmin und Methylenblau (sehr starke Lösung in Alkohol von 90 und 100 %) nach Bernard (§ 817). — RITTER (Journ. Morph. Boston Vol. 12 1896 p. 150) empfiehlt zum Fixiren von *Perophora* und *Goodsiria* besonders Pikrinschwefelsäure.

### Bryozoen.

**594. Statoblasten.** BRAEM (Bibl. Z. 6. Heft 1890 p. 85) fixirt die Statoblasten von *Cristatella* zum Studium der Embryonen mit heißer konzentr. Lösung von Sublimat, bringt sie nach 10 Minuten in Wasser, schneidet sie mit dem Rasirmesser an und führt sie 1 Stunde später allmählich in Alkohol von 96 % über.

### Mollusken.

**595. Cephalopoden.** USSOW (Arch. Biol. Tome 2 1881 p. 582) legt die Eier in Furchung auf 2 Minuten in 2 % ige Chromsäure, dann ebenso lange in dest. Wasser mit Essigsäure (1 Tropfen auf ein Uhrglas voll). Macht man nun in die Hülle einen Schnitt, so fließt der Dotter aus; sollte noch etwas davon am Blastoderm kleben, so ersetzt man das Wasser durch frisches.

WATASÉ (Journ. Morph. Boston Vol. 4 1891 p. 249) tödtet die Eier im Macerirgemisch von Hertwig (§ 519), löst das Blastoderm, sobald es undurchsichtig wird, los und bringt es in verdünntes Glycerin. Für Oberflächenbilder der Furchung empfiehlt er Perényis Gemisch.

VIALLETON (Ann. Sc. N. (7) Tome 6 1887 p. 168) bringt die Eierstockeier von *Sepia* in ein frisches Gemisch gleicher Theile Pikrinschwefelsäure und 2½ % iger Lösung von Kaliumbichromat, schneidet sie nach 1—2 Minuten im Äquator durch, fixirt die Hälfte, die den Bildungsdotter enthält, 1½ Stunde lang in Pikrinschwefelsäure, hebt diesen vom Nahrungsdotter ab, breitet ihn flach aus und härtet ihn in Alkohol von 70—90 %. Ganze Eier fixirt er zum Schneiden in Flemmings Gemisch oder Osmiumsäure; bei älteren läßt sich das Blastoderm in Pikrinschwefelsäure vom Dotter loslösen.



KORSCHOLT (Festschrift Leuckart Leipzig 1892 p. 348) fixirt die älteren Embryonen von *Loligo* in Flemmings Gemisch, Sublimat, Pikrinschwefelsäure oder  $\frac{1}{5}\%$  iger Chromsäure. Letztere ist für jüngere Embryonen besonders gut, wenn man sie durch Pikrinsäure, die oft gewechselt wird, auswäscht. — FAUSSEK (Mitth. Z. Stat. Neapel 14. Bd. 1900 p. 88) braucht meist Perényis Gemisch und Sublimatlösung (ohne oder mit Essigsäure), besonders aber Pikrinsalpetersäure. Aus letzterer kommen die einigermaßen von der Gallerte befreiten Eier in Alkohol, dann in Hämalaun, von da in  $1\%$  ige Alaunlösung, und nun läßt sich die Gallerte ganz entfernen. Beim Schneiden muß des Dotters wegen der Block mit Kollodium bestrichen werden.

**596. Gastropoden.** HENNEGUY (Lee & Henneguy, Traité 2. Ed. 1896 p. 346) legt die Eier von *Helix* auf 4—6 Stunden in Pikrinsalpetersäure (oben § 95), löst so den Kalk in der Hülle auf und koagulirt das Eiweiß. Nun öffnet er das Ei mit Nadeln, nimmt das Eiweiß weg und legt den Embryo frei. Darauf Alkohol etc. bis Paraffin.

HENCHMAN (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 20 1890 p. 172) tödtet die Eier mit  $\frac{1}{3}\%$  iger Chromsäure oder Perényis Gemisch. Verwendet man jene, so entfernt man vorher nur die äußere Hülle und erst einige Minuten später unter der Säure auch die innere; sonst jedoch muß man beide wegnehmen, denn in P.s Gemisch koagulirt das Eiweiß so stark, daß man die Embryonen nicht frei machen kann.

MEISENHEIMER (Zeit. Wiss. Z. 62. Bd. 1896 p. 417) legt die Embryonen von *Limax* mit Nadel und Messer frei und fixirt sie dann mit Pikrinschwefelsäure oder konzentrierter Sublimatlösung. Ältere Embryonen streckt er vorher durch  $2\%$  ige Cocaïnlösung oder direkt durch heiße Sublimatlösung. Einbettung aus Chloroform in Paraffin ( $54—56^{\circ}$  C.) sehr vorsichtig, um Schrumpfung zu vermeiden.

KOSTANECKI & WIERZEJSKI (Arch. Mikr. Anat. 47. Bd. 1896 p. 313) fixiren den Laich von *Physa* entweder mit  $1\frac{1}{2}\%$  bis  $2\%$  iger Salpetersäure oder in „Sublimat und  $3\%$  Salpetersäure (im Verhältniß 2:1)“ und bringen ihn dann in Alkohol von  $30—100\%$ . Den Laich betten sie in Paraffin, die isolirten Embryonen dagegen in Celloidin ein.

SCHMIDT (Entwicklungsgesch. Pulmonaten Dorpat 1891 p. 4) fixirt die ganzen Eier mit konzentr. Sublimatlösung (10—15 Minuten), präparirt nach längerem Waschen mit destill. Wasser die Embryonen heraus und behandelt sie wie gewöhnlich weiter.



KOFOID (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 27 1895 p. 35) legt die Eier in Normalsalzwasser (0.75 %), entfernt die Schale und mit einer Pipette voll Salzwasser das Eiweiß, das sich in dem Wasser löst, jedoch möglichst rasch, da das Wasser die Kerne etwas angreift. Nun kommen die Eier auf 1 Minute in Fols Modifikation von Flemmings Gemisch, dann direkt auf 12—24 Stunden in Pikrolithionkarmin und von da in Alkohol von 90% mit 5% Salzsäure.

WASHBURN (Amer. Natural. Vol. 28 1894 p. 528) fixirt die abgelegten Eier von *Limax* 5 Minuten lang in Flemmings Chromessigsäure, entfernt unter Wasser die Hülle und legt den Dotter wieder auf 5 Minuten in die Lösung, auf 10 Minuten in Wasser, dann in Alkohol von 35—90%. Oder ähnliche Behandlung mit  $\frac{1}{3}$ %iger Chromsäure, oder: auf 5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure, auf 4 Stunden in Merckels Gemisch, darauf die Hülle entfernt, das Ei in Wasser gewaschen und wie oben in Alkohol. Um jüngere Eier zu erhalten, wirft W. ein trächtiges Thier aufgeschnitten auf 1 Minute in heiße Sublimatlösung, holt unter Wasser die Eier heraus und entfernt die Hülle; dann Alkohol von 35, 50 und 70%. — HEYDER (Zeit. Wiss. Z. 93. Bd. 1909 p. 92) behandelt die mit Sublimat fixirten Embryonen von *Arion* vor dem Einbetten, um das Eiweiß in Magen und Darm weniger spröde zu machen, mit „ $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{15}$ iger Sodalösung und beschränkt den Aufenthalt im Thermostaten auf das äußerste Minimum“.

CONKLIN (Journ. Morph. Boston Vol. 13 1897 p. 7) fixirt für Oberflächenbilder die Eier von *Crepidula* in Pikrinschwefelsäure 15—30 Minuten lang und färbt sie mit verdünntem, angesäuertem Delafieldschem Hämateingemisch. Auch für Paraffinschnitte ist Pikrinschwefelsäure gut; Färbung der Schnitte mit Delafields Gemisch und einer Lösung von Erythrosin in Anilinwasser. — Die Eier von *Fulgur* mit ihrem riesigen, flüssigen Dotter läßt er (Proc. Acad. N. Sc. Philadelphia Vol. 59 1907 p. 324) aus dem aufgeschnittenen Laiche in einen etwa 50 cm hohen Cylinder voll 50%igen Formols (oder Formol und gesättigter Sublimatlösung zu gleichen Theilen) fallen; sie sind, bis sie auf den Boden ankommen, hart genug und vom Schleime des Laiches frei geworden. Oder er legt die geöffnete Laichkapsel auf 1—2 Stunden in 50%iges Formol, schüttelt sie aus und bringt die Eier erst in das Gemisch gleicher Theile dieses Formols und 70%igen Alkohols, später in 80%igen Alkohol.

HOLMES (Journ. Morph. Boston Vol. 16 1900 p. 371) zerzupft die Eikapseln von *Planorbis* in  $\frac{3}{4}$ %iger Lösung von Silbernitrat, setzt sie darin so lange der Sonne aus, bis die Zellgrenzen gut hervortreten, spült sie einen Augenblick mit Natriumhyposulfit ( $\frac{1}{5}$ % in destill. Wasser) ab, bringt sie auf einige Minuten in starke wässrige Lösung von Pikrinsäure und von da allmählich in Balsam.

CARAZZI (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 78) fixirt die Eisechnüre von *Aplysia* mit Sublimat (5% in Wasser, dazu  $2\frac{1}{2}$ % Essigsäure), bringt sie erst in Wasser, dann in Alkohol (ohne Jod!), zerzupft sie, färbt die Eier mit Hämalaun und führt sie durch Cedernöl und Xylol in Balsam über. Um die Zellgrenzen schärfer zu erhalten, benutzt er zum Fixiren mit Essigsäure versetztes Rabl'sches Pikrinsublimat.

Nur für Totalbilder fixirt CARAZZI (Arch. Ital. Anat. Embr. Firenze Vol. 4 1905 p. 243) die Eier im Gemisch von 1 Theil Formol und 8—10 Theilen.



Seewasser  $\frac{1}{2}$ —24 Stunden lang, wäscht sie aus, färbt sie mit Hämalan und bringt sie in Alkohol von 20%, etc. Ungefärbt halten sich die Eier Monate lang in einem ganz schwachen Gemisch von Formol und Seewasser. — Ich (MAYER) finde auch mein Gemisch von Formol und Pikrinsäure (§ 111b) gut und zur Färbung der Embryonen Borax- oder Salzsäurekarmin.

**597. Chiton.** METCALF (Stud. Biol. Lab. J. Hopkins Univ. Baltimore Vol. 5 1893 p. 251) fixiert mit einer Lösung von Pikrinsäure in Salzwasser vom spezif. Gewicht des Seewassers. Die Eier mit ganz jungen Embryonen legt er auf 20—45 Sekunden in Eau de Labarraque, dann in Wasser, worin das Chorion anschwillt und leicht entfernt werden kann.

**598. Lamellibranchien.** STAUFFACHER (Jena. Zeit. Naturw. 28. Bd. 1893 p. 196) fixiert die Embryonen von *Cyclas* in Sublimat, färbt sie mit Hämalan und bettet sie in Paraffin ein. — LILLIE (Journ. Morph. Boston Vol. 10 1895 p. 7) bringt die Eier von *Unio* auf 10 bis 20 Minuten in Perényis Gemisch, wäscht sie, hebt sie in Alkohol von 70% auf, legt sie später ungefärbt in 50%iges Glycerin und läßt dieses sich durch Verdunsten des Wassers konzentrieren; oder legt sie direkt aus dem Fixirgemisch in 50%iges Glycerin und färbt sie mit Schneiders Essigkarmin. Ältere Embryonen fixiert er mit Merckels Gemisch oder Sublimat, Larven behandelt er mit Osmiumsäure ( $\frac{1}{10}$  bis  $\frac{1}{20}$ %) und legt sie dann in Glycerin. Die Glochidien lassen sich mit den Schalen in hartem Paraffin (58°) schneiden; vor dem Fixiren werden sie mit Chloralhydrat betäubt.

### Arthropoden.

**599. Fixiren der Eier.** Meist lassen sich die Eier durch Hitze besser fixiren als sonst wie. Dann läßt man Alkohol oder ein wässriges Härtmittel folgen. Will man Hitze vermeiden, so nehme man Pikrinsalpetersäure.

**600. Insekten im Allgemeinen.** HENKING (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 156) tödtet die Eier durch Eintauchen in heißes Wasser oder Zugießen von heißem Wasser zu ihnen und bringt sie in 70%igen Alkohol, findet aber die feinere Struktur nicht gut erhalten. In einigen Fällen gibt Flemmings Gemisch bessere Resultate: man legt die Eier auf  $\frac{1}{2}$  Stunde hinein, dann auf 2 Stunden in das auf das Vierfache verdünnte Gemisch und behandelt sie zuletzt wie gebräuchlich mit Alkohol. Boveris Pikrinessigsäure (§ 99) dringt nicht durch die Eihüllen. Die Hüllen entfernt man mechanisch (nicht durch Eau de Javelle) oder schneidet sie mit, je nachdem es besser geht. Um den



Dotter leichter schneidbar zu machen, fixirt man das Ei, bringt es in Alkohol, dann in Boraxkarmin (man muß das Chorion anstechen), auf 12 Stunden in sauren Alkohol von 70 % (20 cem mit 1 Tropfen Salzsäure und einer Messerspitze voll Pepsin), endlich durch Bergamottöl in Paraffin, worin sie sich (mit einigen Ausnahmen, z. B. *Bombyx mori*) schneiden lassen. S. auch oben § 408 und unten § 819 (VAN LEEUWEN).

**601. Lepidopteren.** BOBRETZKY (Zeit. Wiss. Z. 31. Bd. 1878 p. 198) erwärmt die Eier in Wasser, bringt sie auf 14—20 Stunden in  $\frac{1}{2}$  % ige Chromsäure, entfernt das Chorion, legt sie auf einige Stunden in Alkohol, färbt sie mit Karmin und schneidet sie.

**602. Dipteren.** HENKING (Zeit. Wiss. Z. 46. Bd. 1888 p. 289) fixirt die Eier im Mutterleibe durch heißes Wasser, schneidet sie heraus und härtet sie in Alkohol von 70 %. Die abgelegten Eier übergießt er mit heißem Wasser oder bringt sie mit Flemmingschem Gemisch in ein Reagensglas und taucht dieses auf etwa 1 Minute in heißes Wasser, bis die Eier sich schwärzen, sticht sie am stumpfen Pole an, färbt sie mit Boraxkarmin 15—30 Stunden lang und bettet sie in Paraffin ein. — RITTER (Zeit. Wiss. Z. 50. Bd. 1890 p. 408) fixirt die Eisehnüre von *Chironomus* mit heißem 30 % igem Alkohol, worin etwas Sublimat gelöst ist, und färbt sie mit Pikrokarmin. — ESCHERICH (Nova Acta Acad. Leop. Car. 77. Bd. 1900 p. 305) tötet die Eier durch heißes Wasser (75—80 °), fixirt sie mit Pikrinschwefelsäure, der etwas Osmiumsäure zugefügt ist, löst das Chorion und in Alkohol von 50—70 % auch die Dotterhaut ab. — S. auch NOACK (Zeit. Wiss. Z. 70. Bd. 1901 p. 4: Hermanns Gemisch erst heiß, dann kalt. Färbung mit Eisenhämatoxylin). — KAHLE (Zoologica Stuttgart 55. Heft 1908 p. 10) fixirt die herauspräparierten Embryonen von *Miastor* in Flemmings Gemisch, noch besser aber 5 Stunden lang im Gemische von 30 Th. Wasser, 15 Th. Alkohol von 96 %, 6 Th. Formol und 1 Th. Essigsäure; von da allmählich in starken Alkohol.

BRÜEL (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 569) benutzt zum Fixiren der Larven und Puppen heißen (70—75 ° C.) absol. Alkohol „mit etwas Sublimatzusatz“; schon 99 % iger Alkohol bewirke oft empfindliche Schrumpfung. — S. auch VAN REES (ibid. 3. Bd. 1888 p. 10). — PÉREZ (Arch. Z. Expér. (4) Tome 5 1910 p. 11) fixirt die Puppen im Gemische von Bouin (§ 111b) oder Marchoux (§ 111a) 24 Stunden lang; weniger gut ist heiße Sublimatlösung, und Borrels



Gemisch (§ 73) dringt kaum einige Zellen tief ein. P. macht auch Ausstriche vom Inhalte der Puppen.

Nach BENGTTSSON (Handl. Fysiogr. Sällsk. Lund (2) 8. Bd. 1897) fixirt man die Larve von *Phalacrocera* am besten mit heißem Sublimatalkohol von Frenzel (oben § 63). Die Eau de Javelle zum Erweichen des Chitins hat stets versagt. — PANTEL (La Cellule Tome 15 1898 p. 80) betäubt die Larve von *Thrixion* in Salzwasser und Chloroform, bringt sie auf einen Augenblick in heißes Wasser und von da in Apáthys Sublimatalkohol (2%ige Lösung von Sublimat in 40%igem Alkohol mit 5% Essigsäure).

**603. Hymenopteren.** PETRUNKEWITSCH (Z. Jahrb. Abth. Morph. 14. Bd. 1901 p. 576) bringt die Eier von *Apis* auf 24 Stunden in sein Gemisch (oben § 63), von da in 70%igen Alkohol mit Jod und färbt sie, um sie in Paraffin leichter zu sehen, mit Parakarmin vor.

CARRIÈRE & BÜRGER (Nova Acta Acad. Leop. Car. 69. Bd. 1897 p. 273) tödten die Eier von *Chalicodoma* durch Erwärmen in Wasser bis auf 60° C. und fixiren sie dann in wässriger Pikrinsäure oder 70%igem Alkohol.

**604. Coleopteren.** LÉCAILLON (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 1 1897 p. 208) fixirt die Eier mit Zenkers Gemisch (assez fortement acidulé par l'acide acétique) bei 40° C. 24 Stunden lang oder (Recherches sur l'oeuf. Thèse Paris 1898 p. 39) mit Zenkers Gemisch 12 Stunden lang bei 45° C., wäscht sie mit Wasser und bringt sie von 30%igem Alkohol allmählich in 70%igen. (Das Epichorion muß bei *Chrysomela* vorher durch Eintauchen der Eier in Eau de Javelle und bei *Agelastica* durch „huile de naphte“ entfernt werden.) Einbetten aus Xylol in warmes Paraffin von 45° C., von da nur auf 1 Minute in solches von 55° C., worin die Eier, wenn man sie recht langsam sinken läßt, sich stets mit dem Embryo nach unten orientiren.

HIRSCHLER (Zeit. Wiss. Z. 92. Bd. 1909 p. 628) fixirt die Eier von *Donacia* nach dem Anstechen des Chorions 2—3 Stunden lang im Gemisch gleicher Theile 6%iger Sublimatlösung und 3%iger Salpetersäure, führt sie langsam in 90%igen Alkohol über und färbt sie für Oberflächenbilder mit Boraxkarmin, zur Orientirung beim Einbetten in Paraffin hingegen provisorisch mit 1/2%iger wässriger Thioninlösung. Letztere Methode rührt von NUSBAUM & FULIŃSKI (Zeit. Wiss. Z. 93. Bd. 1909 p. 313) her, die sie für *Gryllotalpa* verwenden.

SALING (Dissert. Marburg 1906 p. 10) fixirt die Eier von *Tenebrio* in heißem alkoholischem Sublimat (Alk. von 96% 40 Th., Salpetersäure 4, gesätt. wäss. Subl. 56) etwa 2 Minuten lang (dann direkt in Alkohol von 90%) oder in heißem Formol (1 Th. + 3 Th. Wasser)



3 Minuten lang (dann Alk. von 40%). Einbettung durch Nelkenölkollodium (oben p. 89) in Paraffin 1 Stunde lang. Färbung der Schnitte mit Hämalaun, dann mit Orange G (1 Th. gesättigter Lösung in 2%igem Alaunwasser und 6 Th. Alaunwasser). S. auch § 821.

KARAWAIEW (Biol. Centralbl. 19. Bd. 1899 p. 124) tötet die Larven von *Anobium* durch heißes Wasser, läßt sie sofort durch Ätherspray gefrieren, schneidet seitlich einen Streifen fort, damit das Fixirgemisch besser eindringe, läßt sie aufthauen und bringt sie auf 24 Stunden in Pikrinschwefelsäure.

DEGENER (Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 116) bringt die Eier von *Hydrophilus* auf einige Minuten in heiße 1/2%ige Chromsäure oder Pikrinschwefelsäure, dann auf 12 Stunden in das kalte Gemisch. Auch 30° C. warmer Alkohol von 90% ist gut; für ältere Stadien gesättigte Lösung von Sublimat in Wasser (heiß) oder in Alkohol von 60° (kalt). Ähnlich behandelt er Larven und Puppen.

**605. Orthopteren.** PATTEN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 24 1884 p. 549) erwärmt die Eier oder Larven der Blattiden in kaltem Wasser bis auf 80° und legt sie nach dem Erkalten in Alkohol von 20%, dann allmählich in immer stärkeren. — WHEELER (Journ. Morph. Boston Vol. 3 1889 p. 292) schneidet die Eier aus den Ovarien unter Salzwasser heraus, fixirt sie 1/4 Stunde lang in Perényis Gemisch, dann in Alkohol. Die abgelegten Eier tötet er entweder nach Patten durch Erhitzen, zerstört die Kapsel, holt die Eier heraus und härtet sie nach Belieben; oder er legt die Kapsel auf 10 Minuten in Pikrinschwefelsäure von 80° C. und daraus in 70%igen Alkohol; dieser bringt sie zum Quellen, sodaß sie leichter entfernt werden kann. — HEYMONS (Zeit. Wiss. Z. 53. Bd. 1891 p. 434) schneidet die Kapsel am einen Ende auf, legt sie auf 2 Minuten in Wasser von 90° C. und öffnet sie in Chromosmiumessigsäure. Für Larven nimmt er dieses Gemisch oder Sublimat. — NUSBAUM & FULIŃSKI (Z. Anz. 30. Bd. 1906 p. 464) entfernen die Kapsel, fixiren den ganzen Eihaufen im Gemische gleicher Theile von 6%iger Sublimatlösung und 3%iger Salpetersäure und führen ihn sehr allmählich in starken Alkohol über. — Über *Gryllotalpa* s. § 604 (HIRSCHLER).

MORGAN (Amer. Natural. Vol. 22 1888 p. 357) behandelt die Eier von *Periplaneta* 1/2—1 Stunde mit Eau de Labarraque, auf das 5—8fache verdünnt und leicht erwärmt; die Kapseln werden dann weich. Mit schon fixirten Eiern geht dies nicht so rasch. Natürlich darf die Flüssigkeit nicht in das Ei eindringen.

BORDAGE (Bull. Sc. France Belg. Tome 39 1905 p. 385) bettet die in Regeneration befindlichen Beine von *Raphiderus* nach der Methode von Semichon in Celloidin und Paraffin ein: der Celloidinlösung setzt er etwas Kampher zu und führt die durchtränkten Objekte durch Chloroform „additionné de camphre“ in Paraffin über „qui vient peu à peu se substituer au camphre“.



**606. Phalangiden.** HENKING (Zeit. Wiss. Z. 45. Bd. 1886 p. 86) fixirt die Eier mit heißem Wasser oder Flemmingschem Gemisch und härtet sie in 90%igem Alkohol, bringt sie dann aber in 70%igen zurück; hierdurch schwillt das Chorion an und kann leicht mit Nadeln entfernt werden.

**607. Skorpioniden.** BRAUER (Zeit. Wiss. Z. 57. Bd. 1894 p. 405) fixirt die dem lebenden *Euscorpius* entnommenen Ovarialröhren, wenn die Eier noch klein sind,  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang in Flemmings Gemisch und präparirt dann die Eier heraus; die mit älteren Embryonen bringt er für Oberflächenbilder auf 24 Stunden in  $\frac{1}{5}$ %ige Chromsäure, sonst erst auf 1—1 $\frac{1}{2}$  Minute in fast kochendes Wasser, dann auf 2—6 Stunden in Chromessigsäure oder auf 10—20 Minuten in Flemmings Gemisch; bei den mit Wasser getödteten entfernt er aber sofort im Härtgemisch das Epithel der Ovarialröhren.

**608. Spinnen.** KISHINOUE (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 4 1891 p. 56) fixirt die jüngsten Stadien durch kochendes Wasser, ältere durch Erwärmen in Wasser bis auf 70—80° C., bringt sie nach dem Erkalten in Alkohol von 70%, sticht 24 Stunden später die nicht geplatzten Eihüllen an und härtet mit stärkerem Alkohol nach. Waren die Embryonen mit Pikrokarmin gefärbt, so drang das Paraffin besser ein. — Auch LOCY (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 12 1885 p. 64) fixirt mit heißem Wasser; zum Durchfärben dient am besten Boraxkarmin. — MONTGOMERY (Journ. Morph. Philadelphia Vol. 20 1909 p. 628) fixirt die Eier von *Theridium* 1—2 Stunden lang im Gemisch von Carnoy & Lebrun (oben § 84); allerdings wird der Dotter dabei homogen, liefert wohl auch Extraovate, schneidet sich aber gut. — LAMBERT (ibid. p. 420) fixirt die Eier von *Epeira* in 70—80° heißer Pikrinschwefelsäure und bringt sie erkaltet in Alkohol bis zu 95%. — PURCELL (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 54 1909 p. 7) fixirt die Eier von *Atta* in kochender gesättigter Lösung von Sublimat in 70%igem Alkohol einen Augenblick lang und findet die Zellgrenzen besser erhalten als in wässriger Lösung; von da in Alkohol ohne Jod. — HAMBURGER (Zeit. Wiss. Z. 96. Bd. 1910 p. 3) fixirt die Eier von *Argyroneta* besonders in Gilsons, zum Studium der äußeren Gestalt in Flemmings Gemisch (beide heiß) und verwendet als Intermedium für Paraffin Cedernöl.

**609. Tardigraden.** ERLANGER (Morph. Jahrb. 22. Bd. 1895 p. 493) fixirt die Eier von Tardigraden (und diese selber) theils in Flemmings Gemisch, theils in Pikrinschwefelsäure, der auf jeden ccm 1 Tropfen 1%iger Osmiumsäure zugesetzt war, theils in Sublimatessigsäure (konz. Sublimatlösung mit 20% Eisessig). In den beiden ersten Gemischen wurden die Eier aber so schwarz, daß sie mit Wasserstoffhyperoxyd in der Wärme gebleicht werden mußten.



**610. Peripatus.** KENNEL (Arb. Z. Inst. Würzburg 7. Bd. 1885 p. 114) fixirt die Embryonen (die ganz jungen Stadien mit dem Uterus) in Sublimatlösung oder  $\frac{1}{2}$ —1%iger Osmiumsäure. — SHELDON (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 28 1887 p. 207) verwendet Sublimatlösung mit 33% Essigsäure kalt oder warm und färbt gleich mit Pikrokarmine; oder (ibid. Vol. 29 1888 p. 283)  $\frac{1}{4}$ %ige Chromsäure mit 1% Essigsäure; nachher Alkohol und Pikrokarmine.

**611. Limulus.** KINGSLEY (Journ. Morph. Boston Vol. 7 1892 p. 38) erhitzt die Eier in Seewasser auf 70—75° C. und bringt sie dann in Alkohol von 30—70%. Bei frühen Stadien bezeichnet er die Lage des Embryos auf dem Chorion mit Tusche, die sich in Alkohol hält, und bettet des Dotters wegen in Celloidin ein (ältere Stadien in Paraffin). — KISHINOUE (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 5 1893 p. 56) tödtet die Eier in Wasser von 60—70° C., bringt sie erkaltet direkt in Alkohol von 70%, sticht nach 1—2 Tagen das Chorion an und härtet sie in stärkerem Alkohol. Einbettung in Celloidin-Paraffin.

**612. Dekapoden.** REICHENBACH (Abh. Senckenberg. Ges. Frankfurt 14. Bd. 1886 p. 2) erwärmt die Eier von *Astacus* langsam auf 60 bis 70° C., härtet sie 24 Stunden lang in Kaliumbichromat (1—2%) oder Chromsäure ( $\frac{1}{2}$ %), wäscht sie ebenso lange mit Wasser aus und bringt sie in Alkohol von 70%. — HERRICK (Bull. U. S. Fish Comm. Vol. 15 1896 p. 226) tödtet die Eier in heißem Wasser, schält sie ab, fixirt sie in Pikrinschwefelsäure und färbt sie mit Boraxkarmin. — WAITE (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 35 1899 p. 155) fixirt die Eier von *Homarus* 45—90 Minuten lang in Flemmings schwachem Gemisch oder 60—90 Minuten in Pikrinschwefelsäure; soll aber nur der Embryo studirt werden, so ist heißes Wasser oder Sublimatlösung (kalt oder heiß) zu nehmen. — Über Fixirung mit Salpetersäure s. oben p. 31, mit Pikrinsalpetersäure p. 54.

**613. Stomatopoden.** Über die Larven s. § 820 (GIESBRECHT).

**614. Amphipoden und Isopoden.** DELLA VALLE (Fauna Flora Golf. Neapel 20. Monogr. 1893 p. 170) gibt die Eier von *Orchestia* mit einer Pipette in kochende 6%ige wässrige Sublimatlösung, saugt sie sofort wieder heraus, bringt sie in Seewasser und von da in schwachen Alkohol. Das Chorion platzt entweder von selbst oder auf einen Stich mit einer Nadel, sodaß Jodalkohol etc. leicht eindringen. — S. auch HEIDECKE (Jena. Zeit. Naturw. 38. Bd. 1904 p. 506).

Nach LANGENBECK (Journ. Morph. Boston Vol. 14 1898 p. 303) quellen die Eier von *Microdeutopus* in Sublimat; am besten ist die mit Seewasser bereitete Pikrinschwefelsäure; sie schrumpfen zwar sehr darin, aber gleichmäßig.



MC MURRICH (Journ. Morph. Boston Vol. 11 1895 p. 65) fixirt die Eier von *Jaera* in gesättigter Lösung von Pikrinsäure in 70 %igem Alkohol, der 2 Volumprocente konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt werden. Einbettung, falls der Dotter sehr brüchig, in Celloidin, sonst in Paraffin.

**615. Cladoceren.** HÄCKER (Zellen- und Befruchtungslehre Jena 1899 p. 60) fixirt die ♀ von *Sida* mit den Wintereiern in heißem Sublimat-Alkohol (100 ccm A. von 70 %, 1—2 ccm konzentr. Lösung von S.).

SAMTER (Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 176) übergießt die ♀ von *Leptodora* zu je 2 oder 3 mit etwa 30° C. warmer Sublimatlösung, die „5—10 %igen Alkohol enthält“, sticht die sofort aus dem Brutraum herausgeholtten Eier an und bringt sie in warme „alkoholische Sublimatlösung von 15—20 %“. Alle 10 Minuten setzt er etwas Alkohol zu, sodaß in etwa 1 Stunde die Eier in „50 %iger alkoholischer Sublimatlösung“ sind; dann gelangen sie in 50 %igen und allmählich in 100 %igen Alkohol. Von da mit dem Dialysator von Schulze (oben p. 7) in Benzol, dann in warmes Paraffin von 30° Schmelzpunkt und zuletzt in solches von 63° „im Augenblick der Erstarrung desselben“.

**616. Copepoden.** HÄCKER (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 86) fixirt die Eisäcke von *Cyclops* 10 Minuten lang in Pikrinplatinosmium-essigsäure nach vom Rath (oben § 100). — PEDASCHENKO (Trav. Soc. Natural. Pétersbourg Vol. 26 Livr. 4 Nr. 7 1898 p. 1) fixirt die Eisäcke von *Lernaea* theils in Sublimat mit Essigsäure, theils in Perényis Gemisch, theils (die ganz jungen Stadien) in absolutem Alkohol mit 25 % Essigsäure.

**617. Cirripeden.** BIGELOW (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 40 1902 p. 66) fixirt die Eier von *Lepas* in gesättigter Lösung von Pikrinsäure in 5 %iger Essigsäure. Färbung mit Boraxkarmin. Als Intermedium für den Balsam oder auch für Dauerpräparate dient „oil of cassia“.

## Würmer.

**618. Polychäten.** WILSON (Journ. Morph. Boston Vol. 6 1892 p. 373) färbt die lebenden Embryonen von *Nereis* durch Zusatz von Methylenblau zum Seewasser und sieht so Zellgrenzen und Plasma deutlicher. Zum Fixiren verwendet er besonders Flemmings und Perényis Gemisch 10—30 Minuten lang; Pikrinschwefelsäure ist nicht gut, sehr brauchbar Sublimateisessig nach Lang; die beiden letzten Gemische wirken also umgekehrt wie nach WISTINGHAUSEN (Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 p. 47). Die Eier tödtet und konservirt er in einem Gemisch gleicher Theile von Glycerin, Wasser und Essig-



säure, färbt sie in Essigsäurekarmin etwa 3—5 Minuten lang und untersucht sie in toto, nach gutem Auswaschen mit demselben Glycerin-gemisch, ehe sie zu sehr nachdunkeln. — WISTINGHAUSEN (l. c.) fixirt ältere Embryonen 1 Stunde lang mit einer Art von Flemmings Gemisch (1%ige Osmiumsäure 1—1½, 1%ige Chromsäure 25, 2%ige Essigsäure 5, Wasser 70 Raumtheile), wäscht sie 24 Stunden lang aus und bringt sie in Alkohol von 50% (3 Stunden) und 70%.

KORSCHOLT (Zeit. Wiss. Z. 60. Bd. 1895 p. 545) findet für die Eier von *Ophryotrocha* Boveris Pikrinessigsäure (oben § 99) am besten: 3—4 Stunden lang, dann Alkohol von 70% und 96%. — Ähnlich MEAD (Journ. Morph. Boston Vol. 14 1898 p. 193) für *Chaetopterus*.

CHILD (Arch. Entwicklungsmech. 9. Bd. 1900 p. 588) fixirt die Eier von *Arenicola* ebenfalls in Boveris Gemisch; dann Alkohol von 50—80%. Die Gallerte um die Eier löst sich beim Übertragen in angesäuertes Wasser rasch (auch nach Fixirung in anderen Gemischen, ausgenommen Chromsäure).

KLEINENBERG (Zeit. Wiss. Z. 44. Bd. 1886 p. 25) fixirt die Larven von *Lopadorhynchus* mit seiner Pikrinschwefelsäure, bringt sie direkt in Alkohol von 70%, dann von 90% und färbt sie mit Boraxkarmin nach Mayer (§ 234); in Folge dieser scharfen Kernfärbung lassen sie sich beim Einbetten bequem orientiren. Ferner (p. 36) macerirt er sie 1—2 Stunden lang in verdünnter Pikrinschwefelsäure und nachher in Beales Karmin; die Zellen lassen sich dann leicht isoliren. — MEYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 14. Bd. 1901 p. 252, 263 u. 293) wendet dagegen theils das Gemisch von Kupfersulfat und Sublimat (§ 80), theils Sublimat oder Pikrinsäure mit Essigsäure (auf 3 Theile der gesättigten Lösung 1 Theil) an. Die Larven färbt er (p. 294) erst mit Boraxkarmin, dann nach dem Auswaschen in saurem Alkohol mit verdünntem Hämalaun.

EISIG (Mitth. Z. Stat. Neapel 13. Bd. 1898 p. 89) fixirt die Eier und Larven von *Capitella* mit Sublimat (5% in Seewasser gelöst; hiervon 3 Theile unmittelbar vor dem Gebrauch zu mischen mit 1 Theil Essigsäure); eventuell sind die Larven vorher mit Cocaïn zu betäuben (2% in Seewasser; der Niederschlag mit Sublimat löst sich im Alkohol). Dann Alkohol von 50—90%. Färbung nur mit Hämocalcium (aber mit 5% Essigsäure), langes Auswaschen in 70%igem Alkohol mit 2% Aluminiumnitrat; Einschluß aus Cedernöl in Xylol- oder Cedernölbalsam. Nachfärbung der Schnitte mit Eosin in 90%igem Alkohol.

**619. Hirudineen.** APÁTHY (Carazzi, Manuale p. 214) fixirt die Eier von *Clepsine* 12—14 Stunden lang mit dem Gemisch gleicher Theile gesättigter wässriger Sublimatlösung, ebensolcher Pikrinsäurelösung und 15%iger Essigsäure, bringt sie direkt in Alkohol von 96% und nach 24 Stunden in Alkohol mit Jodjodkalium. (Bei *Hirudo*, *Pontobdella* etc.



muß man die Eikapsel öffnen und das Eiweiß entfernen.) Ferner ist gut das Gemisch von Osmiumsäure und Sublimat (oben § 368) und für Oberflächenbilder entweder Carnoys Alkohol mit Essigsäure (§ 83) oder 6 %ige wässerige Sublimatlösung mit 20 % Essigsäure; nach  $\frac{1}{4}$  Stunde Übertragung in alkoholische Sublimatlösung, Alkohol etc.; Färbung mit Parakarmin. Ältere Embryonen von Clepsiniden fixirt man in Sublimatlösung mit 1 % Osmiumsäure.

**620. Myzostoma.** WHEELER (Arch. Biol. Tome 15 1897 p. 2) behandelt die aus dem Thier herausgepreßten Eier mit Essigsäurekarmin oder (für Schnitte) schwachem Flemmingschem Gemisch. Setzt man dieses vorsichtig zum Seewasser mit den Eiern, so kleben sie am Boden des Uhrglases fest und lassen sich so in Paraffin einbetten. — Nach KOSTANECKI (Arch. Mikr. Anat. 51. Bd. 1898 p. 463) ist Perényis Gemisch am besten, weniger gut 3 %ige Salpetersäure.

HÄCKER (Zellen- und Befruchtungslehre Jena 1899 p. 111) fixirt die Eier in kleinen Vertiefungen der Blätter von *Ulva* mit Flemmings oder Raths Gemisch einige Minuten lang; sie kleben darin an und können nun bequem mit 70 %igem Alkohol etc. weiter behandelt werden.

**621. Rotatorien.** Nach JENNINGS (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 30 1896 p. 101) fixirt man die ♀ am besten mit Flemmings starkem Gemisch, muß aber die Eier mit Kaliumchlorat und Salzsäure (oben § 560) bleichen. Aufbewahrung in 80 %igem Alkohol oder dem Gemisch gleicher Theile von Alkohol, Wasser und Glycerin. Die isolirten Eier bringt man in Glycerin unter ein Deckglas, das durch Capillarröhren so gestützt ist, daß sie sich rollen lassen. Das Plasma nimmt stets mehr Farbe auf als die Kerne.

LENSEN (La Cellule Tome 14 1898 p. 428) fixirt die Eier von *Hydatina* 20 Sekunden lang mit kalter Sublimatlösung.

**622. Turbellarien.** Nach GARDINER (Journ. Morph. Boston Vol. 11 1895 p. 158) ist für die Eier von *Polychoerus* in jungen Stadien das beste Fixirmittel das Gemisch von absolutem Alkohol und Eisessig zu gleichen Theilen.

IJIMA (Zeit. Wiss. Z. 40. Bd. 1884 p. 361) öffnet die Eikapseln von Süßwasserplanarien in einem Tropfen 2 %iger Salpetersäure mit einer Nadel, läßt die Eier heraustreten, legt ein durch Wachsfüßchen oder Papier gestütztes Deckglas auf und saugt nach  $\frac{1}{2}$  Stunde erst Alkohol von 70, dann von 90 %, darauf verdünntes, zuletzt reines Glycerin durch. Zum Schneiden härtet er die ganze Kapsel in 1 %iger Chromsäure.

FRANCOTTE (Arch. Z. Expér. (2) Tome 6 1898 p. 196) fixirt die Eier der Polycladen für Oberflächenbilder in Hermanns oder Fols Gemisch, wäscht sie in einem Gemisch von Glycerin, Alkohol und Wasser aus und färbt sie (s. oben p. 174). Fixirung für Schnitte ähnlich oder



in Sublimatlösung mit 5% Essigsäure. Einbettung (eventuell erst in Kollodium) durch Cedernöl oder Chloroform in Paraffin. — Nach VAN DER STRICHT (Arch. Biol. Tome 15 1898 p. 370) schneiden sich die Eier von *Thysanozoon* nur dann gut, wenn sie höchstens 2 Minuten in absol. Alkohol bleiben; Einbettung aus Chloroform in Paraffin ähnlich wie nach Carnoy & Lebrun (oben § 580).

BRESSLAU (Zeit. Wiss. Z. 76. Bd. 1904 p. 219) fixirt die Sommer-eier der Mesostomiden im Thiere mit Tellyesniczky's Gemisch (kalt oder 60—70° heiß) 10—12 Stunden lang, wäscht sie ebenso lange aus und bringt sie äußerst vorsichtig durch Alkohol und Cedernöl in Paraffin. Die Wintereier sticht er am einen Pole an, fixirt sie wie oben oder mit 6%iger Sublimatlösung, führt sie allmählich in 95%igen Alkohol über, macht ein Loch am anderen Pole und bettet sie durch Cedernöl ein; im Paraffin entfernt er mit dem Messer ein Stück der Schale, bettet das Ei um, nimmt wieder ein Stück der Schale fort, etc. Diese Schälmethode eignet sich auch für Tricladen und Allöocölen.

**623. Cestoden.** VAN BENEDEN (Arch. Biol. Tome 2 1881 p. 187) behandelt die Eier von *Taenia* mit 1%iger Osmiumsäure, dann 1 Stunde lang mit 30%igem Alkohol, wäscht sie mit Wasser, färbt sie 2—3 Tage lang mit Pikrokarmin und hebt sie in Glycerin mit etwas Pikrokarmin auf. Bei älteren Embryonen sprengt er zuvor die Chitinhülle, indem er unter dem Deckglase Flüssigkeit wegsaugt.

HASWELL (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 54 1909 p. 417) fixirt die Eier von *Temnocephala* in „sublimate alcohol“, bringt sie in 90%igen Alkohol mit Jod, von da langsam in Wasser zurück, erweicht die Schale in schwachem Natriumhypochlorit, wäscht aus und bettet durch Celloidin in hartes Paraffin ein.

**624. Trematoden.** COE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 9. Bd. 1896 p. 563 u. 566) fixirt die Miracidien von *Distomum* mit den gebräuchlichen Mitteln; für das Excretionsystem tödtet er sie mit Osmiumsäure, spült sie mit Wasser ab und legt sie auf wenigstens 2 Tage in  $\frac{1}{4}$ %ige Lösung von Höllenstein.

**625. Nematoden.** BOVERI (Jena. Zeit. Naturw. 21. Bd. 1887 p. 423) fixirt die Eier von *Ascaris* in seiner Pikrinessigsäure (oben § 99), bringt sie in Alkohol von 70%, färbt sie mit Boraxkarmin und überträgt sie in das Gemisch von 1 Theil Glycerin und 3 Theilen absol. Alkohol, von dem er den Alkohol langsam abdunsten läßt. — ZUR STRASSEN (Arch. Entwicklungsmech. 3. Bd. 1896 p. 29) fixirt sie 24 Stunden lang im Gemisch von 4 Th. Alkohol von 96% und 1 Th. Essigsäure,



bringt sie in reinen Alkohol, färbt sie mit Salzsäurekarmin (§ 236) und führt sie allmählich in Glycerin über. — S. auch BOVERI (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 386: Pikrinessigsäure oder 70 % iger Alkohol mit 5 oder 10 % Essigsäure), FÜRST (Arch. Mikr. Anat. 52 Bd. 1898 p. 106) und BOVERI (Zellen-Studien Heft 4 Jena 1900 p. 63).

KOSTANECKI & SIEDLECKI (Arch. Mikr. Anat. 48. Bd. 1896 p. 184) fixieren die Eileiter 24 Stunden lang in konzentr. Sublimatlösung (in Normalsalzwasser) oder 3 % iger Salpetersäure oder Gemischen beider Flüssigkeiten (s. oben § 63) etc., bringen sie gradatim in absol. Alkohol und betten sie äußerst vorsichtig aus Chloroform in Paraffin von 52° ein; sie dürfen höchstens 8 Stunden bei über 35° verweilen, sonst schrumpfen sie zu stark. Oder aus dem absol. Alkohol kommen sie allmählich in 30 % igen zurück, werden gefärbt und in dünnes Glycerin gebracht, das durch Verdunsten konzentriert wird.

CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 13 1897 p. 64) lassen im Gemisch von Gilson (oben § 84) den an manchen Stellen angeschnittenen Ovidukt so lange, bis er zu Boden sinkt, waschen ihn mit schwachem Alkohol aus und bringen ihn allmählich in 80 % igen. Beim Einbetten dürfen die Eier höchstens 1 1/2 Minute lang im warmen Paraffin verweilen (s. im Übrigen § 580). Die Einbettung in Celloidin dauert zwar wenigstens 2 Monate, aber die Eier sind dann viel weniger geschrumpft als in Paraffin. Zum Färben ist am besten Hämatoxylin-eisen (allein oder mit Congo- oder Bordeauxroth); das Kollodium wird zuletzt durch absoluten Alkohol erweicht und durch Cajeputöl aufgelöst; Einschluß in Kolophonium.

CARNOY (La Cellule Tome 3 1887 p. 6) verwandte zuerst ein Gemisch von 3 Theilen absoluten Alkohols mit 1 Theil Eisessig; später (ibid. p. 276) das Gemisch mit Chloroform (oben § 83); 5—10 Minuten genügen. — VAN BENEDEN & NEYT (Bull. Acad. Belg. (3) Tome 14 1887 p. 214) nehmen Alkohol und Eisessig zu gleichen Theilen oder sogar reine Essigsäure.

ARTOM (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 5) schneidet 1 1/2 cm lange Stücke der Uteri von *Ascaris* in Salzwasser mit dem Gefriermikrotom in 30 µ dicke Scheiben, fixirt diese sofort in Sublimat mit Eisessig etc., besonders aber in Flemmings starkem Gemisch, bleicht später die Eier in Terpentinöl und bettet sie in Paraffin ein.

S. auch ZOJA (Arch. Mikr. Anat. 47. Bd. 1896 p. 218), ERLANGER (ibid. 49. Bd. 1897 p. 309), TRETJAKOFF (ibid. 65. Bd. 1904 p. 363: Fixirung im Gemisch von 50 oder 60 ccm gesättigter Sublimatlösung, 25 ccm Eisessig und 25 oder 15 ccm absol. Alkohol 24 Stunden lang bei 36°) und oben § 271 (HERLA).

**626.** Über die **Echinodermen, Cölenteraten und Poriferen** s. in Kapitel 31.



## 23. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung der Zelle.**

**627. Studium der lebenden Zelle.** Ein gutes Objekt hierfür ist der Schwanz junger Larven von Anuren oder Urodelen (PEREMESCHKO in: Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 453 ff.). Im lebenden Thiere sind die Epithelzellen und ihre Kerne in der Ruhe so durchsichtig, daß man sie nur dann wahrnimmt, wenn man das Thier curarisirt oder nach dem Curarisiren  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in 1%iges Salzwasser legt. Zum Studium der Mitose kann man die Larven ohne Weiteres verwenden, spart aber viel Zeit, wenn man auch sie curarisirt.

Curare. Von der  $\frac{1}{2}$ %igen Lösung in gleichen Theilen Wasser und Glycerin gibt man in ein Uhrglas voll Wasser 5—10 (für größere Larven mehr) Tropfen; werden nach  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde die Larven träge, so legt man sie auf einen Objektträger unter Filtrirpapier. Bringt man sie in Wasser zurück, so werden sie in 8—10 Stunden wieder normal.

Ähnliche Wirkungen übt ein Zusatz von 3% Alkohol oder Äther zum Wasser aus. Beide hindern die Zelltheilungen nicht, betäuben aber nicht gleichmäßig. Auch Tabaksaft kann zum Narkotisiren dienen. S. im Übrigen oben § 16 ff.

Indifferente Medien. Als solche dienen 1%iges Salzwasser, Jodserum, Zuckersaft, kaltes Wasser ( $+ 1^{\circ}\text{C.}$ ) und warmes Wasser ( $35\text{—}40^{\circ}\text{C.}$ ). Man schneidet dem lebenden Thiere den Schwanz ab und kann ihn in einem solchen Medium lange Zeit studiren.

Über die Färbung lebender Zellen s. oben § 209.

**628. Studium frischer oder leicht fixirter Zellen.** Die sogenannten indifferenten Medien sind durchaus nicht ohne Wirkung auf die Kerne; man sollte sie daher eher schwache Fixirmittel nennen. Die zwischen ihnen und den energischen Mitteln, z. B. dem Flemming-



sehen Gemisch, stehenden mittelstarken Fixirmittel, wie Pikrinsäure oder schwache Essigsäure, eignen sich besonders zum Studium frischer isolirter Zellen.

Ein gutes Beispiel hierfür ist folgendes. Man zerzupft ein Stück lebendes Gewebe in einem Tropfen einer mit  $\frac{3}{4}\%$  Essigsäure versetzten Lösung von Methylgrün. Hierin sterben die Zellen ohne Änderung der Form. Dann setzt man das Präparat  $\frac{1}{4}$  Stunde lang Osmiumdämpfen aus, gibt einen Tropfen des Gemisches von Ripart & Petit hinzu und deckt ein Deckglas darüber. Oder man läßt die Osmiumdämpfe  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten auf das zerzupfte Gewebe wirken, setzt einen Tropfen vom obigen Methylgrün zu, wäscht nach 5 Minuten mit 1%iger Essigsäure aus, gibt das Gemisch von R. & P. darauf und deckt das Deckglas darüber. Oder man zerzupft direkt im Gemisch von R. & P. (eventuell mit einer Spur Osmiumsäure dazu) und färbt mit Methylgrün.

Auch das Chlormangan nach Pictet (§ 378) habe ich (LEE) sehr nützlich gefunden; man mag ein wenig Dahlia hinzufügen. Das Gemisch von Henking (§ 408) mag ebenfalls gut sein.

Natürlich lassen sich auch Pikrinsäure, schwache Lösung von Sublimat etc. mit Vortheil verwenden, manchmal ohne Zweifel mit noch größerem als die obigen. Ebenso werden unter Umständen andere Färbmittel, z. B. Bismarckbraun, und andere Medien als das Gemisch von R. & P. nützlich sein. Im Allgemeinen darf jedoch die obige Methode — Methylgrün, Osmiumsäure, Gemisch von R. & P. — zum Studium der frischen Zellen als klassisch gelten.

**629. Einige mikrochemische Reaktionen.** Methylgrün ist insofern ein Reagens auf Chromatin, als es in frischen Geweben (s. p. 174) im Kern nur das Chromatin färbt. Allerdings wechselt die Färbung an Stärke nach den Kernen sehr und kann anscheinend sogar ganz fehlen; dann muß man durch andere Mittel die An- oder Abwesenheit des Chromatins feststellen. Daher seien hier nach CARNOY (Biol. Cellul. p. 208) einige weitere Reaktionen angegeben.

Das Chromatin ist weder in Wasser noch in verdünnten Mineralsäuren (z. B.  $\frac{1}{10}\%$ iger Salzsäure) löslich, leicht dagegen in konzentrierten, ferner in Alkalien und Lösungen von Kaliumcarbonat und Natriumphosphat. In 10%iger Kochsalzlösung löst es sich oder wird gallertig. Verdaulich ist es, solange es im Kern liegt, meist nur theilweise. Zum Lösen eignen sich am besten 1%ige Kalilauge,



rauchende Salzsäure, Cyankalium oder Kaliumcarbonat; letztere beiden geben in 40—50%iger Lösung meist bessere Resultate als verdünnte Alkalien. Will man aus einem Kern alles Chromatin weglösen, so muß man das Reagens oft 2—3 Tage wirken lassen, namentlich unter dem Deckglase. Aber man muß dazu frische Zellen verwenden, denn in den gehärteten ist das Chromatin fast unlöslich in Ammoniak, Kalilauge etc., und selbst Salzsäure löst es nur schwierig. Der partiellen Verdauung widersteht das Chromatin in den Kernen viel länger als die Albumine, und so kann man die Chromosomen frei machen und das Cytoplasma aufhellen.

UNNA (Monats. Prakt. Dermat. 33. Bd. 1901 p. 342) digerirt zur Entfernung des Granoplasmas die Gewebe (auch Celloidinschnitte) in Lösungen von Chlornatrium.

ZIMMERMANN (Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkernes, Jena 1896) erörtert ausführlich das mikrochemische Verhalten auch des thierischen Zellkernes. Dies thut ferner in mehreren Schriften der Botaniker ZACHARIAS, der unter Anderem (Ber. D. Bot. Ges. 16. Bd. 1898 p. 185) mit Recht betont, daß es kein allgemeines Reagens auf Zellkerne gibt, wohl aber Methoden zur Erkennung der Nucleine in den Kernen. Ähnlich HEINE (Zeit. Phys. Chem. 21. Bd. 1896 p. 494). — SAINT-HILAIRE (ibid. 26. Bd. 1888 p. 102) läßt zur Erkennung des Nucleohistons die Kerne Kupfer aufnehmen und weist dies durch Ferrocyankalium nach. — Über eine ähnliche Wirkung der Molybdänsäure s. oben § 373 (HEINE).

S. auch HÄCKER, Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre Jena 1899, und CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 12 1897 p. 194 ff.). — Eine Zusammenstellung der Methoden und Resultate der Mikrochemie nach der Literatur gibt PRENANT (Journ. Anat. Phys. Paris 46. Année 1910 p. 343 ff.). S. ferner EMICH (Ber. D. Chem. Ges. 43. Jahrg. 1910 p. 10 ff.: meist nach H. Behrens).

Glykogen. Im neuesten Beitrage zu seinem Nachweise erörtert MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 513) die bisherigen Methoden, besonders die von Vastarini-Cresi mit Rosanilinchlorhydrat (s. unten), betrachtet als die sicherste die mit Jod und bringt zwei eigene (s. unten), hält dagegen die von CREIGHTON (Formative Property of Glycogen. Part 1 London 1896 p. 11) mit Methylviolett für unzuverlässig und findet, daß auch nach den Verfahren von GAGE (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 28 1908 p. 203) und KATO (Arch. Gesamte Phys. 127. Bd. 1909 p. 125) die Färbung mit Jod keine Dauerpräparate liefert. Die Methode von BEST (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 358, 23. Bd. 1909 p. 319; s. auch BUSCH in: Arch. Internat. Phys. Liège



Vol. 3 1905 p. 51 und ARNOLD in: Arch. Path. Anat. 193. Bd. 1908 p. 175) ist ihm zu umständlich und nicht electiv genug, da sich nach ihr auch Fibrin etc. färben.

EHRlich & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 30) weisen das Glykogen im Blute nach, indem sie das Präparat in ein geschlossenes Gefäß neben Jodkristalle legen und später in gesättigte Lösung von Lävulose einschließen. — PEKELHARING (Petrus Camper Jena Deel 1 1901 p. 231) fixirt *Ostrea* mit alkoholischem Formol, färbt sie mit alkoholischem Karmin und behandelt die mit Alkohol aufgeklebten Paraffinschnitte mit einer Lösung von Jod in Xylol; auch der Balsam muß etwas Jod enthalten. Ähnlich DRIESSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 22 Bd. 1905 p. 422). — FISCHER (Anat. Anz. 26. Bd. 1905 p. 399) fixirt die Leber in Alkohol, bringt die Paraffinschnitte aus dem Alkohol auf 10—15 Minuten in 10%ige wässrige Lösung von Tannin, spült diese mit 1%iger Lösung von Kaliumbichromat ab, legt das Präparat auf 10—15 Minuten in 10%ige Lösung des Bichromates, spült es ab und erhält mit Safranin (in Anilinwasser) oder anderen basischen Farbstoffen nur das Glykogen gefärbt. — Ähnlich FIESSINGER (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 66 1909 p. 183). — NEUKIRCH (Arch. Path. Anat. 200. Bd. 1910 p. 82) fixirt das Glykogen in Muskeln und Leber von *Rana* unter Zusatz von Dextrose zum Fixirgemisch und Waschalkohol oder direkt in gesättigter wässriger Lösung von Dextrose.

VASTARINI-CRESI (Atti Accad. Med. Chir. Napoli Anno 41 1907 p. 350, Anno 43 1909 p. 109) fixirt in absol. Alkohol oder stark alkoholischen Gemischen (von Formol, Sublimat etc.) und färbt die Celloidinschnitte oder die nicht aufgeklebten, aber mit Celloidin überzogenen Paraffinschnitte in einem Gemische ähnlich dem Resorcinfuchsin oder in Grüblers Kresofuchsin (1 g, Salzsäure 4 g, 94%iger Alkohol 300 ccm, zur Färbung der Kerne dazu 1 g Hämatoxylin) bis 48 Stunden lang, wobei der Alkohol aus dem Gemische allmählich verdunsten muß.

MAYER (l. c. p. 518) löst unter Benutzung der Angaben von SILBERMANN & OZOROVITZ (Bull. Soc. Sc. Bucarest Anul 17 1908 p. 43) 7 g Gallussäure in 50 ccm Wasser, vermischt damit erst 15 g Liq. ferri sesquichlorati (oder 7 g festes Eisenchlorid), dann 10 ccm Ammoniak und füllt mit 50%igem Alkohol zu 1 Liter auf. In dieser Tinte werden die Paraffinschnitte — aufgeklebt, oder lose und noch mit dem Paraffin — gefärbt (eventuell vorher in Parakarmin), mit 50%igem Alkohol ausgewaschen und in Balsam, Euparal oder Terpeneol geschafft. Die Tinte hält sich nur einige Monate lang, die Färbung ist nicht so schön wie die nach Vastarinis Methode. Ferner ist das Glykogen distinct, aber nicht stark, färbbar in einer Lösung von Karminsäure oder Hämatoxylin, Brasilin, Gallein in stark ammoniakalischem 70%igem Alkohol.

Nach MACALLUM (Proc. R. Soc. London Vol. 63 1898 p. 467) ist der Phosphor nachweisbar durch Ammoniummolybdat, wenn man vorher mit Phenylhydrazinchlorhydrat in 1—3%iger wässriger Lösung reduziert. — S. jedoch HEINE (Zeit. Phys. Chemie 22. Bd. 1896 p. 132), BENSLEY (Biol. Bull. Woods Holl Vol. 10 1906 p. 62) und SCOTT (Journ. Phys. Cambridge Vol. 35 1906 p. 119). Auch nach ZACHARIAS (Progr. Rei. Botan. Jena 3. Bd. 1909 p. 124) fehlt eine zuverlässige Reaktion auf Phosphor noch.



Eisenhaltige Körnchen im Deutoplasma der Eier von *Ostrea* weist CARAZZI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 14. Bd. 1897 p. 134) mit Ferrocyankalium und Salzsäure (§ 634) nach: entweder direkt oder nach Behandlung der aufgeklebten, vom Paraffin befreiten Schnitte mit den Dämpfen von Osmiumsäure; diese oxydiren die organische Substanz und mache so das Eisen zugänglich. — MACALLUM (Ergeb. Phys. Wiesbaden 7. Jahrg. 1908 p. 565 ff.) kritisirt diese Methode scharf, läßt Bunges Reagens (96 % iger Alkohol 90, 25 % ige HCl 10 Vol.) das maskierte Eisen leicht frei machen, also für das anorganische unbrauchbar sein, und weist das maskierte am besten durch Liegenlassen des Präparates unter dem Deckglase im Gemisch gleicher Theile von 50 % igem Glycerin und frischem Schwefelammonium nach. — TIRMANN (Görbersdorfer Veröffentl. 2. Heft 1898 p. 111) behandelt die Schnitte von Säugethieren mit gelb gewordenem Schwefelammonium, spült sie mit Wasser ab, bringt sie auf  $\frac{1}{2}$ —1 Minute in frische 20 % ige, mit etwas Salzsäure versetzte Lösung von Ferricyankalium (hierin wird nach Schmelzer das Fe S zu Turnbulls Blau), wäscht sie wieder und färbt die Kerne mit Alaunkarmin. — S. ferner MACALLUM (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 38 1895 p. 175), SCHNEIDER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1895 p. 208; ältere Literatur dort angegeben), CARNOY & LEBRUN (§ 634) und SUMITA (Arch. Path. Anat. 200. Bd. 1910 p. 230: Eisen in kalkhaltigen Geweben).

BOYCE & HERDMAN (Proc. R. Soc. London Vol. 62 1897 p. 35) ermitteln das Kupfer im Blute grüner Austern durch Ferrocyankalium oder nach MACALLUM (Journ. Phys. Cambridge Vol. 22 1897 p. 92) durch Hämatoxylin in wässriger Lösung, das die kupferhaltigen, allerdings auch die eisenhaltigen Zellen blau färbt. S. hierzu aber MARFORI (Arch. Ital. Biol. Tome 30 1898 p. 186).

Zum Nachweise von Zink in Mollusken behandeln MENDEL & BRADLEY (Amer. Journ. Phys. Vol. 14 1905 p. 320) die Schnitte 15 Minuten lang bei 50° mit 10 % iger Lösung von Nitroprussidnatrium, waschen sie ebenso lange unter der Wasserleitung und geben eine Lösung von Kaliumsulfid hinzu: die zink- (eventuell auch die kupfer-) haltigen Stellen werden auf kurze Zeit purpurn.

GRANDIS & MAININI (Arch. Ital. Biol. Tome 34 1900 p. 75) finden unlösliche Kalksalze in den Geweben durch Färben der Schnitte mit konzentr. alkoholischer Lösung von Purpurin, Übertragen in Normalsalzwasser auf einige Minuten, gründliches Auswaschen mit Alkohol und Einlegen in Balsam. Pyrogallussäure gibt keine so scharfen Kontraste. — S. auch SCHAFFER (Zeit. Wiss. Z. 89. Bd. 1908 p. 13).

LEUTERT (Encyclop. 2. Bd. p. 588) weist Spuren von Kalk durch Färbung der Gewebe in „konz. alkohol. Hämateinlösung eine Viertelstunde“ nach; KOSSA



(ibid.) behandelt die Schnitte mit 1—5%iger Lösung von Silbernitrat am Lichte und entfernt das überschüssige Silber durch Natriumhyposulfit. — S. auch STOELTZNER (Arch. Path. Anat. 180. Bd. 1905 p. 363) und § 760 (BENDA). — MACALLUM (Ergeb. Phys. Wiesbaden 7. Jahrg. 1908 p. 612) verwendet 5%ige Lösung von Ammoniumoxalat in 20%iger Essigsäure; bei Spuren behandelt er das frische Gewebe erst mit dem Gemische von 2 Vol.  $H_2SO_4$  und 100 Vol. absol. Alkohol 20 Minuten lang, wäscht es mit Alkohol und legt es in 1%ige Hämatoxylinlösung: das Calciumsulfat wird vorübergehend roth.

Über den Nachweis von Kalium durch Natriumkobaltinitrit s. MACALLUM (Journ. Phys. Cambridge Vol. 32 1905 p. 95; Ergeb. Phys. Wiesbaden 7. Jahrg. 1908 p. 600).

**630. Fixirmittel für Zellen.** Kein einziges Reagens fixirt alle Theile der Zelle gleich gut. Was den Kern betrifft, so müssen alle Fixirmittel sauer reagiren, denn sonst werden Chromatin und Nucleolen nicht gut erhalten. Zwar glaube ich (LEE) nicht, daß z. B. Kaliumbichromat allein die Chromosomen so schlecht fixirt, wie gewöhnlich angenommen wird. Denn im Leben sind sie stets weniger unterscheidbar, als wenn man sie durch Säuren fixirt hat; sie werden durch letztere deutlicher, nur soll damit nicht gesagt sein, daß sie auch wirklich gut fixirt wären. Die gebräuchlichsten Gemische nun, die von Flemming und Hermann, sind ohne Zweifel meist gut (das Hermannsche bringt gewöhnlich die Chromosomen zu sehr zum Schrumpfen und ist für die Spindeln gar nicht brauchbar); ihnen möchte ich Bouins Pikroformol (§ 111b) anreihen. Indessen auch andere Mittel liefern ebenso brauchbare Resultate, z. B. das von Johnson (§ 57) und wohl auch das von Tellyesniczky (§ 55). Saure Sublimatlösungen geben ebenfalls gute Bilder, und für schwer permeable Objekte, z. B. die Eier von *Ascaris*, ist das Gemisch von Gilson (§ 84) empfehlenswerth. — S. auch TELLYESNICZKY (Arch. Mikr. Anat. 60. Bd. 1902 p. 681).

Die beiden Bestandteile des Zellplasmas, das sogen. Spongionplasma und Hyaloplasma, gleichzeitig zu fixiren, ist wohl möglich (z. B. mit Flemmings Gemisch), nicht aber immer rathsam. Wird nämlich das Hyaloplasma sammt seinen Einschlüssen total fixirt, so können letztere, indem sie sich auf dem Spongionplasma niederschlagen, sein Studium erschweren. Daher ist es manchmal besser, das Hyaloplasma nicht mit zu fixiren. Mit dem Spongionplasma geht es dann relativ leicht; hierfür sind verwendbar die sauren Gemische mit Osmiumsäure, Chromsäure, Pikrinsäure oder Sublimat, wohl am besten aber die von Flemming und Hermann, jedoch nur, wenn das Hyalo-



plasma nicht durch langes Fixiren zu stark coagulirt. Ferner sind gut das Gemisch von Bouin, das für die Färbung des Plasmas sehr günstig ist, und die beiden Gemische von vom Rath (§ 100).

Das Hyaloplasma fixiren total vielleicht nur Kaliumbichromat und Osmiumsäure. Letztere leistet dies in den Gemischen von Flemming und Hermann, fixirt es allerdings nur in den äußeren Zellschichten gut, und gerade in diesen können leicht viele Zellen ruinirt sein (oben p. 31). Dem läßt sich ziemlich dadurch abhelfen, daß man die Menge der Osmiumsäure im Gemisch von Hermann bis auf  $\frac{1}{8}$  verringert, ohne sie jedoch ganz wegzulassen; leider dringen diese Gemische nicht in die Tiefe, selbst dann nicht, wenn man Chromsäure und Platinchlorid durch gut penetrirende Mittel, z. B. Pikrinsäure, ersetzt. Daher wählt man zur Fixation des Hyaloplasmas oder seiner Einschlüsse oft besser das Kaliumbichromat: in erster Linie das Gemisch von Johnson (§ 57), das freilich die äußeren Schichten überfixiren mag, oder das von Tellyesniczky (§ 55). Auch angesäuerte Sublimatlösung, z. B. Gilsons Gemisch, fixirt recht gut und gewährt den Vortheil, daß die Gewebe hinterher manche Farbstoffe besser annehmen; aber hierfür ziehe ich Bouins Gemisch vor.

**631. Färbmittel für das Chromatin.** Für frische oder schwach fixirte Gewebe s. § 628. — Für Schnitte durch gehärtete Objekte verwende man solche, die intensiv und scharf färben. Früher brauchte man Safranin und Gentianaviolett, jetzt nimmt man eher Eisenhämatoxylin. Ich (LEE) möchte hier auch unter Umständen Kernschwarz empfehlen, und ich (MAYER) Thionin sowie Hämalan.

Nach BATAILLON & KÖHLER (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 117 1893 p. 521) ist das Methylenblau ein „véritable réactif de la chromatine en mouvement“: sie fixiren das Blastoderm von Knochenfischen mit Flemmings Gemisch, färben es in einer mit Borax versetzten Lösung von Methylenblau, waschen es flüchtig ab, färben es mit einer wässerigen Lösung von Eosin nach und bringen es in Balsam.

**632. Färbmittel für das Plasma.** Ich (LEE) kenne kein einziges, das wirklich befriedigte. Alle sind nur unvollkommen elektiv oder färben manche wichtige Theile des Plasmas nicht scharf genug. In erster Linie empfehle ich Säurefuchsin, besonders nach Eisenhämatoxylin.

Über das Kernschwarz s. § 339. — Das Orange G nach Flemming wird zwar viel gebraucht und gelobt, ist aber sehr launisch. Ebenso Lichtgrün oder Säureviolett (§ 321), die allerdings zuweilen prächtige Resultate geben. Über Säurefuchsin und Orange s. § 307



und 303, das Gemisch von Ehrlich § 310 und 311, Wasserblau § 329. Osmiumsäure und Pyrogallol (§ 370) gibt oft nützliche Färbungen. Über die Vergoldung nach Apáthy s. § 358.

Das Hämatoxylineisen nach Benda oder Heidenhain gibt je nach dem Grade des Auswaschens gute Plasmafärbungen. Das Heidenhainsche soll spezifisch die **Centrosomen** färben, besonders wenn man vorher Bordeaux R anwendet. Letzteres, das nur an das Chromatin und Plasma gehe, sättige deren chemische Affinitäten dermaßen, daß sie die Eisenverbindung nicht mehr so zäh festhalten wie sonst, sondern sie beim Auswaschen wieder abgeben, während die Centrosomen noch zum Festhalten des Eisens frei seien. (HEIDENHAINs subtraktive Färbung; von UNNA in: Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1896 p. 454 bereits als tinktorielle Präoccupation bezeichnet.)

Vom Bordeaux R nimmt HEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 43. Bd. 1894 p. 665) eine „dünne“ Lösung, tingiert damit die Schnitte von Material aus Sublimat 24 Stunden lang, bringt sie nach einander in den Eisenalaun und das Hämatoxylin und entfärbt sie zuletzt im Eisenalaun so lange, bis das Chromatin wieder fast oder ganz farblos geworden ist. Statt des Bordeaux R kann man auch Anilinblau nehmen. — S. ferner oben § 260 und 261, sowie HEIDENHAIN (Morph. Arb. Jena 7. Bd. 1897 p. 243), JOSEPH (Arb. Z. Inst. Wien 13. Bd. 1901 p. 127) und LEBRUN (La Cellule Tome 19 1902 p. 318). — BENDA (Verh. Anat. Ges. 15. Vers. 1901 p. 157) hingegen setzt zur Tinction des Cytoplasmas die Lösung des Säurefuchsin, Lichtgrüns oder Eosins gleich zu der des Hämatoxylin, statt mit Bordeauxroth vorzufärben.

Heidenhains Methode kritisieren FISCHER (Fixirung etc. p. 229), FÜRST (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 108), VOM RATH (Z. Anz. 21. Bd. 1898 p. 413) und BOVERI (Zellenstudien 4. Heft Jena 1900 p. 12, 89 etc.).

HERMANN (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 583) empfiehlt eine Modifikation der Palschen Färbung mit Hämatoxylin. — S. auch HERMANN über die Methoden zum Studium des Archoplasmas etc. (Anat. Hefte 2. Abth. 2. Bd. 1893 p. 23). — Über das Hämatoxylin-Vanadium von Heidenhain s. oben § 266.

BENDA (Verh. Anat. Ges. 15. Vers. 1901 p. 169; Anat. Anz. 29. Bd. 1906 p. 2) gibt eine äußerst komplizierte Methode zur Färbung der Centalkörper an. Er fixiert das Material wenigstens 2 Tage lang in Alkohol von 93%, schneidet es in Scheiben von höchstens 5 mm Dicke, bringt diese auf je 1 Tag in Salpetersäure (1 Vol. der officinellen auf 10 Vol. Wasser) und in 2%ige Lösung von Kaliumbichromat, 2 Tage in 1%ige Chromsäure, 1 Tag in Wasser, dann durch Alkohol etc. in Paraffin. Die aufgeklebten Schnitte färbt er mit Eisenhämatoxylin (Differenzirung durch Weigerts Boraxferricyankalium) oder „Alizarindoppellack“ (s. unten § 746) oder nach einer Modifikation von Weigerts, Gliafärbung (ebenfalls § 746).

Über die Darstellung der Binnennetze s. unten § 683 (KOPSCH).



**633. Zellgranula.** Am besten studirt man sie in Drüsen- oder Blut- und Lymphzellen, sowie in einigen Arten Bindegewebszellen. Meist färbt man sie mit den Gemischen von Ehrlich. Genauerer s. unten § 761 ff. Über die intravitale Färbung s. oben § 209, über Arnolds Plasmosomen § 500.

Über Altmanns Bioblasten s. ALTMANN, Studien über die Zelle (1. Heft Leipzig 1886) und: Die Elementarorganismen (Leipzig 1890, 2. Aufl. 1893), ferner R. & L. ZOJA in: Mem. Ist. Lombardo Sc. Vol. 16 1891 p. 237. Erhalten werden sie durch Fixiren im Gemisch gleicher Theile 5%iger Lösung von Kaliumbichromat und 2%iger Osmiumsäure (24 Stunden lang), Einbetten in Paraffin, Färben der Schnitte mit heißer Lösung von 20 g Säurefuchsin in 100 ccm Anilinwasser (oben p. 180), Auswaschen mit heißer alkoholischer Lösung von Pikrinsäure und Überführen durch Xylol in Balsam. — WEISS & ROSENSTADT (Centralbl. Med. Wiss. 30. Jahrg. 1892 p. 963) nehmen zum Entfärben (und gleichzeitigen Färben der Kerne) 2%ige Lösung von Methylenblau in 10%iger Salpetersäure. — S. auch ALTMANN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1892 p. 224: 2½%ige Lösung von Ammoniummolybdat mit ¼% Chromsäure für die Granula im Zellkern). — FISCHER (Fixirung etc. p. 108 u. 130) legt dar, daß Altmanns Färbemethode kein spezifisches Reagens auf Zellgranula ist. — S. auch oben § 56, sowie EHRLICH & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 81 ff.) und SCHRIDDE (Hämatol. Technik Jena 1910 p. 63: Fixirung in Formol plus Kaliumbichromat, Osmirung der aufgeklebten Paraffinschnitte).

BENDA (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1900 p. 169) fixirt zur Darstellung der Sekretgranula die Gewebe 24 Stunden lang in 10%igem Formalin; dann bringt er kleine Stücke in Lösungen von Chromsäure (erst ¼-, dann ⅓-, dann ½%ige) und nach dem Auswässern behutsam in Paraffin. Zur Färbung legt er (Verh. Anat. Ges. 15. Vers. 1901 p. 173) das Deckglas mit den Schnitten auf das Gemisch von Michaelis (3 Th. 1%iger wässriger Lösung von gelbem Eosin, 7 Th. Aceton, 5 Th. 1%iger wässriger Lösung von Methylenblau, 5 Th. absol. Alkohol), erwärmt, bis der Geruch nach Aceton verschwunden ist, läßt das Gemisch noch ¼ Stunde wirken, spült das Präparat ab, läßt es trocknen und führt es durch Anilin und Xylol in Balsam über. Zur Darstellung der Mitochondrien fixirt er (ibid. p. 163; Anat. Hefte 2. Abth. 12. Bd. 1903 p. 752) ganz kleine Stücke 8 Tage lang in Flemmings starkem Gemisch, wäscht sie 1 Stunde lang aus, legt sie auf 24 Stunden in das Gemisch gleicher Theile 1%iger Chromsäure und gereinigten Holzessigs, ebenso lang in 2%ige Lösung von Kaliumbichromat und bringt sie nach dem Waschen in Paraffin. Färbung der aufgeklebten Schnitte nach Beizung mit Eisenalaun und Natriumalizarinsulfat mit Kristallviolett (s. unten § 746). — S. auch REGAUD (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 11 1910 p. 292), oben § 46 (MEVES) und unten § 878.

**634. Nucleolen.** Sie sind häufig schon ungefärbt durch ihre stärkere Lichtbrechung erkennbar. Frisch färben sie sich mit Methylgrün und Essigsäure nicht, fixirt nehmen sie aus Ehrlichs Triacid und ähnlichen Gemischen meist den (oder die) sauren Farbstoff auf. Dagegen färben



sie sich bei regressiver Tinktion mit Safranin etc. wenigstens ebenso stark wie das Chromatin der Mitosen. Mit Eisenhämatoxylin werden sie oft ganz, oft nur außen schwarz. — S. auch REDDINGIUS (Arch. Path. Anat. 162. Bd. 1900 p. 207).

LIST (Mitth. Z. Neapel 12. Bd. 1896 p. 480) differenzirt in den Eiern von *Mytilus*, *Pholas*, *Pristiurus* und *Sphaerechinus* sowie in anderen Geweben die Kernkörper durch Berlinerblau.

Auf einen Schnitt von Material aus Sublimat läßt er 2 Tropfen 1½%iger Lösung von Ferrocyankalium etwa 5 Minuten lang wirken, gießt 1 Tropfen ab und setzt 1—2 Tropfen 1%iger Salzsäure zu: das Berlinerblau färbt den Nebennucleolus, während bei Nachfärbung mit Karmin der Hauptnucleolus roth wird. Mitunter muß man aber den Objektträger erst auf ½ Stunde in eine mit Salzsäure angesäuerte Lösung von Eisenchlorid bringen. In den Schleimzellen wird der Schleim tief blau. (Auch Eisenacetat und -tartrat sind verwendbar.)

Über Eisen in den Nucleolen s. CARNOY & LEBRUN (La Cellule Tome 12 1897 p. 275). — Über die Kernkörper der Nervenzellen s. RUŽIČKA (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1898 p. 453) und LEVI (Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze Vol. 3 1898 p. 289). — Über eine Doppelfärbung mit Jodgrün und Fuchsin nach ZIMMERMANN s. Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1896 463 (Chromosomen fast stets grün, Nucleolen roth) sowie FISCHER (Fixirung etc. p. 140), über dieselbe mit Methylgrün und Safranin nach MAYER die 1. Aufl. dieses Buches p. 638. S. ferner oben p. 141 (CORTI & FERRATA).

---



## 24. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung der Haut.**

**635. Epithel.** Eine der besten Methoden für instruktive Ansichten der Oberfläche von Epithelien ist die mit Silbernitrat (s. § 348 ff.); auch kann man Eisen und Pyrogallussäure (§ 372) oder Osmiumsäure und Pyrogallussäure (§ 370) oder Methylenblau anwenden.

Schnitte erhält man nach den gewöhnlichen Methoden, jedoch leistet dickes Epithel dem Messer viel Widerstand; stark verhornte Haut läßt sich daher in Paraffin meist nur schwierig schneiden, besonders wenn sie lange in Alkohol gelegen hatte.

Nach BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 5. Aufl. 1904 p. 218) bringt man Hautstücke von Säugethieren am besten bald in Paraffinum liquidum oder bettet sie gleich und (nach Barlow recht rasch durch Chloroform) in Paraffin von niedrigem Schmelzpunkt ein.

Macerierungsmittel. Für weiche Epithelien nimmt man Jodserum, Drittelalkohol, Speichel oder Normalsalzwasser von 0,75 % (BIZZOZERO in: Internat. Monatschr. Anat. Hist. 2. Bd. 1885 p. 278) etc.; für harte Epithelien 40 % ige Kalilauge. — MINOT (Amer. Natural. Vol. 20 1886 p. 575) maceriert die Epidermis von Embryonen mehrere Tage in Normalsalzwasser (0,6 %) mit 0,1 % Thymol, um die Entwicklung der Haare zu verfolgen. — MITROPHANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 513) legt Embryonen von *Siredon* auf  $\frac{1}{4}$  Stunde in 3 % ige Salpetersäure, dann in Drittelalkohol; bereits nach 1 Stunde löst sich die Epidermis in Fetzen ab, und ist der Embryo 24 Stunden lang in stärkerem Alkohol gewesen, so geht sie fast ganz herunter. — LÖWY (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 159) maceriert zur Ablösung der Epidermis vom Corium 24—48 Stunden lang in 6 % igem Holzessig bei etwa 40° C. Auch  $\frac{1}{3}$  % ige Essigsäure ist gut (PHILIPPSON in: Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 222). — MAYER (Lotos Prag (2) 12. Bd. 1892) setzt die Hornhaut oder Nickhaut von *Rana*, *Bufo* und



*Mus*  $\frac{1}{2}$ —1 Minute lang den Dämpfen von Essigsäure aus und bringt sie in Salzwasser ( $\frac{1}{2}$  %); bei *Rana* löst sich dann die Epidermis durch Streichen mit einer Nadel leicht ab. — S. auch § 636.

Flimmerepithel. Nach EWALD (Zeit. Biol. 34. Bd. 1897 p. 262) macerirt man es besser in Müllers Gemisch (24 Stunden lang) als in Drittelalkohol. Auswaschen mit Wasser, Färben mit Hämatoxylin in wässriger Lösung (etwa  $\frac{1}{3}$  %), Aufbewahren in 50 %igem Alkohol, Einschließen in Glyceringelatine. S. ferner unten § 815.

**636. Epidermis von Fischen.** REID (Phil. Trans. Vol. 185 B 1894 p. 345) macerirt die Haut von *Anguilla* 24—48 Stunden lang in Ranviers Drittelalkohol oder einige Tage lang in  $\frac{1}{10}$  %iger Osmiumsäure. Zum Schneiden fixirt er in Flemmings Gemisch oder in 10 %iger Salpetersäure und nachher in 1 %iger Osmiumsäure je 24 Stunden lang.

MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 8. Bd. 1888 p. 352) macerirt die Haut von Selachiern (besonders *Raja*) einige Stunden lang im Gemisch von 40 Vol. Essigsäure, 150 Vol. 1 %iger Chromsäure und 790 Vol. Wasser.

KAPELKIN (Bull. Soc. Natural. Moscou (2) Tome 10 1897 p. 498) fixirt die Haut von *Petromyzon* in Sublimat, Sublimatplatinchlorid oder 70 %igem Alkohol mit Jod, macerirt sie in Drittelalkohol oder Müllers Gemisch und imprägnirt sie mit Silber (frisch mit  $\frac{1}{2}$  %iger Lösung von Silbernitrat; oder nach Golgi) oder Gold (nach Ranvier).

OXNER (Jena. Zeit. Naturw. 40. Bd. 1905 p. 598) findet zum Fixiren nur gut Apáthys Sublimatgemisch (oben § 368) und Johnsons Gemisch (§ 57), aber ohne Platinchlorid.

**637. Stachelzellen und Intercellularkanäle.** Außer der Maceration leistet die Imprägnation gute Dienste. MITROPHANOW (Zeit. Wiss. Z. 41. Bd. 1884 p. 302; Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1884 p. 191) wäscht den Schwanz einer *Siredon*-Larve mit destill. Wasser ab, legt ihn auf eine Stunde in  $\frac{1}{4}$  %iges Goldchlorid (mit 1 Tropfen Salzsäure auf ein Uhrglas voll), wäscht ihn wieder und reduzirt das Gold in Ameisensäure (1 Theil und 6 Theile Wasser). — S. ferner IDE (La Cellule Tome 4 1888 p. 409: keine neuen Methoden), KOLOSSOW (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 2: Injiziren eines sauren Gemisches von Osmiumsäure und Salpeter, damit die Zellen schrumpfen) und oben § 280 (SCHUBERG).

**638. Keratohyalin, Eläidin etc.** UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. 20. Bd. 1885 p. 69; Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1897 p. 337) gibt viele



Methoden zur Färbung des Keratohyalins von *Homo* auf Schnitten: man überfärbt mit Hämäteinthonerde und legt dann die Schnitte auf 10 Sekunden in eine Lösung von Kaliumhyperpermanganat 1:2000 (dann in Alkohol) oder auf 10 Minuten in 33 %ige Lösung von Eisenvitriol etc. (die Kerne färbt man hinterher mit Safranin); oder man färbt mit Pikrokarmin, Mayers alkoholischem Karmin, Säurefuchsin, Wasserblau, Fuchsin, Safranin, polychromem Methylenblau und Gentianaviolett; dabei werden aber meist komplizierte Beizen oder Entfärbmittel nöthig. — Nach FICK (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1903 p. 223) färbt Kresylechtviolett das Keratohyalin metachromatisch rothviolett (Keratin blauviolett).

Über das Eläidin s. CILIANO (Monatsh. Prakt. Derm. 46. Bd. 1908 p. 435: Fixirung in 96 %igem Alkohol mit  $\frac{1}{5}$  % Na Cl), das Trichohyalin GAVAZZENI (ibid. 47. Bd. 1908 p. 229), das Cholesterin GOLODETZ & UNNA (ibid. p. 1: im Gemisch von 5 Th. Schwefelsäure und 2 Th. 30 %igen Formalins werden auf Schnitten das Ch. oder dieses mit Fett schwarzbraun, Fett allein nicht). S. auch G. & U. (ibid. 48. Bd. 1909 p. 151 und oben § 372) und UNNA & GOLODETZ (ibid. 49. Bd. 1909 p. 97; 50. Bd. 1910 p. 451).

Über die Methoden zum Studium der Haut von *Homo* s. \*LEDERMANN (Mikr. Techn. Wien 1903) und \*JOSEPH (Dermatohist. Technik Berlin 1905), speziell die Unnaschen DREUW (Med. Klinik Berlin 1907 No. 27 u. 28).

**639. Horn, Haare, Nägel.** Die Elemente von Haaren und Nägeln isolirt man durch Maceriren in Natron- oder Kalilauge, Ammoniak, kohlen-sauren Alkalien oder Schwefelsäure (kalt oder warm). — S. auch NATHUSIUS (Z. Anz. 15. Jahrg. 1892 p. 395) und § 529 (FREUD).

GÜNTHER (Haarknopf und innere Wurzelscheide. Berlin 1895 p. 8) färbt die Paraffinschnitte von Haaren erst mit Böhmers Hämatoxylin, dann mit Methyleosin und Pikrinsäure in wässriger Lösung und bringt sie in Balsam. Ferner macerirt er theils frische, theils in Müllers Gemisch fixirte Haare bei 40° C. 2 Stunden bis 3 Tage lang in „Pepsin-Salzsäure-Glycerin“.

Horn färbt sich gut mit Safranin oder Gentianaviolett (REINKE in: Arch. Mikr. Anat. 30. Bd. 1887 p. 183). — ERNST (ibid. 47. Bd. 1896 p. 669) studirt die Verhornung mit der Methode von Gram (oben p. 181); s. jedoch RABL (ibid. 48. Bd. 1896 p. 489). — UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 47. Bd. 1908 p. 598) färbt das tyrosinreiche Keratin in Hautschnitten mit Millons Reagens (5 Th., 1 Th. Glycerin, 5 Th. Wasser 15—30 Sekunden lang, kurze Zeit in 25 %ige Salpetersäure, dann durch Alkohol und Öl in Balsam). S. auch § 638.



**640. Plasmafasern im Epithel.** KROMAYER (Arch. Mikr. Anat. 39. Bd. 1892 p. 141) färbt die Schnitte durch menschliche Haut 5 Minuten lang im Gemisch gleicher Theile von Anilinwasser (oben p. 180) und konzentrierter wässeriger Lösung von Methylviolett 6 B, wäscht sie gut, behandelt sie mit Lösung von Jodjodkalium, bis sie blauschwarz werden, wäscht sie wieder, trocknet sie mit Filtrirpapier ab, differenzirt sie mit dem Gemisch von 1 Vol. Anilin und 1—4 (je nach der Dicke) Vol. Xylol und bringt sie in reines Xylol. — S. auch EHRMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 356).

UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. 19. Bd. 1894 p. 1 u. 277; Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 61 und 63) gibt viele minutiöse Vorschriften, von denen einige kurz erwähnt werden mögen. 1. Wasserblau und Orcein: man färbt die Schnitte 10 Minuten lang in 1%iger Lösung von Wasserblau, wäscht sie, bringt sie auf 5—10 Minuten in alkoholische 1%ige Lösung von Grüblers Orcein, entwässert sie und schließt sie in Balsam ein. Varianten dieser Methode sind: a) 1 Minute oder 10 Minuten in W., 30 und mehr in O.; b) statt des O. eine saure Lösung von O. — 2. Man färbt wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in Hämalan, wäscht  $\frac{1}{2}$  Minute in 1%iger wässeriger Lösung von Pikrinsäure, dann eben so lange in Alkohol mit  $\frac{1}{2}$ % Pikrinsäure. 3. Hämalan 2 Stunden, neutrales Orcein (wie oben) 10—20 Minuten.

HERXHEIMER (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1899 p. 519; 54. Bd. 1899 p. 289) färbt die Schnitte 10 Minuten lang in gesättigter Lösung von Kresylechtviolett, wäscht sie in Aether acetico-aceticus (Acetessigester) und bringt sie durch Alkohol in Nelkenöl. — S. aber WEIDENREICH (ibid. 56. Bd. 1900 p. 171).

**641. Hautnerven.** RANVIER (Traité 1. Ed. p. 900) empfiehlt seine Methode mit Ameisensäure und Goldchlorid (oben § 362). Die Hautstücke werden nach der Reduktion in Alkohol gehärtet und geschnitten. Ähnlich für Tasthaare (p. 914). Für die Tastmenisken in der Schnauze von *Sus* und *Talpa* braucht er (p. 910) auch sein Goldchlorid mit Citronensaft (oben § 363). — WOLTERS (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 360) verwendet Hämatoxylin und Vanadium (unten § 715).

**642. Tastkörperchen.** FISCHER (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1875 p. 366) vergoldet sie nach Löwit (oben § 362). RANVIER (Traité 1. Ed. p. 918) empfiehlt diese Methode und seine eigenen (§ 362 und § 363). Die Haut wird erst vergoldet, dann in Alkohol gehärtet und geschnitten. — S. auch LANGERHANS (Arch. Mikr. Anat. 9. Bd. 1873 p. 730), KULTSCHITZKY (ibid. 23. Bd. 1884 p. 362) und SMIRNOW



(Internat. Monatschr. Anat. Phys. 10. Bd. 1893 p. 244), der auch die rasche Methode von Golgi benutzt.

**643. Herbstsche und Grandry'sche Körperchen.** DOGIEL (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1891 p. 184) injiziert 4%ige Lösung von Methylenblau blutwarm (40° C.) in die Adern am Kopfe von *Anser* oder *Anas*, schneidet Stücke von der Schnabelhaut in Hollundermark, befeuchtet die Schnitte auf dem Objektträger mit Humor aqueus oder vitreus (vom Thiere selbst) und  $\frac{1}{15}$ %iger Methylenblaulösung und setzt sie der Luft aus. Nach 10—30 Minuten kommen die Schnitte in Ammoniumpikrat etc. (oben § 298). — GEBERG (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 10. Bd. 1893 p. 230) verwendet auch Osmiumsäure und die Goldmethode von Arnstein (man legt die Haut auf 24 Stunden in Kalkwasser, zieht die Hornschicht ab und bringt Hautstücke auf 5 Minuten in  $\frac{1}{4}$ %ige Lösung von Goldchlorid, dann auf 24 Stunden in destill. Wasser; das körnige Präzipitat wird durch  $\frac{1}{4}$ %ige Lösung von Cyankalium und kräftiges Bepinseln entfernt; zuletzt Dammar), braucht aber das Goldchlorid doppelt so stark und  $\frac{1}{2}$  Stunde lang.

CARRIÈRE (Arch. Mikr. Anat. 22. Bd. 1882 p. 146) legt (nach Böhm) die Wachshaut auf je 20 Minuten in 50%ige Ameisensäure und in 1%ige Lösung von Goldchlorid und reduziert sie in Pritchards Gemisch (Amylalkohol und Ameisensäure je 1 Theil, Wasser 98 Theile) im Dunkeln. — DOGIEL (Anat. Anz. 25. Bd. 1904 p. 560) wendet die Methode von Ramón (unten § 690) an. — S. auch BOTEZAT (Zeit. Wiss. Z. 84. Bd. 1906 p. 210: hauptsächlich Methylenblau).

**644. Meissnersche und Krausesche Körperchen in Cornea und Conjunctiva.** DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 602; 44. Bd. 1894 p. 15) öffnet das Auge, nimmt Linse etc. heraus, schneidet die Conjunctiva im Zusammenhang mit der Cornea in Stücke, färbt diese 1—1½ Stunde lang in Methylenblau plus Humor aqueus und behandelt sie weiter wie gewöhnlich (oben § 298). — S. auch LONGWORTH (ibid. 11. Bd. 1875 p. 655).

**645. Ähnliche Objekte.** Papillae foliatae: DRASCH (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 492); HERMANN (ibid. 5. Bd. 1888 p. 524); ARNSTEIN (ibid. 13. Bd. 1897 p. 240). — Riechorgane: DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 29. Bd. 1887 p. 74). — Organe des 6. Sinnes der Amphibien: MITROPHANOW (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 513: Wasserblau). — Zunge von *Rana*: FAJERSZTAJN (Arch. Z. Expér. (2) Tome 7 1889 p. 712: besonders Methylenblau). — Zunge von *Lepus*: LENHOSSÉK (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 377: Methode von Ramón, unten § 730).

**646. Cornea.** Sie läßt sich hauptsächlich mit Methylenblau (s. Kapitel 14, besonders § 299), Silber und Gold studiren.

Negative Bilder der Corneazellen erhält man leicht nach KLEIN, indem man von der lebenden Cornea das Epithel der Conjunctiva abpinselt, die Cornea mit einem Höllensteinstifte gut bestreicht und nach 1 Stunde in destillirtem Wasser untersucht. Zu positiven Bildern macerirt man nach RANVIER (Traité 1. Ed. p. 863) die kauterisirte



Cornea in Wasser; hierbei findet eine sekundäre Imprägnation statt. Nach HIS (1862) kauterisirt man sie am lebenden Thiere, schneidet sie aber erst nach 2—3 Tagen aus; oder man behandelt die negativ imprägnirte mit Salzwasser oder verdünnter Salzsäure. Die besten positiven Bilder liefert Goldchlorid. RANVIER (l. c. p. 864) empfiehlt Citronensaft (§ 363), die Cornea darf jedoch nicht zu lange im Goldbade bleiben, sonst imprägniren sich nur die Nerven gut. — S. auch § 532 (KÖNIGSTEIN).

RENAUT (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 90 1880 p. 137) legt die Cornea von *Rana* auf 10 Minuten in 20%ige Ameisensäure, \*dann auf 24 Stunden in 1%iges Goldchlorid und ebenso lange in 33%ige Ameisensäure. — Die Methode von Hoyer s. oben p. 221. — ROLLETT (Strickers Handbuch p. 1115) erhält durch doppelte Imprägnation negative Goldbilder (s. oben § 357). Ferner setzt er (p. 1102) eine frische Cornea in Humor aqueus Joddämpfen aus und entfernt das Epithel, sobald sie braun geworden ist. Zur Isolirung der Fasern macerirt er die Cornea in Lösung von Kaliumhyperpermanganat oder einem Gemisch davon mit Alaun, bis sie braun wird, und schüttelt sie mit Wasser.

TARTUFERI (Anat. Anz. 5. Jahrg. 1890 p. 524; Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 346) macht die Zellen mit Natriumhyposulfit und Chlorsilber deutlich.

**647. Linse.** LÖWE (Arch. Mikr. Anat. 15. Bd. 1878 p. 557) härtet sie in Kaliumbichromat wenigstens 1½ Jahr lang. GEBHARDT (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 306) braucht Formaldehyd. — Man macerirt sie in Schwefelsäure (oben § 533) oder Salpetersäure, Drittelalkohol etc. — RABL (Zeit. Wiss. Z. 65. Bd. 1898 p. 272) fixirt die rein präparirten Augen ½ Stunde lang in seinem Platinchlorid- oder Pikrinsäure-Sublimat (§ 69 u. 64), schneidet sie im Äquator durch und legt die vordere Hälfte auf 24 Stunden in das Fixirgemisch zurück. — S. auch \*ROBINSKI, Zur Kenntniss der Augenlinse und deren Untersuchungsmethoden. Berlin 1883.

HERZOG (Encyclop. 1. Aufl. p. 1229 u. 1239) fixirt die Linse in situ in Formol und bettet sie je nach der Härte in Celloidin, Paraffin oder beides zusammen ein. Aus ganz harten Linsen muß man jedoch vorher den Kern entfernen.

---



## 25. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung der Muskeln  
und der Nervenenden darin und in den Sehnen.****Quergestreifte Muskeln.**

**648. Muskelzellen.** Hierüber und über verwandte Objekte s. unter Anderem BEHRENS, KOSSEL & SCHIEFFERDECKER, Das Mikroskop 2. Bd. 1891 p. 154 ff.; ROLLETT (Arch. Mikr. Anat. 32. Bd. 1888 p. 235); KÖLLIKER (Zeit. Wiss. Z. 47. Bd. 1888 p. 694); HÜRTHLE (Arch. Gesamte Phys. 126. Bd. 1909 p. 1 ff.); ferner über Goldlösungen SCHÄFER (Proc. R. Soc. London Vol. 49 1891 p. 281).

RUTHERFORD (Journ. Anat. Phys. London Vol. 31 1897 p. 314) fixirt die Muskeln in 10%igem Formol 48 Stunden lang und bringt sie dann direkt in Alkohol von 90% oder zerpupft sie in Essigsäure. — M'DOUGALL (ibid. p. 432) fixirt sie in Normalsalzwasser durch Wasserdampf oder mit 10%igem Formol oder 2%iger Chromsäure. — ROUGET (\*Arch. Phys. Paris 29. Année 1897 p. 677) fixirt sie (samt ihren Nervenendplatten) in 25%iger Lösung von Kochsalz wenigstens 2 Tage lang und behandelt sie, um sie wieder durchsichtig zu machen, mit  $\frac{1}{10}$ %iger Salzsäure. — Zur Isolirung des Sarkolemmes zerpupft SOLGER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 189) den frischen Muskel in gesättigter Lösung von Ammoniumcarbonat.

Nach HAUCK (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1901 p. 487) verändern von 18 gebräuchlichen Fixirmitteln Pikrinsäure und Sublimat die Breite der Muskelfasern am wenigsten.

**649. Dissociation.** S. Kapitel 20, besonders § 509, 529 u. 530.

**650. Nervenenden.** Zum Studium der Nervenenden im Muskel sind die 3 Hauptmethoden die mit Methylenblau, mit Gold und mit Silber.

a) **Methylenblau.** Allgemeines hierüber s. im Kapitel 14. — BIEDERMANN (s. § 296, ferner Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1891 p. 65) injiziert *Astacus* mit Methylenblau, öffnet ihn und läßt die Rumpf- und



Schwanzmuskeln in der feuchten Kammer 2—6 Stunden lang an der Luft liegen. In *Hydrophilus piceus* injiziert er  $\frac{1}{2}$  %ige Lösung von Methylenblau ventral zwischen die hintersten Abdominalringe, läßt die Thiere im Wasser noch 3—4 Stunden leben, öffnet den Thorax, nimmt die Muskeln der Vorderbeine heraus, legt sie 3—4 Stunden lang in der feuchten Kammer an die Luft und untersucht sie in Salzwasser. — GERLACH (Sitzungsb. Akad. München 19. Bd. 1889 p. 125) injiziert einem Frosch durch die Abdominalvene oder Aorta 4—5 ccm der Lösung von 1 g Methylenblau in 400 ccm 1 %igen Salzwassers und untersucht die Muskeln (besonders die am Kopfe oder Auge) im Serum des Thieres, fixirt die Präparate in Ammoniumpikrat und schließt sie in Glyceringelatine ein. — Die Methode von Dogiel s. oben § 296.

b) **Vergoldung.** Nach KÜHNE (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 495) sind die besten Methoden die von Löwit und Golgi sowie Kühnes Abänderungen (s. oben § 362 u. 367). — Ähnlich wie Löwit verfährt BIEDERMANN (s. oben) an *Astacus*, läßt aber die Vorbehandlung mit Ameisensäure fort und legt die Muskeln nach der Reduktion in der Säure auf einige Tage in Glycerin. — Ähnlich TRINCHESE (Mem. Accad. Bologna (5) Tomo 2 1892 p. 279). — RANVIER (Traité 1. Ed. p. 813) empfiehlt für die motorischen Enden der Batrachier Citronensaft (§ 363). Auch die motorischen Platten von allerlei Vertebraten kommen (p. 826) mit seiner Ameisensäure (§ 362) besser heraus, als nach Löwit, noch besser aber mit Citronensaft, besonders bei Eidechsen und Säugern. — S. auch die Methoden von Apáthy (§ 366 u. 368).

c) **Versilberung.** RANVIER (ibid. p. 810) behandelt nach Cohnheim ein Stück vom Gastrocnemius des Frosches nach Zerpupfen in frischem Serum 10—20 Sekunden lang mit Lösung von Silbernitrat (2 bis 3 : 1000), bringt es in destill. Wasser ans Licht, am besten in die Sonne, bis es schwarz oder braun wird, legt es dann in 1 %ige Essigsäure, bis es wieder die normale Dicke erlangt hat, und studirt es in 50 %igem Glycerin. Muskeln braun, Nervenenden farblos.

d) **Andere Methoden** (Genaueres s. zum Theil in den früheren Auflagen der englischen Ausgabe): BREMER (Arch. Mikr. Anat. 21. Bd. 1882 p. 195); BOCCARDI und CIACCIO (oben § 365); WOLFF (Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881 p. 331); SACHS (ibid. p. 339); KRAUSE (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 200; 5. Bd. 1888 p. 68); SIHLER (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 709; Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1895 p. 202; Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 324: Maceration, dann neue Art der Färbung mit Hämateinthonerde); RAMÓN Y CAJAL (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 332: rasche Methode von Golgi); MARSHALL (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 31 1890 p. 73); MAYS (Zeit. Biol. 20. Bd. 1884



p. 449; Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 242); WUNDERER (Arch. Mikr. Anat. 71. Bd. 1908 p. 523: Abänderung der Methode von Ramón und, p. 525, von Sihler).

### Sehnen.

**651. Sehnen.** RETTERER (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 5 1898 p. 580) fixirt die Sehnen 24 Stunden lang mit Pikrinsublimat (gleiche Theile der konzentr. Lösungen), legt sie zur Entfernung des Mucins auf 1—3 Tage in gesättigte Lösung von Pikrinsäure mit 2—3 % NaCl und bringt sie in Paraffin.

**652. Golgische Körperchen.** RANVIER (Traité 1. Ed. p. 929) behandelt die Sehnen der Gemini von *Lepus cun.* mit Goldchlorid (oben § 362) und schabt nach der Reduktion mit einem Messer über sie hin, um die Muskelfasern zu entfernen, die die Körperchen verdecken. — MARCHI (\*Arch. Sc. Med. Torino Vol. 5 No. 15) legt das Auge mit seinen Muskeln auf wenigstens 3 Tage in 2 % ige Lösung von Kaliumbichromat, präparirt die Muskeln und Sehnen ab, vergoldet sie nach Golgi oder Manfredi (oben § 367 u. 365) und untersucht sie in Glycerin. — CATTANEO (Arch. Ital. Biol. Tome 10 1888 p. 365) empfiehlt Gold nach Golgi (§ 367), RUFFINI (Atti Accad. Lincei Rend. (5) Vol. 1 1892 Sem. 1 p. 444) die Methode von Löwit (§ 362).

CIACCIO (Mem. Accad. Bologna (4) Tomo 10 1890 p. 301) legt die Sehnen von Amphibien in  $\frac{1}{10}$  % ige Salzsäure oder  $\frac{1}{5}$  % ige Essigsäure, bis sie durchsichtig werden, dann auf 5 Minuten in eine Lösung von je  $\frac{1}{100}$  Goldchlorid und Chlorkalium und nun zurück in die Essigsäure auf 24 Stunden im Dunkeln und auf 2—4 Stunden in der Sonne. Sind sie violett geworden, so legt er sie auf 24 Stunden in  $\frac{1}{10}$  % ige Osmiumsäure, endlich in Glycerin mit  $\frac{1}{2}$  % Essig- oder Ameisensäure.

DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 67. Bd. 1906 p. 638) steckt die Sehnen der Augenmuskeln von *Bos* mit Igelstacheln auf Karton fest, legt sie auf 4—5 Tage in 1—2 % ige Höllensteinlösung, wäscht sie rasch ab, bringt sie auf 1 Tag in ein Gemisch von Pyrogallol und Formol, bettet sie in Celloidin und schneidet sie.

### Glatte Muskeln.

**653. Proben auf glatte Muskeln.** Fixirt man nach RETTERER (C. R. Soc. Biol. Paris (8) Tome 4 1887 p. 645) das Gewebe im Gemisch von 10 Vol. 90 % igen Alkohols und 1 Vol. Ameisensäure, wäscht es gut und färbt es 24—36 Stunden lang mit Alaunkarmin, so ist das Plasma der glatten Muskeln roth, das Bindegewebe gequollen und ungefärbt. — UNNA (Monatsh. Prakt. Dermat. 19. Bd. 1894 p. 533) färbt



Schnitte 10 Minuten lang in polychromem Methylenblau, wäscht sie mit Wasser, fixirt die Farbe durch 1 % ige Lösung von Ferrieyankalium (10 Minuten lang) und differenzirt sie in Alkohol mit 1 % Salzsäure, bis das Collagen weiß wird; dann absoluter Alkohol, Öl, Balsam. — Unna gibt ferner eine Methode zur Färbung mit saurem Orcein, Hämalaun, Säurefuchsin und Pikrinsäure an.

Weitere Methoden zur Unterscheidung des Bindegewebes von den glatten Muskeln s. unten § 758.

**654. Isolirung der Fasern.** Nach SCHWALBE (Arch. Mikr. Anat. 4. Bd. 1868 p. 394) wirkt schwache Chromsäure (gewöhnlich 0.02 %) besser als Osmiumsäure oder 1 % ige Essigsäure, schwache Schwefelsäure, Holzessig, 20 % ige Salpetersäure oder 32—35 % ige Kalilauge, da sie bei der Maceration die feinere Struktur der Zellen erhält.

SCHULTZ (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1895 1896 p. 521) legt Muskeln von Wirbelthieren auf 24 Stunden in 10 % ige Salpetersäure, spült kleine Stücke davon mit Wasser ab, bringt sie auf 6 bis 8 Tage (im Dunkeln) in frische Hertwigsche Osmiumessigsäure ( $\frac{1}{20}$  % ige Osm. und  $\frac{1}{5}$  % ige Ess. zu gleichen Theilen), zerpupft sie und schließt sie in verdünntes Glycerin ein. — S. auch oben § 509, 522 und 529.

**655. Glatte Muskeln von Wirbelthieren.** WERNER (Hist. d. glatten Muskulatur Dorpat 1894 p. 22) fixirt die Muskeln von Darmkanal oder Harnblase gedehnt in Flemmings Gemisch (Formol ist nicht gut) 8—48 Stunden lang, wäscht sie in fließendem, dann in 30 ° C. warmem destill. Wasser aus und färbt sie mit Hämatoxylinchrom nach R. Heidenhain (oben § 257). Auch die Versilberung nach Böhm oder Oppel (unten § 732) ist brauchbar, ferner zur Darstellung der Inter-cellularräume die Imbibition mit Öl (frische Darmstücke 4 Stunden lang bei 37 ° C. in Öl, dann auf 12 Stunden in Flemmings Gemisch und 4—6 Stunden in Chromessigsäure).

Über die Methode von STILLING & PFITZNER für die Magenmuskeln von *Triton* s. § 671 der 2. Aufl. dieses Buches.

**656. Glatte Muskeln von Wirbellosen.** Über die Muskeln von *Cardium* s. § 520, die der Cephalopoden BALLOWITZ (Arch. Mikr. Anat. 39. Bd. 1892 p. 291), die der Würmer APÁTHY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 36 u. 319; seine Macerationsmethode s. oben § 531).

**657. Iris.** DOGIEL (Arch. Mikr. Anat. 27. Bd. 1886 p. 403) bringt die vordere Hälfte eines Auges mit der Iris auf einige Tage in ein



Gemisch von 2 Theilen Drittelalkohol und 1 Theil  $\frac{1}{2}\%$  iger Essigsäure. Dann läßt sich die Iris isoliren und vom Rande her in zwei Schichten spalten, die man nach den gewöhnlichen Methoden färbt. — KOGANEI (ibid. 25. Bd. 1885 p. 1) macerirt die Iris lange Zeit in Müllers Gemisch, pinselt das Pigmentepithel ab oder bleicht es mit Chlorwasser (aber nur bis es hellbraun wird, sonst leiden die Gewebe). — S. auch CANFIELD (ibid. 28. Bd. 1886 p. 121) und DOSTOIEWSKY (ibid. p. 91).

**658. Innervation der Harnblase** von *Rana*. WOLFF (Arch. Mikr. Anat. 20. Bd. 1882 p. 362) injizirt einem getödteten Frosch eine Lösung von Goldchlorid (1 : 20 000) durch den Anus in die Blase, legt die Blase nach Unterbindung und Freilegung auf 4 Stunden in Goldlösung von 1 : 2000, spannt sie geöffnet auf Kork, wäscht oder pinselt das Epithel ab, bringt das Präparat auf 24 Stunden in Goldchlorid (1 : 6000), wäscht es in destill. Wasser aus, stellt es in angesäuertem Wasser auf einige Zeit ins Dunkle und reduziert das Gold in reinem Wasser am Licht. — RANVIER (Traité 1. Ed. p. 854) empfiehlt natürlich seine Goldmethoden (§ 362 u. 363); die Blase muß aber durch Injektion mit Citronensaft oder dem Gemisch von Goldchlorid und Ameisensäure prall gefüllt sein. — S. auch oben p. 222 (BERNHEIM).

GRÜNSTEIN (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1892 p. 2) benutzt Methylenblau intravital.



## 26. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung der Nerven:  
Vorbereitung der Objekte.**

**659. Allgemeines.** Zur Erforschung des Nervensystems dienen zweierlei Methoden: entweder will man den feineren Bau der Nervenzellen und Nervenfasern kennen lernen, und dazu gebraucht man cytologische Methoden; oder man möchte die Form und Lagerung der Nervenzellen, die Verbindungen zwischen den Gruppen von ihnen (den sogenannten Kernen) und den Verlauf der Faserbündel verfolgen, und dieses sind die anatomischen Methoden der Neurologie.

Bekanntlich existirt keine scharfe Scheidung zwischen dem centralen und dem peripheren Nervensystem; immerhin sind die folgenden Kapitel hauptsächlich dem Centralnervensystem gewidmet, aber nur deswegen, weil viele von den Methoden für das periphere System schon in den Kapiteln von dem Methylenblau, den Imprägnationsmethoden, der Haut und den Muskeln und Sehnen behandelt worden sind. Auf diese sei also hier verwiesen. Zunächst seien behandelt die Methoden zum Härten, Schneiden etc., dann in Kap. 27 die cytologischen, endlich in Kap. 28 und 29 die anatomischen Methoden.

Genaueres über das Seciren und Härten voluminöser Gehirne findet man in \*MERCIER, Les coupes du système nerveux central (Paris 1894); DEJERINE, Anatomie des centres nerveux (Paris 1905); \*LEWIS, The Human Brain (London 1. Ed. 1882) und \*OBERSTEINER, Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane (3. Aufl. Leipzig und Wien 1896).

**660. Freilegung des Nervensystems kleiner Wirbelthiere.** LANGERHANS (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1876 p. 201) legt *Amphioxus* auf 3 Tage in 20 % ige Salpetersäure, dann auf 24 Stunden in Wasser und schüttelt ihn tüchtig. So läßt sich das ganze Nervensystem fast bis zur Peripherie isoliren. — SCHWALBE (Jena. Zeit. Naturw. 13. Bd.



1879 p. 178) verfährt ähnlich mit *Salamandra* und *Rana*, nur schüttelt er sehr vorsichtig und präparirt die Nerven lieber rein; die Säure verwendet er auf 35° C. erwärmt (2 Tage lang), da sie sonst leicht das Bindegewebe härtet. Nach kurzer Behandlung mit absol. Alkohol lassen sich die Präparate gut mit Karmin färben. — S. auch § 529.

VAN WIJHE (Petrus Camper Jena Deel 1 1909 p. 110) studirt bei *Amphioxus* den Verlauf der Nerven an Oberflächenpräparaten: die durch Osmium leicht gebräunten Thiere werden in ein Gemisch gleicher Theile von Glycerin, Eisessig und Wasser gebracht und darin zunächst einige Tage in einem offenen Gefäße zum Verdunsten der meisten Säure belassen. S. auch § 734 und 741.

Zur Verfolgung der Nerven von Fischen gießt DOBBERKE (Verslag onderzoekingen Napels 1886 p. 3) auf die möglichst freigelegte Stelle des frischen Thieres  $\frac{1}{2}$  % ige Essigsäure, wäscht sie nach 1 bis 2 Minuten mit Salzwasser ab, legt Filtrirpapier, das mit  $\frac{1}{5}$ —1 % iger Osmiumsäure getränkt ist, auf und findet nach 5—10 Minuten die Nerven schwarz auf hellgelbem Grunde. Dickere Stücke behandelt er mit 1 % iger Essigsäure, wäscht sie gut aus, räuchert sie über Osmiumsäure, bringt durch Essigsäure oder eine konzentrirte Auflösung von Citronensäure das Bindegewebe zum Quellen und präparirt es von den Nerven ab. — NUSSBAUM (Verh. Anat. Ges. 9. Vers. 1895 p. 27) verfährt ähnlich; s. auch OTTENDORFF (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1898 p. 135).

Die Methode rührt von mir (MAYER) her: ich habe damit die Flossennerven von Selachiern präparirt (Mitth. Z. Stat. Neapel 6. Bd. 1886 p. 234). Essig- oder Citronensäure haben mir auch zum bequemen Verfolgen feiner, mit Berlinerblau injizirter Gefäße gedient (ibid. 8. Bd. 1888 p. 313). — GEBERG (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 8) räuchert zur Darstellung der Nerven die einige Stunden lang mit Essigsäure behandelte Uvea mit Osmiumsäure.

**661. Fixiren durch Injektion.** Während natürlich von ordentlichem Fixiren des Nervensystems des Menschen nicht die Rede sein kann, lassen sich in das von lebendigen anderen Wirbelthieren die Fixirmittel injiziren, dringen daher rascher ein als bei einfachem Einlegen. So injizirt GOLGI (Arch. Ital. Biol. Tome 7 1886 p. 30)  $\frac{1}{2}$  % ige Lösung von Kaliumbichromat durch die Carotis oder Aorta, je nachdem Gehirn oder Rückenmark fixirt werden sollen. — QUERVAIN (Arch. Path. Anat. 133. Bd. 1893 p. 489) läßt erst das Blut aus der Carotis ausfließen und injizirt nun etwa eben so viel warmes Müllersches Gemisch (bei Hunden 300—600 ccm, bei Katzen nur  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$  davon). Das Gehirn kommt dann auf einige Wochen bei 37° C. in Müllers Gemisch. — Über das Verfahren von MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 482) s. oben p. 23. — STRONG (Anat. Anz. 11. Bd. 1896 p. 655)



injiziert ein Gemisch gleicher Theile von Formalin und Wasser oder (für Golgis Methode) von Formalin und 10 % iger Lösung von Kaliumbichromat durch die Carotis, bis es aus der Jugularis herausströmt, nach einigen Minuten nochmals, und so noch 1 oder 2 Mal. — S. auch § 111 d (STRONG) und § 665 (GEROTA).

### Härten.

**662. Allgemeines.** Große Objekte schneidet man in Scheiben von nur wenigen Millimetern Dicke, legt sie auf Watte in ein Gefäß und gießt das Härtmittel darauf; auch kann man die Stücke in oder auf der Watte dicht unter der Öffnung eines Cylinderglases aufhängen, um die Diffusion des Fixirmittels zu erleichtern. Jedenfalls dürfen die Stücke einander nicht bedecken. Will man das Objekt nicht in Scheiben zerlegen, so schneidet man es in den unwichtigen Theilen tief an. Am besten entfernt man zunächst nur die Dura, erst wenn die Härtung schon fortgeschritten ist, auch die anderen Häute theilweise oder ganz. Rückenmark, verlängertes Mark und Varolsbrücke kann man in toto härten: man entfernt die Dura, hängt das Präparat in einem Cylinder auf und befestigt unten ein Gewicht daran, damit es nicht auf dem Härtgemisch schwimmt und sich nicht krümmt. Das Hirn legt man auf die Watte oder hängt es darin eingehüllt auf, bringt auch Bäusche in die Windungen, so weit das geht, und schneidet es sagittal durch. Betz (s. § 666) entfernt schon nach einigen Stunden die Pia und Choroidealplexus, jedoch erfordert das eine geübte Hand.

Die Härtung wird durch Wärme sehr beschleunigt. So werden nach WEIGERT (Centralbl. Med. Wiss. 20. Jahrg. 1882 p. 819) bei 40° C. die Präparate in Müllers Gemisch schon in 8—10 Tagen und in Erlickis Gemisch schon in 4 Tagen gut. SAHLI (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 3) warnt aber vor dem Schnellhärten mit Chromaten. Andererseits wirken bei gewöhnlicher Temperatur die Chromate so langsam, daß die Gewebe sich dabei ein wenig zersetzen mögen. Will man daher voluminöse Objekte langsam härten, so stellt man sie am besten in einen Eisschrank.

KADYI (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 76) legt das Hirn, damit es sich nicht abplattet, in das Gemisch von 5 Theilen Formaldehyd, 10 Th. Kochsalz und 100 Th. Wasser. — NISSL (Encyclop. 2. Bd. p. 245) verwendet zum „Anhärten“ reichliche Mengen von Müllers Gemisch, dem auf je 100 g 3 g Formol und so viel Glycerin zugesetzt wird, daß das Hirn just schwimmt; diese



Flüssigkeit wechselt er oft und legt das Hirn meist schon nach einigen Tagen in reines Müllersches Gemisch, entfernt die Pia, Plexus etc. und nimmt anfänglich alle Tage frische Flüssigkeit. Für eine Hemisphäre von *Homo* rechnet er 8—9 Monate. — NEUMAYER (Anat. Anz. 29. Bd. 1906 p. 378) härtet das Hirn wenigstens 3 Wochen lang in 10%igem Formol, legt es dann auf 1 Woche in 12½%ige Ammoniaklösung und zuletzt zum Neutralisieren in verdünnte Salz- oder Salpetersäure. — Nach HRDLICKA (Proc. U. S. Nation. Mus. Vol. 30 1906 p. 304) sind für die äußere Erhaltung des Hirns am besten Gemische von 3 Th. Formol, 25 bis 45 Th. Wasser und 72—52 Th. Alkohol von 95%.

FLATAU (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 327) hängt das Rückenmark von *Canis*, an der Cauda equina mit einem Glasstabe beschwert, in einem Glaszylinder voll Müllers Gemisch (oder zunächst auf 1 Tag lang voll 10%igem Formol) auf und spaltet nach 1 Tag die Dura ventral und dorsal, nach 2—3 Wochen das Rückenmark selber in der Medianlinie, sodaß beide Hälften nur noch am Conus medullaris zusammenhängen. Dann bringt er es auf 3—5 Wochen in Marchis Gemisch (unten § 703), bettet es in Celloidin ein, befestigt es mit Celloidin auf einem Holz von 35—40 cm Länge und 5 cm Breite, das bereits eine Celloidinplatte trägt, und zerlegt es in Längsschnitte von 60—80  $\mu$  Dicke.

**663. Die Härtmittel.** Von der Chromsäure ist man ziemlich zurückgekommen, da sie zwar rascher, aber ungleichmäßiger wirkt als die chromsauren Salze, auch häufig die Gewebe brüchig macht. Die Osmiumsäure kann nur bei Stücken von höchstens 1 cm Größe verwandt werden. Das Gemisch von Erlicki wirkt zwar rascher, als die anderen Chromverbindungen, jedoch kommt Sahli (l. c.) zu dem Schlusse, daß man am besten mit reinem Kaliumbichromat (3 bis 4%ige Lösung) in der Kälte härtet. Ebenso Obersteiner, der aber für die feinsten Einzelheiten empfiehlt, in Fols Gemisch (oben § 45) 24 Stunden lang zu fixiren, mit Wasser auszuwaschen und in 80%igem Alkohol zu härten.

Da die chromsauren Salze sehr langsam eindringen, so behandelt man oft zweckmäßig die Objekte 24 oder mehr Stunden lang mit 80 bis 90%igem Alkohol und legt sie dann erst in das Härtgemisch. Nissl empfiehlt aus dem gleichen Grunde die „Anhärtung“ (§ 662).

KING (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 4 1910 p. 213) prüfte an 50 Hirnen von *Mus decumanus albus* über 25 Methoden und gelangt zu folgenden Schlüssen: von den Formolgemischen ist recht gut das von Bouin, besser aber das von Ohlmacher; von den Bichromatgemischen kommt nur das von Tellyesniczky dem Bouinschen gleich; alle Sublimatgemische fixiren die Kerne gut, machen aber das Plasma vacuolär. In Ohlmachers Gemisch (absol. Alkohol 80, Chloroform 15, Essigsäure 5, Sublimat 20 Theile) bleibt das Hirn 2—3 Stunden, kommt auf 1 Stunde



in 85 %igen Alkohol, dann in 70 %igen mit Jod auf wenigstens 24 Stunden, und wird erst durch Äther auf 2—3 Tage in 2 %iges Celloidin, von da durch Chloroform und Benzol in Paraffin gebracht. (Über die Färbung der mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte s. § 273.)

Nach FISH (Wilder Quarter Century Book 1893 p. 335) und DONALDSON (Journ. Morph. Boston Vol. 9 1894 p. 123) nimmt das Gehirn von *Ovis* in Kaliumbichromat an Gewicht und Volumen zu, in allen anderen Härtmitteln ab.

Über Formaldehyd s. § 110, 665 und 732. Nach FLATAU (Anat. Anz. 13. Bd. 1897 p. 323) nimmt in 10 %igem Formol das Hirn nur unwesentlich an Gewicht zu (Rückenmark bis zu 14 %), in 1 %igem dagegen bis zu 23 %. — 10—12 %ige Salpetersäure gibt besonders zähe Präparate. — Neutrales Bleiacetat in 10 %iger Lösung konserviert nach KOTLAREWSKI (Mitth. Nat. Ges. Bern f. 1887 1888 p. 17) die Ganglienzellen ausgezeichnet. — TRZEBIŃSKI (Arch. Path. Anat. 107. Bd. 1887 p. 3) hat die Ganglienzellen im Rückenmark von *Canis* und *Lepus* am besten durch 8tägige Härtung in konzentrierter Sublimatlösung und nachträgliche Behandlung mit  $\frac{1}{2}$  %iger alkoholischer Jodlösung erhalten. Ähnlich DIOMIDOFF (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 499): kleine Stücke vom Gehirn 5—9 Tage in Sublimat, dann auf je 24 Stunden in Alkohol von 50, 70 und 96 %. — OHLMACHER (\*Journ. Exper. Med. Vol. 2 1897 p. 673) fixiert die Objekte in seinem Gemisch (oben § 62 d) meist 15—20 Minuten lang; Menschenhirne erfordern 18—24 Stunden; Auswaschen in Alkohol von 80 % mit Kampher oder Jodtinktur. — Über Chlorzink s. unten § 665 u. 666.

S. im Übrigen § 680 ff.

**664. Härtung in Chromaten.** Man sollte alle Gemische zunächst so schwach nehmen, wie sich mit der Konservierung des Gewebes verträgt, und dann allmählich verstärken. Bei Kaliumbichromat beginnt man mit 2 %iger Lösung und bringt sie für Rückenmark und Großhirn auf 3—4, für das Kleinhirn auf 5 %. OBERSTEINER (p. 8) steigt von 1 % in 6—8 Wochen (bei 35—45° C. schon in 1—2 Wochen) auf 2—3 %. Von Ammoniumbichromat nimmt man höchstens die halbe Stärke des Kalisalzes und steigt für das Kleinhirn bis zu 5 %.

LEWIS (\*Human Brain p. 102) legt das Hirn im Kühlen auf 24 Stunden in Alkohol von 90 %, dann in Müllers Gemisch, wechselt die Flüssigkeit nach 3 und 6 Tagen oder ersetzt sie durch 2 %ige Lösung von Kaliumbichromat. Am Ende der 2. Woche gibt er 4 %ige Lösung zu, und wenn in der 4. das Hirn sich nicht schneiden läßt, so legt er es in eine Lösung von Chromsäure.

HAMILTON (Journ. Anat. Phys. London Vol. 12 1878 p. 254) legt Scheiben des Großhirns auf Watte in einem Eisschrank in das Gemisch von 3 Theilen Müllerschen Gemisches und 1 Theil Alkohol von 90 %, dreht die Scheiben am folgenden Tage um, wechselt die Lösung nach 2—3 Wochen und bringt die Scheiben, sobald das Gemisch gut eingedrungen ist, in eine Lösung von Ammoniumbichromat (1 : 400), die nach je 1 Woche durch 1 %ige und 2 %ige ersetzt wird. Definitive Aufbewahrung in Lösung von Chloralhydrat (1 : 40).



DUVAL (Journ. Anat. Phys. Paris Tome 12 1876 p. 497) legt das Hirn in 2½ %ige Lösung von Ammoniumbichromat, wechselt diese 2 mal, ersetzt sie nach 2—3 Wochen durch Chromsäure (3 : 1000) und wechselt diese die 1. Woche lang alle Tage, später jede Woche. Das Hirn muß wenigstens 2 Monate in der Flüssigkeit (gegen das Schimmeln etwas Kampher) bleiben.

**665. Härtung in Formaldehyd.** WEIGERT (Abh. Senckenberg. Ges. Frankfurt 19. Bd. 1895 p. 199) legt Stücke von nicht über 5 mm Dicke auf 4 Tage in Formol 1 : 10. — MARCUS (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 241) härtet Rückenmark 2—4 Wochen lang in ½ %igem Formalin, schneidet Stücke von 5 mm Dicke heraus, legt sie auf 1 Woche bei 37° C. in Müllers Gemisch, dann in 95- und 100 %igen Alkohol. — RAWITZ (Lehrbuch p. 47) bringt das mit 10 %igem Formol vorbehandelte Material auf einige Wochen in gesättigte Lösung von Kaliumbichromat. — VAN GIESON (Anat. Anz. 10. Bd. 1895 p. 494) benutzt mit gutem Erfolg „4, 6 und 10 %iges Formalin“, darauf 95 %igen Alkohol; das Myelin halte sich gut darin. — LACHI (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 32) erzielt gute Resultate mit „20 %igem Formol“. S. ferner § 662, 670 und 732.

FISH (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 319) bringt das Hirn in das Gemisch von 2 Liter Wasser, 50 ccm Formol, 100 g Chlornatrium und 15 g Chlorzink auf wenigstens 8—10 Tage und bewahrt es in 2½ %igem Formol auf. Ein Menschenhirn verlor darin nach 14 Tagen nur 6,8 % an Gewicht, dagegen ein anderes nach je 1 Woche in 50 %igem und 70 %igem Alkohol 22 %.

Nach PARKER & FLOYD (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 156) härtet das Gemisch von 1 Vol. Formol und 49 Vol. Wasser ein Schafhirn in 7—10 Tagen vollständig, vermehrt aber dessen Volumen bis um 40 %. Daher setzt man besser zu 2 Vol. des obigen Gemisches 3 Vol. Alkohol von 95 %; das Hirn wird darin eben so rasch gut, nimmt aber an Umfang kaum zu und kann Monate lang darin bleiben (ibid. 1896 p. 568). — MARINA (Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze Vol. 2 1897 p. 20) fixiert Stücke vom Centralnervensystem 4—8 Tage lang in frischem, täglich zu wechselndem Gemisch von 100 ccm 90 %igen Alkohols, 5 ccm Formol und 0,1 g Chromsäure, wäscht sie mit 45 %igem Alkohol aus und schneidet sie ohne Einbettung unter 90 %igem. (Die Schnitte lassen sich eben so gut nach Nissl wie nach Held oder Weigert färben.) — KING (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 4 1910 p. 218, 219) ist von beiden Methoden nicht erbaut.

GEROTA (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 314) bringt das Gehirn von *Homo* in 5—10 %ige wässrige Lösung von Formol, zieht nach 24 Stunden die Pia ab und ersetzt die Flüssigkeit alle Tage durch neue; in 1—2 Wochen ist die Härtung beendet. Bei Embryonen von *Canis*, *Felis* und *Homo* injiziert er (p. 315) zuerst das Gefäßsystem mit 10—15 %iger Lösung von Formol in 85 %igem Alkohol, bringt



dann den Kopf und nach 1—2 Tagen das isolirte Gehirn auf 15 bis 20 Tage in 5—10 %iges wässeriges Formol.

KADYI (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 80) legt die Objekte auf 4—10 Tage in das Gemisch von 5 Theilen Formaldehyd, 2 Th. Natriumbicarbonat und 100 Th. Wasser, macht Schnitte aus freier Hand oder mit dem Gefriermikrotom, beizt diese im Gemisch von 1 Theil Uranacetat, 1 Th. Essigsäure und 100 Th. Wasser und färbt sie in  $\frac{1}{4}$  %iger Lösung von Natronkarmin.

Über das Gemisch von Orth s. oben § 111a. SIEMERLING (Neur. Centralbl. 18. Jahrg. 1899 p. 472) zieht es dem Formol nach Weigert vor, härtet aber mit Müllers Gemisch nach und beizt die Schnitte mit  $\frac{1}{2}$  %iger Chromsäure.

**666. Härtung in anderen Gemischen.** BETZ (Arch. Mikr. Anat. 9. Bd. 1873 p. 101) hängt das Mark nach Ablösung der Dura in einem Cylinder mit 75—80 %igem Alkohol, der durch Jod hellbraun gemacht ist, auf, entfernt nach 1—3 Tagen die anderen Häute, läßt unter stetem Ersatz des absorbirten Jods die Objekte noch etwa 6 Tage im Alkohol, härtet sie in 3 %igem Kaliumbichromat an einem kühlen Orte so lange, bis sich auf ihnen ein brauner Niederschlag absetzt, wäscht sie mit Wasser und hebt sie in Kaliumbichromat ( $\frac{1}{2}$ —1 %) auf. Das Kleinhirn legt er auf Watte und behandelt es ähnlich, verwendet aber das Bichromat in 5 %iger Lösung. Das Großhirn halbirt er sagittal und härtet es zuletzt in 4 %iger Lösung. — MANN (Methods p. 95) fixirt besonders zum Studium der Zellen die Objekte 24 Stunden lang im Gemisch von 5 Th. Jodkalium,  $2\frac{1}{2}$  Th. Jod und 100 Th. Wasser und bringt sie daraus in 70 %igen Alkohol. — RAWITZ (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 338) fixirt das Material Tage in 10 %igem Formol, legt es dann auf 5 Tage in viel Jodalkohol (Jodtinktur 1, 95 %iger Alkohol 9 Theile), daraus direkt auf 8—10 in gesättigte Lösung von Kaliumbichromat (reichliche Menge, nach dem 1. Tage wechseln), trocknet es auf Filtrirpapier ab, bringt es im Dunkeln auf 3 Tage in 95 %igen, auf 1—2 Tage in 100 %igen Alkohol und bettet es durch Chloroform in Paraffin ein.

FISH (Wilder Quarter Cent. Book 1893 p. 393) legt das Hirn auf etwa 3 Tage in ein Gemisch von Wasser und 95 %igem Alkohol je 400 ccm, Glycerin 250 ccm, Chlorzink und Chlornatrium je 20 g, injizirt auch die Gefäße damit und bringt es auf wenigstens 1 Woche in ein Gemisch gleicher Theile der obigen Flüssigkeit und 70 %igen Alkohols, zum Schluß in 90 %igen Alkohol. — KODIS (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 212) fixirt das Nervengewebe in gesättigter wässriger Lösung von Cyanquecksilber ( $\text{HgCy}_2$ ), bringt es in 10 %iges Formol und macht Gefrierschnitte davon.



Das Kleinhirn von *Canis* legt BERKLEY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 388) auf 24—36 Stunden in Flemmings Gemisch, dann in absoluten Alkohol und Celloidin.

**667. Nervensystem von niederen Wirbelthieren.** MASON (Whitman, Methods p. 196) nimmt für Amphibien und Reptilien Jodalkohol 6—12 Stunden lang, dann 6—10 Wochen lang 3 %ige Lösung von Kaliumbichromat, die er alle 14 Tage erneuert. — FISH (Journ. Morph. Boston Vol. 10 1895 p. 234) fixirt das Hirn von *Desmognathus* 12 bis 24 Stunden lang in 100 ccm 50 %igen Alkohols mit 5 ccm Eisessig, 5 g Sublimat und 1 g Pikrinsäure.

BURCKHARDT (Centralnerv. *Protopterus* Berlin 1892 p. 8) legt den Kopf von *P.* auf 1—2 Tage in das Gemisch von 1 Th. Salpetersäure, 1 Th. 2 %iger Osmiumsäure und 30 Th. 1 %iger Chromsäure, nimmt das Hirn heraus, wäscht es in 1 %iger Lösung von Chlornatrium 12 Stunden lang und bringt es in Alkohol. — HERRICK (Arch. Neur. Psychopath. Utica Vol. 2 1899 p. 44) fixirt den Kopf von *Menidia* mit dem Gehirn in situ 2—3 Wochen lang in häufig zu erneuerndem Gemisch von Flemming und bringt ihn in Paraffin. Zur Färbung nach Weigert beizt er die Schnitte mit Kupferacetat. — S. auch HERRICK in: Contr. Path. Inst. New York State Hosp. Vol. 1 & 2 1898 N. 20.

STRONG (Journ. Comp. Neur. Granville Vol. 13 1903 p. 296) fixirt (und entkalkt zugleich) den Kopf junger *Acanthias* im Gemisch von 9 Th. 5 %iger Eisenalaunlösung und 1 Th. Formol etwa 2 Wochen lang, färbt dann die Paraffinschnitte (nach Entfernung des Paraffins mit Celloidinlösung übergossen) mit Hämatoxylin und entfärbt sie in 1—2 %iger Lösung von Eisenalaun. So treten die peripheren Nerven sehr gut hervor.

## Einbetten und Schneiden.

**668. Gefrierschnitte.** Durch frisches Nervengewebe erhält man gute Schnitte nur, wenn es gefroren ist; die Schnitte behandelt man 1 Minute lang auf dem Objektträger mit  $\frac{1}{4}$  % Osmiumsäure. (Näheres s. in LEWIS, The Human Brain.) — GOODALL (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1893 p. 405) schneidet gefrorenes Rückenmark, läßt die Schnitte auf Wasser schwimmen, nimmt sie rasch heraus, saugt das Wasser ab, bringt sie auf Pyridin, wäscht sie  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde später mit Wasser, färbt sie, entwässert sie in Pyridin und schließt sie in Pyridinbalsam ein. (S. auch § 106.)

**669. Einbetten.** Wirkliches Einbetten ist nicht absolut nöthig, nur muß das Material dann sehr gut gehärtet sein. Man klebt es mit dicker Gummilösung auf Holz oder Kork, legt es, sobald es anklebt, in Alkohol von 80 %, um das Gummi zu härten, und schneidet es.



— S. auch SCHLAGENHAUFER (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 319: Gipsmantel) und § 682 und 703 (NISSL).

In Paraffin lassen sich sehr große Objekte nur mit viel Aufwand an Zeit und Mühe einbetten. Das Rückenmark des Menschen läßt sich noch gut durchtränken, wenn man es vorher in Scheiben von höchstens einigen Millimetern Dicke schneidet; aber ganze Menschenhirne wirklich gut in Paraffin einzubetten, scheint noch nicht gelungen zu sein, selbst Strasser nicht (s. § 670); man begnügt sich daher wohl mit der Anbringung eines Mantels von Paraffin um das Gehirn.

Auch die tadellose Einbettung ganzer menschlicher Gehirne in Celloidin scheint (nach NISSL & RANKE in: Encyclop. 2. Aufl. 2. Bd. p. 246) nicht gelungen zu sein; s. jedoch § 879. Sind die Gewebe nicht ordentlich damit durchtränkt worden, so erhält man (nach Duval) gute Schnitte, wenn man die Schnittfläche des Blocks durch Blasen darauf trocken legt, mit dem Pinsel eine dünne Schicht Kollodium darauf streicht und, sobald dies etwas trocken ist, den Schnitt macht.

Als Marke zum Orientiren lehnt FEIST (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1892 p. 492) ein Stäbchen gehärteter Leber von etwa 1 Quadratmillimeter Breite an die Stelle des Rückenmarkes, die er kennzeichnen will, und bettet es mit ein.

**670. Methoden für sehr große Schnitte.** STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 8) schneidet mit seinem Schnitt-Aufklebe-Mikrotom Objekte von 10 cm Breite, 15 cm Länge und 6 cm Dicke. Er bringt (ibid. 12. Bd. 1895 p. 160) in das Fixirgemisch (Formalin mit oder ohne Chromatlösung) das Gehirn in toto oder als Scheiben von 3—4 cm Dicke und schneidet erst nach der Härtung in Alkohol Scheiben von 1—2 cm Dicke heraus. Sollen diese in Paraffin kommen, so legt er sie erst in Karbolxylol (s. § 170), läßt dieses abdunsten, bringt sie in gelbes Vaseline und zum Schluß je nach der Größe in reines Paraffin oder ein Gemisch von Paraffin (42° Schmelzpunkt) und Vaseline. Die in Celloidin eingebetteten Scheiben durchtränkt er vor dem Schneiden mit der Mischung gleicher Theile von Karbolxylol und 80% igem Alkohol. — S. auch DEJERINE, Anat. Centres Nerv. Tome 1 1895 p. 29.

Stücke von Menschenhirn,  $4\frac{1}{2} \times 5\frac{1}{2}$  cm und etwa 5 mm dick, habe ich (MAYER) mit Jungs Tetrander (§ 136) bequem in 6  $\mu$  dicke Schnitte zerlegt. Eingebettet war das Hirn von P. Poso durch Benzol in Paraffin von 58° Schmelzpunkt. Auch viel größere Stücke lassen sich ohne Zweifel so schneiden.

BONVICINI (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 410) injiziert in das ganze Menschenhirn entweder von den Gefäßen aus oder durch Einstich in die Ven-



trikel 10%iges Formol, hängt das Gehirn in derselben Flüssigkeit auf und schneidet es nach 6—8 Tagen mit einem eigenen Instrumente in Scheiben von 2 cm (Rückenmark  $\frac{1}{2}$  cm) Dicke. Diese legt er im Dunkeln auf 2 Monate (die vom Rückenmark auf 5—6 Tage) in das Gemisch von 4 Th. Kaliumbichromat,  $2\frac{1}{2}$  Th. Chromsulfat und 100 Th. Wasser (auch wohl 5 Th. Essigsäure dazu) und bringt sie dann direkt in Alkohol und von da in Celloidin.

### Färben.

**671. Karmin.** Ammoniakkarmin ist für Übersichtsbilder gut, aber man muß sehr langsam in äußerst schwachen Lösungen färben. Das Material aus Kaliumbichromat darf vorher nicht in Alkohol gewesen sein (oben p. 39). — Pikrokarmin wirkt ähnlich, hebt aber die nicht nervösen Elemente besser hervor. Material aus chromsauren Salzen färbt sich im Allgemeinen in beiden Karminen sehr langsam, wenn man jedoch (nach OBERSTEINER p. 16) die Schnitte in einem Uhrglas voll Färbelösung über kochendes Wasser bringt, so genügen schon einige Minuten. MERKEL (Henles Handb. Anat. 3. Bd. 2. Abth. 1871 p. VII) legt die Schnitte von dem in Chromaten fixirten Material in eine Lösung von Chlorpalladium (1:300 bis 600), bis sie gelb werden, spült sie mit Wasser ab und färbt sie in starkem Ammoniakkarmin. — Boraxkarmin ist gut, wenn man hinterher Indigkarmin oder Anilinblau nimmt. — Über Natronkarmin s. § 665 (KADYI), über Karmalaun § 698 (HILL). — Im Übrigen s. SCHMAUS (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 230: Urankarmin), UPSON (ibid. 5. Bd. 1888 p. 525), FREEBORN (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1889 p. 305: Karminsäure, nachher Eisenchlorid), sowie § 367 (GERLACH). Über die Methoden von Rawitz s. oben § 326.

**672. Anilin Blue-Black.** JELGERSMA (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 39) färbt die Schnitte mit dem englischen Anilin Blue-Black: in Lösung von 1:100  $\frac{1}{4}$  Stunde, in 1:800 5 Stunden und 1:2000 12 Stunden lang. Neuroglia und Bindegewebe werden nicht gefärbt. — SCHMAUS (ibid. 8. Bd. 1891 p. 230) braucht ebenfalls das englische Produkt (bei Grüber & Hollborn zu haben): in  $\frac{1}{4}$ %iger Lösung in 50%igem Alkohol mit ein wenig Pikrinsäure färbt er die Schnitte 1 Stunde lang (das Celloidin bleibt farblos). — S. auch SANKEY (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 16 1876 p. 95 u. 183), LEWIS (ibid. p. 74; \*Human Brain p. 125), GIERKE (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 379) und MARTINOTTI (ibid. 2. Bd. 1885 p. 478).

**673. Pikronigrosin.** MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 478) färbt mit gesättigter Lösung von Nigrosin in gesättigter Lösung von Pikrinsäure und wäscht mit dem Gemisch von 1 Theil Ameisensäure und 2 Theilen Alkohol so lange aus, bis die graue und weiße Substanz schon mit dem bloßen



Auge deutlich werden. — JOHNSTON (Morph. Jahrb. 34. Bd. 1905 p. 150) fügt dem Gemisch etwas Säurefuchsin zur Tingirung des Bindegewebes bei und färbt die Kerne vorher mit Alaunkarmin. Nerven schieferblau. (Material in Zenkers Gemisch fixirt.)

**674. Naphthylaminbraun.** KAISER (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 471) färbt Celloidinschnitte durch Rückenmark einige Stunden lang in der Lösung von 1 Theil auf 100 Th. Alkohol und 200 Th. Wasser, wäscht sie mit Alkohol und bringt sie durch Origanumöl in Balsam.

**675. Alizarin.** SCHRÖTTER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 381) färbt die Schnitte (am besten von Material aus Müllers Gemisch) in 1—2%iger Lösung von Natriumalizarinsulfat, wäscht sie mit Leitungswasser und bringt sie gleich in absol. Alkohol.

**676. Congoroth.** ALT (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 81) färbt einige Stunden lang mit Congoroth in absolutem Alkohol und wäscht mit reinem Alkohol aus. SCHIEFFERDECKER empfiehlt die Methode nicht, SQUIRE hingegen (Methods p. 48), der 2%ige Lösung in Wasser benutzt, rühmt sie sehr.

**677.** Über die umständlichen Färbungen mit **Methylenblau** nach REHM (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 389) s. § 731 und 732 der 2. Auflage dieses Buches.

**678. Mit Hämatoxylin und Phosphormolybdänsäure** nach MALLORY (s. oben § 265) färben sich nach SCHIEFFERDECKER & VOBIS (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 341) Celloidinschnitte von Material aus Müllers Gemisch gut. — SARGENT (Anat. Anz. 15. Bd. 1898 p. 214) benutzt dieses Gemisch für das in Formol (10%) fixirte Rückenmark von Fischen, das er zuvor (nach Kenyon, s. § 825) mit Kupfersulfat behandelt hat. — POLICE (Arch. Z. Napoli Vol. 4 1909 p. 300) nimmt statt dessen 0,35 g Hämatoxylin, 10 Tropfen 10%iger Phosphormolybdänsäure, 10 g Chloralhydrat und 100 g 70%igen Alkohols.

**679. Hämatoxylinkupfer.** VIALLANES (Ann. Sc. N. (7) Tome 13 1892 p. 354) fixirt die Augen von *Palinurus* in Sublimat und Essigsäure (je 5 auf 100 Wasser), bringt sie direkt in Alkohol von 70%, entpigmentirt sie im Gemisch gleicher Theile von absol. Alkohol, Glycerin und Wasser durch Einleiten von Chlorgas, legt sie auf 12 Stunden in 1%ige Lösung von Kupfersulfat, wäscht sie 5—6 Stunden lang in destill. Wasser aus, bringt sie auf 12 Stunden in eine frische Lösung von 0,1 g Hämatoxylin in 10 ccm absoluten Alkohols und 30 ccm dest. Wassers, wieder auf eben so lang in das Kupferbad, wäscht sie gründlich, entwässert sie und bettet sie durch Chloroform in Paraffin ein. Im Chloroformbalsam hält sich aber die blaue Farbe der Axencylinder und Nervenzellen nur einige Monate. — Nach BINET (Journ. Anat. Phys. Paris 30. Année 1894 p. 476) muß man die Ganglien in toto nach Viallanes behandeln, kann aber die Schnitte mit Safranin nachfärben, das dann zunächst vom Bindegewebe aufgenommen wird.



## 27. Kapitel.

**Methoden für Untersuchung der Nerven:  
Cytologisches.**

**680. Allgemeines.** So weit beim Studium des Nervensystems nach den allgemeinen Prinzipien der Untersuchung der Zelle verfahren wird, sei auf Kapitel 23 verwiesen. Die folgenden §§ behandeln spezielle Fälle. S. auch MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 479), HEIMANN (Arch. Path. Anat. 152. Bd. 1898 p. 301) und LENHOSSÉK (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 577: gegen Heimann).

Zum Nachweis der Centrosomen fixirt KOLSTER (Anat. Hefte 1. Abth. 16. Bd. 1901 p. 167) die Objekte in „Pikrinsäure-Sublimat“, wäscht sie mit 75%igem Alkohol unter Zusatz von Lithiumcarbonat aus, entfernt aus den Schnitten das Tigroid durch Ammoniak und färbt sie mit Eisenhämatoxylin.

**681. Allgemeine Methoden für Nervenzellen.** MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 487 und 490) verwendet entweder die gewöhnlichen Färbmethoden oder das Gemisch von 2 Theilen 1%iger wässriger Lösung von Methylblau, 9 Th. ebensolcher von Eosin und 20 Th. Wasser; Differenzirung in ganz schwach alkalischem absol. Alkohol und Waschung mit schwach essigsauerm Wasser.

HELD (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1895 1896 p. 399) färbt aufgeklebte Paraffinschnitte durch Hirn von Säugern unter leichtem Erwärmen 1—2 Minuten lang in Erythrosin (1 g auf 150 g destill. Wasser und 2 Tropfen Eisessig), wäscht mit Wasser aus, färbt mit Methylenblau (gleiche Theile des Nisslschen Gemisches, s. § 682, und 5%iger Acetonlösung) unter Erwärmen so lange nach, bis der Geruch nach Aceton vergangen ist, und differenzirt kalt mit Alaunlösung (1:1000), bis die Schnitte wieder röthlich erscheinen, spült in Wasser ab, entwässert möglichst rasch in absol. Alkohol und schließt durch Xylol in Benzinkolophonium ein. Je nach der Fixirung des



Hirns sind die Bilder ganz verschieden, da das Tigroid von den Fixirmitteln mehr oder weniger körnig ausgefällt wird. S. auch *ibid.* f. 1897 p. 226—233.

LENHOSSÉK (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 582) fixirt mit Rabls Pikrinsublimat (oben § 64); zum Färben ist am besten Toluidinblau (eventuell leichte Nachfärbung mit Erythrosin). — Ähnlich BOCCARDI (Monit. Z. Ital. Anno 10 1899 p. 141) und HARRIS (Philadelphia Med. Journ. 1898; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 64).

SADOWSKY (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 3 1896 p. 353) fixirt kleine Stücke von Menschenhirn 3—4 Tage lang in „solution aqueuse de Formol à 10 p. 100“, bringt sie auf 2 Tage in Alkohol von 96%, auf 3 Tage in absoluten, bettet sie in Celloidin ein und färbt die Schnitte mit 1%iger Lösung von Methylenblau oder besser mit konzentr. Lösung von Fuchsin in Karbolwasser (5:100), behandelt sie in beiden Fällen auf dem Objektträger mit 1%iger Essigsäure so lange, bis die graue und weiße Substanz deutlich hervortreten, und bringt sie durch Xylol in Balsam.

REHM (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 390) färbt die Schnitte einige Minuten lang in konzentr. wässriger Lösung von Congoroth, behandelt sie mit saurem Alkohol, bis sie blau werden, und bringt sie durch Origanumöl in Balsam. Oder er färbt die Schnitte von Material aus Alkohol 1—2 Tage lang in wässriger 1/2%iger Lösung von Hämatoxylin, wäscht sie mit Lösung von Lithiumcarbonat, bis sie keine Farbe mehr abgeben, und färbt sie mit 1/10%iger wässriger Lösung von Bismarckbraun einige Minuten lang nach.

ROSIN (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 77) empfiehlt Biondis Gemisch, Lindsay JOHNSON (in litt.) vermischt damit etwa 1/3 Vol. 20%iger Lösung von Nigrosin. — Über Kresylviolett s. oben § 334. — ROSIN (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 600) färbt nach dem Vorgang von JULIUSBURGER (\**ibid.* 16. Jahrg. 1897 p. 259) mit konzentrierter Lösung von Neutralroth: alles Basophile wird roth, alles Acidophile gelb. Fixirung der Objekte am besten mit 4%igem Formol. — ROSSI (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 183) fixirt die Nervenzellen 24—48 Stunden lang mit 2%iger Lösung von Platinnitrat, behandelt sie dann mit 1/2%iger Goldchloridlösung und zuletzt 24 Stunden im Dunkeln mit Ameisensäure. Einbettung in Paraffin.

Nach NISSL (Encyclop. 2. Bd. p. 253ff.) werden die Nervenzellen am besten in Alkohol, weniger gut in Formol und Sublimat, noch weniger gut in Salpetersäure fixirt; alle übrigen Fixirgemische wirken ungleichmäßig. Jedoch ist nach der Fixirung in 96%igem Alkohol (s. § 682) jegliche Einbettung zu vermeiden; auch schrumpfen oder schwellen die Zellen besonders an der Peripherie der Schnitte häufig. Der Alkohol greift selbst nach Fixirung mit anderen Reagentien (am wenigsten nach Kaliumbichromat) die Markscheiden stark an und veranlaßt so das Auftreten von kugeligen Gebilden in den Präparaten.



S. ferner § 690 die Methoden von RAMÓN und BIELSCHOWSKY, insofern sie auch die Kerne sowie die Kanäle, Netze etc. im Plasma zeigen.

**682. Darstellung der Schollen** (Tigroidkörper). NISSL (Encyclop. 2. Bd. p. 262ff.) schneidet mit einer Schere aus dem Centralorgan etwa walnußgroße Stücke, bringt sie in viel 96%igen Alkohol auf Glaswolle oder Filtrirpapier, wechselt den Alkohol oft, schneidet nicht vor dem 5. Tage mit dem Rasirmesser eine 6—8 mm dicke Scheibe ab, klebt diese mit Gummilösung auf Kork oder Holz, bringt den Block zum Erhärten des Gummis auf 5 Minuten in Alkohol zurück, macht mit dem Mikrotom unter Alkohol Schnitte von 10—12  $\mu$  Dicke (bei kleinen Objekten gelingen sie auch bis zu 4  $\mu$ ), glättet diese mit einem Pinsel und färbt sie sofort.

Langes Verweilen der Schnitte in Alkohol ist schädlich, auch die aufgeklebten Blöcke leiden im Alkohol, dagegen halten sich die Stücke jahrelang, wenn man den Alkohol so oft wechselt, wie er sich seifig anfühlt oder mit Wasser trübt, also aus den Markscheiden Lecithin, Protagon etc. auszieht.

Zur Färbung — in Uhrgläsern, worin je nur 1 Schnitt schwimmen soll — dient eine wenigstens  $\frac{1}{4}$  Jahr alte, jedesmal frisch filtrirte Lösung von 15 Th. Methylenblau und 7 Th. venetianischer Seife in 4000 Th. destill. Wassers; diese wird rasch erwärmt, bis Luftblasen aufsteigen, und der Schnitt gleich in eine Schale mit Anilinalkohol (1 Th. helles A.: 9 Th. 96%) gebracht, sofort wieder herausgefischt, auf dem Objektträger mit Filtrirpapier abgetrocknet, mit Cajeputöl übergossen (all dies zusammen in höchstens 20 Sekunden), wieder getrocknet, mit Benzin vom Öl sorgfältig befreit und in Xylol-Kolophonium (§ 420) eingeschlossen. Meist hält sich die Färbung länger als 1 Jahr. — Die älteren Methoden von NISSL s. in § 689 der 2. Aufl. dieses Buches. — S. auch SAVINI (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 48. Bd. Orig. p. 697) und MYERS (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 2 1908 p. 434).

VAN GEHUCHTEN (in litt.) färbt die mit Wasser aufgeklebten Paraffinschnitte in Nissls Gemisch 5—6 Stunden lang bei 35—40° C., differenzirt sie nach Nissl und bringt sie in Xyloldammar. — ILBERG (Neur. Centralbl. 15. Jahrg. 1896 No. 18) färbt die Hirne kleinerer (oder Stücke der Hirne größerer) Thiere im Methylenblau von Nissl 5—10 Tage lang, wäscht sie 2—3 Tage in 96%igem Alkohol aus, bettet sie in Paraffin ein, bringt die nicht aufgeklebten Schnitte durch Xylol in Alkohol von 96% und, falls sie sich darin nicht genug differenziren, in das Anilingemisch, von da in absol. Alkohol, Xylol und Xylolbalsam.

GOTHARD (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 5 1898 p. 530) färbt die Celloidinschnitte mit Unnas polychromen Methylenblau (§ 291) und differenzirt sie im Gemisch von je 5 ccm Kreosot und Xylol, 4 ccm Cajeputöl



und 16 ccm absol. Alkohols. — Ähnlich LUTHLEN & SORGO (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 640), aber Differenzierung nach Unna mit Glycerinäther, und MARCUS (Zeit. Heilk. Wien u. Leipzig 21. Bd. 1900 4. Heft). — Andere Modifikationen s. bei TELJATNIK (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 79) und LORD (ibid. 16. Bd. 1899 p. 59).

MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 489) färbt die Paraffinschnitte zuerst mit Eosin in 1%iger wässriger Lösung, dann mit Toluidinblau in  $\frac{1}{2}$ %iger oder mit Methylenblau in 4%iger Lösung.

LUGARO (Monit. Z. Ital. Anno 16 1905 p. 16) fixiert die Objekte 48 Stunden lang in saurem (5% Salpetersäure) absol. Alkohol und färbt die Paraffinschnitte in Lösung von Toluidinblau (1:2000 bis 3000), Methylenblau oder Thionin, spült sie mit Wasser ab, behandelt sie 2—3 Minuten lang mit 4%iger Lösung von Ammoniummolybdat und bringt sie in Balsam.

MOSSE (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 403) fixiert die Objekte im Gemisch von Carnoy (oben § 83), bettet sie in Paraffin, bringt die aufgeklebten Schnitte auf 2 Minuten in 1%ige Argentaminlösung, spült sie in destill. Wasser ab und behandelt sie 1 Minute lang mit 10%iger Lösung von Pyrogallol. Kern und Tigroid schwarzviolett, Axencylinder bräunlich. — Argentamin ist nach MOSSE (Encyclop. 1. Bd. p. 58) eine alkalische Lösung von je 1 Th. Silberphosphat und Äthylendiamin in 10 Th. Wasser.

COLLIN (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 60 1906 p. 156) bleicht die nach Ramón (fixiert in  $1\frac{1}{2}$ %igem Ag NO<sub>3</sub> bei 37°, gewaschen, dann Pyrogallol oder Hydrochinon) versilberten Ganglienzellen mit Ferricyankalium, wäscht sie und färbt sie mit Methylenblau nach Held (oben § 681).

S. auch oben § 681 (HELD, ROSIN etc.).

**683. Methoden für Spinalganglienzellen.** Cox (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 498) fixiert die Ganglien 1—3 Tage lang im Gemisch von entweder 30 Th. gesättigter Sublimatlösung, 10 Th. 1%iger Osmiumsäure und 5 Th. Eisessig, oder 15 Th. gesätt. Subl., 10 Th. 1%iger Osm., 2 Th. Eisessig und 15 Th. 5%iger Lösung von Platinchlorid, bringt die aufgeklebten Paraffinschnitte auf 8 Stunden in 20—25%ige Tanninlösung, wäscht sie und färbt sie entweder nach Beizung mit Brechweinstein mit Indoinblau BB und Alaun, oder nach Beizung mit Eisenammoniumsulfat mit Methylenblau und Kaliumcarbonat. — S. auch Cox (Anat. Hefte 1. Abth. 10. Bd. 1898 p. 98: im 1. Härtgemisch statt der Osmiumsäure Formol; ferner zum Färben Baumwollblau BB statt Indoinblau). — Nach BETHE (Encyclop. 2. Bd. p. 290) haben diese Methoden „nur noch historische Bedeutung“.

BÜHLER (Verh. Physik. Med. Ges. Würzburg (2) 31. Bd. 1898 p. 316) fixiert mit Flemmings Gemisch oder gesättigter Lösung von Sublimat (allein oder mit 2—10% 1%iger Osmiumsäure) und färbt die Schnitte mit Methylenblau (nachher Erythrosin, Eosin oder Säure-



fuchsin) oder einem „Gemisch von Anilinblau und Rubin S zu ungefähr gleichen Theilen“ (statt des letzteren auch Bordeauxroth) oder sogar 4 Farbstoffen!).

VAN GEUCHTEN & NELIS (La Cellule Tome 14 1898 p. 374) fixiren  $\frac{1}{2}$  Stunde lang mit Gilsons Sublimatsalpetersäure (s. § 63) und färben die Paraffinschnitte mit Toluidinblau. — TIMOFEEW (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 15. Bd. 1898 p. 260) fixirt Spinalganglien und Sympathicus von *Gallus* und *Columba* mit Carnoys (oben § 83, Formel 2) oder Zenkers Gemisch und färbt nach Lenhossék (oben p. 337).

Über die Fixirung in Trichloressigsäure oder Trichlormilchsäure s. § 90 (HOLMGREN).

KOPSCH (Sitzungsb. Akad. Berlin 1902 p. 929) legt, um das Binnennetz in den Zellen zu färben, die Ganglien im Dunkeln auf wenigstens 8 Tage in 2%ige Osmiumsäure, bringt sie dann in Alkohol von 40—100% und durch Xylol in Paraffin. — S. auch § 732 a (GOLGI). — SJÖVALL (Anat. Hefte 1. Abth. 30. Bd. 1906 p. 362) fixirt die Ganglien von *Gallus* 8 Stunden lang im Dunkeln bei nur 5—7° C. in 1 Th. Formol und 3 Th. Wasser, wäscht sie 1 Stunde lang in Wasser und legt sie auf 2 Tage bei 35° C. in 2%ige Osmiumsäure.

**684. Methoden für den Sympathicus.** EVE (Journ. Phys. Cambridge Vol. 20 1896 p. 341) fixirt die sympathischen Ganglien von *Lepus* 4—16 Stunden lang in Sublimat, wäscht sie einige Stunden mit Wasser, mehrere Tage mit immer stärkerem Alkohol, bettet sie durch Cedernöl in Paraffin (55° Schmelzp.) ein, färbt die Schnitte 24 Stunden lang im Gemisch von 50 ccm konzent. wässriger Lösung von Methylenblau, 5 g Eosin, 70 ccm Alkohol und 130 ccm Wasser, wäscht sie mit absol. Alkohol ganz hell und bringt sie durch Toluol in Balsam. (Zur Kernfärbung Pikrokarmine und nachher Methylenblau.) — S. auch § 683 (TIMOFEEW).

**685. Darstellung des Axencylinders.** KUPFFER (Sitzungsb. Akad. München 13. Bd. 1884 p. 470) befestigt einen Nerven gedehnt auf Kork, behandelt ihn 2 Stunden lang mit  $\frac{1}{2}$ %iger Osmiumsäure, wäscht ihn 2 Stunden lang mit Wasser, färbt ihn 24—28 Stunden lang mit gesättigter Lösung von Säurefuchsin, wäscht ihn 6—12 Stunden lang mit absolutem Alkohol, bringt ihn durch Nelkenöl in Paraffin und erhält auf den Schnitten den Axencylinder als ein Bündel rother Fibrillen. — S. auch die komplizirten Methoden von AUERBACH (Neur. Centralbl. 16. Jahrg. 1897 p. 439; Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 402; 15. Bd. 1899 p. 493), VIALLANES (§ 679), MÖNCKEBERG & BETHE (§ 706) und KAPLAN (Neur. Centralbl. 20. Jahrg. 1901 p. 343; Arch. Psychiatr. 35. Bd. 1902 Heft 3: Fixirung in Müllers Gemisch, Färbung der Schnitte in Anthraceneisengallustinte oder Säureviolett 6 B). — LIST (Fauna Flora Golf. Neapel 27. Monogr. 1902 p. 293) stellt die Neurofibrillen der Mytiliden durch Behandeln der Schnitte (nach Färbung mit Hämalaun) mit Essigsäure und Färben mit wässriger Eosinlösung dar. — S. auch unten p. 345 (SAND).



**686. Färbung der Neurofibrillen mit Hämateinthonerde** nach APÁTHY (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1897 p. 712). Die Objekte (auch Wirbellose) können mit irgend welchen Fixirgemischen behandelt worden sein (nur nicht heiß!), falls diese eine gute Färbung mit Hämateinthonerde nicht unmöglich machen. Aufbewahrt müssen sie in 90%igem Alkohol werden. Die höchstens 5 mm dicken Stücke kommen auf mindestens 48, selten mehr als 72 Stunden in Hämateinlösung I.A. (oben § 252) und werden in absolut reinem destillirtem Wasser, das man öfter erneuert, bis zu 24 Stunden lang ausgewaschen, wobei man sie am besten aufhängt. Die Dauer des Waschens muß für jedes Objekt ausprobiert werden. Dann fixirt man die Farbe in den Neurofibrillen durch Einlegen des Stückes in Brunnenwasser auf 3 bis 5 Stunden, bringt das Stück in destill. Wasser zurück, entwässert es rasch durch Aufhängen in recht viel absolutem Alkohol und bettet es schleunigst in Paraffin (durch Chloroform), Celloidin oder Glycerinleim (§ 157) ein; die Objekte muß man, während sie in Chloroform oder den Celloidinlösungen sind, vor dem Licht schützen. Die Schnitte bringt man in Harz oder neutrales Glycerin.

**687. Färbung der Neurofibrillen mit Toluidinblau.** BETHE (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 22) legt die Nerven der Vertebraten, um nicht Alles zu fixiren, auf 24 Stunden in 3—7½%ige Salpetersäure (von 1.40 spez. Gew.) von da auf 12—24 Stunden in Alkohol von 96%, dann in schwach ammoniakalischen Alkohol (1:12), wieder in angesäuerten (1 Th. Salzsäure, 3 Th. Wasser, 8—12 Th. Alkohol) und zum Schluß in neutralen, aber stets bei Temperaturen von höchstens 20° C. Nun durch Wasser auf 24 Stunden in 4%ige Lösung von Ammoniummolybdat (bei höchstens 30° C.), nach dem Abspülen mit Wasser in Alkohol von 96° und von da in Paraffin. (Die Vorbehandlung für Zellen mit vielen Fibrillen s. p. 25.) Die nur mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte erwärmt er 2—10 Minuten lang mit destill. Wasser auf 55—60° C., gießt das Wasser ab, läßt 10 Minuten lang in der Wärme eine wässrige Lösung von Toluidinblau (1:3000) auf die Schnitte wirken und wäscht mit 96%igem Alkohol aus; dann durch Xylol in Balsam. Statt des Wassers kann man die Schnitte auch mit einer Lösung von Ammoniummolybdat (1:2500—5000) behandeln. — Evertibraten (p. 33). Die Nerven von *Hirudo* werden mit Sublimat fixirt, mit Jodalkohol ausgewaschen, die Paraffinschnitte bei 25—30° C. 10 Minuten lang mit 1%iger Lösung von Ammonium-



molybdat gebeizt, ebenso lange gewaschen und 5 Minuten lang bei 58° C. mit Toluidinblau (1:3000) gefärbt. Zur Darstellung der Fibrillen ist die Fixirung etc. wie bei den Vertebraten; Behandlung der Schnitte (vor dem Färben) mit schwachem Ammoniak (1:500—2000) oder mit Natriumcarbonat (1:1000—3000 in 50 %igem Alkohol). *Carcinus* und *Astacus* werden besser mit dem Gemisch konzentr. Lösungen von Pikrinsäure (3 Th.) und Ammoniumpikrat (1 Th.) fixirt.

LUGARO (Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze Vol. 10 1905 p. 269) fixirt die auf Holz befestigten Nerven 48 Stunden lang in 1 %iger Lösung von Salpetersäure in Aceton, entsäuert sie 12—24 Stunden lang in 3 oder 4 mal zu wechselndem Aceton und bringt sie auf einige Stunden in das Gemisch gleicher Theile von Aceton und Xylol, dann durch Xylol in Paraffin. Die mit Wasser aufgeklebten und vom Paraffin befreiten Schnitte stellt er auf 24 Stunden in absoluten Alkohol, auf ebenso lange in 1 %ige Lösung von Aldehyd in absol. Alk., dann in Wasser und färbt sie mit Toluidinblau nach Bethe.

**688. Färbung der Neurofibrillen mit Thionin.** DONAGGIO (Ann. Nevrol. Napoli Anno 22 1904 p. 161; Riv. Sper. Freniatr. Reggio Emilia Vol. 30 1904 Fasc. 2) bringt 8 zum Theil recht umständliche Methoden, alle nur für Säugethiere. Hauptsächlich fixirt er Stücke von etwa 5 mm Dicke 5—6 Tage lang in Pyridin, das wenigstens 1 mal gewechselt wird, wäscht sie sorgfältig in destill. Wasser aus, zerschneidet sie in 2—3 mm dicke Scheiben, beizt diese 24 Stunden lang in 4 %iger, frisch mit Salzsäure (pro Gramm Salz 1 Tropfen) versetzter Lösung von Ammoniummolybdat, wäscht sie wieder und bringt sie durch Xylol in Paraffin von 45—52° Schmelzpunkt. Die Schnitte klebt er mit Wasser auf, taucht sie aus dem Alkohol auf einen Augenblick in Wasser, färbt sie 3—30 Minuten lang in Lösung von Thionin (1:10000) und führt sie entweder direkt oder besser nach 15—30 Minuten langem Verweilen in der Molybdatlösung durch Alkohol und Xylol in neutralen Balsam über. Statt des reinen Pyridins kann für die ersten 24 Stunden der Fixirung 10 %ige Lösung von Pyridinnitrat in Pyridin dienen (von da 36 St. in reines Py.). — Etwas weniger scharfe Färbungen liefert folgende Methode. Man fixirt Stücke von 2—3 mm Dicke 24 Stunden lang in Sublimatlösung (nach Heidenhain), wäscht sie gut mit Jodwasser und destill. Wasser aus, bringt sie auf 48 Stunden in Pyridin, befestigt sie mit Paraffin auf einem Kork, hängt sie erst 48 Stunden in der Thioninlösung (1:10—15000), dann 24 Stunden in der Molybdatlösung auf und bringt sie in Paraffin. Auch kann man die Stücke aus dem Pyridin erst auf 24 Stunden in das Molybdat und dann wieder in Pyridin zurückbringen. — S. die Kritik von JÄDERHOLM (Arch. Mikr. Anat. 67. Bd. 1905 p. 108 ff.): das Pyridin bringt enorme Schrumpfungen hervor; das Thionin verklebt die Elemente.

PARAVICINI (Boll. Mus. Z. Anat. Comp. Torino Vol. 20 1905 N. 514) fixirt, wäscht und beizt die Stücke im Dunkeln, differenzirt die Färbung der Schnitte durch äußerst schwache Salzsäure und ändert auch sonst Donaggios Methode in einigen Punkten ab. — S. auch TOMASELLI (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1907 p. 422).



**689. Darstellung der Neurofibrillen durch Berlinerblau.** MEYER (Anat. Anz. 20. Bd. 1902 p. 540) fixirt die Objekte 24 Stunden lang in 10%igem Formol, legt sie auf 8—20 Tage in 2½%ige Lösung von Ferrocyankalium, weiter auf 2—4 Tage in 10%ige von Eisenalaun, wäscht sie einige Stunden aus, bringt sie direkt auf 2 Tage in absol. Alkohol und durch Xylol in Paraffin.

**690. Darstellung der Neurofibrillen durch Silbersalze.** RAMÓN Y CAJAL (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 55 1903 p. 1565, Tome 56 1904 p. 368; Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1904 p. 401; Bibl. Anat. Paris Tome 13 1904 p. 269, Tome 14 1905 p. 1) gibt 5 Methoden\*) an; allen gemeinsam ist die Reduktion des Silbers durch Hydrochinon oder Pyrogallussäure. In der Regel kommen die frischen Gewebe in Stücken von 3—4 mm Dicke auf wenigstens 3 Tage bei mindestens 25°, besser bei 35—40°C. und im Dunkeln, in eine reichliche Menge einer Lösung von Silbernitrat ( $\frac{1}{2}$ —6%, meist 1½%, je nach den Objekten), werden 1—2 Minuten mit destill. Wasser gewaschen, auf 24 Stunden in das Gemisch von 1 g Pyrogallussäure oder Hydrochinon, 5—15 ccm Formol und 100 ccm dest. Wasser gelegt, nochmals gewaschen und durch Alkohol in Celloidin oder Paraffin gebracht. Die Schnitte werden in Balsam oder Dammar eingeschlossen; nur die der Mittelzone des Stückes sind richtig imprägnirt. (Da zu langes Verweilen in der Silberlösung schlechte Resultate liefert, so bringt man am besten alle Tage vom 3.—8. ein Stück aus ihr in das Reduzirgemisch.) — Speziell zur Darstellung der Axencylinder werden die 3—4 mm dicken Stücke 1—3 Tage lang in Alkohol von 97—100% ober bei 30° im Gemisch von 1 ccm Ammoniak und 100 ccm Alkohol fixirt, nach Abspülen mit Wasser auf 4—5 Tage in 1 bis 1½%ige Lösung von Silbernitrat bei 30—35° gelegt, wieder abgespült und zur Reduktion in das Gemisch von 2 Th. Hydrochinon, 5 Th. Formol, 100 Th. Wasser (auch wohl  $\frac{1}{2}$  Th. wasserfreien Natriumsulfits) gebracht. Endlich dient zum Fixiren auch das Gemisch von 25 ccm Formol, 100 ccm Wasser und einigen Tropfen bis 1 ccm Ammoniak; man wäscht dann die Stücke 6—12 Stunden aus, bevor man sie in die Silberlösung bringt. — Die Methoden sollen sich zum Theil auch für die Darstellung der Holmgrensen Zellenkanäle eignen.

\*) Der Autor macht in den beiden ausführlichsten Publikationen durchaus nicht die gleichen Angaben. Es erscheint daher zwecklos, hier die vielen Einzelheiten zu bringen. Neuerdings (Trav. Lab. Rech. Biol. Madrid Tome 5 1907 p. 215ff.) liefert er sogar 15 Formeln zur Fixirung des Nervengewebes für die Versilberung und benutzt dabei das Formamid, Piperidin, Äthylamin, Nikotin, Acetal etc.



PUSATERI (Arch. Path. Anat. 195. Bd. 1909 p. 547) legt das frische Gewebe auf 3—6 Tage bei 35—38° C. in das Gemisch von 45 ccm Tachiol (10%ige Lösung von Fluorsilber) und 155 ccm Wasser, wäscht es leicht ab und bringt es auf 24 Stunden in das Gemisch von 1—2 g Hydrochinon, 5—10 ccm Formol und 100 ccm Wasser. Die Paraffinschnitte vergoldet er (Chlorgold 1% 5, Essigsäure 2 Tropfen, Wasser 10 ccm; später 5%iges Natriumthiosulfat) und schafft sie durch Xylol in Balsam. — LENHOSSÉK (Arch. Mikr. Anat. 69. Bd. 1906 p. 246) vergoldet die Schnitte von den nach Ramón versilberten Spinalganglien und färbt sie der Kerne wegen mit Karmalaun nach. — BESTA (Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze Vol. 15 1910 p. 333) fixiert kleine Stücke 48 Stunden lang in saurem (5%  $\text{HNO}_3$ ) absolutem Alkohol, entsäuert sie in 96%igem mit  $\text{NH}_3$ , bringt sie in Wasser, von da in 2—2½%iges Silbernitrat bei 37° auf 1 Woche, reduziert mit Pyrogallussäure (1%) und bettet in Paraffin ein.

BIELSCHOWSKY & WOLFF (Biol. Centralbl. 25. Bd. 1905 p. 683) fixieren die höchstens 2 mm dicken Stücke in 6—10%igem neutralem Formol [wie lang?], waschen sie gut in destill. Wasser aus und bringen sie zur Vorversilberung auf wenigstens 2 Tage in 2%ige Höllensteinlösung (am besten im Dunkeln), waschen sie einige Minuten lang und legen sie im Dunkeln auf ½ bis mehrere Stunden in frische ammoniakalische Silberlösung. (Zu 10%iger Lösung von Silbernitrat setzt man unter Umschütteln tropfenweise 40%ige Natronlauge, bis keine Fällung mehr stattfindet, löst auf gleiche Weise das Präzipitat in möglichst wenig Ammoniak nahezu, filtriert und verdünnt mit destill. Wasser auf das 4—5fache. Die Lösung hält sich nur einige Stunden lang.) Dann waschen sie sie wieder, legen sie zur Reduktion (je nach der Dicke auf 1—6 Stunden) in 4—5%iges Formol und führen sie durch Xylol in Paraffin von 45—50° über. Die mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte bringen sie zur Fixierung des Silberbildes auf 1 bis 2 Stunden in 1—0,5%ige, am besten durch Lithiumcarbonat zu neutralisierende wässrige Lösung von Chlorgold, spülen sie ab, legen sie auf 5—15 Minuten in ein 5%iges „Fixirnatronbad“ (Natriumthiosulfat), waschen sie 6—12 Stunden lang in Leitungswasser und schaffen sie in Balsam. — Über die Behandlung von Gefrier- oder Paraffinschnitten s. unten.

Wenn sich bei der Reduktion die Kerne schwärzen, so ist die Imprägnation der Fibrillen mißlungen, aber dafür sind jene sowie das Zellplasma, speciell das Tigroid, so scharf wie bei Färbung mit Eisenhämatoxylin. — Die älteren Methoden von BIELSCHOWSKY allein oder im Verein mit POLLACK und WOLFF s. in: Neur. Centralbl. 23. Jahrg. 1903 p. 977; *ibid.* 24. Jahrg. 1904 p. 387; Journ. Psych. Neur. Leipzig 3. Bd. 1904 p. 170; *ibid.* 4. Bd. 1905 p. 227. Die ähnliche Methode von FAJERSZTAJN s. auf p. 458 der 2. Aufl. dieses Buches. — Eine



andere Art der Bereitung des Silberbades s. bei SCHLEMMER (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 23).

BIELSCHOWSKY (\*Journ. Psych. Neur. Leipzig 12. Bd. 1908; Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze Vol. 14 1909 p. 431) bringt die Gefrierschnitte vom Material aus Formol (s. oben) erst in Wasser, dann auf 24—48 Stunden in Pyridin, wäscht sie sorgfältig aus, legt sie auf 24 Stunden in 3%ige Lösung von Silbernitrat, darauf in das andere Silberbad (zu 5 ccm 20%iger Lösung 5 Tropfen 40%iger Natronlauge, dann Ammoniak, zuletzt 20 ccm Wasser), wäscht sie, reduziert sie in 20%igem Formol, etc. Für Paraffinschnitte fixiert er die Stücke jetzt 3—4 Tage lang in Pyridin, wässert sie aus, behandelt sie 3—5 Tage lang bei 36° mit 3%igem Silbernitrat, dann 24 Stunden lang mit dem anderen Silberbade, dem aber noch 80 ccm Wasser zugesetzt werden, wäscht, reduziert und führt sie in Paraffin über. — S. auch SCHÜTZ (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 143).

PATON (Mitth. Z. Stat. Neapel 18. Bd. 1907 p. 576) verwendet für Fischembryonen 4%iges, mit  $MgCO_3$  neutralisiertes Formol, macht beide Silberbäder nur  $\frac{3}{4}$ —1%ig, wäscht mit schwacher Essigsäure und braucht zum Reduzieren ein Gemisch von 10 ccm 1%iger Lösung von Hydrochinon und 1 ccm neutralen Formols; die Schnitte färbt er nach der Vergoldung mit 1%iger Lösung von Eosin in absol. Alkohol.

SAND (Arb. Neur. Inst. Wien 15. Bd. 1907 p. 341) fixiert für elektive Nervenfärbung die nicht über 5 mm dicken Stücke im Gemisch von 1 Th. Salpetersäure und 9 Th. Aceton (mehrere Male zu wechseln) 48 Stunden lang, entsäuert sie 6—8 Stunden lang in reinem Aceton, legt sie direkt auf 2 Stunden in geschmolzenes Paraffin (50° Schm.), klebt die Schnitte mit Eiweiß auf, bringt sie durch Xylol und Aceton direkt in 10%iges Silbernitrat auf 24 Stunden bei 30—38°, dann nach flüchtigem Abspülen in Wasser in das genau neutralisierte 2. Silberbad auf 48 Stunden im Brütoven, endlich auf 5—10 Minuten in das Goldbad (3 ccm 1%igen Goldchlorids, 17 ccm 2%iger Lösung von Rhodan ammonium, 80 ccm Wasser) etc. Statt  $NH_3$  kann Äthylendiamin dienen. Die Axencylinder werden grau bis schwarz. Für Neurofibrillen — Fixieren und Einbetten s. oben — kommen (p. 347) die Schnitte auf 3 Tage bei 35° in das 10%ige Silberbad, von da direkt auf 5 Minuten in das Gemisch von 5 Th. Gallussäure, 3 Th. Tannin, 10 Th. Natriumacetat und 1000 Th. Wasser; eventuell werden sie auch vergoldet.

GARIAEFF (Zeit. Wiss. Z. 92. Bd. 1909 p. 152) reduziert statt mit Formol mit 10%iger Lösung von Traubenzucker. — BOEKE (Anat. Anz. 35. Bd. 1909 p. 136) fixiert Embryonen von Säugern im Gemisch von 1 Th. Formol und 9 Th. 60%igen Alkohols, bringt sie in 90%igen Alkohol und behandelt kleine Stücke davon nach Bielschowsky.

LUGARO (Monit. Z. Ital. Anno 15 1904 p. 353) fixiert ganz kleine Stücke 24 Stunden lang in 10%igem Formol, dem 6% Salpetersäure zugesetzt sind



(oder ebenso lang im Gemische gleicher Theile gesättigter Lösungen von Sublimat und Pikrinsäure; dann 24stündiges Auswaschen in Wasser mit etwas Jodjodkalium), bringt sie auf kurze Zeit in Wasser, auf 1—2 Tage in 5%ige Lösung von Ammoniummolybdat und bettet sie durch Chloroform in Paraffin ein; die Schnitte wäscht er sorgfältig mit Wasser aus, bringt sie auf wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde in 3—4%ige Lösung von Kollargol, von da in Wasser, vergoldet sie mit Goldchlorid und Ammoniumrhodanat, wäscht sie aus (eventuell 4—5 Minuten lang in 2%iger Lösung von Natriumhyposulfit) und bringt sie in Balsam.

**691. Darstellung der Neurofibrillen durch Gold.** Über Apáthys Methoden s. oben p. 218. — JORIS (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1905 p. 486) fixirt kleine Stücke in Sublimat plus 5% Essigsäure 4—6 Stunden lang (nachher jodhaltiges Wasser) oder im Gemische von 10 Th. Formol, 6 Th. Salpetersäure und 100 Th. Wasser 24 Stunden lang, oder in Salpetersäure nach Bethe. Dann bringt er sie auf 8—12 Stunden in 5%ige Lösung von Ammoniummolybdat, von da durch Chloroform in Paraffin. Die aufgeklebten Schnitte wäscht er mit Wasser sorgfältig aus, färbt sie etwa 10 Minuten lang mit  $1\frac{1}{2}$ %iger Lösung von kolloidalem Golde (von Heyden in Radebeul) in destill. Wasser und führt sie nach dem Auswaschen durch Alkohol und Chloroform in Balsam über. Ist vor der Färbung nicht sehr gründlich ausgewaschen, so tingiren sich zuerst die Markscheiden. — Nach DUSTIN (Trav. Inst. Solvay Bruxelles Tome 7 Fasc. 3 1906 p. 134) eignet sich die Methode nicht für junge Embryonen, färbt auch die ganz feinen Neurofibrillen nicht.

**692. Struktur der markhaltigen Faser.** Zur Demonstration des Axencylinders und der Schwannschen Scheide kann man das Myelin entfernen: durch Kochen der Fasern mit Natronlauge (und Neutralisiren) oder einem Gemisch von Äther und absolutem Alkohol unter Zusatz von etwas Ätznatron, oder Eisessig oder rauchender Salpetersäure (und Neutralisiren); oder (nach KUHN in: Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 p. 442) durch Behandeln der mit Osmiumsäure fixirten Präparate mit Eau de Javelle oder schwachem Ammoniak; oder (nach VAN GEUCHTEN in litt.) durch längeres Einlegen in Alkohol und Äther. — Über das Myelin s. auch GAD & HEYMANS (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1890 p. 531) und WLASSAK (Arch. Entwicklungsmech. 6. Bd. 1898 p. 453) sowie § 703.

KRAUSE (Encyclop. 2. Bd. p. 243) färbt die Schwannsche Scheide durch direktes Einlegen von Gefrierschnitten frischer Nerven in so eben bereitetes Hämalan auf 10—15 Minuten. Einschluß in Lävulosesyrup.

**693. Neurokeratin.** Färbung nach GALLI (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 467) mit Chinablau, nach PLATNER (ibid. 6. Bd. 1889 p. 186) mit Echtgrün (Dinitrosoresorcin; Fixirung der Nerven mit Eisenchlorid; s. auch BEER in: Jahrb. Psychiatr. 11. Bd. 1893 1. Heft). Darstellung durch Verdauen nach GEDOELST (La Cellule Tome 3 1887 p. 171, Tome 5 1889 p. 136). — S. auch COX



(Anat. Hefte 1. Abth. 10. Bd. 1898 p. 101: Ausziehen des osmirten Myelins aus den Paraffinschnitten durch Bergamottöl), CORNING (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 309: Eisenhämatoxylin) und KAPLAN (Arch. Psychiatr. 35. Bd. 1902 Heft 3: Färbung der Schnitte von Material aus Müllers Gemisch mit Anthracenblau SWR von Höchst oder mit Säurefuchsin, Differenzierung in beiden Fällen nach Pal).

**694. Andere Methoden für markhaltige Nerven.** RANVIER, *Traité* 1. Ed. p. 718 ff.; REZZONICO (\*Arch. Sc. Med. Torino 1879 p. 237); TIZZONI (ibid. 1878 p. 4: Kochen in Chloroform, Färben, Einlegen in Glycerin); BOVERI (Abh. Akad. München 15. Bd. 2. Abth. 1885 p. 424); JAKIMOVITCH (Journ. Anat. Phys. Paris 23. Année 1888 p. 142: imprägnirt den Axencylinder mit Höllenstein, s. § 351); SCHIEFFERDECKER (Behrens, Kossel & Schiefferdecker, *Mikroskop* 2. Bd. p. 227); HUBER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 394: Safranin und Lichtgrün nach Benda); RABL (ibid. 11. Bd. 1894 p. 42: die Frommannschen Linien sind Artefakte); FISCHER (ibid. p. 48: Resultat ähnlich); TIRELLI (ibid. 11. Bd. 1894 p. 391); SEGALL (Journ. Anat. Phys. Paris 29. Année 1893 p. 586); MARCHESINI (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 211: Sublimat und Schwefelkalium); MÖNCKEBERG & BETHE (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 150: Versilberung nach Boveri).

---



## 28. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung der Nerven:  
Färbung des Myelins und Axencylinders.****a) Färbung des Myelins.**

**695. Allgemeines.** Die wichtigsten Methoden zum Studium des Verlaufes der markhaltigen Nervenfasern sind die drei von Weigert mit Hämatoxylin (1884, 1885, 1891). Während die gewöhnliche Färbung durch Hämatoxylin auf einer Verbindung des Hämateins mit Thonerde beruht, liegt bei den Weigertschen eine solche mit Chrom oder Kupfer vor, die das Myelin in spezifischer Weise färbt, sich aber erst in den Geweben bildet. Im Einzelnen sind diese Methoden durch WEIGERT und Andere sehr modifiziert worden, und so ist die von 1884 (\*Fortschr. Med. 2. Bd. 1884 p. 113, 190), wobei es sich um eine Verbindung mit Chrom handelt, gegenwärtig wohl überholt. Nicht so die beiden neueren, die auf der Bildung von Hämateinkupfer beruhen. — HEIDENHAIN (Arch. Mikr. Anat. 43. Bd. 1894 p. 432) konstatirt, daß die „Weigertsche Nervenfärbung ganz vorzüglich unter Zugrundelegung des Hämateins geräth“. — S. auch BOLTON (Journ. Anat. Phys. London Vol. 32 1898 p. 247; Vol. 33 1899 p. 297: leugnet, daß das Myelin spezifisch gefärbt werde) und HERRICK (Contr. Path. Inst. New York State Hosp. Vol. 1 & 2 1898 N. 20).

**696. Weigerts Methode von 1885.** (\*Fortschr. Med. 2. Bd. 1884 p. 190; 3. Bd. 1885 p. 236; Anat. Hefte 2. Abth. 6. Bd. 1897 p. 10). Man härtet die Gewebe in Lösung von Kaliumbichromat oder dem Gemisch von Müller, Kultschitzky oder Zenker, bis die Gewebe erst braun, nicht schon grün geworden sind (die grünen sind auch zu brauchen, wenn sie einmal gut braun gewesen sind). Man kann nun, muß es aber nicht, das Objekt in Celloidin einbetten, aufkitten und wie gebräuchlich härten; jedenfalls bringt man es auf 1—2 Tage bei Brütwärme in halbgesättigte Lösung von neutralem Kupferacetat. Die



Schnitte legt man auf 2—24 Stunden in ein Hämatoxylingemisch (H.  $\frac{3}{4}$ —1 g, Alkohol 10 g, Wasser 90 g, gesättigte Lösung von Lithiumcarbonat 1 g) oder eine wässrige Hämateinlösung ohne Alkali, wäscht sie mit Wasser und entfärbt sie im Gemisch von 4 g Borax, 5 g Ferricyankalium und 400 g Wasser je nach dem Gewebe  $\frac{1}{2}$  bis mehrere Stunden lang, wäscht sie wieder und bringt sie in Balsam. Auch kann man sie der Kerne wegen vorher mit Alaunkarmin färben. — S. auch GELPKE (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 484).

Die Gewebe dürfen in Alkohol oder sonstwie gehärtet sein, wenn sie nur in einem chromsauren Salz gebräunt worden sind, bevor sie in die Kupferlösung kommen. — FLESCH (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 50) bringt erst die Schnitte in das Kupferbad, wäscht sie mit 70%igem Alkohol aus und legt sie in das Hämatoxylingemisch. — PANETH (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 213) verwendet statt des Hämatoxylin Extrakt von Blauholz, BREGLIA (Giorn. Ass. Med. Natural. Napoli Anno 1 1889 p. 169) ebenfalls oder das von Fernambukholz. — S. auch BERLINERBLAU (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 50: Regeneration der Färbelösung).

GEROTA (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 315) löst 3 g Hämatoxylin in 30 g absol. Alkohols, fügt 100 g 1%iger Alaunlösung hinzu, läßt 10 Tage stehen und färbt mit diesem Gemisch die Schnitte von Rückenmark bei 37° C. 4—24 Stunden lang, bringt sie nach dem Abspülen mit Wasser auf 2 Stunden in das Kupferacetat (bei 37° C.) und differenzirt sie.

Diese Methode von Weigert läßt die blauschwarzen Nerven auf dem goldigen Grunde lebhaft hervortreten und eignet sich gleich gut für das periphere wie für das centrale Nervensystem und nach SCHIEFFERDECKER (Anat. Anz. 3. Jahrg. 1887 p. 680) für Lymphdrüsen, Blut und Haut.

**697. Weigerts Methode von 1891.** (\*D. Med. Wochenschr. 42 Jahrg. 1891 p. 1184; Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 392). Das Material wird mit Kaliumbichromat gehärtet und in Celloidin eingebettet. Die gehärteten Blöcke kommen in einem Brütoven auf 24—48 Stunden in das Gemisch gleicher Theile kalt gesättigter Lösung von neutralem Kupferacetat und 10%iger Lösung von Seignettesalz (Kaliumnatriumtartrat), dann auf 24 Stunden, ebenfalls im Brütoven, in gesättigte oder halbgesättigte Lösung von Kupferacetat, darauf zum Abspülen in Wasser, endlich auf wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde in Alkohol von 70%. Die Schnitte werden 24 Stunden lang im frischen Gemisch von 9 Vol. schwacher Lösung von Lithiumcarbonat (7 Vol. gesättigte Lösung mit 93 Vol. Wasser) mit 1 Vol. 10%iger Lösung von Hämatoxylin in Alkohol belassen, gut mit Wasser abgespült und durch 90%igen Alkohol, ein Gemisch von Karbolsäure und Xylol oder von Anilinöl (2 Theile) und Xylol (1 Theil), endlich durch reines Xylol in Xylolbalsam gebracht.



Die markhaltigen Fasern treten dunkelblau hervor; soll der Grund besonders farblos sein, so nimmt man statt des 2. Waschwassers schwache Essigsäure ( $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{2}$  %). Dickere Schnitte oder Schnittserien in Celloidin differenzirt man mit dieser Essigsäure oder dem Gemisch von Borax und Ferricyankalium (§ 696), das man aber noch verdünnt; dann wird freilich der Grund gelb.

Später (Anat. Hefte 2. Abth. 3. Bd. 1894 p. 21) fand WEIGERT, daß sich die Präparate ohne Behandlung mit Ferricyankalium nicht gut halten, kehrte daher zur Differenzirung damit zurück. Ferner (ibid. 6. Bd. 1897 p. 14) gelang es ihm, die eventuell in Formol fixirten Objekte in 5 % iger Lösung von Ka-, Na- oder Am-Bichromat unter Zusatz von 2 % Fluorchrom schon in 4—5 Tagen zu bräunen. Neuerdings (Encyclop. 1. Aufl. p. 942) verkupfert er sie einfach und schnell im Gemisch von 10 Th. neutr. Kupferacetat, 5 Th. Fluorchrom, 10 Th. Essigsäure und 200 Th. Wasser; die Schnitte färbt er im frischen Gemische gleicher Raumtheile der Lösung von Eisenchlorid (4 Th. Liq. ferri sesquichlor. der Pharm. Germ. und 96 Th. Wasser) und von Hämatoxylin (1 Th. 10 % iger alkoholischer Lösung und 9 Th. Alkohol von 96 %) wenigstens 12 Stunden lang, spült sie ab und differenzirt sie im Borax und Ferricyankalium.

Nach REICH (Journ. Psych. Neur. Leipzig 8. Bd. 1907 p. 258) ist die Weigertsche Färbung in erster Linie durch das Lecithin bedingt.

**698. Modifikationen der Methode von Weigert.** Nach PAL (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 92; 5. Bd. 1888 p. 88) verfährt man zuerst wie Weigert (§ 696), läßt aber das Kupferbad fort, färbt dann wie Weigert, wäscht die Schnitte mit Wasser (werden sie nicht tiefblau, so muß man zum Wasser eine Spur Lithiumcarbonat geben), bringt sie auf 20—30 Sekunden in  $\frac{1}{4}$  % ige wässrige Lösung von Kaliumhyperpermanganat, wäscht sie wieder und entfärbt sie in der Lösung von je 1 g Oxalsäure und Kaliumsulfid ( $K_2SO_3$ ) in 200 g Wasser: in wenigen Sekunden wird die graue Substanz farblos, während die weiße blau bleibt. Nun wäscht man die Schnitte gut, kann sie auch mit Magdalaroth, Eosin, Pikro- und Essigsäurekarmin färben (Genaueres s. im Original oder bei Behrens, Kossel und Schiefferdecker, Das Mikroskop 1. Bd. p. 199).

Diese Methode gibt hübschere Präparate (mit farblosem Grunde) als die von Weigert, ist aber nicht so leicht zu kontrolliren, besonders weil die Entfärbung nur wenige Sekunden dauert. WEIGERT (Encyclop. 1. Aufl. p. 943) läßt



sie daher nur für sehr dicke Schnitte zu; die Verwendung des Hypermanganates und Sulfites rührt (l. c. p. 1020) von Lustgarten her. — S. auch DÖLLKEN (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 443) und PAVLOW (ibid. 21. Bd. 1904 p. 14).

MARCUS (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 241) härtet Rückenmark 2—4 Wochen lang in „ $\frac{1}{2}$ %igem Formol“, schneidet Stücke von 5 mm Dicke heraus, legt sie auf eine Woche bei 37° C. in Müllers Gemisch, bettet sie in Celloidin ein, bringt die Schnitte auf einige Tage in Müllers Gemisch zurück, wäscht sie in Alkohol und behandelt sie nach Pal. — S. auch oben § 665 (MARINA). — GUDDEN (Neur. Centralbl. 16. Jahrg. 1897 p. 24) legt Celloidinschnitte von Material, das mit 5—10%iger Formollösung und dann mit 96%igem Alkohol fixiert worden ist, auf 10 Stunden in 0,55%ige Chromsäure, spült sie mit Wasser ab, tränkt sie kurz mit 80%igem Alkohol und findet sie nun für die Färbung nach Weigert (und Pal) geeignet, besonders wenn man der Hämatoxylinlösung etwas verdünnte Salpetersäure hinzufügt. — WEIGERT (Encyclop. 1. Aufl. p. 941) ist nicht sonderlich damit zufrieden. — S. auch § 718 (BOLTON).

KULTSCHITZKY (Anat. Anz. 4. Jahrg. 1889 p. 223, 5. Jahrg. 1890 p. 519; von den beiden Methoden sei nur die zweite wiedergegeben) härtet das Material 1—2 Monate lang in Erlickis Gemisch, färbt die Celloidinschnitte im Gemisch von 1 g Hämatoxylin, etwas Alkohol und 100 ccm 2%iger Essigsäure und wäscht sie mit konzentrierter Lösung von Lithium- oder Natriumcarbonat (besser unter Zusatz von 10% 1%iger Lösung von Ferricyankalium). — WOLTERS (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 466) verfährt ebenso, färbt aber die Schnitte 24 Stunden lang in dem auf 45° C. erwärmten Gemisch, taucht sie in Müllers Gemisch und differenzirt sie nach Pal. — KAES (ibid. 8. Bd. 1891 p. 388) färbt 2—3 Tage lang und differenzirt mehrere Male. — S. auch KARUSIN & TSCHERNYSCHJEFF (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 354) und MITROPHANOW (ibid. p. 361). — HEILMEYER (Sitzungsb. Ges. Morph. Phys. München 5. Bd. 1899 p. 83 u. 84) differenzirt die Färbung in den Schnitten mit Chlor, das er aus Eau de Labarraque durch Salzsäure in Freiheit setzt. — BÖHM & OPPEL (Taschenbuch 4. Aufl. 1900 p. 146) lassen die Salzsäure fort und nehmen auch wohl Eau de Javelle.

KAISER (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 249; die älteren Methoden s. ibid. 9. Bd. 1893 p. 468) legt das Material in Müllers Gemisch, schneidet es nach 2—3 Tagen in Scheiben von 2—4 mm Dicke, bringt diese auf 5—6 Tage in das Fixirmittel zurück und dann auf eine Woche in das Gemisch von Marchi (unten § 703). Die Celloidinschnitte behandelt er 5 Minuten lang mit verdünntem Liq. Ferri sesquichlorati (1 Theil auf 1 Th. Wasser und 3 Th. Alkohol von 70%), wäscht sie in Weigerts Hämatoxylin (§ 696) ab, erwärmt sie in einer frischen Portion davon einige Minuten lang, wäscht sie mit Wasser, differenzirt sie in Pals Gemisch und neutralisirt die Oxalsäure durch schwaches Ammoniak. — KOZOWSKY (Neur. Centralbl. 23. Jahrg. 1904 p. 1041) behandelt die nach Weigert gefärbten Celloidinschnitte mit 1%iger Lösung von Kaliumhypermanganat, bis sie braun werden, dann mit Liq. Ferri sesquichlor., wäscht sie und bringt sie in Balsam. — S. auch § 879.

BERKLEY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 370) härtet Scheiben von höchstens 2 $\frac{1}{2}$  mm Dicke bei 25° C. 24—30 Stunden lang in Flemmings Gemisch,



bringt sie direkt in absoluten Alkohol und wechselt diesen in den ersten 24 Stunden 2mal. Sind sie hart genug, so bettet er sie in Celloidin. Die Schnitte wäscht er mit Wasser, beizt sie in konzentrierter Lösung von Kupferacetat (bei 35—40° C. nur  $\frac{1}{2}$  Stunde lang), wäscht sie wieder, färbt sie 15—20 Minuten lang bei 40° C. in Hämatoxylin (mit Lithiumcarbonat) und differenzirt sie kalt 1—3 Minuten lang in Weigerts Ferricyankalium, das man mit  $\frac{1}{3}$  Vol. Wasser verdünnen kann.

HILL (Brain Vol. 19 1896 p. 1; s. auch Phil. Trans. Vol. 184 B 1894 p. 399) färbt erst in toto 24 Stunden lang in Karmalaun, dann die Schnitte mit Hämatoxylin nach Weigert, nimmt aber das Kaliumhyperpermanganat oder Ferricyankalium nur halb so stark: Nervenzellen, Fortsätze und marklose Fasern schwarz, markhaltige blau.

STREETER (Arch. Mikr. Anat. 62. Bd. 1903 p. 734) fixirt und bräunt die Stücke nach Weigert mit Bichromat und Fluorchrom 4—8 Tage lang, verkupfert sie aber nicht, sondern wäscht sie 1—2 Wochen lang in Alkohol von 80% aus, färbt sie 4—6 Tage lang in Weigerts Hämatoxylin und Lithiumcarbonat, bringt sie in 70%igen Alkohol und bettet sie in Paraffin ein. Erst die Schnitte differenzirt er (nach Weigert oder Pal) und führt sie durch Karbolxylol in Balsam über.

#### 699. Noch andere Modifikationen oder ähnliche Methoden.

FLECHSIG (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1889 p. 537: mit japanischem Rothholz); ROSSI (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 182); MERCIER (ibid. 7. Bd. 1891 p. 480); HAUG (ibid. 7. Bd. 1890 p. 153); VAN WALSEM (ibid. 11. Bd. 1894 p. 236; Verh. Akad. Amsterdam (2) 7. Deel 1899 No. 1); ALLERHAND (Neur. Centralbl. 16. Jahrg. 1897 p. 727: Beizung der Schnitte mit Eisenchlorid, nachher Gerbsäure, Differenzirung nach Pal); SCHRÖTTER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 381: Alizarin); KODIS (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 214: Fixirung s. oben § 666, Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin); STOELTZNER (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 329: Eisenhämatoxylin). — S. auch § 667 (STRONG).

700. Methode von Benda. BENDA (Zeit. Wiss. Mikr. 20. Bd. 1903 p. 232) färbt Gefrierschnitte von Material aus 10%igem Formol, ohne sie vorher in Wasser zu bringen, wenigstens 24 Stunden lang mit Böhmers Alaunhämatoxylin und behandelt sie mit Weigerts Borax-Blutlaugensalz, bis die Zellkerne entfärbt sind. Letztere kann man mit Safranin, Toluidinblau etc. nachfärben. Nur die Hornschicht der Haut hält die Hämatäinthonerde so fest wie die Markscheiden.

701. Optische Methode für Myelin. AMBRONN & HELD (Ber. Math. Physik. Cl. Ges. Wiss. Leipzig f. 1895 p. 37) prüfen die frischen Nervenfasern in Normalsalzwasser mit dem Polarisationsapparat auf das Vorhandensein von Nervenmark: die peripheren Nerven einfach isolirt, von den Centralorganen hingegen Gefrierschnitte von 160  $\mu$  Dicke. Auersche Gasflamme; Gipsplättchen Purpur I; Linsen CC und DD von Zeiß.



**702. Osmiumsäure.** EXNER (Sitzungsb. Akad. Wien 83. Bd. 3. Abth. 1881 p. 151) legt höchstens 1 ccm große Stücke von Gehirn auf 5—10 Tage in 10 mal so viel 1%ige Osmiumsäure (nach 2 und 4 Tagen zu erneuern), wäscht sie aus und bettet sie ein. Die Schnitte bringt er auf dem Objektträger in etwas Ammoniak zum Quellen, sodaß nur die Fasern schwarz bleiben, und schließt sie in Glycerin plus Wasserglas ein. — BELLONCI (Arch. Ital. Biol. Tome 6 1884 p. 405) härtet den Opticus der Säugethiere 14—20 Stunden lang in  $\frac{1}{2}$ —1%iger Osmiumsäure und behandelt die Schnitte erst 3—4 Stunden lang mit 80%igem Alkohol, dann mit Ammoniak.

BORCHERT (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1904 p. 574) zerschneidet die in 10%igem Formol fixirten Hirne von Selachiern in 3 mm dicke Scheiben, legt diese auf 24 Stunden in 1%ige Osmiumsäure, wäscht sie aus und bettet sie in Paraffin ein. Die Schnitte bringt er theils direkt, theils nach Behandlung mit Pals Differenzirgemisch (oben § 698) und sehr gutem Auswaschen in Balsam. Die Methode sei besser als die von Weigert und Pal.

**703. Osmiumsäure für degenerirte Nerven.** MARCHI (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1893 p. 350) härtet kleine Stücken von Nerven 1 Woche lang in Müllers Gemisch und legt sie dann auf einige Tage in ein Gemisch von 2 Theilen von diesem und 1 Theil 1%iger Lösung von Osmiumsäure. So färben sich nur die degenerirten Scheiden schwarz, während die normalen gelb werden. Diese Methode gibt von den degenerirten Nerven positive Bilder, die Weigertsche negative. — Kritiken der Methode s. bei WEIGERT (Anat. Hefte 2. Abth. 7. Bd. 1898 p. 3) und MATUSZEWSKI (Arch. Path. Anat. 179. Bd. 1905 p. 12).

VASSALE (Arch. Ital. Biol. Tome 24 1895 p. 91) nimmt als 2. Gemisch 75 ccm Müllers Gemisch, 25 ccm 1%iger Osmiumsäure und 20 Tropfen Salpetersäure. — SCHAFFER (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 892) härtet Rückenmark 3—6 Monate lang, legt es in Marchis Gemisch auf 1 Woche und wäscht es 1—2 Wochen lang aus. Die Färbung nach Azoulay (§ 704) sei nicht so gut wie die nach Marchi. — S. auch § 718 (DONAGGIO).

NISSL (Encyclop. 2. Bd. p. 248) weist darauf hin, daß der Alkohol der Färbung nach Marchi schade, da er die Markscheiden angreife, klebt daher die nur mit Wasser gut ausgewaschenen Objekte mit Siegelack auf Kork oder umgibt sie mit einem Mantel aus Wachs etc. und benetzt das Messer mit Seifenwasser; nur im Nothfalle bettet er sie recht rasch in Celloidin ein. Auch die Schnitte läßt er nur kurze Zeit in 96%igem Alkohol und bringt sie von da durch Bergamottöl, Cajeputöl oder Karbolxylol in Balsam. Die Osmirung der Schnitte hält er nicht für gut.

LANGLEY & ANDERSON (Journ. Phys. Cambridge Vol. 24 1899 p. XXXI) härten die Objekte bis zu 1 Jahr in 2%iger Lösung von Bichromat oder in Müllers Gemisch, durchtränken sie mit Gummi + Bichromat, schneiden sie mit



dem Gefriermikrotom, waschen das Gummi mit Bichromatlösung aus und bringen die Schnitte in Marchis Gemisch. — RAIMANN (Neur. Centralbl. 20. Jahrg. 1901 p. 609) bringt um die Stücke einen Mantel aus Paraffin und Wachs an und schneidet sie auf dem gewöhnlichen Mikrotom.

BUSCH (Neur. Centralbl. 17. Jahrg. 1898 p. 476) legt die in Formol gehärteten Objekte auf 5—7 Tage in sein Gemisch aus Osmiumsäure und Natriumjodat (oben p. 28), damit die Färbung tiefer eindringe. Zu gleichem Zwecke verwendet ORR (Journ. R. Micr. Soc. London 1900 p. 399) das Gemisch von 4 ccm 2%iger Osmiumsäure und 1 ccm 1%iger Essigsäure.

RAMÓN Y CAJAL (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 192) fixiert die Stücke 4—6 Tage lang im Gemisch von 20 ccm 3%iger Lösung von Kaliumbichromat, 5 ccm 1%iger Osmiumsäure und entweder 1—3 ccm gesättigter Lösung von Eisenchlorid oder 5 ccm 3%iger Lösung von Ferrocyankalium. Einbettung in Celloidin unnötig. Markhaltige Fasern gelb, Fett schwarz. — Über eine äußerst umständliche Versilberung der Schnitte s. *ibid.* 20. Bd. 1904 p. 458.

Nach WLASSAK (Arch. Entwicklungsmech. 6. Bd. 1898 p. 464) weist Marchis Methode nur das Fett, Weigerts Färbung das Protagon, Osmiumsäure bei Anwendung auf frische Gewebe das Fett + Lecithin nach. — Nach ELLERMANN (Skand. Arch. Phys. Leipzig 14. Bd. 1903 p. 369) ist der färbbare Stoff in den Markscheiden wahrscheinlich aus dem Protagon abgespalten; Osmiumsäure weist direkt kein Lecithin nach. — S. auch MOTT & HALLIBURTON (Phil. Trans. Vol. 194B 1901 p. 439). — Nach REICH (Journ. Psych. Neur. Leipzig 8. Bd. 1907 p. 258) dagegen wird sowohl durch Weigerts Methode als auch durch Osmium besonders das Lecithin geschwärzt. Dieses zeigt ferner starke Affinität zu Säurefuchsin, dagegen färbt Thionin das Protagon metachromatisch karminroth (Unnas Neuromucin = Protagon!), ähnlich Toluidinblau und polychrom. Methylenblau. Formol ist für die Markscheiden nicht gut, jedenfalls muß man hinterher den Alkohol vermeiden und Gefrierschnitte machen (mit Benda).

Über Protagon s. LE GOFF in: C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 5 1898 p. 369), ROSENHEIM & TEBB (Journ. Phys. Cambridge Vol. 36 1907 p. 1, Vol. 38 *passim*, Q. Journ. Exper. Phys. London Vol. 2 1909 p. 317) und WILSON & CRAMER (*ibid.* Vol. 1 1908 p. 109, Vol. 2 p. 1909 p. 91).

**704. Osmiumsäure und Gerbsäure.** AZOULAY (Anat. Anz. 10. Jahrg. 1894 p. 25; C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 1 1894 p. 629) wäscht Objekte, die mehrere Monate in Müllerschem Gemisch gewesen sind, zwei Tage lang mit Wasser, bettet sie in Celloidin und schneidet sie; die Schnitte wäscht er mit Wasser, legt sie auf 5—15 Minuten in Osmiumsäure (1 : 500 oder 1 : 1000), spült sie ab und bringt sie auf 2—5 Minuten in 5- oder 10%ige Lösung von Gerbsäure entweder im Ofen bei 50—55° C. oder über einer Flamme, bis Dämpfe aufsteigen. Dann wäscht er sie wieder 5 Minuten lang, färbt sie eventuell mit Karmin oder Eosin und bringt sie in Balsam. Sind die Schnitte zu dick, so muß man sie hinterher nach Pal oder mit verdünnter Eau de



Javelle (1 : 50) behandeln. — Sind die Objekte bereits mit Osmium fixirt worden, also im Gemisch von Flemming etc., so kommen die Schnitte direkt auf 3—10 Minuten in das warme Tanninbad.

**705. Osmiumsäure und Pyrogallussäure.** HELLER & GUMPERTZ (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1896 p. 385) sowie HELLER (ibid. 15. Bd. 1899 p. 495) bringen die Celloidinschnitte von Material, das in Müllers Gemisch fixirt worden ist, auf 10—30 Minuten in 1%ige Osmiumsäure, von da in Pyrogallussäure, dann in Kaliumhyperpermanganat und zuletzt in 2%ige Lösung von Oxalsäure. Die Schnitte können vor oder nach der Osmirung mit Alaunkarmin gefärbt werden. — Ähnlich ROBERTSON (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 80).

**706. Osmiumsäure und Toluidinblau.** MÖNCKEBERG & BETHE (Arch. Mikr. Anat. 54 Bd. 1899 p. 141) fixiren die in natürlicher Länge aufgespannten Nerven 24 Stunden lang mit Osmiumsäure (1/4 % ige Lösung, für Seethiere mit Seewasser zu bereiten), bringen sie in Wasser, in Alkohol von 90 %, wieder in Wasser und legen sie auf 6—12 Stunden in 2 % ige Lösung von Natriumbisulfit, der eben vorher auf je 10 ccm 2—4 Tropfen Salzsäure zugesetzt sind. Von da in Paraffin. Die mit Eiweiß aufgeklebten Schnitte werden direkt, oder nach Beizen mit 1—4 % iger Lösung von Ammoniummolybdat, mit Toluidinblau (1 : 1000) gefärbt (s. § 687).

**707. Osmiumsäure und Pikrinsäure.** FINOTTI (Arch. Path. Anat. 143. Bd. 1896 p. 169) bringt die Schnitte von Objekten aus Müllers Gemisch auf 4—10 Stunden in ein frisches Gemisch von konzentrierter Pikrinsäurelösung in Alkohol von 30 % (3—2 Theile) und 1 % iger Osmiumsäure (1 Theil), dann in Wasser, darauf in Alauncochenille.

**708. Silbernitrat.** VASTARINI-CRESI (Atti Accad. Med. Chir. Napoli Anno 50 1896) härtet Rückenmark in Formol, schneidet es in dicke Scheiben, wäscht diese mit 40 % igem Alkohol aus, legt sie im Dunkeln in 3/4- oder 1 % ige Lösung von Silbernitrat in Alkohol von 40 oder 70 %, wäscht sie sorgfältig aus und erhält so das Mark dunkel, fast schwarz gefärbt.

**709. Argentamin.** MOSSE (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 404) bringt die Stücke aus Müllers Gemisch oder anderen Chromatlösungen direkt in Alkohol, dann in Celloidin, legt die Schnitte auf 24 Stunden in Müllers Gemisch, von da auf 10 Minuten in 1—2 % ige Lösung von Argentamin (oben p. 339), spült sie in Wasser ab, legt sie in 10 % ige Lösung von Pyrogallol, bis sie schwarz werden, und behandelt sie nach Pal. Markscheiden braunschwarz.

**710. Goldchlorid.** FREY (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. Suppl. 1897 p. 108) härtet ganz kleine Stücke menschlicher Haut in 2 % iger Lösung von Ammoniumbichromat mindestens 2 Wochen lang im Eisschrank, bringt sie nach kurzem



Waschen auf 1 Stunde in Goldlösung (1% ig mit 1% Salzsäure) und von da nach Abspülung auf 24 Stunden im Dunkeln in  $\frac{1}{50}$ % ige Chromsäure, läßt die 30—40  $\mu$  dicken Gefrierschnitte auf dem Objektträger antrocknen, wäscht sie gut mit starker Lösung von Natriumhyposulfit, trocknet sie nochmals und schließt sie in Balsam ein. Das Gold liegt als Körnchen in den Markscheiden (s. auch oben p. 218) und der Wand der Fettzellen. — S. auch § 742 (ZIEHEN).

**711. Toluidinblau.** HARRIS (Philadelphia Med. Journ. 1898; Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 63) färbt Schnitte von Material, das für Weigerts Methode gechromt ist, in der Lösung von je 1% Toluidinblau und Borax in Wasser und behandelt sie mit gesättigter Lösung von Gerbsäure oder für die Axencylinder mit 1% iger Lösung von Oxalsäure in Alkohol.

**712. Methylenblau.** BING & ELLERMANN (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1901 p. 260) fixiren das Material 4—6 Tage lang im Gemische von 1 Th. Formol und 9 Th. Aceton, färben die Schnitte [wie angefertigt?] 5—10 Minuten lang in gesättigter wässriger Lösung von Methylenblau, waschen sie aus, bringen sie auf 1—2 Minuten in gesättigte wässrige Lösung von Pikrinsäure und durch Alkohol und Bergamottöl in Balsam. — FRÄNKEL (Neur. Centralbl. 23. Jahrg. 1903 p. 768) färbt die Celloidinschnitte von Material aus Müllers Gemisch oder Weigerts Bichromat-Chromalaun bis 24 Stunden lang in polychromem Methylenblau, fixirt die Färbung in gesättigter Gerbsäurelösung, färbt und fixirt nochmals und bringt die Schnitte durch Alkohol von 96% und Bergamottöl in Balsam.

#### b) Färbung des Axencylinders (und des Myelins).

**713.** Über mehrere, zum Theil äußerst umständliche Methoden von RAMÓN Y CAJAL zur Färbung des Axencylinders mit Gold oder Silber s. Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 187; s. ferner oben p. 345 (SAND). — BESTA (ibid. 24. Bd. 1907 p. 185) fixirt die Nerven im Gemisch von 4 g Zinnammonchlorid, 25 ccm Formol und 100 ccm Wasser 1—3 Tage lang und bringt sie nach dem Auswaschen in Paraffin.

**714. Jodpalladium.** PALADINO (Boll. Accad. Med. Roma Anno 19 1893 p. 256; Arch. Ital. Biol. Tome 22 1894 p. 40) bringt die Objekte aus Müllers Gemisch oder Kaliumbichromat (2—4%) unter die Wasserleitung, dann allmählich in Alkohol von 96%, schneidet sie in kleine Stücke und legt diese zum „Entmarken“ im Brütöfen auf je 1 Stunde in absol. Alkohol und Benzol, von da auf 24 Stunden in kalten absol. Alkohol, nun auf wenigstens eine Woche in viel 1—2% ige Lösung von Chlorpalladium, dann auf 1—2 Tage in wenig 4% ige Lösung von Jodkalium, zum Schluß in Celloidin; Schnitte in Chloroformbalsam. — Über die ältere Methode s. in § 714 der 3. Auflage dieses Buches.

**715. Hämatoxylinvanadium.** WOLTERS (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1891 p. 471) bettet das nach Kultschitzky gehärtete und mit Alkohol behandelte Material (oben § 59) in Celloidin oder Paraffin ein; die Schnitte beizt er 24 Stunden lang mit dem Gemisch von 1 Theil 10% iger Lösung von Chlorvanadium und



4 Theilen 8% iger Lösung von Aluminiumacetat, wäscht sie 10 Minuten lang mit Wasser, färbt sie 24 Stunden in Kultschitzkys Hämatoxylin (1 g auf 50 ccm 2% iger Essigsäure), wäscht sie in saurem 80% igem ( $\frac{1}{2}$ % Salzsäure) Alkohol, bis sie hell blauröth werden, entsäuert sie sorgfältig in Alkohol und führt sie durch Origanumöl in Balsam über.

**716. Hämatoxylinkupfer.** SCARPATETTI (Neur. Centralbl. 16. Jahrg. 1897 p. 211) härtet Gehirn oder Rückenmark 3 Tage bis Monate lang in 5—10% igem Formol, dann in 95% igem Alkohol und bringt die Celloidinschnitte in Hämatoxylinlösung (1%), nach 5 Minuten in konzentr. Lösung von Kupferacetat, nach weiteren 5 Minuten in Weigerts Ferricyankalium (oben § 696), endlich in konzentr. Lösung von Lithiumcarbonat. Nur die Axencylinder sind gefärbt. — S. auch oben p. 352 (HILL).

**717. Hämatoxylinchrom** nach FAJERSZTAJN (Poln. Arch. Biol. Med. Wiss. Lemberg 1. Bd. 1901 p. 189). Gefrierschnitte von dem mit 5—10% igem Formaldehyd 2—7 Tage lang fixirten Gewebe werden 5—24 Stunden lang mit  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ % iger Chromsäure gebeizt, gut ausgewaschen und mit 1% iger wässriger Lösung von Hämatoxylin gefärbt ( $\frac{1}{2}$ —24 Stunden lang kalt oder 1—2 Minuten lang heiß). Nachbehandlung nach Pal.

**718. Hämatoxylin mit Nickel etc.** BOLTON (Journ. Anat. Phys. London Vol. 32 1898 p. 247; Vol. 33 1899 p. 292) fixirt menschliches Hirn mit Formol, beizt die Gefrierschnitte mit Nickel, Kobalt, Uran, Eisen etc., färbt sie mit Hämatoxylin nach Kultschitzky und erhält mehr die Axencylinder als die Markscheiden gefärbt. Entfärbung stets nach Pal. Besonders empfiehlt er als Beizen 1% ige Osmiumsäure, 2% ige Lösung von Eisenalaun und 2% ige Lösung von Ammoniummolybdat. — DONAGGIO (Ann. Nevrol. Napoli Anno 22 1904 p. 192) stellt die Axencylinder nach primärer Degeneration auf Schnitten durch Material aus Kaliumbichromat entweder durch Färbung mit dem Gemisch von Hämatoxylin und Pinksalz (oben § 266) und Entfärbung nach Pal dar, oder färbt mit Hämatoxylin und entfärbt mit Eisenchlorid oder Kupferacetat: die degenerirten Fasern halten den Farbstoff hartnäckiger fest als die normalen.

**719. Hämateinthonerde und Säurefuchsin.** FINOTTI (Arch. Path. Anat. 143. Bd. 1896 p. 167) färbt auf Schnitten 1) nur die Axencylinder mit Hämateinthonerde, dann mit  $\frac{1}{2}$ —1% iger Lösung von Säurefuchsin (3 Minuten lang, Differenzirung in 75% igem Alkohol mit etwas Ätzkali), 2) Axencylinder und Myelin in Hämatoxylin nach Delafield, dann einige Sekunden in konzentrirter Pikrinsäurelösung, darauf in Säurefuchsin ( $\frac{1}{2}$ % , dann Alkohol mit Ätzkali).

Die Methode von WEIGERT (Centralbl. Med. Wiss. 20. Bd. 1882 p. 753 u. 772) mit Säurefuchsin und Ätzkali hat nur noch historisches Interesse.

**720. Karmin.** Über die sehr umständliche Methode von CHILESOTTI für Axencylinder s. Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 161.



**721. Gallein.** ARONSON (Centralbl. Med. Wiss. 28. Jahrg. 1890 p. 577) legt die Schnitte von Material aus Erlitzkis Gemisch (wenn aus Müllers Gemisch, erst mit Kupferacetat zu behandeln) auf 12—24 Stunden (bei 37° C. nur auf 1—3 Stunden) in das Gemisch von Gallein-Paste 3—4 ccm, Alkohol 20, destill. Wasser 100 ccm, konzentr. Lösung von Soda 3 Tropfen. Dann differenzirt er sie nach Weigert oder Pal oder mit Chlorkalk (einige Tropfen der konzentr. wässerigen Lösung auf ein Schälchen voll Wasser), überträgt sie in konzentr. Lösung von Soda oder Lithiumcarbonat, bis sie roth werden, und bringt sie durch Origanumöl in Balsam. Nervenfasern roth. Da das Gallein als Beize für basische Farbstoffe dient (p. 593), so werden die Fasern blau, wenn man sie nach dem Kaliumhyperpermanganat 12—24 Stunden lang mit Methylenblau färbt und mit Wasser, Alkohol und Origanumöl gründlich auswäscht.

**722. Methylenblau.** Nach SAHLI (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 3) wäscht man die Schnitte von Material aus Kaliumbichromat 5—10 Minuten lang mit Wasser, färbt sie mehrere Stunden in konzentr. wässriger Lösung von Methylenblau, spült sie ab, färbt sie 5 Minuten lang in eben solcher Lösung von Säurefuchsin, spült sie mit Alkohol ab und legt sie in viel Wasser: Axencylinder roth, Myelin blau. Spült man sie dagegen mit schwach alkalischem ( $\frac{1}{10}$ —1% Ätzkali) Alkohol ab, differenzirt sie wieder in Wasser und führt sie durch Cedernöl in Balsam (in Cedernöl gelöst) über, so ist das Myelin theils roth, theils blau. — SAHLI (l. c. p. 50) färbt auch mit Methylenblau (3 Theile gesättigter Lösung, 2 Theile 5%iger Lösung von Borax und 5 Theile Wasser, 24 Stunden nach der Bereitung filtrirt), wäscht die Schnitte mit Wasser oder Alkohol, bis sich die graue Substanz von der weißen abhebt, und bringt sie wie oben in Balsam. Die Präparate halten sich nicht lange.

ROSSOLIMO & MURAWJEFF (Neur. Centralbl. 16. Jahrg. 1897 p. 722) färben Celloidinschnitte von Objekten aus Formol warm mit  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Methylenblau, bringen sie auf ganz kurze Zeit in „1% spirituöse (90%) Anilinlösung“ und führen sie durch Cajeputöl in Balsam über.

**723. Toluidinblau.** S. oben § 711 und § 706.

**724. Gentianaviolett.** OHLMACHER (\*Journ. Exper. Med. Vol. 2 1897 p. 675) färbt aufgeklebte Schnitte 1 Minute lang mit Ehrlichs Gentianaviolett (Gent. 1, Alkohol 15, Anilin 3, Wasser 80 Theile), wäscht sie, färbt sie einige Sekunden lang im Gemisch von 200 Theilen halbgesättigter Lösung von Pikrinsäure und 1 Theil Säurefuchsin, wäscht sie mit Wasser, dann kurz mit Alkohol und bringt sie in Balsam.

**725. Congoroth.** NISSEL (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 398) färbt die Schnitte 3 Tage lang mit einer Lösung von Congoroth (5 in 400 Wasser) und zieht sie mit saurem Alkohol (3% Salpetersäure) aus.

**726. Safranin.** ADAMKIEWICZ (Sitzungsb. Akad. Wien 89. Bd. 3. Abth. 1884 p. 245) wäscht Schnitte von Material aus Müllers Gemisch mit Wasser und etwas Salpetersäure, färbt sie mit konzentr. Lösung von Safranin, behandelt



sie mit Alkohol und Nelkenöl, bis sie keine Farbe mehr abgeben, bringt sie in Wasser mit etwas Essigsäure zurück, färbt sie mit Methylenblau und bringt sie wieder in Nelkenöl: Myelin roth, Kerne violett. — NIKIFOROW (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 338) imprägnirt nach dem Färben mit Safranin die Schnitte mit Goldchlorid oder einem anderen Metallsalze.

CIAGLIŃSKI (ibid. 8. Bd. 1891 p. 26) läßt auf das Safranin **Anilinblau** folgen; STRÖBE (ibid. 10. Bd. 1893 p. 386) hingegen tingirt die Schnitte erst mit diesem (in gesättigter wässriger Lösung), differenzirt sie nach Weigert mit Atzkali in absol. Alkohol und färbt sie mit Safranin nach. — S. auch § 749 (YAMAGIWA).

---



## 29. Kapitel.

## Methoden zur Untersuchung der Nerven: Imprägnation nach Golgi und Anderen; Methoden für Neuroglia, Retina, inneres Ohr und elektrische Organe.

**727. Vitale Färbung mit Methylenblau.** Hierüber s. Kapitel 14. Einige spezielle Methoden seien hier aufgeführt.

MEYER (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 282) injiziert von 1%iger Lösung subcutan mehrere Male in Intervallen von 1 bis mehreren Stunden große Mengen (jungen Kaninchen  $2 \times 20$  ccm), tötet das Thier und bringt die Stücke direkt in gut gekühltes Gemisch von Bethe (oben p. 190) bis zum folgenden Tage. — Oder (ibid. 47. Bd. 1896 p. 735) er injiziert 5—6%ige Lösung von Methylenblau BX in 1—2 Stunden (erwachsenen Katzen 150 ccm). — S. auch KRAUSE & PHILIPPSON (Arch. Mikr. Anat. 57. Bd. 1901 p. 489).

RAMÓN Y CAJAL (Rev. Trim. Micr. Madrid Vol. 1 1896 p. 123) färbt das Hirn von *Lepus cuniculus* mit Methylenblau durch „Propagation“ oder „Diffusion“, d. h. er streut auf Stücke von 2—3 mm Dicke in situ feinst gepulvertes Methylenblau BB (oder bepinselt sie mit konzentrierter Lösung), deckt die Schädelkapsel darauf, nimmt die Scheiben nach  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Stunden heraus, spült sie in Normalsalzwasser rasch ab, fixiert sie mit Ammoniummolybdat nach Bethe (ohne  $H_2O_2$ ) 2—3 Stunden lang, wäscht sie einige Minuten lang und härtet sie im Gemisch von 1%iger Platinchloridlösung (1 Theil), Formol (40) und Wasser (60) 3—4 Stunden lang, um die Farbe unlöslich in Wasser, Glycerin etc. zu machen. Weiterbehandlung kleinerer Objekte mit Wasser, Lösung von Platinchlorid (1:300) in absolutem Alkohol, Xylol, Einbettung in Paraffin. Größere Objekte werden in einem Paraffinmantel feucht geschnitten, die Schnitte mit alkoholischem Platinchlorid, dann mit reinem absol. Alkohol entwässert und durch Xylol oder Bergamottöl in Balsam gebracht.

CATOIS (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 124 1897 p. 124) injiziert in die Leibeshöhle von Fischen konzentrierte Lösung von Methylenblau, nimmt nach  $\frac{1}{2}$  Stunde das Gehirn heraus, schneidet es in Stücke, legt diese auf  $\frac{1}{2}$  Stunde in dieselbe Lösung und fixiert die Präparate wie gewöhnlich.



KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901 p. 279) verwendet zur Injektion das chlorzinkhaltige Methylenblau der Höchster Farbwerke, kocht aber vorher die 1%ige Lösung mit  $\frac{1}{2}$ —1% Natriumbicarbonat auf und filtriert sie.

**728. Golgis Methoden mit Silbernitrat.** Es gibt ihrer drei: die langsame, rasche und gemischte (s. GOLGI in: Arch. Ital. Biol. Tome 7 1886 p. 15 ff.). Die rasche wird am meisten zur Untersuchung der Axencylinder und Plasmafortsätze in gehärteten Geweben benutzt.

Allgemeiner Charakter der Imprägnation. Die Präparate sehen durchaus nicht wie gefärbt aus, gewähren auch einen anderen Anblick als die Imprägnationen frischer Gewebe mit Höllenstein oder Goldchlorid. Sie sind nur partiell imprägniert, d. h. von den Elementen des Gewebes, seien sie nun nervös oder nicht, ist immer nur eine Anzahl versilbert. Das ist aber eher ein Vorzug der Methode, denn die wenigen imprägnierten treten so lebhaft hervor, daß man sie leicht auf weite Entfernung verfolgen kann. Dagegen liefert die Methode keine histologischen Einzelheiten in den anderen Geweben des Präparates, und absolut keine cytologischen.

Die Axencylinder werden meist nur so weit imprägniert, wie sie keine Markscheide haben; will man also die Fasern in Hirn und Rückenmark damit darstellen, so wählt man als Objekte am besten Embryonen oder neugeborene Thiere, wo die Markscheiden noch nicht ausgebildet sind.

Übrigens imprägniert sich nicht nur das Nervengewebe, vielmehr dient die Methode auch zum Studium der Gallencapillaren, Drüsengänge, elastischen Fasern etc. Deswegen aber, und da sie launenhaft immer nur wenige Elemente im Präparate imprägniert, muß man bei der Deutung der Bilder sehr vorsichtig sein. Ferner liefert die Methode häufig Niederschläge von Silberbichromat, die den Dendriten und anderen Feinheiten an den Nerven ähnlich sehen (s. auch § 729 und FRIEDLÄNDER in: Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 168).

Die Methode eignet sich auch für manche Wirbellose. Durch andere Forscher ist sie in vielen Einzelheiten modifiziert worden, besonders durch Ramón y Cajal (§ 730).

a) **die langsame Methode** (l. c. p. 17). Von den möglichst frischen Objekten härtet man höchstens  $\frac{1}{2}$  cem große Stücke in Müllers, weniger gut in Erlickis Gemisch, gewöhnlich aber in Kaliumbichromat von 2%, das man allmählich unter häufigem Wechsel der Lösung bis auf 5% verstärkt. Im Sommer genügen dazu 15—20 Tage, bei kaltem Wetter meist 1 Monat; das Material bleibt bis zu



50 Tagen resp. 4 Monaten gut: man muß es ausprobiren, indem man im Winter alle 8—10 Tage, im Sommer häufiger, ein Stück in das Silberbad bringt und zusieht, ob die Reaktion eintritt. Gut ist auch die Injektion des Härtmittels in die Organe. Die Härtung wird durch Erwärmen auf 20—25 ° C. beschleunigt, aber man riskirt leicht ein Übermaß von Härte, auch sind die weiteren Resultate nicht so günstig.

Zur Imprägnation bringt man die Stücke aus dem Härtgemisch in viel  $\frac{3}{4}\%$  ige Lösung ( $\frac{1}{2}\%$  ige scheint besser für nicht ganz harte, 1% ige besser für etwas überhärtete Objekte zu sein) von Silbernitrat. Da sich beim Einlegen in das Bad viel Silberbichromat ausscheidet, sodaß es schwächer wird, so wäscht man die Objekte am besten vorher in schwächerer Lösung ab, bis beim Einlegen in ein neues Quantum kein Niederschlag mehr entsteht; hierzu können die gebrauchten Bäder dienen. Das definitive Bad braucht nur ersetzt zu werden, falls es nach 6—10 Stunden doch etwas gelb wird. Im Winter stellt man es vortheilhaft an einen warmen Platz. Die Reaktion tritt nach 24—30 Stunden, selten später ein, jedoch dürfen die Objekte ohne Schaden Monate lang im Bade bleiben. Ergibt nun ein Versuch, daß die Imprägnation gut gelungen ist, so bringt man die Objekte in Alkohol und wechselt diesen so oft, bis er ganz klar bleibt, auch wenn sie schon 2—3 Tage in ihm sind. Denn der Überschuß an Silber muß sorgfältig entfernt werden. Nun macht man die Schnitte (§ 734), wäscht sie 3 oder 4 mal mit Alkohol, bringt sie auf einige Minuten in Kreosot, auf 10—15 Minuten in Terpentinöl, endlich in Balsam, besser in Dammar, jedenfalls ohne Deckglas. So halten sie sich, namentlich im Dunkeln, Jahre lang, während sie unter dem Deckglas verderben (§ 735).

In der Regel imprägniren sich erst die Axencylinder, dann die Ganglienzellen, zuletzt die Neurogliazellen.

HUNTER (Journ. Anat. Phys. London Vol. 32 1897 p. 109) härtet ein ganzes Hirn oder Rückenmark  $1\frac{1}{2}$ —6 Monate lang in Müllers Gemisch, schneidet kleine Stücke davon ab, wäscht diese mit Wasser, bringt sie (bei Blutwärme) auf 24 Stunden in 1 oder 2mal zu wechselnde  $\frac{3}{4}\%$  ige Lösung von Silbernitrat, bettet sie in Celloidin und schneidet sie wie gewöhnlich.

b) **die rasche Methode** (l. c. p. 33; s. auch Cinquantenaire Soc. Biol. Paris Livre jubil. 1899 p. 514). Man legt kleine Stücke von ganz frischem Gewebe in das Gemisch aus 4 Theilen 2— $2\frac{1}{2}\%$  iger (oder 2 Th. 3% iger) Lösung von Kaliumbichromat und 1 Theil 1% iger Osmiumsäure; imprägniren kann man sie schon am 2. oder



3. Tage, noch besser aber in den nächsten Tagen, im Alkohol dürfen sie höchstens 2 Tage bleiben. Schneiden und Einlegen der Schnitte wie oben angegeben. Im Ganzen ist diese Methode sehr beliebt, während Golgi die gemischte vorzieht.

Für Fische nimmt MONTI (*Ricerche innervaz. organi trofici Cranioti infer. Torino 1898 p. 33 u. 38*) 4 Th. 3%igen Kaliumbichromats und 1 Th.  $\frac{1}{2}$ %iger Osmiumsäure; zu erneuern, wenn es nicht mehr nach letzterer riecht. Man bringt die Objekte im Dunkeln in das Silberbad am 4. oder 5. Tage, aber nicht auf lange. — VAN GEHUCHTEN (*La Cellule Tome 6 1891 p. 406*) läßt das Material im Dunkeln bis zu 6 Monaten im Silberbade.

c) **die gemischte Methode** (l. c. p. 34). Die Stücke frischen Gewebes legt man auf 2—30 Tage in die Lösung von Kaliumbichromat, bringt aber alle 2—4 Tage einige in das Gemisch mit der Osmiumsäure nach Methode b, läßt sie 3—10 Tage lang darin und behandelt sie sonst wie nach b. Golgi zieht das gemischte Verfahren vor: 1. weil man die Reaktion in verschiedener Stärke verfolgen kann, falls man nur genug Stücke eingelegt hatte; 2. weil man etwa 25 Tage lang immer Stücke vorrätig hat, die sich versilbern lassen, und doch den Prozeß jederzeit dadurch beschleunigen kann, daß man sie in die Osmiumsäure bringt; 3. weil die Resultate noch besser ausfallen.

**729. Theoretisches über die Methode mit Silbernitrat.** Wahrscheinlich beruht sie darauf, daß sich in den Geweben ein Niederschlag von Silberbichromat bildet, der im auffallenden Lichte braun, im durchfallenden schwarz ist. Manche behaupten, das Metall imprägnire die Zellen und Fortsätze selber. Indessen bildet es (s. besonders ROSSBACH & SEHRWALD in: *Centralbl. Med. Wiss.* 26. Jahrg. 1888 p. 469 u. 498, und KRONTHAL in: *Arch. Path. Anat.* 130. Bd. 1892 p. 233) wohl nur einen Überzug über diese Elemente, indem die normalen oder sich durch Schrumpfung bildenden pericellulären Räume vom Silbersalze angefüllt werden. Mit diesem Resultat vor Augen läßt sich beurtheilen, was die Methode selbst im günstigsten Falle zu bieten vermag. S. auch oben § 728 und CARAZZI, *Manuale* p. 243.

KRONTHAL (l. c. p. 239; *Anat. Anz.* 22. Bd. 1903 p. 453) hält es für möglich, aber nicht beweisbar, daß auch die Gebilde in den gefärbten Räumen gefärbt seien, falls letztere überhaupt immer Zellen oder Fasern enthalten. Er gibt p. 247 eine Methode zur Entfärbung der imprägnirten Gebilde und Nachfärbung mit Methylenblau an. Auch ZIMMERMANN (*Arch. Mikr. Anat.* 52. Bd. 1898 p. 255) findet durch Nachfärbung, daß ein Theil des Niederschlages auf der Zelle liegt. — Nach WEIGERT (*Anat. Hefte* 2. Abth. 5. Bd. 1886 p. 7) ist der Nieder-



schlag irgend ein Silberchromat; die Osmiumsäure sei für die Reaktion nicht prinzipiell nöthig. — Nach AZOULAY (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 1 1894 p. 839), der die Vorgänge an Schnitten unter dem Mikroskop verfolgt hat, handelt es sich um eine „cristallisation ténue de chromate d'argent dans les éléments“. — KALLIUS (Encyclop. 1. Bd. p. 553) läßt den Niederschlag aus einem Eiweißsilberchromate bestehen und (p. 555) die Zellen in Substanz gefärbt sein. — S. auch § 732 (HILL).

DOGIEL (Anat. Anz. 10. Bd. 1895 p. 555) injiziert die Gefäße oder Drüsengänge vor der Behandlung nach Golgi mit irgend einer Farbmasse, um sie von den Nerven sicher unterscheiden zu können.

Es ist noch nicht festgestellt, warum die Präparate sich in Balsam unter dem Deckglase nicht halten. S. auch § 735.

**730. Doppelte Imprägnation.** RAMÓN Y CAJAL (Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 241) härtet Stücke der embryonalen Wirbelsäule von *Gallus* 3 Tage lang im Gemisch von Osmiumsäure und Kaliumbichromat (§ 728), legt sie auf 36 Stunden in die  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  %ige Lösung von Silbernitrat, bringt sie auf 36—48 Stunden in jenes Gemisch zurück (oder in 1 Theil Osmiumsäure und 10 Theile Bichromat), wäscht sie rasch mit Wasser ab und bringt sie nochmals auf 36—48 Stunden in das Silber. Hat man sie zuerst im Osmium-Bichromat zu lange (4 Tage) oder zu kurz (1 Tag) gelassen, so gelingt die 2. Behandlung damit nicht, und dann muß man den Prozeß zum 3. Male vornehmen.

**731. Behandlung überhärteter Gewebe.** Objekte, die 3—4 Wochen lang im Gemisch von Osmiumsäure und Kaliumbichromat gewesen sind, imprägniren sich nur dann noch mit Silber, wenn man sie nach GOLGI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 11. Bd. 1894 p. 328) mit halb gesättigter Lösung von Kupferacetat so lange wäscht, bis sie keinen Niederschlag mehr geben, und auf 5—6 Tage in das obige Gemisch zurück bringt. Man bekommt dann nach der Imprägnation Schnitte, die sich in eingedicktem Cedernöl unter dem Deckglase halten.

Zu dieser Verjüngung legt GOLGI (Cinquantenaire Soc. Biol. Paris Livre jubil. 1899 p. 514) neuerdings die Objekte auf 8 Stunden bis über 10 Tage in das Gemisch gleicher Teile 2—3%iger Lösung von Kaliumbichromat und 4—5%iger von Kupfersulfat, und von da direkt in das Silberbad. — MONTI (l. c. in § 728 p. 35) verwendet für Fische zuerst halbgesättigte Lösung von Kupferacetat oder Kupfersulfat 2—3 Tage lang, dann 1—14 Tage lang das Bichromat oder Osmiumbichromat. Die Präparate sollen so besondres fein werden.

**732. Abänderungen der Methode mit Silbernitrat.** KALLIUS (Anat. Hefte 1. Abth. 3. Bd. 1894 p. 531) hat oft mit Vortheil statt des Kaliumbichromats das Ammonium- oder Natriumsalz verwandt, alle Operationen



im Dunkeln vorgenommen und nur selten doppelt imprägniren müssen. — Über die Chromate des Calciums, Magnesiums, Zinks, Kupfers etc. s. SALA (Monit. Z. Ital. Anno 9 1898 p. 63).

HILL (Brain Vol. 19 1896 p. 1) injiziert die Lösung von Kaliumbichromat (ohne Osmiumsäure) dem Thiere sofort nach dem Tode durch die Aorta, setzt ihr aber, um die Kontraktion der Gefäße zu verhindern, 1% Milchsäure zu. Daß das Härtgemisch (und später die Silberlösung) rasch eindringe, scheint ihm für das Gelingen der Reaktion sehr wichtig zu sein. Am leichtesten permeabel ist das Centralnervensystem von *Erinaceus*, kann daher in toto behandelt werden. Auf die Länge der Härtung kommt nicht viel an; Wärme beschleunigt die Reaktion, ändert sie aber qualitativ nicht; ob man im Licht oder im Dunkeln operirt, ist gleichgültig; das Einbetten in Celloidin mag ruhig mehrere Tage dauern, und man erhält sogar bessere Schnitte, als wenn man rasch verfährt. Die Osmiumsäure ist unnöthig. Statt des Nitrats empfiehlt sich etwa  $\frac{3}{4}$ %ige Lösung von Silbernitrit, der man  $\frac{1}{1000}$  Ameisensäure zusetzt. Die Färbung nach Golgi beruht auf der Bildung eines „reduced salt (sub-salt) of silver“. Auch Gehirne, deren Gefäße lange mit Salzwasser oder Milchsäure ausgewaschen sind, färben sich noch gut. Wahrscheinlich reagiren nicht die leitenden Fibrillen, sondern das flüssige „Neuroplasma“, worin sie liegen, auf die Silberlösung.

GUDDEN (Neur. Centralbl. 20. Jahrg. 1901 p. 152) verwendet Silberlaktat („Aktol“), weil es tiefer eindringe als Höllenstein.

SMIRNOW (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 10. Bd. 1893 p. 244) härtet Stücke der Hand von *Homo* in Altmanns Gemisch (gleichen Theilen von 5%igem Kaliumbichromat und 2%iger Osmiumsäure) 5—10 Tage lang und imprägnirt sie mit 1%igem Silbernitrat. — Die Haut von *Lumbricus* (Anat. Anz. 9. Jahrg. 1894 p. 571) härtet er 5—28 Tage lang im Gemisch gleicher Theile von 5%igem Bichromat und 1%iger Osmiumsäure. — Vom Kleinhirn von *Canis* legt er (Arch. Mikr. Anat. 52. Bd. 1898 p. 202) die Stücke, bevor sie in das Silberbad kommen, in eine „schwache wässerige Lösung von  $\text{NO}_2\text{OAg}$ “. — KOLOSSOW (ibid. 49. Bd. 1897 p. 592) härtet die Objekte 1—7 Tage in 3—5%iger Lösung von Kaliumbichromat in  $\frac{1}{4}$ %iger Osmiumsäure, wäscht sie mit destill. Wasser, trocknet sie mit Löschpapier ab und legt sie auf 2—3 Tage in 2—3%ige Lösung von Silbernitrat in  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ %iger Osmiumsäure. Die Imprägnation sei in Folge der Osmiumsäure viel besser als sonst. — S. auch JUSCHTSCHENKO in: Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 82 und oben § 729 (WEIGERT).

Über das Verfahren von Nabias s. unten § 809.

BÖHM (Sitzungsb. Ges. Morph. Phys. München 5. Bd. 1889 p. 85) und OPPEL (Anat. Anz. 5. Jahrg. 1890 p. 144; 6. Jahrg. 1891 p. 168) nehmen für die Leber (aber nicht für die Nerven darin) im langsamen Verfahren statt des Kaliumbichromats der Eine  $\frac{1}{2}$ %ige Lösung von Chromsäure (48 Stunden lang), der Andere Kaliummonochromat (s. unten § 796). — BERKLEY (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 772) bringt von der Leber Stücke von höchstens  $1\frac{1}{2}$  mm Dicke noch warm in warme halb gesättigte wässerige Lösung von Pikrinsäure und nach 15—30 Minuten auf 48 Stunden und mehr im Dunkeln bei wenigstens 25° C. in das Gemisch von 16 Theilen 2%iger Osmiumsäure und 100 Th. gesättigter Lösung von Kaliumbichromat, das mehrere Tage der Sonne ausgesetzt gewesen



ist. Zuletzt behandelt er sie mit Silbernitrat ( $\frac{1}{4}$  und  $\frac{3}{4}$  %) wenigstens 5 Tage lang und bettet sie in Celloidin ein. — Ferner (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 94) setzt er zum Silberbade auf 60 ccm 2 Tropfen 10%iger Lösung von Phosphormolybdänsäure. Die Objekte sind zuerst in Müllers Gemisch, dann in Osmiumbichromat gehärtet worden.

VASSALE & DONAGGIO (Monit. Z. Ital. Anno 6 1895 p. 82) bringen die höchstens 1 ccm großen Stücke auf 15—20 Tage in das Gemisch von 5 Th. Aldehyd und 100 Th. 3—4%iger Lösung von Kaliumbichromat (wird nach einigen Tagen gewechselt) und behandeln sie weiter nach Golgi.

Gemische mit Formaldehyd. STRONG (Anat. Anz. 10. Jahrg. 1895 p. 494) setzt zur  $3\frac{1}{2}$ - bis 5%igen Lösung von Kaliumbichromat  $2\frac{1}{2}$ —5 % „Formalin“ und vermeidet so die Überhärtung. — DURIG (ibid. p. 659) härtet 3 Tage lang in 3%iger Lösung von Kaliumbichromat, die 4—6% Formaldehyd enthält, und imprägniert doppelt nach Ramón y Cajal. — FISH (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 319) härtet 3 Tage lang im Dunkeln im frischen Gemische von 2 Th. Formalin und 100 Th. 3%iger Lösung von Kaliumbichromat oder besser von 100 Th. Müllerschen Gemisches, 2 Th. 10%igen Formalins und 1 Th. 1%iger Osmiumsäure. — KOPSCH (Anat. Anz. 11. Bd. 1896 p. 728) mischt kurz vor dem Gebrauche 40 ccm  $3\frac{1}{2}$  %iger Lösung von Kaliumbichromat mit 10 ccm Formol, legt kleine Stücke (im Ganzen nur bis zu 2 ccm Substanz) hinein, schüttelt häufig um und bringt die Objekte nach 24 Stunden in die reine Lösung von Kaliumbichromat auf 1 Tag (Gallen- und Sekretcapillaren, Netzhaut) oder 3—6 Tage (Netzhaut, Hirn etc.). Die Blutgefäße imprägnieren sich oft so stark, daß sie stören. 24—48 Stunden altes Material läßt sich noch gut verwenden. — RUBASCHKIN (Arch. Mikr. Anat. 62. Bd. 1903 p. 208) injiziert Amphibien mit 5%iger Lösung von Kaliumbichromat und behandelt das Hirn 12—18 Stunden lang mit dem frischen Gemisch von 5 Th. Formol, 15 Th. 1%iger Osmiumsäure und 100 Th. 5%igen Bichromats; von da in 2%ige Höllesteinlösung; die Schnitte legt er in ozonisiertes Terpentinöl nach Lavdowsky.

DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 483) verwendet für Chilopoden das auf 50° C. erwärmte und filtrirte Gemisch von 3 Th. 5%iger Lösung von Kaliumbichromat und 1 Th. 20%igen Formols bei 40° C.; auch das Silberbad muß diese Temperatur haben. — S. auch SCHREIBER (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 275).

Reiner Formaldehyd. GEROTA (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 314) braucht 5—10%iges Formol 1 Woche, dann 4%iges Bichromat 3—5 Tage lang. — BOLTON (ibid. 15. Bd. 1899 p. 367) legt das Hirn von *Felis* auf 5 Wochen bis 5 Monate in 5%iges Formol, behandelt kleine Stücke davon höchstens 5 Tage lang mit 1%iger Lösung von Ammoniumbichromat und bringt sie in das Silberbad. — S. auch § 874.

**732a. Golgische Binnennetze.** GOLGI (Cinquantenaire Soc. Biol. Paris Livre jubil. 1899 p. 514; Verh. Anat. Ges. 14. Vers. 1900 p. 174) legt zu ihrer Darstellung in den Ganglienzellen die Objekte in das Gemisch von Veratti (2 Theile 5%iger Lösung von Kaliumbichromat, 2 Th.  $\frac{1}{10}$  %iger von Platinchlorid und 1—2 Th. 1%iger Osmiumsäure). Weiterbehandlung wie gewöhnlich.



Neuerdings (Arch. Ital. Biol. Tome 49 1908 p. 272; Monit. Z. Ital. Anno 19 1908 p. 263) fixiert er das Objekt 6—8 Stunden in 20%igem Formol, das je 1% arseniger Säure und 96% igen Alkohols enthält, bringt es auf 1 Stunde bis mehrere Tage in 1%ige Lösung von Silbernitrat, wäscht es, legt es in den Entwickler (1 Liter Wasser, 50 ccm Formol, 5 g Natriumsulfit und 20 g Hydrochinon), wäscht es wieder und bettet es in Celloidin; die Schnitte verguldet (1 Liter Wasser, je 30 g Rhodanammium und Natriumhyposulfit, dazu vor dem Gebrauche 100 ccm 1%iger Goldchloridlösung) er, bis sie grau werden, und behandelt sie fakultativ mit Kaliumhyperpermanganat und Oxalsäure, färbt sie auch mit Karmalaun. — LEGENDRE (Anat. Anz. 36. Bd. 1910 p. 209) bettet in Paraffin und bringt die Schnitte direkt in Balsam. — SARAGNONE (Journ. R. Micr. Soc. London 1910 p. 256) nimmt statt des Silbernitrats das Gemisch von 3 ccm Tachiol (10%iger Lösung von Fluorsilber) und 10 ccm Wasser. — BESTA (Anat. Anz. 36. Bd. 1910 p. 477; Internat. Monatschr. Anat. Phys. 29. Bd. 1910 p. 412 ff.) fixiert Stücke von höchstens 5 mm Durchmesser 2 Tage lang im Gemisch von 20 Th. Formol, 2 Th. Aldehyd und 80 Th. Wasser, wäscht sie 24 Stunden lang und bringt sie auf 2 Tage in 4%ige Lösung von Ammoniummolybdat; die Paraffinschnitte färbt er mit Thionin (1:10000), differenziert sie im Gemisch von 3 Th. Kreosot und 1 Th. absol. Alkohols und schafft sie durch Kreosot und Xylol in neutralen Balsam. — S. auch § 683 (KOPSCHE).

**733. Umkleiden der Objekte.** Da sich beim Golgischen Verfahren auf den Objekten häufig starke Niederschläge bilden, so bettet SEHRWALD (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 456) jene vorher in schwach erwärmte 10%ige Lösung von Gelatine (in einem Papierkästchen) und versenkt sie damit in das Silberbad. Nach der Versilberung wäscht er die Gelatine mit warmer gesättigter Lösung von Silberchromat ab. Mit der Methode von MARTINOTTI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 7. Bd. 1890 p. 69), die Objekte einfach in Filtrirpapier einzuwickeln, ist er nicht einverstanden.

**734. Schneiden.** Nach SALA (Zeit. Wiss. Z. 52. Bd. 1891 p. 23) ist die Methode von Greppin (§ 737) geradezu schädlich. Auch Sehrwalds Methode zum Einbetten in Paraffin, um dünne Schnitte zu bekommen, taugt nicht, da ja nur dicke Schnitte die Fortsätze weiterhin zu verfolgen erlauben. Man wäscht daher die Objekte, wenn sie aus dem Silberbade kommen, mit Wasser aus, klebt sie mit Gummi arabicum auf einen Kork, härtet das Gummi in Alkohol einige Stunden lang und schneidet sie mit dem Mikrotom. — S. auch § 736.

VAN WIJHE (Petrus Camper Jena Deel 1 1901 p. 111) führt die versilberten Stücke von *Amphioxus* rasch durch Alkohol von 50, 70 und 100% und Xylol (je  $\frac{1}{2}$  Stunde) in weiches Paraffin über — hierin können sie Jahre lang ohne merkliche Veränderung liegen — und macht Schnitte von 100  $\mu$  Dicke, klebt sie



auf ein Deckglas, bringt sie in Xylol, übergießt sie mit Balsam und läßt diesen hart werden; erst dann befestigt er das Glas durch Glasfüße auf dem Objektträger.

**735. Einschließen der Schnitte.** S. hierüber die Methode von Golgi (oben p. 362) und § 736—738. — Aus den Mittheilungen von SEHRWALD (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890 p. 443), SAMASSA (ibid. 7. Bd. 1890 p. 26) und FICK (ibid. 8. Bd. 1891 p. 168) geht für die Praxis hervor, daß man entweder nach der ursprünglichen Vorschrift von Golgi kein Deckglas auflegen darf oder erst den Balsam (mit den Schnitten darin) durch sorgfältiges Erwärmen ganz wasserfrei machen muß, ehe man es auflegt. Letztere Methode (Fick) empfiehlt auch HUBER (Anat. Anz. 7. Jahrg. 1892 p. 587). — MANN (Methods p. 277) schiebt die Schuld auf die Säure des Balsams und empfiehlt zum Einschlusse neutrales Glycerin. — STRASSER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 340) verwendet Schoenemanns Elastinlack (oben § 192). — S. auch § 734 (VAN WIJHE).

Nach ODIER (\*Rev. Méd. Suisse Rom. 1898 p. 59) vertragen die Schnitte das Deckglas, wenn sie nach der Versilberung nicht mit Alkohol von weniger als 96% in Berührung gekommen waren.

JOHNSTON (Z. Jahrb. Abth. Morph. 15. Bd. 1901 p. 62) spült die Schnitte durch das Hirn von *Acipenser* auf dem Objektträger je 1 mal mit Alkohol von 96 und 100% ab, gießt ganz dünnes Kollodium darüber, läßt dieses fast bis zur Trockne verdunsten, bringt nun Karbolxylol darauf, wäscht es später durch reines Xylol gründlich ab, legt etwas Dammar darauf, erwärmt den Objektträger stark und breitet den Dammar mit einem Glasstabe aus.

RAMÓN Y CAJAL (Carazzi, Manuale p. 249) legt die Schnitte auf höchstens 1 Stunde in Alkohol von 95%, dann in Nelkenöl auf höchstens  $\frac{1}{2}$  Stunde, befreit sie auf dem Objektträger mit Filtrirpapier und Xylol vom Öl und schließt sie in dünnen Xyloldammar, der allmählich in mehreren Schichten aufgetragen wird, ein.

KENT (Journ. Phys. Cambridge Vol. 38 1909 Proc. p. 41) bewahrt die Paraffinschnitte in Paraffin auf, das er so anschmilzt, daß es den Raum zwischen Objektträger und Deckglas ganz ausfüllt. Sie halten sich unbegrenzt lange und zeigen Alles scharf genug.

**736. Vergolden der Schnitte.** OBREGIA (Arch. Path. Anat. 122. Bd. 1890 p. 387) schneidet das Material uneingebettet oder in Celloidin oder Paraffin, vermeidet aber dabei Alkohol unter 94%. Dann bringt er die Schnitte aus absol. Alkohol im Dunkeln auf  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde in das Gemisch von 10 ccm absol. Alkohols und 8—10 Tropfen 1%iger Lösung von Goldchlorid, das man  $\frac{1}{2}$  Stunde vorher anfertigt, wäscht sie rasch in 50%igem Alkohol und Wasser, legt sie auf 5—10 Minuten in 10%ige Lösung von Natriumhyposulfit, wäscht sie gut aus und bringt sie in Balsam (mit Deckglas!) oder färbt sie vorher mit Karmin etc. Diese Methode eignet sich auch für das mit Sublimat nach Golgi



(unten § 740) behandelte Material. — Dagegen ist RAMÓN Y CAJAL (La Cellule Tome 7 1891 p. 125) weder damit noch mit der Bromirung nach Greppin (§ 737) zufrieden.

**737. Bromiren der Schnitte.** GREPPIN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1889 Suppl. p. 55) behandelt (mit Neumann) die Gefrierschnitte 30—40 Sekunden lang mit 10%iger Bromwasserstoffsäure, wäscht sie tüchtig mit Wasser und bringt sie in Balsam. Legt man sie noch im Nelkenöl 10—15 Minuten lang in die Sonne, so werden sie violett und zeigen die Einzelheiten schärfer. Auch vertragen sie die Färbung mit Hämatoxylin nach Pal. — S. aber § 736 (RAMÓN).

**738. Chloriren oder Schwefeln der Schnitte.** ZIMMERMANN (Arch. Mikr. Anat. 52 Bd. 1898 p. 554) behandelt die Schnitte entweder 10—15 Minuten lang mit Chlornatrium (Normalsalzwasser 1 Theil, 96%iger Alkohol 2 Theile) und setzt sie dann auf weißem Grunde unter Alkohol dem Lichte etwa  $\frac{1}{2}$  Tag lang aus, oder läßt  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang auf sie Schwefelammon (einige Tropfen in 100 ccm abs. Alkohol) wirken. In beiden Fällen kann man mit Thionin (oder Safranin) die Kerne etc. nachfärben.

**739. Reduktion des Silbers.** KALLIUS (Anat. Hefte 1. Abth. 2. Bd. 1892 p. 273) löst 1 g Hydrochinon, 8 g Natriumsulfit und 15 g Kaliumcarbonat in 50 ccm Wasser, verdünnt davon 10 cm mit 115 ccm Wasser und 40—60 ccm absoluten Alkohols, legt die Schnitte hinein, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden, und bringt sie auf 10—15 Minuten in 70%igen Alkohol, auf 5 Minuten in etwa 20%ige Lösung von Natriumhyposulfit, endlich auf wenigstens einen Tag in sehr viel destillirtes Wasser. Alsdann durch Alkohol etc. in Balsam; auch kann man sie vorher mit Karmin etc. färben. — S. auch CURRERI (Anat. Anz. 32. Bd. 1908 p. 432).

**740. Golgis Methode mit Sublimat** (\*Arch. Sc. Med. Torino 1878 p. 3; Arch. Ital. Biol. Tome 7 1886 p. 35). Diese Methode, im Prinzip gleich der mit Silber, beruht auf dem Härten mit Kaliumbichromat und dem Imprägniren mit Quecksilber. Zum Härten der höchstens 1—2 ccm großen Objekte nimmt man viel Müllers Gemisch oder Lösung von Kaliumbichromat ( $1-2\frac{1}{2}\%$ ) und wechselt sie häufig, damit sie klar bleibt. (In ganze Großhirne muß man die Flüssigkeit mehrere Male einspritzen, damit sie rasch ins Innere dringt.) Zum Härten genügen schon 6—8 Tage, besser sind 15—20, am besten 20—30, aber auch mehrere Monate schaden nicht. Nach der Härtung imprägnirt man die Objekte mit  $\frac{1}{2}\%$ iger Lösung von Sublimat wenigstens 8—10 Tage lang (die Großhirne 2 Monate und länger); man wechselt die Flüssigkeit Anfangs jeden Tag, später so oft, wie sie noch gelb wird. Zuletzt sind die Objekte ganz entfärbt und sehen wie frisch aus. Man kann sie im Sublimat beliebig lange lassen, für das Studium des diffusen Nervennetzes in 1%igem Sublimat sogar 2 Jahre lang (GOLGI in: Arch. Ital. Biol. Tome 15 1891 p. 461).



Die Reaktion beginnt etwa dann, wenn die Objekte beinahe entfärbt sind; von da ab kann man alle Tage Schnitte machen. Diese muß man tüchtig mit Wasser auswaschen, kann sie auch auf einige Minuten in ein photographisches Goldbad legen und mit einer sauren Karminlösung färben. Zum Einschluß ist Glycerin wohl besser als Balsam.

Das Resultat ist keine echte Färbung, sondern die Gewebe sind im durchfallenden Lichte schwarz, im auffallenden weiß. Die Reaktion trifft aber nicht nur die Ganglien- und Neurogliazellen mit ihren Fortsätzen, sondern auch die Blutgefäße, besonders ihre Muskelzellen.

S. auch FLATAU in: Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 158. — BLOCHMANN (Biol. Centralbl. 15. Bd. 1895 p. 14) empfiehlt die Methode für das Nervensystem der Cestoden.

LANDOIS (Arch. Mikr. Anat. 61. Bd. 1902 p. 123) nimmt die Priorität der Imprägnation für sich und SOMMER (1872) in Anspruch: L. & S. führten in das Gewebe zuerst das Quecksilber, dann die Chromsäure ein.

**741. Abänderungen der Methode mit Sublimat.** Cox (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 16) härtet und imprägniert zu gleicher Zeit: das Gemisch (je 10 Th. 5% iger Lösung von Kaliumbichromat und von Sublimat, 8 Th. 5% iger Lösung von Kaliummonochromat und 15—20 Th. Wasser) soll möglichst wenig sauer reagiren, die Objekte legt man auf 2—3 Monate hinein, die Schnitte müssen mit dem Gefriermikrotom gemacht werden, kommen auf 2 Stunden in 5% ige Lösung von Natriumcarbonat, dann in Wasser und durch absoluten Alkohol und ein Öl in Balsam, Dammar oder ein komplizirtes Gemisch von Harzen und Ölen. Unter dem Deckglase verderben sie. — CARAZZI (Manuale p. 255) rühmt aus eigener Erfahrung diese Methode. — S. auch § 882.

VAN WIJHE (Petrus Camper Jena Deel 1 1901 p. 112) macht für *Amphioxus* die Lösungen mit Seewasser. — MANN (Methods p. 273) verwendet statt des Natriumcarbonates Ammoniak.

PAL (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 92) legt die nach Golgis Methode behandelten Schnitte in eine Lösung von Natriumsulfid. Sie werden dadurch viel dunkler, auch kann man sie mit Magdalaroth färben.

ROBERTSON (Neur. Centralbl. 20. Jahrg. 1901 p. 898) und MACDONALD (ibid.) geben umständliche Methoden zur Platinirung der Schnitte an, die beim Einschluß in Balsam ein Deckglas aufzulegen gestatten.

MAGINI (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 87) härtet kleine Stücke mehrere Monate lang in Müllers Gemisch, wäscht sie mit Wasser gut aus und bringt sie auf 7—10 Tage in  $\frac{1}{10}$ —1% ige Lösung von Chlorzink, die alle Tage erneuert wird. Die Schnitte werden rasch mit Alkohol gewaschen und durch Kreosot in



Dammar gebracht. — Über die Methode von FLECHSIG (mit japanischem Rothholz) s. Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1889 p. 537.

**742. Sublimat und Goldchlorid.** ZIEHEN (Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 p. 385) legt kleine Stücke in viel Gemisch von je 1 Theil Sublimat und Goldchlorid in 200 Theilen Wasser auf 3—20 Wochen, bis sie metallisch rothbraun geworden sind, kittet sie auf Kork und behandelt die Schnitte mit dem auf das Vierfache verdünnten Lugolschen Gemisch (oben § 50) oder verdünnter Jodtinktur, bis sie differenzirt sind, wäscht sie und bringt sie in Balsam. Imprägnirt werden Nervenfasern, Ganglien- und Gliazellen und ihre Fortsätze.

**743. Imprägnation mit Bleisulfid.** KRONTHAL (Neur. Centralbl. 18. Jahrg. 1899 p. 196) stellt durch Einträufeln von Ameisensäure in Lösung von Bleiacetat kristallinisches Bleiformiat dar; die gesättigte wässrige Lösung davon vermischt er mit der gleichen Menge 10%igen Formols, legt auf 5 Tage Stücke von frischem Gehirn oder Rückenmark hinein, überträgt sie direkt in das Gemisch gleicher Theile von Schwefelwasserstoffwasser und 10%igem Formol ebenfalls auf 5 Tage, wäscht sie, bettet sie in Celloidin ein und bringt die Schnitte durch Karbolxylol in Balsam. Das Schwefelblei liegt als sehr feine Körnchen in den Zellen und Fasern. Die Präparate sind haltbar. Auch ganze Hirne lassen sich so behandeln und im Gemisch gleicher Theile von Glycerin und 90%igem Alkohol aufbewahren. — S. hierzu CORNING (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 109).

**744. Andere Methoden.** MONTI (Atti Accad. Lincei Rend. (4) Vol. 5 1889 Sem. 1 p. 707) erhält eine braune Imprägnation durch Kaliumbichromat und Kupfersulfat. — AZOULAY (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 1894 p. 631) bringt Celloidinschnitte durch Rückenmark mehrere Male abwechselnd in 1%ige Lösung von Ammoniumvanadat und 5%ige von Tannin, wäscht sie mit Wasser, dann mit 90%igem Alkohol und schließt sie in Balsam ein.

NABIAS (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 56 1904 p. 426; Bibl. Anat. Paris Tome 13 1904 p. 221) behandelt die aufgeklebten Schnitte erst mit Jod (1 g, Jodkalium 2, Wasser 300 oder mehr), bis sie gelb werden, wäscht sie, bringt sie in 1%ige Chlorgoldlösung, wäscht sie wieder, reduziert das Gold in Anilinwasser (1:40—100) oder Resorcinlösung (1:100—10000) und bringt das Präparat durch Alkohol und Xylol in Balsam. Für die Topographie der Nerven, aber nicht „pour la coloration exclusive du système nerveux“. — Über die Vergoldung nach Gerlach s. § 367. — MERTON (Anat. Anz. 30. Bd. 1907 p. 403) läßt auf die Schnitte etwa je 10 Minuten wirken: 3%ige Lösung von Tannin, 5%ige von Brechweinstein, 1%ige von Goldchlorid, Anilinwasser.

RAMÓN Y CAJAL (C. R. Ass. Anat. 4. Sess. 1902 p. 275) behandelt sehr umständlich Schnitte von Material, das in Formol plus Pyrogallol oder Hydrochinon fixirt wurde, mit Silbernitrat, Ferricyankalium und Natriumhyposulfit. Nur die Axone werden schwarzbraun.



## Neuroglia.

**745. Weigerts Methode für die Neuroglia von *Homo*** (Abh. Senckenb. Ges. Frankfurt 19. Bd. 1895 p. 199; Encyclop. 1. Aufl. p. 1017 ff.). Man bringt höchstens 5 mm dicke Stücke auf wenigstens 4 Tage in 10%ige Lösung von Formol, behandelt sie 4—5 Tage lang in einem Brütoven (über 8 Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur) mit dem Gemisch von 5 Theilen Kupferacetat, 2 1/2 Th. Chromalaun (besser statt dessen Fluorchrom), 5 Th. Essigsäure und 95 Th. Wasser, wäscht sie mit Wasser, bettet sie in Celloidin ein und schneidet sie; die Schnitte legt man auf 10 Minuten in 1/3%ige Lösung von Kaliumhyper-manganat, wäscht sie wieder und behandelt sie 2—4 Stunden lang mit dem filtrirten Gemisch von 5 Theilen Chromogen (Natriumsalz der Dioxynaphthalinsäure, von den Höchster Farbwerken), 5 Th. Ameisensäure (1,20 p. sp.) und 90 Th. Wasser, dem man vor dem Gebrauch 10 cem 10%iger Lösung von Natriumsulfit zufügt. Nachher legt man sie über Nacht in 5%ige Lösung von Chromogen, wäscht sie gut aus und färbt sie auf dem Objektträger durch Übergießen mit einer Modifikation des Fibrinfärbmittels von Weigert, nämlich mit gesättigter Lösung von Methylviolett in 70—80%igem Alkohol, die man mit 5% 5%iger Lösung von Oxalsäure in Wasser versetzt hat. Schließlich behandelt man die Schnitte mit gesättigter Lösung von Jod in 5%iger Jodkaliumlösung, dann mit dem Gemisch gleicher Theile von Anilin und Xylol und bringt sie durch reines Xylol in Kolophonium.

Leichte Modifikationen s. bei STORCH (Arch. Path. Anat. 157. Bd. 1899 p. 129), KRAUSE (Anh. Abh. Akad. Berlin 1899 p. 5), AGUERRE (Arch. Mikr. Anat. 56. Bd. 1900 p. 516) und WIMMER (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 192).

BARTEL (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 19) färbt die Paraffinschnitte noch im Paraffin kalt, trocknet sie auf Fließpapier und legt sie auf 12—24 Stunden in das Gemisch von Anilin (1 Th.) und Xylol (10—100 Th.). — RUBASCHKIN (Arch. Mikr. Anat. 64. Bd. 1904 p. 577) injiziert dem Thiere das auf das Doppelte verdünnte Fixirgemisch (100 Th. 2 1/2%iger Lösung von Kaliumbichromat, 1/2—1 Th. Kupferacetat, 2 1/2—3 Th. Eisessig, dazu vor dem Gebrauch 10 Th. Formol), schneidet nach 10 Minuten die Stücke heraus, bringt sie auf 5—7 Tage bei 35—40° C. in das Fixirgemisch, trocknet sie ab und legt sie direkt in 95%igen Alkohol. Die Paraffinschnitte färbt er (lose oder mit Wasser aufgeklebt) mit Methylviolett B nach Gram.

MALLORY (\*Journ. Exper. Med. Vol. 2 1897 p. 532) fixirt die nicht über 1/2 cm dicken Stücke wenigstens 4 Tage lang in 10%igem Formol, bringt sie



auf 4—8 Tage in gesättigte Lösung von Pikrinsäure, von da auf 4—6 Tage bei 37° C. (auf 4 Wochen bei gewöhnlicher Temperatur) in 5%ige Lösung von Ammoniumbichromat, die er am 2. Tage wechselt, endlich direkt in Alkohol. Die Celloidinschnitte färbt er nach Weigerts Fibrinmethode (unten § 784; zur Entfärbung gleiche Theile Anilin und Xylol) oder mit Hämatoxylin-Molybdän (§ 265). — Neuerdings (\*ibid. Vol. 5 1900 p. 10) färbt er sie (nach Behandlung mit Kaliumhyperpermanganat und Oxalsäure) mit seinem Phosphorwolframsäure-Hämatoxylin (§ 266) und differenziert die Färbung mit Eisenchlorid (30% in Alkohol). — S. auch VAN WART (Bull. J. Hopkins Hosp. Baltimore Vol. 14 1903 p. 247) und DA FANO (Ricerche Lab. Anat. Roma Vol. 12 1906 p. 111: Fixirung in Pyridinnitrat, Färbung nach Mallory; Fix. in Pyr. plus Osmiumsäure, Färb. mit Eisenhämatoxylin oder Alizarin-Toluidinblau; Fix. mit Silbernitrat, Färb. ebenso) sowie § 881. — SAND läßt seine Fixir- und Einbettmethode (oben p. 345) auch Material für Weigerts Gliafärbung liefern.

**746. Bendas Methoden für die Neuroglia** (Encyclop. 2. Bd. p. 308; Anat. Anz. 29. Bd. 1906 p. 3). Das wie oben p. 311 angegeben fixirte Material wird in Paraffin (42° Schm.) eingebettet. Die aufgeklebten Schnitte werden gefärbt entweder a) mit Eisenhämatoxylin (Differenzirung nach Heidenhain oder mit Weigerts Borax-Ferrieyan-kalium oder mit Säurefuchsin und Pikrinsäure) oder b) nach Beizung in Lösung von Eisenalaun oder Eisenoxydsulfat mit schwacher wässriger Lösung von Natriumalizarinsulfat und nach „Eintauchen in destillirtes Wasser und Abtupfen mit Fließpapier“ mit  $\frac{1}{10}$ %iger wässriger Lösung von Toluidinblau; hierauf Abspülen in 1%iger Essigsäure, Überführen in absoluten Alkohol, Differenziren in Kreosot; zum Schluß Xylol und Balsam; oder c) in modifizirter Weigertscher Art: Beizen in  $\frac{1}{2}$ %iger Lösung von Kaliumhyperpermanganat, bis sie dunkelbraun sind, dann in Pals Gemisch von Oxalsäure und Natriumsulfit, bis sie weiß werden, Färben mit Methylviolett (nach Weigert) oder Kristallviolett (1 Vol. gesättigter Lösung in 70%igem Alkohol, 1 Vol. 1%iger Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol und 2 Vol. Anilinwasser), Nachbehandeln mit Jodjodkalium, Differenziren im Gemisch gleicher Theile von Anilin und Xylol, endlich Balsam. — Die älteren Methoden von BENDA s. auf p. 457 der 2. Auflage dieses Buches. Änderungen s. bei MEVES (Arch. Mikr. Anat. 71. Bd. 1908 p. 573).

**747. Säurerubin.** KULTSCHITZKY (Anat. Anz. 8. Jahrg. 1893 p. 357) färbt Paraffinschnitte 5—10 Sekunden lang im Gemisch von 1 g Säurerubin, 400 ccm 2%iger Essigsäure und 400 ccm konzentr. wässriger Pikrinsäurelösung oder wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde lang im Gemisch von 100 ccm 96%igen Alkohols und 3—5 ccm obigen Gemisches. Nach gründlichem Auswaschen in Alkohol sind Ganglienzellen und Axencylinder gelbroth, Glia rothviolett. — POPOW (Zeit. Wiss.



Mikr. 13. Bd. 1896 p. 358) verwendet 1%ige wässrige Rubinlösung mit etwas Jodtinktur einige Sekunden lang (Auswaschen in absolutem Alkohol) oder 3%ige alkoholische, mit Rubin S gesättigte Pikrinsäurelösung 5—10 Minuten lang. — BURCHARDT (La Cellule Tome 12 1897 p. 364) färbt im Gemisch von Pikrinsäure (1 : 300) 9 Th. und Säurerubin (konzentr. wässrige Lösung) 1 Theil; direkte Übertragung in Alkohol; Vorfärben der Kerne mit Methylviolett. Oder: Kerne mit Fuchsin, Fasern mit Poiriers Blau oder Säureviolett in Pikrinsäure gelöst. — S. auch § 263 (WEIGERT).

**748. Viktoriablau.** ANGLADE & MOREL (\*Revue Neur. Tome 1 1901 p. 157) härten das Material bei 37° C. 24 Stunden lang im Gemisch von 1 Theil 7%iger Sublimatlösung und 3 Th. von Fols Gemisch (oben § 45), bringen es durch Alkohol und Aceton in Paraffin, färben die Schnitte in gesättigter wässriger Lösung von Viktoriablau heiß, behandeln sie nach Gram und führen sie durch das Gemisch von Anilin (2 Th.) und Xylol (1 Th.) in Balsam über. Die Methode soll auch für niedere Thiere gut sein. — S. auch GALESCU (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 65 1908 p. 429; Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1909 p. 422: Schnitte mit Resorcin beizen, mit Methylviolett 5 B plus Oxalsäure färben) und L'HERMITTE & GUCCIONE (ibid. 26. Bd. 1910 p. 569).

**749. Eosin und Anilinblau** nach YAMAGIWA (Arch. Path. Anat. 160. Bd. 1900 p. 360). Material aus Müllers Gemisch wird direkt in absoluten Alkohol gebracht und in Celloidin eingebettet; die Schnitte werden nach Vorfärbung mit Eosin in gesättigter alkoh. Lösung (12 Stunden lang) mit Anilinblau nach Ströbe (oben § 726) gefärbt: Axencylinder blau, Glia roth.

## Retina.

S. \*SELIGMANN, Mikrosk. Untersuchungsmeth. d. Auges. Berlin 1899, \*GREEFF, Anleitung zur mikrosk. Untersuchung des Auges. 3. Aufl. Berlin 1910 und für die Retina von *Homo* HERZOG (Encyclop. 1. Bd. p. 88 ff.).

**750. Fixiren und Härten.** Um Schnitte durch die Retina kleiner Augen zu machen, fixirt man das uneröffnete Auge in Osmiumsäuredämpfen, z. B. das von *Triton* 10 Minuten lang (RANVIER, Traité 1. Ed. p. 954), durchschneidet es im Äquator und legt die hintere Halbkugel auf einige Stunden in Drittelalkohol. Größere Augen öffnet man vorher am Äquator und legt nur die hintere Halbkugel ein.

MANN (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 483) fixirt die Retina in situ durch Injektion von Sublimatlösung in die Aorta (oben p. 23), nimmt das Auge heraus, öffnet es, entfernt Linse und Glaskörper und legt das Auge auf 2 Stunden in die warme Sublimatlösung. Ist es aber vor der Fixirung herausgenommen, so öffnet er es vorn, entfernt die Linse, macht einen Kreuzschnitt in den Glaskörper, treibt ihn durch leichten Druck auf die Sklera so weit hervor,



daß er sich fassen läßt, und nimmt ihn fort. Dann taucht er das Auge in die warme Sublimatlösung, bis es ganz voll Flüssigkeit ist, und läßt es 3 Stunden lang darin liegen. Schließlich öffnet er es in Normalsalzwasser durch 4 Schnitte durch die Sklera; bei sorgfältigem Vorgehen hat die Retina keine Falten.

L. JOHNSON (in litt.) fixirt die Augen uneröffnet, indem er sie einige (bei erwachsenen Menschen 5, bei Kindern, Kaninchen, Affen, überhaupt kleineren Säugern nur 1–3) Minuten lang über stark erwärmter 1%iger Lösung von Osmiumsäure räuchert. Sobald sich die Sklera fest anfühlt, wird sie mit einem Rasirmesser dicht hinter dem Ciliarkörper durch einen leichten Einschnitt geöffnet (aus großen Augen werden Cornea und Linse entfernt), und das Auge auf 12 Stunden in das Gemisch von Osmiumsäure etc. (oben § 57) gelegt, später unter der Wasserleitung ausgewaschen, 2 Tage lang in 2½%iger Lösung von Kaliumbichromat aufgehängt und zuletzt in Alkohol (von 20% an) nachgehärtet. — Auch wenn man andere Gemische anwendet (Flemmings, Müllers etc.), muß stets vorher das Auge gut mit Osmiumsäure geräuchert sein. Gemische mit Formaldehyd empfiehlt J. nicht.

ROCHON-DUVIGNEAUD (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 9 1907 p. 317) bringt das hintere Augensegment (von *Homo*) in eine Höhlung in einem Kork, entfernt den Glaskörper vorsichtig und räuchert die Retina 1 Stunde lang über 1%iger Osmiumsäure; dann auf 4 Stunden in Müllers Gemisch 10 Th. und 1%ige Osm. 1 Th., darauf in Wasser und allmählich in starken Alkohol.

LEBER (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 256) empfiehlt 1 Theil Formol und 9 Theile Wasser; haben die Augen einige Tage darin gelegen, so könne man sie ohne Schaden durchschneiden. Die Retina sei wenigstens so gut erhalten wie in Müllers Gemisch. Dann könne man die Augen in immer stärkeren Alkohol bringen, wobei der Glaskörper etwas schrumpfe, aber kaum so viel wie nach Müllers Gemisch. — S. auch HIPPEL (ibid. 16. Bd. 1899 p. 79: Formol sei vorzüglich für die Retina). — BENDA (Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 71. Vers. 2. Th. 2. Hälfte 1900 p. 459) empfiehlt Fixirung in 10%iger Salpetersäure und Härtung in Müllers Gemisch (je 24 Stunden lang). — KOLMER (Arch. Gesamte Phys. 129. Bd. 1909 p. 35) fixirt 12–24 Stunden lang im Gemisch von 4 Th. gesättigter Lösung von Kaliumbichromat, 4 Th. 10%igen Formols und 1 Th. Eisessig (eventuell mit Zusatz von Trichloressigsäure und Uranylacetat).

ZÜRN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1902 Suppl. p. 106) findet für die Haussäugethiere am besten die Fixirung in Sublimat (gesättigte Lösung in 0.6%igem Salzwasser, mit 1–1½% Eisessig) nach Entfernung der vorderen Augenhälfte und des Glaskörpers. Auswaschen ohne Jod in Alkohol von 35% an, alle Tage um 5% stärker; in



45—50 %igem wird ein horizontaler Streifen der Retina herausgeschnitten und durch Cedernöl in Paraffin von 52—55° Schmelzpunkt eingebettet. — HERZOG (Encyclop. 1. Bd. p. 75) empfiehlt besonders die Gemische von Zenker und Tellyesniczky sowie Formol.

**751. Färben.** KUHN (Jena. Zeit. Naturw. 24. Bd. 1889 p. 177) färbt nach Weigert und Pal (§ 698), DOGIEL mit Methylenblau (§ 296).

SCHAFFER (Sitzungsb. Akad. Wien 99. Bd. 3. Abth. 1890 p. 113) behandelt die Schnitte einige Stunden lang mit 1 %iger Chromsäure, wäscht sie nur kurz mit Wasser, bringt sie auf 20 Stunden in Kultschitzkys Hämatoxylin (oben p. 351) und differenzirt sie 12 Stunden lang nach Weigert (oben p. 349). — ZÜRN (l. c. p. 107) verwendet hauptsächlich Eisenhämatoxylin.

KRAUSE (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 227) behandelt die frische Retina mit 1 %iger Lösung von Eisen- oder 2 %iger von Vanadiumchlorid, dann mit 2 %iger Lösung von Gerb- oder Pyrogallussäure. So färben sich nur die Körnerschichten und Kerne der Ganglienzellen. — LENNOX (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 408) färbt mit Hämatoxylin nach Weigert, GUCCATI (Mem. Accad. Bologna (4) Tomo 7 1887 p. 203) mit konzentrierter Lösung von Säurefuchsin. — COLUCCI (Giorn. Ass. Med. Natural. Napoli Anno 5 1894 p. 5) empfiehlt vor Allem Paladinos Imprägnation mit Jodpalladium (oben § 714).

Über Golgis Methoden s. oben § 728 ff., RAMÓN Y CAJAL (La Cellule Tome 9 1893 p. 129) und MARENGHI (\*Bull. Soc. Med. Chir. Pavia 1901); über die Methoden für Neurofibrillen s. oben § 686 ff., sowie RAMÓN Y CAJAL (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 21. Bd. 1904 p. 393).

Über das Bleichen der Retina s. § 560, 562, 565, 566 und 679.

**752. Maceriren.** Man fixirt in  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{2}$  %iger Osmiumsäure und macerirt dann 2—3 Tage lang in  $\frac{1}{50}$  %iger Chromsäure, Jodserum, schwachem Alkohol, Müllers Gemisch oder Wasser. — THIN (Journ. Anat. Phys. London Vol. 13 1879 p. 139) fixirt 46 bis 48 Stunden lang in Drittel- oder in 25 %igem Alkohol, färbt und zerzupft. — SCHIEFFERDECKER macerirt die frische Retina einige Tage lang in seinem Methylgemisch (oben § 502). — ANDRÉ (\*Journ. Anat. Phys. Paris 1847 p. 96) verwendet starke Lösung von Chloralhydrat (2 g auf 15 ccm Wasser, dazu auch wohl 8 ccm Glycerin), KRAUSE (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 1. Bd. 1884 p. 152) 10 %ige.

### Inneres Ohr.

**753.** SCHWALBE (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 90) fixirt die Schnecke von *Cavia* 8—10 Stunden lang in Flemmings Gemisch,



wäscht sie in Wasser, entkalkt sie 24 Stunden lang in 1% iger Salzsäure, entsäuert sie und bringt sie in Paraffin. — S. auch § 546 (FERRERI).

PRENANT (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 9. Bd. 1892 p. 28) öffnet die Schnecke in Hermanns oder Flemmings Gemisch, fixirt sie 4—5 Stunden lang darin, nimmt zum Entkalken, das er lieber vermeidet, 1% ige Lösung von Palladiumchlorür (nach P. Meyer 1876) und färbt die Paraffinschnitte mit Safranin oder Methylviolett B, oder Anilingrün und Orange, oder Eosin und Hämatoxylin nach Renaut. Zur Isolirung der Stria vascularis legt er die Schnecke auf 1 Tag in 1% ige, dann auf 4—5 Tage in  $\frac{1}{10}$ % ige Osmiumsäure.

KRAUSE (Encyclop. 1. Aufl. p. 425) injiziert dem Thiere blutwarmes Zenkersches Gemisch, präparirt das Felsenbein heraus und legt es auf 2—3 Tage in dieses Gemisch oder bringt die Schnecke direkt auf einige Tage in Hermanns Gemisch. Er entkalkt mit 3—5% iger, täglich gewechselter Trichloressigsäure und bettet in Celloidin oder Paraffin ein. Über die Methode von Held s. oben § 111a, die von Waldeyer, Pritchard und Lavdowsky auf p. 385 der 3. Aufl. dieses Buches.

KATZ (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 111) fixirt das innere Ohr geöffnet 1—2 Stunden lang im Gemisch von 30 ccm  $\frac{1}{2}$ % iger Osmiumsäure und 5 Tropfen Essigsäure, gibt dann 10 Tropfen Essigsäure und 60 ccm  $\frac{1}{2}$ % iger Chromsäure oder  $\frac{1}{2}$ % igen Platinchlorids hinzu und läßt es noch 4 Tage darin. Nun spült er es mit Wasser ab, legt es auf 12—24 Stunden in Holzessig oder eine Lösung von Pyrogallol oder Tannin, entkalkt es (bei Mäusen nicht nöthig) im Gemische von 1 Th. Chromsäure, 4—10 Th. Salpetersäure (oder Salzsäure) und 200 Th. Wasser und bettet es in Celloidin, ausnahmsweise in Paraffin ein.

BIELSCHOWSKY & BRÜHL (Arch. Mikr. Anat. 71. Bd. 1907 p. 27) fixiren das Felsenbein in 20% igem Formol, entkalken es in 5% iger Salpetersäure, waschen diese aus, bringen es wieder in das Formol, nochmals in Wasser, schneiden es mit dem Gefriermikrotom und behandeln die Schnitte nach Bielschowskys Methode (oben § 690, mit leichten Abänderungen).

S. ferner FLESCH (Arch. Mikr. Anat. 15. Bd. 1878 p. 300); TAFANI (Arch. Ital. Biol. Tome 6 1884 p. 208); \*POLITZER, Anat. menschl. Gehörorganes, Stuttgart 1889 (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 364); EICHLER (ibid. 9. Bd. 1893 p. 380: Anleitung zur Injektion der Blutgefäße); \*SIEBENMANN, Blutgefäße im Labyrinthe d. menschl. Ohres, Wiesbaden 1894 (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 386); BRÜHL (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 418: Hohlräume im Ohr); DENKER (Anat. Hefte 2. Abth. 9. Bd. 1900 p. 300: ebenso); STEIN (Anat. Anz. 17. Bd. 1900 p. 398: s. oben § 542); KISHI (Arch. Mikr. Anat. 59. Bd. 1901



p. 173: Fixirung in Formol; Entkalkung nach Rousseau; Färbung s. oben § 241); GRAY (Journ. Anat. Phys. London Vol. 37 1903 p. 379).

### Elektrische Organe.

**754. Torpedo.** BALLOWITZ (Arch. Mikr. Anat. 42. Bd. 1893 p. 460 etc.) behandelt die frischen Säulen nach Golgi mit Silbernitrat, nebenbei mit 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Osmiumsäure (1—2 Tage lang, dann zerzupft und direkt in Wasser untersucht oder mit Gentianaviolett etc. gefärbt). Fixirung mit Flemmings Gemisch, Chlorpalladium und Salpetersäure von 3—5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> weniger gut; Vergoldung und Versilberung des frischen Gewebes ebenfalls nicht geeignet.

IWANZOFF (Bull. Soc. Natural. Moscou (2) Tome 8 1895 p. 407) untersucht die Platten in der Cerebrospinalflüssigkeit des Thieres oder spritzt Osmiumsäure von  $\frac{1}{2}$ —2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> interstitiell ein, härtet die nach einigen Minuten herausgeschnittenen Säulen in 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igem Kaliumbichromat (oder Ammoniumbichromat oder Müllers Gemisch), färbt sie nach dem Abspülen mit Wasser in wässeriger oder alkoholischer Lösung von Hämatoxylin und schneidet sie eventuell in Paraffin. S. auch KRAUSE (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 p. 376) und CAVALIÉ (Bibl. Anat. Paris Tome 13 1904 p. 214: Methode von Nabias, s. § 744).

**755. Raja.** IWANZOFF (Bull. Soc. Natural. Moscou (2) Tome 9 1895 p. 74) fixirt das Organ im Schwanze hauptsächlich mit Flemmings Gemisch, färbt es mit Hämacalcium und Eosin und untersucht die Schnitte in Kaliumacetat oder Balsam. — Nach BALLOWITZ (Anat. Hefte 1. Abth. 7. Bd. 1897 p. 285) fixirt man am besten in konzentrierter Lösung von Sublimat in Seewasser (oder 0,6<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igem Salzwasser) oder Flemmings Gemisch. Die Schnitte werden in Wasser untersucht; Öl und Balsam hellen zu sehr auf. Golgis Methode leistet viel.

**756. Andere Fische.** Über *Mormyrus* s. OGNEFF (Zeit. Wiss. Z. 64. Bd. 1898 p. 567), über *Gymnotus* BALLOWITZ (Arch. Mikr. Anat. 50. Bd. 1897 p. 689), über *Malopterurus* BALLOWITZ (Jena 1899 p. 16).



## 30. Kapitel.

## Andere histologische Methoden.

## Bindegewebe.

**757. Allgemeines.** MAYER (Sitzungsb. Akad. Wien 85. Bd. 3. Abth. 1882 p. 77) empfiehlt zum raschen und kräftigen Färben frischen Gewebes seine Lösung von Methylviolett B (oben § 333); auch die elastischen Fasern und glatten Muskeln färben sich damit, aber anders.

S. ferner FLEMMING (Internat. Beitr. Wiss. Med. 1. Bd. 1891 p. 213) über die Entwicklung der Bindegewebfasern. — Über künstliche Ödeme zum Studium des areolären Gewebes s. RANVIER (Traité 1. Ed. p. 329).

REITTERER (Journ. Anat. Phys. Paris 39. Année 1903 p. 196) fixiert dichtes Bindegewebe, speziell das der Haut, mit Zenkers, Brancas oder Flemmings Gemisch, wäscht es aus, läßt es nur 1 Stunde in Alkohol von 90%,  $\frac{1}{2}$  Stunde in absolutem, je 20 Minuten in Xylol und in einem Gemisch von Xylol und weichem Paraffin,  $\frac{1}{4}$  Stunde im Vacuum bei 40° in Paraffin von 36°, endlich nur 10 Minuten in solchem von 54° Schmelzpunkt.

FREEBORN (Journ. R. Micr. Soc. London 1889 p. 305) färbt Schnitte 3 Minuten lang mit Pikronigrosin (1 ccm 1% iger wässriger Lösung von Nigrosin und 9 ccm 1% iger wässriger Lösung von Pikrinsäure), wäscht sie mit Wasser und bringt sie in Balsam: Bindegewebfasern hellblau, Kerne schwärzlich, alles Übrige grünlich gelb. — WHITE (Journ. Anat. Phys. London Vol. 35 1901 p. 145) benutzt ein Gemisch von Erythrosin und Calciumpikrat; bei zu kurzem Färben gewinnt aber die Pikrinsäure, bei zu langem das Erythrosin die Oberhand.

BENEKE (Verh. Anat. Ges. 7. Vers. 1893 p. 165) färbt die Fibrillen fast genau so wie Kromayer (oben § 640) die Plasmafasern. — RIBBERT (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 93) empfiehlt Mallorys Hämatoxylin und Phosphormolybdänsäure (oben § 265). — Ähnlich PATELLANI (Monit. Z. Ital. Anno 13 1902 p. 6).

UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 18. Bd. 1894 p. 509) gibt 3 Methoden zur Färbung an: 1) Schnitte von Material aus Alkohol färbt man in polychromem Methylenblau (§ 291), bringt sie auf  $\frac{1}{4}$  Stunde in 1% ige Lösung von Orcein in absolutem Alkohol, wäscht sie mit Alkohol und führt sie durch Bergamottöl in Balsam über: Kerne blau, collagene Grundsubstanz dunkelroth, Körner in



den Mastzellen karminroth, Plasmazellen blau; 2. man färbt die Schnitte 5—10 Minuten lang in 2% iger wässriger Lösung von Säurefuchsin, spült sie ab, behandelt sie 1—2 Minuten lang mit 1% iger wässriger Lösung von Pikrinsäure, entwässert sie 2 Minuten lang in konzentrierter Lösung von Pikrinsäure in absolutem Alkohol, wäscht sie mit Alkohol und bringt sie in Balsam; 3. man färbt sie 20 Sekunden lang in Wasserblau (1% iger wässriger Lösung), wäscht sie, färbt sie 5 Minuten lang in Safranin (1% iger wässriger Lösung), wäscht sie wieder, legt sie in absoluten Alkohol, bis sie wieder blau werden, und bringt sie in Balsam. — WOLFRUM (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 219) färbt das Kollagen scharf mit Säurefuchsin in 90% igem Alkohol.

UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 34. Bd. 1902 p. 360; Encyclop. 1. Bd. p. 252) gibt ferner etwa 1 Dutzend Methoden an. Von diesen sei hier nur eine als einfach und vielseitig erwähnt: man färbt die Schnitte im Gemisch von 1 Theil Orcein, 0,25 Th. Wasserblau, 10 Th. Glycerin, 30 Th. Wasser und 60 Th. absol. Alkohols und differenzirt sie in neutralem oder saurem (1% HCl) Alkohol.

Über die Anwendung von Bielschowskys Methode (oben p. 344ff.) auf feine Bindegewebfibrillen, speziell die Gitterfasern, s. MARESCH (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 356), STUDNICKA (ibid. 23. Bd. 1907 p. 416), ZIMMERMANN (ibid. 25. Bd. 1908 p. 10), LEVI (Monit. Z. Ital. Anno 18 1908 p. 290), SNESSAREW (Anat. Anz. 36. Bd. 1910 p. 401) und HEINRICH (Arch. Mikr. Anat. 74. Bd. 1909 p. 786: Bindegewebe im Zahnbein). — S. auch CESA-BIANCHI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 25. Bd. 1908 p. 29: Bindegewebe im Corpus luteum; Fixirung durch Formol, Versilberung und Reduzirung in toto, Paraffin).

MALLORY (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 175) behandelt die Celloidin- oder Paraffinschnitte von Material, das mit Sublimat oder Zenkers Gemisch fixirt ist, 1—3 Minuten mit  $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{10}$  % iger Lösung von Säurefuchsin, beizt sie einige Minuten in 1% iger Lösung von Phosphormolybdänsäure, wäscht sie aus, färbt sie 2—20 Minuten im Gemische von 1 Th. Anilinblau, 4 Th. Orange G, 4 Th. Oxalsäure und 200 Th. Wasser und bringt sie nach dem Abspülen durch 95% igen Alkohol und Xylol in Balsam. Soll das Bindegewebe besonders scharf hervortreten, so wird das Säurefuchsin fortgelassen. — Mc GILL (Anat. Anz. 35. Bd. 1909 p. 75) macht Material aus Formol, Flemmings oder Gilsous Gemisch für diese Färbung brauchbar durch Behandlung (Schnitte nur 5—20 Minuten, ganze Stücke länger) mit 2—3% iger Lösung von Kaliumbichromat oder mit Zenkers Gemisch.

S. auch die kleinen Abänderungen durch SABIN (Amer. Journ. Anat. Vol. 1 1902 p. 338) und BARTEL & STEIN (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth. f. 1905



p. 145); ferner COCA (Arch. Path. Anat. 186. Bd. 1906 p. 300). — Nach ESTERLY (Univ. California Publ. Z. Vol. 1 1904 p. 230) ist die Methode durchaus nicht zuverlässig.

VEROCAY (Verh. D. Ges. Naturf. Ärzte 80. Vers. 1909 2. Theil 2. Hälfte p. 53) beizt die Schnitte von beliebig fixirtem Material 10—16 Stunden lang bei 46° in 1%iger Chromsäure oder 5%iger, mit 1/2%iger HNO<sub>3</sub> versetzter Lösung von Bichromat, spült sie ab, färbt sie mit Delafields Hämatoxylin 1/2—2 Stunden lang und bringt sie aus Wasser (eventuell Gegenfärbung mit Pikrinsäure oder Aurantia) etc. in Balsam. Bindegewebe, besonders schön Gitterfasern, blau bis schwarz.

**758. Zur Unterscheidung des Bindegewebes von glatter Muskulatur** (s. auch oben § 653) ist nach SCHAFFER (Zeit. Wiss. Z. 80. Bd. 1905 p. 176) die schärfste Probe die gleichzeitige Färbung mit Säurefuchsin und Pikrinsäure: die Schnitte kommen erst in das Gemisch von 1 Th. Säur. auf 1000 Th. 1%iger Lösung von Pikr., dann direkt in 95%igen Alkohol und durch Benzol oder Xylol in Balsam, besser in Kolophonium nach Nissl (§ 420). Zur Färbung kann man auch je einen Tropfen des Gemisches mit 10 ccm destill. Wasser verdünnen. — S. auch § 263 (WEIGERT). — Lange nicht so einfach verfährt HANSEN (Anat. Anz. 15. Bd. 1898 p. 151; Anat. Hefte 1. Abth. 27. Bd. 1905 p. 618), betrachtet aber dafür seine Methode als die „einzige einigermaßen sichere und zuverlässige“.

Er färbt den nicht aufgeklebten Schnitt 1—20 Minuten lang im Gemisch von 20 ccm 1%iger Lösung von Pikr. und 1 ccm 2%iger Lösung von Säur., dem beim Gebrauch auf 9 ccm 1 Tropfen 2%iger Essigsäure zugesetzt wird, nimmt ihn heraus, entfernt durch Filtrirpapier das meiste Färbgemisch, spült den Schnitt in 3 ccm Wasser und 2 Tropfen des Färbgemisches ab, saugt wieder ab und bringt den Schnitt unter besonderen Kautelen durch Alkohol von 96 und 100% in Xylol und Balsam. Vorfärbung mit Karmin, Alaunhämatein etc. ist nicht zulässig, dagegen kann man vom Säurefuchsin die 1 1/2 fache Menge verwenden. — Nach WILHELMI (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 18) ist weder Schaffers Methode noch die mit Rubinammonpikrat (oben § 309) für Tricladen zuverlässig.

DUBREUIL (C. R. Ass. Anat. 6. Sess. 1904 p. 62; ibid. 7. Réun. 1905 p. 23) verwendet das Gemisch von 23 Vol. 1%iger Lösung von Pikrinsäure und 2 Vol. 1%iger Lösung von Methylblau; Vorfärbung der Schnitte mit Karmalaun, Safranin oder Akridinroth. — Nach CURTIS & LEMOULT (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 140 1905 p. 1606) können statt der Pikrinsäure alle Trinitoverbindungen der Kresole etc. dienen, statt des Säurefuchsin Ponceau S extra, Bleu diamine 2 B, Noir naphthol B, auch wohl Violet rouge 4 RS und 5 RS. — DELAMARE (Verh. Anat. Ges. 19. Vers. 1905 p. 227; C. R. Ass. Anat. 7. Réun. 1905 p. 211) gibt ein Vierfarbgemisch von Orcein, Alaunhämatoxylin, Säurefuchsin und Pikrinsäure für elastische Fasern, Bindegewebe, Muskeln und Kerne an.

S. auch unten § 795 (MAAS) und über Pikroindigkarmin § 338.



**759. Fettzellen.** FLEMMING (Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 39, 178) macht darauf aufmerksam, das osmirte Fett sich in Terpentinöl (Dekhuijzen), Äther und Kreosot (P. Mayer) sehr rasch, langsam dagegen in Xylol, Nelkenöl oder Chloroform löse. Fixirt man daher Fettgewebe mit einem Osmiumgemisch, färbt es mit Safranin oder Gentianaviolett und schafft das Fett durch Terpentinöl fort, so erhält man gute Präparate zum Studium der Fettzellen. (S. auch oben p. 32.) Will man hingegen das Fett nicht extrahirt haben, so nehme man zum Einbetten in Paraffin nur Chloroform (oder Nelkenöl), zum Einschluß Xylolbalsam. Flemming osmirt in 1—2%iger Osmiumsäure 12—24 Stunden lang bei Abschluß des Lichtes und wäscht lange mit Wasser aus. Das Fett wird erst in Alkohol schwarz. — S. auch STARKE (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1895 p. 70).

HEIDENHAIN (Plasma u. Zelle Jena 1907 p. 428) führt zur besseren Erhaltung der Osmiumfärbung das Metall durch  $\text{Na}_2\text{S}$  in 70%igem Alkohol in das Sulfid über. S. auch oben § 38 (HEIDENHAIN).

Nach WLASSAK (Arch. Entwicklungsmech. 6. Bd. 1898 p. 466) zieht Petroläther osmirte Fett nicht aus; ebenso nach NICOLAS (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 8. Bd. 1891 p. 3) Cedernöl nicht; nach HANDWERCK (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 185) kaltes Benzin gar nicht, warmes bei nicht zu langer Wirkung nicht nachweisbar; nach SCHOLZ (ibid. 22. Bd. 1905 p. 416) Aceton ebenfalls nicht. — Auch nach HOTTINGER (Dissert. Zürich 1904 p. 56) ist völlig osmirte Neutralfett in absol. Alkohol, Cedernöl und Xylol gar nicht löslich.

NEMILOFF (Anat. Anz. 28. Bd. 1906 p. 517) stellt das Plasmanetz in den Fettzellen von *Acipenser* durch Silber nach Ramón dar: 24 Stunden lang in absol. Alkohol +  $\frac{1}{2}\%$  Ammoniak, dann 4 Tage lang bei 30—35° C. in 5%iger Silbernitratlösung, 24 Stunden lang im Gemisch von 2 Th. Pyrogallol, 5 Th. Formol und 100 Th. Wasser; Einbettung in Celloidin.

**760. Fett.** DADDI (Arch. Ital. Biol. Tome 26 1896 p. 143) färbt Fett in den Geweben mit gesättigter Lösung von Sudan III in Alkohol, indem er Schnitte von den womöglich mit Müllers Gemisch konservierten Geweben 5—10 Minuten lang hineinlegt, eben so lang mit Alkohol auswäscht, mit Fließpapier abtrocknet und in Glycerin untersucht: die kleinen Fetttropfen gelb, die größeren orangeroth, Myelin nur ganz hellgelb; weiter färbt sich Nichts. Schnitte aus freier Hand oder mit dem Gefriermikrotom zu machen. — Diese einfache Methode empfehle ich (MAYER); zur Lösung nehme ich 70%igen Alkohol und färbe die Objekte gewöhnlich vorher mit Hämalan. PFLÜGERS Angabe (Arch. Gesamte Phys. 81. Bd. 1900 p. 379), das Sudan III sei in Glycerin löslich, trifft für das von Grüber & Hollborn bezogene Präparat nicht zu. — S. auch oben p. 235 (HOTTINGER).



Nach MICHAELIS (Arch. Path. Anat. 164. Bd. 1901 p. 269) ist Scharlach R (Fettponceau) dem Sudan überlegen; Anwendung wie bei diesem. — S. auch HERXHEIMER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 66: Zusatz von etwas Natronlauge; ibid. 21. Bd. 1904 p. 57: zur Lösung dient das Gemisch gleicher Theile von 70 %igem Alkohol und Aceton). Mir (MAYER) erscheint die Superiorität des Scharlachs zweifelhaft; FISCHER (Centralbl. Path. 13. Bd. 1902 p. 943) ist derselben Meinung, löst den Farbstoff in kochendem 70 %igem Alkohol, filtrirt die Lösung stets vor dem Gebrauch, färbt die losen Schnitte kalt 10—15, bei 37 ° C. nur 1—2 Minuten lang, spült sie mit Wasser ab und bringt sie (nach Färbung mit Hämalaun) in Glycerin. Die Gewebe fixirt er mit 5 %igem Formol.

BELL (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 4 1910 p. 199) färbt Gefrierschnitte von frischem Gewebe nach Herxheimer (2 g NaHO in 100 ccm 70 %igen Alkohols, kalt mit Scharlach R gesättigt; nach Färbung darin  $\frac{1}{2}$  Minute mit 60 %igem A. auswaschen, dann Wasser und nach einigen Minuten Glycerin).

Über den Nachweis von Fett durch Chinolinblau (Cyanin) s. oben § 328, durch Indophenol s. HERXHEIMER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 66) und DUNIN-KARWICKA (Arch. Path. Anat. 184. Bd. 1906 p. 436), durch Alkanna MOLLISON (Zeit. Wiss. Z. 77. Bd. 1904 p. 534). S. ferner LEVINSON (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 321: Chromhämatoxylin nach Weigert, stark modifizirt und umständlich).

EISENBERG (Arch. Path. Anat. 199. Bd. 1910 p. 502 ff.) hat mehrere Hundert Farbstoffe geprüft, zum Theil neue, auch solche, die eine Doppelfärbung liefern. Die Färbung ist rein physikalisch; geschieht sie mit wässerigen Lösungen, so nimmt das Fett die Farbe der Base, das Gewebe die des Salzes an; genügt die Dissociation nicht von selbst, so muß sie durch Alkalien verstärkt werden. Nilblau BB (= Chlorhydrat G) liefert in Wasser die schönste Fettfärbung: orangeroth (Farbe der Base; die Fettsäuren werden durch Salzbildung blau). Auch Sudan färbt Fett in Lösungen ohne Alkohol, z. B. Formol; letzteres ist besonders gut für Indophenol. Sudan färbt sehr intensiv, wenn gelöst im Gemische gleicher Theile absol. Alkohols und Phosphorsäure oder in Ameisensäure (Lösung 6 mal so stark wie in 70 %igem Alk.)

Nach HANDWERCK (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 177) ist die Osmiumsäure zur Entdeckung des Fettes in den Geweben besser als das Sudan; beide Stoffe sind aber nur ein Reagens auf Ölsäure und Olein, nicht auf feste Fettsäuren und ihre Glyceride. Ähnlich urtheilen UNNA & GOLODETZ (Monatsh. Prakt. Derm. 50. Bd. 1910 p. 96). — S. auch ROSENTHAL (\*Verh. Path. Ges. 2. Tag. 1900 p. 440) und MULON (Bibl. Anat. Paris Tome 13 1904 p. 208), sowie über die „sekundäre Osmirung“ UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 26. Bd. 1898 p. 601; Verh. Anat. Ges. 12. Vers. 1898 p. 16), MERK (Sitzungsb. Akad. Wien 108. Bd. 3. Abth. 1899 p. 362) und WEIDENREICH (Arch. Mikr. Anat. 57. Bd. 1901 p. 611) sowie § 878.



BENDA (Arch. Path. Anat. 161. Bd. 1900 p. 194) empfiehlt Weigerts Neurogliabeize (oben § 745) zur Entdeckung freier Fettsäuren oder ihrer Kalksalze in den Geweben: es bilden sich die Kupfersalze. — S. auch BERNER (ibid. 187. Bd. 1907 p. 360) und FISCHLER (Zeit. Wiss. Mikr. 22. Bd. 1905 p. 263).

Zur Trennung der Fette von den Seifen fixirt DEFLANDRE (Journ. Anat. Phys. Paris 40. Année 1904 p. 80) die Leber der Verte- und Evertebraten in 4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igem Formol, wäscht sie lange in Wasser aus und bringt sie in Flemmings Gemisch. Analog zur Unterscheidung der Lecithine: Fixirung in Formol, Lösung der Fette durch Aceton, dann in Flemmings Gemisch oder Räucherung mit Osmiumsäure. Jedenfalls muß man beim Einbetten rasch verfahren: nur 2 Stunden in Xylol und 4—5 Stunden in Paraffin von 48<sup>0</sup> Schmelzpunkt.

CIACCIO (Arch. Path. Anat. 199. Bd. 1910 p. 381; Arch. Zellforsch. Leipzig 5. Bd. 1910 p. 255 ff.) fixirt das Gewebe im Gemisch von 100 ccm 5%iger Lösung von Kaliumbichromat, 20 ccm Formol und 5—10 Tropfen Ameisensäure 24—48 Stunden lang, bringt es bei 36<sup>0</sup> auf 5—8 Tage in 3%iges Bichromat und färbt in den Paraffinschnitten das unlöslich gewordene Lecithin mit Sudan.

**761. Plasmazellen.** Zu ihrer Darstellung ist nach UNNA (Encyclop. 2. Bd. p. 411) die Fixirung kleiner Stücke der Gewebe in reinem absolutem Alkohol erforderlich. Nach 2 Tagen werden diese in Celloidin eingebettet; beim Aufkleben und den übrigen Manipulationen dürfen die Schnitte nicht mit Gerbstoffen oder Metallsalzen in Contact kommen. Zur Färbung dient polychromes Methylenblau (oben § 291) mit oder ohne Orcein, oder Pyronin und Methylgrün (nach Unna & Pappenheim).

Die Schnitte kommen auf 10 Minuten in polychr. Meth., werden abgespült, auf Fließpapier getrocknet, auf 15 Minuten in 1%ige Orceinlösung gebracht, in absol. Alkohol differenzirt und durch Bergamottöl in Balsam geschafft; oder: polychr. Meth. nur 2 Minuten, Wasser, Glycerinäthergemisch (von Grüber & Hollborn) 1 Theil plus 4 Theile Wasser 1/2—2 Minuten, Wasser, absol. Alk., Berg., Balsam; oder: nach Auflösen des Celloidins (also für brüchige Schnitte nicht anwendbar) polychr. Meth. 5 Minuten, Wasser, Abtrocknen mit Fließpapier, absol. Alk. (2 Th.) plus Xylol (1 Th.) 1 Minute, Xylol ebenso lang, Differenziren in Anilin, das lange über gepulvertem Alaun gestanden hat, 5—10 Minuten lang, Xylol, Balsam. Oder: Färben im Gemisch von Pyronin, Methylgrün und Phenol (von Grüber & Hollborn) 5—10 Minuten lang bei 30—40<sup>0</sup>, Abspülen, absol. Alk., Berg., Balsam; vorher kann man 2 Minuten lang mit polychr. Meth. färben. — S. auch PAPPENHEIM (Arch. Path. Anat. 166. Bd. 1901 p. 427: Fixirung des Pyronins und Methylgrüns durch Resorcin oder Hydrochinon) und EHRLICH (ibid. 175. Bd. 1904 p. 203). S. auch § 774 und 775 der 2. Auflage dieses Buches.

BERGONZINI (Anat. Anz. 6. Jahrg. 1891 p. 596) färbt Schnitte von Material aus Alkohol oder Sublimat 3—4 Minuten lang im Gemisch 1/5%iger Lösungen von Säurefuchsin (1 Vol.), Methylgrün (2 Vol.) und Goldorange oder Orange G



(2 Vol.), wäscht sie 1—2 Minuten lang in Wasser, 2 Minuten lang in absol. Alkohol und bringt sie durch Kreosot (oder Bergamottöl) und Terpentinöl in Balsam.

LÖWENTHAL (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 309) fixirt kleine Stücke vom subcutanen Gewebe zwischen den Schulterblättern der weißen Ratte 24 Stunden lang im Gemisch von Golgi (oben p. 362), wäscht sie gut aus, legt sie auf 36—48 Stunden in Alkohol von 70 % und färbt sie mit Delafields Hämatoxylin oder Alaunkarmin. — S. auch MERKEL (Verh. Anat. Ges. 9. Vers. 1895 p. 42), SPULER (Anat. Hefte 1. Abth. 7. Bd. 1896 p. 130) und SCHRIDDE (ibid. 28. Bd. 1905 p. 698; 3. Aufl. dieses Buches p. 392).

**762. Mastzellen.** UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 19. Bd. 1894 p. 370) gibt 4 Methoden an, alle mit polychromem Methylenblau. — S. auch SCHWENTER in: Encyclop. 2. Bd. p. 72.

MAXIMOW (Arch. Mikr. Anat. 67. Bd. 1906 p. 686) empfiehlt für die Zellen des lockeren Bindegewebes die Fixirung in Hellys Gemisch („Zenker-Formol“, oben § 68); speziell für die Mastzellen Fixirung in absol. Alkohol, Färbung mit gesättigter Lösung von Thionin in 50 % igem Alkohol (nach Michaelis) 1—2 Tage lang: Granula rothviolett.

SCHAFFER (Centralbl. Phys. 21. Bd. 1907 p. 261) fixirt in 95 % igem Alkohol oder dem Gemische von diesem (2 Th.) und Formol (1 Th.), färbt bis  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in saurer (1 % HCl)  $\frac{1}{4}$  % iger Lösung von Methylenblau, Thionin oder Toluidinblau in Alkohol von 70—80 % und führt das Präparat in Balsam über.

EHRlich (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1876 p. 265) legt die frischen Gewebe in Lösung von Dahlia in etwas mit Essigsäure angesäuertem Alkohol von 30 % oder bringt sie erst in starken Alkohol und dann auf wenigstens 12 Stunden in beinahe konzentrierte Lösung von Dahlia im Gemisch aus 1 Theil Essigsäure und 12 Theilen Drittelalkohol. Nun differenzirt er sie in absolutem Alkohol und schließt sie in verharztes Terpentinöl ein. Ähnlich dienen Lösungen von Primula, Jodviolett, Cyanin, Safranin, Fuchsin und Methylviolett (am besten) in Drittelalkohol mit 5 % Essigsäure. — WESTPHAL (\*Über Mastzellen. Dissert. 1880) färbt 24 Stunden lang im Gemisch von Alaunkarmin, Glycerin und „stark dahliahaltigem“ absolutem Alkohol je 100, Essigsäure 20 ccm. — NORDMANN (Internat. Monatschr. Anat. Hist. 2. Bd. 1885 p. 191) färbt die Schnitte unter Anderem einige Minuten lang mit konzentrierter wässriger Lösung von Vesuvium plus 4—5 % Salzsäure und bringt sie durch absoluten Alkohol in Balsam.

FEDERICI (Anat. Anz. 29. Bd. 1906 p. 359) färbt die Schnitte von beliebig (besonders mit 10 % igem Formol oder diesem und Müllers Gemisch) fixirtem Material im Gemische von Hämalaun, Safranin und Lichtgrün und differenzirt sie erst in Eisenalaun, dann in absol. Alkohol: Mastzellen roth. — SCHWENTER (Folia Haemat. Leipzig 3. Jahrg. 1906 p. 519; Monatsh. Prakt. Derm. 43. Bd. 1906 p. 47) fixirt die Gewebe in starkem Alkohol, behandelt die Schnitte kurz mit 2 % iger Schwefel- oder Salpetersäure oder 5 % iger Essigsäure und färbt



sie erst mit einem Gemisch von polychrom. Methylenblau, Alaun und starkem Alkohol, dann nochmals mit demselben, aber ohne Alaun.

**763. Clasmatoocyten** (= Mastzellen). RANVIER (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 110 1890 p. 165) fixirt Mesenterium von Batrachiern oder Netz von Säugethieren mit Osmiumsäure und färbt es mit wässriger Lösung von Methylviolett 5 B.

**764. Elastisches Gewebe.** Die elastischen Fasern sind durch ihre große Verwandtschaft zur Osmiumsäure und einigen Theerfarbstoffen sowie durch ihre Unveränderlichkeit in Natron- oder Kalilauge ausgezeichnet.

G. MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 31) fixirt das Gewebe in  $\frac{1}{5}\%$  iger Chromsäure, wäscht es aus, färbt es 48 Stunden lang in Safranin (5 g auf 100 ccm absol. Alk. und 200 ccm Wasser), wäscht es und bringt es durch Nelkenöl in Balsam: elastische Fasern tief schwarz. — S. auch § 282 (LUSTGARTEN), ferner GRIESBACH (Zeit. Wiss. Mikr. 4 Bd. 1887 p. 442), FERRIA (ibid. 5. Bd. 1888 p. 343), MIBELLI (Monit. Z. Ital. Anno 1 1890 p. 17), PASSARGE & KRÖSING (\*Derm. Stud. 18. Bd. 1894), AGABABOW (Arch. Mikr. Anat. 50. Bd. 1897 p. 566), C. MARTINOTTI (Arch. Ital. Biol. Tome 11 1889 p. 257), RETTERER (C. R. Soc. Biol. Paris (10) Tome 5 1898 p. 744: Sublimat oder Zenkers Gemisch) und GARDNER (Biol. Centralbl. 17. Bd. 1897 p. 398).

Methoden mit Orcein. UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 19. Bd. 1894 p. 398) löst 1 Theil Orcein in 100 Th. absol. Alkohols und 1 Theil Salzsäure, übergießt damit die Schnitte in einer Porzellanschale, bis sie gerade bedeckt sind, und erwärmt auf 30° C. Nach 10—15 Minuten ist die Lösung ganz dick geworden; dann spült man die Schnitte in Alkohol ordentlich ab und bringt sie in Balsam.

Unnas ältere Methode, die sogenannte Tänzersche, s. in: Zeit. Wiss. Mikr. 9. Bd. 1892 p. 94; s. ferner ZENTHÖFER (ibid. 9. Bd. 1893 p. 509); KÖPPEN (ibid. 6. Bd. 1890 p. 473; 7. Bd. 1890 p. 22); HANSEN (Arch. Path. Anat. 137. Bd. 1894 p. 25); KULTSCHITZKY (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 673); GÜNTHER (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 230); SCHIEFFERDECKER (ibid. p. 302); GUERRINI (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 15. Bd. 1898 p. 37); SMIRNOW (Arch. Mikr. Anat. 57. Bd. 1900 p. 134: Zusatz von Pikrinsäure zur sauren Orceinlösung).

LOISEL (Journ. Anat. Phys. Paris 33. Année 1897 p. 134) fixirt die Embryonen von Säugern und Selachiern mit „sublimé faible“ oder Müllers Gemisch, schneidet sie in Paraffin und färbt sie mit Orcein und Salzsäure in alkoholischer Lösung (1:200).

TRIEPEL (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 31) färbt kleine, in Alkohol fixirte Objekte in toto mit der Lösung von 1 g Orcein auf 140 ccm 70% igen Alkohols und 40 Tropfen konzentr. Salzsäure 24 Stunden lang, wäscht sie mit saurem Alkohol (1% HCl) kurz aus und bettet sie in Paraffin. — BENDA (ibid. 19. Bd. 1903 p. 488) und MICHAELIS (Farbstoffchemie 1902 p. 146) färben die Schnitte längere Zeit mit sehr schwachen Lösungen von Orcein in saurem Alkohol. — PRANTER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1903 p. 363) färbt aufgeklebte Schnitte 12—24 Stunden lang in der Lösung von 0,1 g Orcein, 2 g Salpeter-



säure, 1 g gesättigter wässriger Lösung von Wasserblau (auch wohl 5 g analoger Lösung von Pikrinsäure) und 100 g Alkohol von 70 %. — S. auch oben p. 381 (DELAMARE) sowie unten § 880.

Methode mit Resorcinfuchsin. WEIGERT (Centralbl. Allg. Path. 9. Bd. 1898 p. 290) bringt die Lösung von 2 g Fuchsin (oder Para- oder Neufuchsin) und 4 g Resorcin in 200 ccm Wasser zum Kochen, fügt 25 ccm Liquor ferri sesquichlor. Pharm. Germ. III hinzu und läßt unter Umrühren einige Minuten kochen. Der Niederschlag wird abfiltrirt und in 200 ccm Alkohol von 94 % heiß gelöst; zur kalten Lösung gibt man 4 ccm Salzsäure. Die Schnitte werden darin  $\frac{1}{3}$ —1 Stunde lang gefärbt, mit Alkohol abgewaschen und durch Xylol (s. oben § 133) in Balsam gebracht; die Kerne können vor- oder nachher mit Karmin gefärbt werden.

Diese Methode erscheint mir (MAYER) als die beste. Bindet man sich genau an die Vorschrift, so enthält das Färbgemisch etwas freies Eisenchlorid und färbt besser, als wenn man den Niederschlag sorgfältig auswäscht, ehe man ihn in Alkohol löst. Ein absichtlicher Zusatz von äußerst wenig Eisenchlorid zum fertigen Gemisch bewirkt dasselbe, verhindert auch, daß sich Knorpel und Schleim mitfärben. Auch dem Kresofuchsin (oben p. 183) setzt man, wenn es nur die elastischen Fasern färben soll, vortheilhaft etwas Eisenchlorid zu. Übrigens thut 90 % iger Alkohol dieselben Dienste wie 94 % iger.

HART (Centralbl. Allg. Path. 19. Bd. 1908 p. 1) färbt mit Lithionkarmin, setzt aber zum sauren Alkohol 5 % Weigertschen Gemisches und läßt darin die aufgeklebten Schnitte über Nacht. — Nach WOLFRUM (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 219) werden durch Zusatz von 10 bis 15 % Aceton zum fertigen Weigertschen Gemische die Bilder schärfer.

MINERVINI (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 163; Monit. Z. Ital. Anno 13 1902 p. 255) stellt das Resorcinfuchsin statt mit Eisenchlorid mit derselben Menge 2 % iger Lösung von Chromsäure oder 5 % iger von Kaliumbichromat her, bereitet ferner analog dem Weigertschen Präparat Resorcinsafranin, färbt auch wohl mit beiden die ganzen Objekte statt erst die Schnitte. — Nach MICHAELIS (Farbstoffchemie 1902 p. 147) kann beim Resorcinfuchsin an Stelle des nur zur Oxydation dienenden Eisenchlorids Ammoniumhypersulfat treten; M. empfiehlt die Behandlung des gefärbten Schnittes mit salpetriger Säure, um die Färbung in grauschwarz zu verwandeln. — FISCHER (Arch. Path. Anat. 170. Bd. 1902 p. 285; 172. Bd. 1903 p. 517) zeigt, daß zwar das Resorcin nicht nöthig ist, aber das Gemisch nach Weigerts Vorschrift besser färbt. Dieses nennt er Fuchselin, das analoge aus Safranin Safranelin; jenes erlaubt die Färbung der Kerne mit Lithionkarmin oder Karmalaun, dieses die mit Alaunhämatoëin. Alle Färbgemische dürfen höchstens 6 Wochen alt sein; die Gewebe werden



am besten mit Alkohol fixirt. Zur gleichzeitigen Färbung des Fettes dient „Fuchselinscharlach“ (Zusatz von Scharlach R zu verdünntem Fuchselin). — Nach DUBREUIL (Bibl. Anat. Paris Tome 11 1902 p. 112) hat das Resorcin nur die Hyperoxydation des Farbstoffes (Methylviolett, Orcein, Akridinroth etc.) zu verhindern. — S. auch SPIEGEL (Arch. Path. Anat. 189. Bd. 1907 p. 17).

Methoden mit Hämatoxylin oder Karmin. HARRIS (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1902 p. 290) bringt 2 g Hämatoxylin, 1 g Chloraluminium und 1 Liter 50 % igen Alkohols zum Kochen, filtrirt nach der Oxydation des Hämatox. durch 6 g Quecksilberoxyd (oben § 248) das Gemisch und versetzt es mit 10 Tropfen Salzsäure. Dieses Elasthanatein ist aber erst nach Wochen gut. Die Schnitte werden 5—10 Minuten darin gefärbt, 1 Minute in saurem (1 % Salpetersäure) Alkohol, dann in reinem Alkohol gewaschen. Auch Mucikarmin (unten § 789) färbt das elastische Gewebe, wenn es hinterher mit saurem Alkohol differenzirt wird.

DE WITT (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 1 1907 p. 74) färbt die Celloidinschnitte mit Weigerts Gemisch (oben § 263: entweder in 4 Th. Häm. und 1 Th. Eisenchlorid 30 Minuten, oder in 2 Th. Häm. und 1 Th. Eis. 10 Minuten lang) und differenzirt in van Giesons Gemisch. — DÜCK (Arch. Path. Anat. 189. Bd. 1907 p. 62) wendet Weigerts Gemisch nach Beizung mit Kupfer an. — VERHOEFF (\*Journ. Amer. Med. Ass. 1908 No. 11; D. Med. Wochenschr. 1908 p. 705) färbt im Gemische von 100 Th. der Lösung von 1 Th. Häm. in 20 Th. Alkohol, 8 Th. Eisenchlorid (10 %) und 8 Th. Lugols Gemisch (Jod 2, Jodkalium 4, Wasser 100) wenigstens 5 Minuten lang, differenzirt in Eisenchlorid (2 %) und färbt eventuell mit Eosin in 80 % igem Alkohol nach.

**765.** Über die Gitterfasern in Leber und Milz s. unten § 796.

## Knochen, Zähne und Knorpel.

**766. Allgemeines.** Sehr ins Einzelne gehende Übersichten über die gesamte Technik der Untersuchung gibt SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 167—211 und Encyclop. 1. Bd. p. 724—795). S. auch HANSEN (Anat. Hefte 1. Abth. 27. Bd. 1905 p. 535 ff.).

SCHULTZE (Verh. Anat. Ges. 11. Vers. 1897 p. 3) macht zum Studium der Skelettbildung die konservierten Embryonen mit Kalilauge und Glycerin durchsichtig. — S. auch MALL (Amer. Journ. Anat. Vol. 5 1906 p. 435), MOODIE (ibid. Vol. 7 1908 p. 444) und oben p. 275 (HILL). — MOSER (Anat. Anz. 28. Bd. 1906 p. 629) verdaut die Embryonen in alkalischer Trypsinlösung bei 30—40° C., bis sie die Knochenkerne erkennen lassen. — S. auch § 885.

**767. Isolirung der Skelettheile.** THILO (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 244) bringt die Fische auf 24 Stunden in Wasser, dann auf eine bis mehrere Wochen in verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. englischer Säure und 10 Vol. Wasser), isolirt das Skelett und entsäuert es erst in Wasser, dann in konzentr. Lösung von Barythydrat oder Sodalösung



(1:30). Soll der Kalk in den Knochen gar nicht angegriffen werden, so verdünnt man die Schwefelsäure mit 70—80 %igem Alkohol.

### **768. Schleifen der Knochen und Zähne ohne Weichtheile.**

Nach RANVIER (Traité 1. Ed. p. 297) legt man die Knochen sofort nach der Entfernung der Weichtheile in Wasser und zersägt sie noch naß in quere Stücke. Das Mark spült man heraus, läßt die Knochen einige Monate lang unter häufigem Erneuern des Wassers maceriren und trocknet sie; sie müssen weiß wie Elfenbein und auf dem Schnitt gleichmäßig matt sein. Nun sägt man eine dünne Scheibe aus und schleift sie auf einem Stück Bimstein (in der Richtung der Fasern aus kompaktem Steine geschnitten) naß mit dem Finger auf beiden Seiten glatt; dann nimmt man einen anderen Stein zu Hülfe und schleift sie zwischen beiden weiter. Ist sie beinahe durchsichtig, so polirt man sie mit dem Finger auf einem nassen Abziehstein oder lithographischen Stein. Spongiöse Knochen tränkt man mit Gummi arab. und trocknet sie vor dem Schleifen. — S. auch oben § 177 und § 180.

Schaffer (l. c. p. 171) schleift und polirt auf Steinen: der gröbste ist ein künstlicher Schmirgelstein, der feinste Lithographirschiefer. Zerbrechliche Knochen werden in Siegellack eingehüllt geschliffen, besser aber in dicken Kanadabalsam unter vorsichtigem Erwärmen eingeschmolzen, mit der Laubsäge zerschnitten und nun geschliffen.

Die Kreissäge von CSOKOR (Verh. Anat. Ges. 6. Vers. 1892 p. 270) liefert von frischen Knochen ohne Vorbereitung Serienschritte bis zu 120  $\mu$  Dicke herab. — ARNDT (Zeit. Wiss. Mikr. 18. Bd. 1901 p. 146) braucht seine „Präzisions-Doppelsäge“ analog dem Doppelmesser für ganz dünne Schnitte durch Knochen.

Ferner kann man die Schilfe zunächst abfeilen (BUSCH in: Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 p. 490; HÖHNEL in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 234) und erst nachher auf den Schleifstein bringen.

### **769. Schleifen der Knochen und Zähne mit den Weichtheilen.**

WEIL (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 200) legt die mit der Laubsäge zerschnittenen frischen Zähne auf mehrere Stunden in Sublimatlösung (6 %), bringt sie durch Wasser und 30—90 %igen Alkohol (mit etwas Jod) in absoluten Alkohol, färbt sie mit Boraxkarmin, schafft sie durch Alkohol und Chloroform in dünne Lösung von hartem Kanadabalsam in Chloroform, konzentriert diese nach 24 Stunden durch Zusatz von Balsam und verdampft auf dem Wasserbade unter Steigern der Wärme (bis auf 90 °) das Chloroform. Dann schleift er wie gewöhnlich. — RÖSE (Anat. Anz. 7. Bd. 1892 p. 512) durchtränkt ähnlich wie Koch (oben § 177) den Zahn sorg-



fältig mit einem Gemisch von Alkohol und Cedernöl, reinem Cedernöl, einem Gemisch von diesem und Xylol oder Chloroform, endlich mit reinem Xylol oder Chloroform und bringt ihn in dünne Lösung von Dammar in Xylol oder Chloroform, die er im Sandbade allmählich zur Trockne abdampft. Ferner (ibid. 14. Bd. 1897 p. 54) behandelt er Schliffe von den in Alkohol aufbewahrten Zähnen oder Knochen nach Golgi (je 24 Stunden in  $1\frac{1}{2}\%$ iger Lösung von Kaliummonochromat und  $\frac{3}{4}\%$ iger Lösung von Silbernitrat), polirt sie und schließt sie trocken in harten Balsam ein. Alle organische Substanz sei geschwärzt. — S. auch COLQUHOUN (Journ. Anat. Phys. London Vol. 34 1899 p. 84).

KALLHARDT (Österr.-Ung. Vierteljahrschr. Zahnheilk. 1904) fixirt den Kiefer nebst Zähnen und Zahnanlagen in 2—4%igem Formol, bringt ihn in Alkohol, zersägt ihn in 3—4 mm dicke Scheiben, färbt diese mit Borax- oder Lithionkarmin durch, tränkt sie mit Chloroformbalsam, trocknet sie bei 50—55° und schleift sie erst auf Stahlfeilen, dann auf einem Arkansasstein.

NEALEY (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 5 1884 p. 142) schleift frische Stücke von Knochen oder Zähnen auf der Schmirgelscheibe einer Drehbank mit kaltem Wasser und erhält so in  $1\frac{1}{2}$  Stunde gute Schliffe mit den Weichtheilen in situ.

**770. Schneiden der unentkalkten Knochen und Zähne.** HOPEWELL-SMITH (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 529) fixirt zur Darstellung der Odontoblasten den Unterkiefer eines Embryos von *Canis* oder *Felis* in Müllers Gemisch und schneidet ihn mit dem Gefriermikrotom, dessen Messer durch das dünne und halb verkalkte Dentin leicht durchgeht. — S. auch § 768 (CSOKOR und ARNDT).

**771. Entkalken der Knochen und Zähne.** S. hierüber oben § 542 ff. und § 56 (HOEHL), ferner BUSCH (Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 p. 480) und besonders SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 175, 19. Bd. 1903 p. 308, 441 und Encyclop. 1. Bd. p. 724).

**772. Schneiden der entkalkten Knochen und Zähne.** SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 179) räth die Einbettung in Celloidin an, da die Erwärmung in Paraffin schädlich sei. Dies gilt aber wohl nicht von den mit Chromsäure-Gemischen entkalkten und gehärteten Objekten. S. auch § 773 ff.

**773. Untersuchung der Knochenzellen.** Nach SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 181) fixirt man dünne Knochenplättchen mit Flemmings Gemisch, Pikrinsublimat etc., die zugleich entkalken, und zerzupft sie mit Nadeln oder schneidet und färbt sie.

Über die Methoden von VIVANTE (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 9. Bd. 1892 p. 398) s. p. 398 der 3. Auflage dieses Buches. — S. auch SCHMORL (Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 71. Vers. 2. Theil 2. Hälfte 1900 p. 21; Arch.



Mikr. Anat. 66. Bd. 1905 p. 473): Darstellung der Knochenkörperchen durch Thionin und Pikrinsäure oder Thionin und Phosphorwolfram (oder -molybdän)säure.

#### 774. Untersuchung der Kanäle in Knochen und Zähnen.

Man füllt die Kanäle mit Luft oder Farbstoffen, oder färbt ihre Wände. Hierher gehört das Einschmelzen in harten Kanadabalsam (nach SCHAFFER, l. c. p. 185, bereits 1849 von Krukenberg angegeben), ferner die Methoden von White, Ruprecht und Zimmermann (s. unten), und manche andere (s. hierüber Schaffer). — S. auch SPULER (Anat. Anz. 14. Bd. 1898 p. 289), SCHAFFER (ibid. p. 429) und FLEMMING (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 47; s. p. 398 der 3. Aufl. dieses Buches).

WHITE (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1891 p. 307) sägt oder schleift Scheiben von Knochen oder Zähnen ziemlich dünn, legt sie auf wenigstens 24 Stunden in Äther, auf 2—3 Tage in dünnes Kollodium, worin Fuchsin aufgelöst ist, endlich in Alkohol zur Härtung des Kollodiums, schleift sie mit Wasser und Bimstein dünn und schließt sie in dicken Balsam oder Styrax ein. Alle Lücken, Kanäle etc. sind mit dem gefärbten Kollodium angefüllt. — RUPRECHT (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 21) feilt die Sägeschnitte auf 0,3 mm Dicke ab, legt sie in Äther, erhitzt sie trocken auf einer Platte, läßt sie noch heiß in Äther und von hier aus in siedende konzentr. Lösung von Fuchsin in absol. Alkohol gleiten, das Färbbad sich nach 5 Minuten unter 34° C. abkühlen und bei 70° mit den Schnitten zur Trockne eindampfen. Dann kratzt er das Fuchsin von den Schliffen ab, schleift diese zwischen zwei matten Glasplatten mit Bimsteinpulver, wasserfreiem Benzin und etwas Vaseline, ferner auf einem Arkansasstein, polirt sie zwischen Papier und schließt sie in Kolophonium ein. — Ähnlich verfährt ZIMMERMANN (Verh. Anat. Ges. 3. Vers. 1890 p. 142). — MATSCHINSKY (Arch. Mikr. Anat. 39. Bd. 1892 p. 161) tränkt den Knochen mit Gummilösung, härtet diese in 95%igem Alkohol, trocknet sie an der Luft und schleift trocken.

#### 775. Untersuchung der Grundsubstanz von Knochen und Zähnen.

SCHAFFER (l. c. p. 191 ff.) erörtert ausführlich a) die Grenzscheiden, die sich durch künstliche Verdauung, Kochen in Wasser oder Essigsäure, Maceriren in Kalilauge etc. isoliren lassen; b) die fibrilläre Struktur (Glühen auf dem Platinblech etc.); c) die Kittsubstanz; d) die lamelläre Struktur (Maceriren, Kochen, Imprägniren mit Höllenstein etc.); e) die Sharpeyschen Fasern: Entkalkung eines polirten Schliffes mit  $\frac{1}{2}$ —1% iger Salzsäure (Ranvier), Färbung nach Kolliker (s. unten) etc.; f) die elastischen Fasern (die hierfür gebräuchlichen Methoden).

KÖLLIKER (Zeit. Wiss. Z. 44. Bd. 1886 p. 662) behandelt zur Demonstration der Sharpeyschen Fasern die Schnitte so lange mit konzentr. Essigsäure, bis sie durchsichtig sind, bringt sie auf  $\frac{1}{4}$ —1 Minute in konzentr. Lösung von Indigkarmin, wäscht sie mit Wasser und schließt sie in Glycerin oder Balsam ein. Fasern roth, Grundsubstanz blau.



**776. Untersuchung des Knochenmarks.** Im Wesentlichen wird es wie das Blut untersucht; es lassen sich auch Trockenpräparate davon anfertigen. S. § 779 ff. und § 111 e (HEINZ).

**777. Färbung des Knorpels und entkalkten Knochens.** Die Technik hierzu s. bei SCHAFER (Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 1). Unter Anderem empfiehlt S. (p. 17) eine Modifikation der Methode von BOUMA (Centralbl. Med. Wiss. 21. Jahrg. 1883 p. 866), färbt aber jetzt (Encyclop. 1. Bd. p. 762) die Schnitte 24 Stunden lang mit Safranin (1 Tropfen der 1%igen wässrigen Lösung auf 20 ccm Wasser); die Färbung hält sich nur, wenn der Knorpel mit Pikrinsublimat fixiert war, oder durch Fixierung in 5%iger Lösung von Ammoniummolybdat.

MÖRNER (Skand. Arch. Phys. 1. Bd. 1889 p. 216; Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1900 p. 508) gibt einige Färbungen, besonders zu mikrochemischen Reaktionen, für Trachealknorpel an. S. hierzu WOLTERS (Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. 1891 p. 492); s. auch TERRAZAS in: Rev. Trimestr. Micr. Madrid Vol. 1 1896 p. 113.

BAYERL (Arch. Mikr. Anat. 23. Bd. 1884 p. 35) entkalkt verkalkten Knorpel (s. oben § 548), bringt ihn in Paraffin, färbt die Schnitte mit Borax- und Indigkarmin (§ 338) und schließt sie in Balsam ein. FLESCHE (Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885 p. 351) rühmt diese Methode besonders zum Studium der Zahnentwicklung. — ZSCHOKKE (ibid. 10. Bd. 1893 p. 381) empfiehlt Benzoazurin in wässriger Lösung für ossifizierenden Knorpel. — S. auch BAUMGARTEN (Arch. Mikr. Anat. 40. Bd. 1892 p. 515). — VASTARINI-CRESI (Atti Accad. Med. Chir. Napoli Anno 41 1907 p. 4) färbt embryonalen Knorpel von *Homo* auf Schnitten erst mit Boraxkarmin, dann mit Muchämätein (alkoh. Lösung ohne Säure), nachher mit Orange G in Alkohol. — S. auch unten § 787 ff.

KATHARINER (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 58) färbt die Schnitte durch den entkalkten Oberkiefer von Giftschlangen mit Pikrokarmin, wäscht sie aus und färbt sie einige Minuten lang mit verdünntem Gemisch von Delafield: an den Zähnen das unverkalkte Dentin roth, das verkalkte blau, etc. — DISSE (Anat. Anz. 35. Bd. 1909 p. 318) fixiert das Zahnbein der Embryonen von *Sus* oder *Homo* in Zenkers Gemisch oder dem Gemisch von 1 Th. Formol und 9 Th. 95%igen Alkohols, entkalkt es nach Ebner (oben § 547), färbt es mit Hämalaun durch und tingiert die Paraffinschnitte im Gemisch von 1 Th. Säurerubin, 2 Th. Orange G, 10 Th. Glycerin und 90 Th. 95%igen Alkohols.

VAN WIJHE (Tijds. Nederl. Dierk. Ver. (2) Deel 6 1900 Versl. p. 6) färbt die mit einem Gemisch von Formol und Sublimatlösung fixierten Embryonen von *Lepus* in toto mit Safranin (1%ige Lösung in Alkohol von 70%) einige Tage lang und wäscht sie eine Woche lang mit 75%igem Alkohol aus; dann durch Xylol in Balsam: nur der Knorpel ist gefärbt. — Neuerdings (ibid. Deel 10 1902 p. 835) färbt er mit dem Gemisch von 0,25 g Methylenblau, 1 g Salzsäure und 100 ccm Alkohol von 70%, zieht die beliebig fixierten Objekte aber vorher und nachher mit saurem ( $\frac{1}{4}$ % HCl) Alkohol aus und führt sie langsam aus dem absol. Alkohol in Xylol und Balsam über. — BAKAY (Verh.



Anat. Ges. 16. Vers. 1902 p. 248) färbt analog mit Bismarckbraun Embryonen, die vorher aus dem Alkohol in 3%ige Salpetersäure gebracht wurden. — LUNDVALL (Anat. Anz. 25. Bd. 1904 p. 220; 27. Bd. 1905 p. 520) verwendet Toluidinblau mit Salzsäure oder Methylgrün mit Essigsäure. Zur Färbung der Knochen in situ dient 5- oder 10%ige Lösung von Alizarin in 70%igem Alkohol (Nachfärbung des Knorpels mit Methylgrün möglich). — KALLIUS (Anat. Hefte 1. Abth. 30. Bd. 1905 p. 9) färbt (nach Stückfärbung mit Boraxkarmin oder Schnittfärbung mit Alaunkarmin) die Schnitte 10 Minuten lang mit gesättigter Thioninlösung, zieht sie mit 70%igem Alkohol aus und bringt sie durch Xylol in Balsam. Dies sei eine mikrochemische Reaktion auf embryonalen Knorpel.

An Stelle aller dieser Tinctionen, die kaum sehr haltbar sein können, finde ich (MAYER) viel besser und einfacher die mit Resorcin-fuchsin, wenn man ihm durch Auswaschen des Eisenchlorids die Fähigkeit verleiht, besonders stark den Knorpel zu tingiren (oben p. 387). — RUPPRICHT (Arch. Mikr. Anat. 75. Bd. 1910 p. 754) hat diese Methode zur Färbung des Knorpels und der elastischen Fasern zugleich angewandt.

**778. Andere Methoden für Knochen oder Knorpel.** Nach EWALD (Zeit. Biol. 34. Bd. 1897 p. 246) füllen sich in den Knochenstrahlen der Flossen kleinerer Fische sämtliche Lakunen mit Luft, wenn man die Strahlen direkt in absoluten Alkohol bringt, und bleiben beim Überführen durch Nelkenöl in Balsam gefüllt.

SPULER (Sitzungsb. Physik Med. Soc. Erlangen 27. Heft 1896 p. 93) fixirt die nur 3—4 mm dicken Scheiben von elastischem Knorpel in Pikrinosmiumplatinchlorid (oben § 100) oder in „1/2%iger Sublimatlösung unter Zusatz von 0,2% Eisessig“, bringt sie ganz langsam durch Alkohol und Chloroform in Paraffin und färbt die aufgeklebten Schnitte mit Alaunhämatoxylin, Safranin oder Orcein; letzteres verwendet MOLL (Arch. Mikr. Anat. 58. Bd. 1901 p. 483) für Celloidinschnitte von Material aus Alkohol.

FUSARI (Arch. Ital. Biol. Tome 25 1896 p. 200) legt die Schnitte durch frischen Knorpel auf 24 Stunden in 1%ige Lösung von Silbernitrat, dann in Wasser, entwässert sie und setzt sie in Balsam dem Lichte aus. — S. auch SCHIEFFERDECKER, Gewebelehre p. 331.

LEPKOWSKI (Anat. Hefte 1. Abth. 8. Bd. 1897 p. 568) injiziert zum Studium der Gefäße in den Zähnen Berlinerblau (in Wasser und Glycerin gelöst), härtet den Zahn sammt seinem Stück Kiefer 1—2 Tage lang in 50%igem Formol, entkalkt ihn in 10%iger Salpetersäure (8—14 Tage lang, mehrere Male zu wechseln) und bettet ihn nach gutem Auswaschen zum Schneiden in Celloidin ein. — S. auch *ibid.* 17. Bd. 1901 p. 184.

Über die Vergoldung der Zähne s. UNDERWOOD (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 815) und LEPKOWSKI (Anat. Anz. 7. Jahrg. 1892 p. 274).



Über die Untersuchung des Knochengewebes im polarisirten Licht und des Wachstums der Knochen s. SCHAFFER (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 202 ff.), über den Nachweis von Kalk oben p. 308; über die intravitale Färbung des Knochens mit Alizarin, Neutralroth etc. s. RETTERER (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 60 1906 p. 106).

RETTERER (Journ. Anat. Phys. Paris 36. Année 1900 p. 508) fixirt zum Studium der Verknöcherung den Knorpel (außer mit den Gemischen von Zenker und Flemming oder mit Sublimat) mit dem Gemisch von 66 Vol. 3%iger Chromsäurelösung, 33 Vol. Formol und 8 Vol. Essigsäure, oder von 50 Vol. 5%iger Lösung von Platinchlorid, 50 Vol. Formol und 3 Vol. Essigsäure. Nach 6—12 Stunden gründliches Waschen mit Wasser.

## Blut.

**779. Literatur.** Die Technik zur Untersuchung des Blutes ist äußerst verwickelt; man sehe z. B. das Buch von HAYEM (Du sang et ses altérations anatomiques, Paris 1898 1035 pgg.; ausführliches Referat in: Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 330), ferner die Schriften von Löwit usw. usw. (Literarisches bei GIGLIO-Tos in: Mem. Accad. Torino (2) Tomo 47 1897 p. 37), EHRLICH & LAZARUS (Die Anämie. 1. Abth. Norm. u. path. Hist. des Blutes. Wien 1898), \*COLES (The Blood: how to examine etc. London 1898), KOBERT (Wirbelthierblut in mikrokristall. Hinsicht. Stuttgart 1901), \*TÜRK (Vorles. klin. Hämatol. Wien 1904), SCHRIDDE & NAEGELI (Hämatol. Technik Jena 1910) und WEIDENREICH (Encyclop. 1. Bd. p. 110 ff.).

Über Blut und Lymphorgane der Invertebraten s. CUENOT (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 1 1897 p. 153) und KOLLMANN (Ann. Sc. N. (9) Tome 8 1908 p. 18).

**780.** Über die **Blutparasiten**, soweit sie zu den Protozoen gehören, s. unten § 870 und 871.

STÄUBLI (Münch. Med. Wochenschr. 55. Jahrg. 1908 p. 2063) verdünnt das Blut von *Homo* mit dem 10—15fachen an 3%iger Essigsäure und centrifugirt es; die Ausstrichpräparate enthalten nur noch die Kerne der Leukocyten und die Parasiten.

**781. Normalsalzwasser für Blut.** HAYEM (C. R. Soc. Biol. Paris (11) Tome 1 1899 p. 265) empfiehlt zur Zählung der Blutkörperchen das Gemisch von 200 ccm destill. Wassers, 1 g Chlornatrium, 5 g Natriumsulfat und 3—4 ccm Jodjodkaliumlösung (1 g Jodkalium auf 20 ccm Wasser, dazu Jod im Überschuß). — S. auch oben § 377 die Gemische für frisches Blut.



DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 483) untersucht das frische Blut der Chilopoden in Öl.

**782. Fixiren und Konserviren.** Das Eintrocknen eines Blutropfens über der Flamme deformirt die Blutkörperchen meist so sehr, daß man es möglichst wenig anwenden sollte.

Die Methode zur Anfertigung des Trockenpräparates von Menschenblut stammt von Ehrlich (1880) her; sie soll zwar nicht für morphologische Zwecke dienen (s. auch ULLMANN in: Arch. Path. Anat. 154. Bd. 1898 p. 575), aber doch die Erythrocyten nach Form und Größe genau konserviren. Nach EHRLICH & LAZARUS (citirt in § 779) p. 20 müssen dazu die Deckgläser höchstens 10  $\mu$  dick, sehr biegsam, ganz eben und frei von Schlieren sein, erst in Äther, dann in Alkohol gelegen haben und jedesmal sauber abgeputzt worden sein. Zur Aufnahme des Blutes wird von jedem Paar das untere mit einer Schieberpinzette, das obere mit einer glatten Pinzette (beide Arten bei Klönne & Müller in Berlin zu haben) gefaßt; mit dem oberen hebt man den Blutropfen aus der Wunde und läßt es leicht auf das untere fallen, sodaß der Tropfen sich zwischen beiden capillär ausbreitet. Nun zieht man das obere Glas an den Kanten, ohne zu drücken oder heben, vom unteren vorsichtig ab und hat dann nur auf letzterem oder auf beiden eine ganz gleichmäßige Schicht Blut. In 10—30 Sekunden ist dieses lufttrocken und kann zwischen Filtrirpapier aufbewahrt werden.

NAEGELI (Hämatol. Technik Jena 1910 p. 74) warnt vor dem Gebrauche der Pinzetten, faßt die Deckgläser an einer Ecke an, legt sie schräg auf einander und zieht sie ohne Druck aus einander.

Zum Fixiren der lufttrockenen Ausstrichpräparate (auch von Knochenmark, Leber, Milz etc.) dient trockene Hitze von etwa 110° (auf dem Deckel eines Kessels, worin Toluol siedet)  $\frac{1}{2}$ —2 Minuten lang oder von 140° (auf einer Metallplatte; NAEGELI p. 81) 10 Sekunden lang, oder absoluter Alkohol 5 Minuten lang, oder Formol in 1%iger alkoholischer Lösung (nach BENARIO) 1 Minute lang, oder Alkohol und Äther zu gleichen Theilen (NIKIFOROFF in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 340) 2 Stunden lang, oder Chloroform (JOSUÉ in: C. R. Soc. Biol. Paris Tome 53 1901 p. 642) 2 Minuten lang, oder Joddämpfe (Lösung von Jod und Sublimat in absol. Alkohol nach DOMINICI, ibid. Tome 54 1902 p. 222).

GULLAND (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 62) bestreicht Deckgläser mit einer dünnen Schicht Blut, bringt sie auf 3—4 Minuten in das Gemisch von 25 ccm Äther, 25 ccm gesättigter Lösung von Eosin in absolutem Alkohol und 5 Tropfen der Lösung von 1 g Sublimat in 5 ccm absoluten Alkohols, wäscht sie mit Wasser, färbt sie 1 Minute lang in konzentr. wässriger Lösung von Methylenblau, wäscht sie wieder, entwässert sie und bringt sie durch Xylol in Xylolbalsam.

ASSMANN (Dissert. Leipzig 1908 p. 35) fixirt und färbt zugleich den Ausstrich (auf Objektträgern) durch Übergießen mit der methylalkoholischen Lösung von eosinsaurem Methylenblau (von Grübler & Hollborn);  $\frac{1}{2}$  Minute später gießt er 20 ccm destill. Wassers plus 5 Tropfen 1%iger Lösung von Kaliumcarbonat hinzu, läßt dies 1 Minute lang wirken, trocknet das Präparat mit Fließ-



papier und bringt es in neutralen Balsam. — S. auch MARTINOTTI (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 4: Fixirung mit Methylalkohol 5—10 Minuten lang) und SPIEGEL (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 40. Bd. 1906 p. 430).

Den meisten Autoren ist die Osmiumsäure das getreueste Fixirmittel. Man mischt 1 oder 2 Tropfen Blut mit 5 ccm 1—2% iger Osmiumsäure, läßt es darin 1—24 Stunden und kann es dann in Lösung von Kaliumacetat aufbewahren (FLESCH in: Zeit. Wiss. Mikr. 5. Bd. 1888 p. 83). Die genaue Stärke der Osmiumsäure muß man nach der Art des Blutes ausprobieren; BIONDI (Arch. Mikr. Anat. 31. Bd. 1887 p. 106) empfiehlt die 2% ige. — GRIESBACH (Zeit. Wiss. Mikr. 7. Bd. 1890 p. 328) kombiniert damit die Färbung (mit Methylgrün oder Methylviolett, Kristallviolett, Safranin, Eosin, Säurefuchsin, Rhodamin oder Jodjodkalium). — ROSSI (ibid. 6. Bd. 1890 p. 475) nimmt gleiche Theile 1% iger Osmiumsäure, Wasser und starker Lösung von Methylgrün; für Dauerpräparate gibt er langsam Glycerin hinzu. — DEKHUYZEN (Anat. Anz. 19. Bd. 1901 p. 536) verwendet sein „Osmacet  $\frac{3}{1}$  oder  $\frac{9}{1}$ “, d. h. das Gemisch von 3 oder 9 Vol. 2% iger Osmiumsäure und 1. Vol. 6% iger Essigsäure, die  $\frac{1}{8}$ % Methylenblau enthält. — S. auch § 783 und WEIDENREICH (Arch. Mikr. Anat. 69. Bd. 1906 p. 393: Dämpfe von Osmiumsäure).

ARNOLD (Arch. Path. Anat. 148. Bd. 1897 p. 479) läßt das Blut von *Rana* in 1% ige Osmiumsäure tropfen, ersetzt nach 24 Stunden die Säure durch immer stärkeren Alkohol, durch Äther-Alkohol, zuletzt durch Celloidin und gießt das Ganze in dünner Schicht auf eine Glasplatte, löst die so erhaltenen feinen Membranen mit Wasser vom Glase ab und färbt sie. — Dieses Verfahren habe ich (MAYER) sehr bequem gefunden. — BARJON & REGAUD (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 55 1903 p. 1311 und 1485) und REGAUD (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 10) lassen das Blut nur 5—10 Minuten in der Osmiumsäure und verwenden bei der Überführung in das Kollodium die Centrifuge. Die Methode sei auch für Sperma brauchbar. — EWALD (Zeit. Biol. 34. Bd. 1897 p. 257) nimmt auf je 3—4 Tropfen Blut von Amphibien und Reptilien 10 ccm der Lösung von  $\frac{1}{2}$ % Osmiumsäure und  $\frac{1}{2}$ % (für Säugethiere 0,6 bis 0,7%) Kochsalz, zieht nach 24 Stunden mit dem „Capillarheber“ (oben p. 7) die Flüssigkeit ab und ersetzt sie durch Wasser, Alaunkarmin etc., schließlich durch 50% igen Alkohol. — WEIDENREICH (Arch. Mikr. Anat. 72. Bd. 1908 p. 213) legt auf Plättchen von Deetjenschem Agar (1% in 0,8% NaCl-Lösung) das Deckglas mit Blut, gibt nach 5—10 Minuten seitlich 1% ige Osmiumsäure dazu, hebt 5 Minuten später das Deckglas ab, wäscht es und färbt es nach Giemsa.

DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 483) setzt zum Blut der Chilopoden das gleiche Volumen seines Gemisches (oben p. 51) oder fixirt es mit Jodjodkalium und färbt es unter dem Deckglase mit Säurefuchsin. Das Trocknen des Blutes ergibt keine guten Resultate.



Formaldehyd verwenden zum Fixiren GULLAND (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 222: Gemisch von 1 Th. Formol und 9 Th. Alkohol) und DEETJEN (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 23. Bd. 1898 p. 615: Dämpfe). — S. auch oben p. 395 das Gemisch von Benario sowie MARCANO (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 365: 1 Th. Formol und 100 Th. Lösung von Natriumsulfat von 1,020 spec. Gew.) und WERMEL (ibid. p. 50: Fixirung und Färbung zugleich in formolhaltigen Färbelösungen).

JOLLY (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 9 1907 p. 142) fixirt unter Anderem in Marcanos Gemisch, gießt es ab, breitet einen Tropfen des Sedimentes auf dem Objektträger aus, läßt ihn antrocknen und färbt ihn mit Alaunhämatoxylin und Eosin. — SCHRIDDE (Hämatol. Technik Jena 1910 p. 17) läßt das Blut in das 40° warme Gemisch von 1 Th. Formol, 9 Th. Müllerschen Gemisches und 10 Th. Wasser tropfen, fixirt es darin 2—4 Stunden lang bei 40°, filtrirt es ab, wäscht es aus und bringt es durch die Alkohole und Chloroform in Paraffin.

Die Sublimat-Gemische von Pacini (oben § 392) hielt man früher für gut. HAYEM (l. c.; Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 335) verwendet Sublimat 1, Kochsalz 2, Natriumsulfat 10 und Wasser 400. Hiervon setzt er zum Blut im Verhältniß von 100 : 1; auch Eosin kann man hinzufügen. Nach Mosso (Atti Accad. Lincei Rend. (4) Vol. 4 Sem. 1 1888 p. 431) ist aber die Menge des Sublimats zu gering. — LÖWIT (Sitzungb. Akad. Wien 95. Bd. 3. Abth. 1887 p. 144) nimmt 6 % ige Sublimatlösung 5 ccm, Natriumsulfat 5 g, Kochsalz 2 g und Wasser 300 ccm. — S. auch oben § 320 (GIEMSA).

MUIR (Journ. Anat. Phys. London Vol. 26 1892 p. 393) fixirt die noch feuchten Deckglaspräparate durch Auflegen (mit dem Blute nach unten) auf etwa 50° C. warme konzentr. Sublimatlösung; nach 1/2 Stunde wäscht er sie in Normalsalzwasser ab und bringt sie gradatim in starken Alkohol (in den schwächeren ist Kochsalz gelöst). Besonders die Mitosen seien gut erhalten.

Natürlich kann man auch Flemmings oder Hermanns Gemisch etc. für das Blut (oder Knochenmark) verwenden. SCHAUDINN (Arb. Reichsgesundheitsamt Berlin 19. Bd. 1902 p. 190) fixirt in 60—70° warmem Gemisch von H., centrifugirt sofort, wäscht mit Wasser und etwas „Grenachers Hämatoxylin“ aus und untersucht das Präparat in Glycerin, Kaliumacetat oder Cedernöl. Ähnlich verfährt er bei der Fixirung im Gemisch von 2 Theilen gesättigter Sublimatlösung und 1 Th. absol. Alkohols; oder er läßt die mit dem Blut bestrichenen Deckgläser noch feucht auf das 60—70° warme Fixirgemisch fallen und behandelt sie stets feucht weiter. — S. auch WALKER (Trans. Path. Soc. London Vol. 58 1907 p. 115).



LAVDOWSKY (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 4) fixirt mit 2%iger Jodsäure und färbt mit Neu-Viktoriagrün, Methylviolett 6 B oder Gentianaviolett; er hat damit auch da Kerne gefunden, wo man sie sonst allgemein vermißt.

**783. Färben der Blutzellen** (s. auch § 782). Von frischem Blut verdünnen BIZZOZERO & TORRE (\*Arch. Sc. Med. Torino Vol. 4 1880 p. 390) einen Tropfen mit Normalsalzwasser (0.75 %), worin eine Spur Methylviolett gelöst ist (auch für Knochenmark und Milz brauchbar). — LEVADITI (Journ. Phys. Path. Gén. Paris Tome 3 1901 p. 425) läßt eine Lösung von Brillantkresylblau in absol. Alkohol auf Deckglas oder Objektträger in dünner Schicht eintrocknen, bringt darauf den Blutropfen und umrahmt das Präparat mit Vaseline; starke Metachromasien werden sichtbar. — CESARIS-DEMEL (Arch. Path. Anat. 195. Bd. 1909 p. 92) verfährt ebenso mit dem Gemische von diesem Blau und Sudan III, NAKANISHI (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 30. Bd. 1901 p. 98) mit Methylenblau BB.

ROSS (Trans. Path. Soc. London Vol. 58 1907 p. 117) bringt dicht neben den Blutropfen auf dem Objektträger einen ebenso großen Tropfen filtrirter Lösung von polychromem Methylenblau, mischt rasch, bringt Tröpfchen hiervon auf andere Objektträger, legt Deckgläser auf und beobachtet die allmähliche Färbung. — S. auch BIFFI (Monit. Z. Ital. Anno 19 1908 p. 240).

Konservirtes Blut kann man mit vielen von den gebräuchlichen Mitteln färben. Eosin färbt alle Theile, die Hämoglobin enthalten, rosenroth; WISSOZKY (Arch. Mikr. Anat. 12. Bd. 1876 p. 479) nimmt dazu Eosin und Alaun nach Fischer (s. oben p. 202) und färbt die Kerne mit „konzentrirter Hämatoxylinlösung“ nach. — MOORE (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1882 p. 714) färbt 3 Minuten lang mit einer ähnlichen Lösung (aber ohne Alaun) und nach dem Auswaschen 2 Minuten lang mit 1 % iger wässriger Lösung von Methylgrün. — S. auch § 251 Ehrlichs Gemisch, ferner § 320 Chenzinskis Gemisch und Romanowskis Färbung.

Mehrere Methoden zum Färben der Erythrocyten in der mit Alkohol gehärteten Haut (bei Blutungen) gibt UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 21. Bd. 1895 p. 1; Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 234) an.

LECLERQ (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1890 p. 675) nimmt Fuchsin und nachher Malachitgrün, oder Congoroth und nachher Gentianaviolett und Eosin, DEKHUYZEN (Verh. Anat. Ges. 6. Vers. 1892 p. 90) Methylenblau und Fuchsin, GIGLIO-TOS (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1897 p. 359) Methylenblau BX.

Natürlich sind die Gemische von Ehrlich (oben § 310, 311 und 327) auch hier werthvoll. LÖWIT (Beitr. Path. Anat. 10. Bd. 1891 p. 278) färbt das in Sublimat konservirte Blut von *Astacus* 1—2 Minuten lang mit dem konzentrirten Gemisch von Ehrlich-Biondi



und untersucht es in Wasser oder Glycerin. — KNOLL (Sitzungsb. Akad. Wien 102. Bd. 3. Abth. 1894 p. 441; 105. Bd. 3. Abth. 1896 p. 35) fixirt das Blut (auch von Wirbellosen) einige Minuten lang mit 2 % iger Osmiumsäure, läßt es auf einem Deckglase langsam trocknen, färbt es nach Ehrlich-Biondi und untersucht es in halbkonzentriertem Glycerin.

Weiteres über die Körnchen in den Leukocyten etc. s. in der citirten Arbeit von LÖWIT, ferner bei EHRLICH (Zeit. Klin. Med. 1. Bd. 1880 p. 558), LÖWIT (Anat. Anz. 6. Jahrg. 1891 p. 344; Arch. Mikr. Anat. 38. Bd. 1891 p. 524), GULLAND (Journ. Phys. Cambridge Vol. 19 1896 p. 385); s. auch HIRSCHFELD (Arch. Path. Anat. 149. Bd. 1897 p. 22). Einzelheiten über Ehrlichs Methode der Deckglas-Präparate bei REINBACH (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 258). Die Methode von FOÀ s. oben p. 180. — MÜLLER (Sitzungsb. Akad. Wien 98. Bd. 3. Abth. 1890 p. 219) gibt u. A. als neue Methode die Vergoldung von Blut auf dem Deckglase nach Ranvier. — S. auch SAXER (Anat. Hefte 1. Abth. 6. Bd. 1896 p. 347), RUBINSTEIN (Zeit. Wiss. Mikr. 14. Bd. 1898 p. 456), ZIELINA (ibid. p. 463), GIGLIO-TOS (ibid. p. 166: Neutral-roth) und PRINCE (ibid. 16. Bd. 1900 p. 468: Toluidinblau, Säurefuchsin und Eosin).

**784. Färben des Fibrins.** WEIGERT (\*Fortschr. Med. 5. Bd. 1887 p. 228; Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 512) färbt die Schnitte von Material aus Alkohol mit konzentrierter Lösung von Gentiana- oder Methylviolett in Anilinwasser (oben p. 180), trocknet sie auf dem Objektträger mit Filtrirpapier ab, behandelt sie mit Lugols Gemisch (§ 50), trocknet sie wieder und gibt einen Tropfen Anilin darauf, der, sobald er sich dunkel färbt, 1 oder 2 mal erneuert wird; zuletzt durch Xylol in Balsam. — S. auch KROMAYER (§ 640) und BENÉKE (§ 757).

UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 20. Bd. 1895 p. 140) gibt außer einer Modifikation der obigen Methode eine mit polychromem Methylenblau und Jodjodkalium, sowie eine mit Fuchsin und Tannin. — S. auch WOLFF (Zeit. Wiss. Mikr. 15. Bd. 1899 p. 310) und KOCKEL (Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 71. Vers. 2. Theil 2. Hälfte 1900 p. 25).

**785. Blutplättchen** (Thrombocyten). KEMP (Stud. Biol. Lab. J. Hopkins Univ. Vol. 3 1886 p. 293) bringt einen großen Tropfen Blut auf einen Objektträger und läßt rasch etwas Normalsalzwasser (0.75 %) darüber fließen. Die Blutplättchen bleiben am Glase kleben. Will man sie fixirt untersuchen, so bringt man auf den Finger, bevor man ihn ansticht, einen Tropfen Lösung von Osmiumsäure. — BÜRKER (Arch. Gesamte Phys. 102. Bd. 1904 p. 41) läßt den Blutropfen vom reinen Finger direkt auf die glatte Fläche eines Stückes Paraffin, das in einer feuchten Kammer steht, fallen; nach 20—30 Minuten berührt er mit



einem ganz reinen Deckglase die Kuppe des nicht geronnenen Tropfens oder überträgt sie mit einem mit Paraffin überzogenen Glasstabe auf den Objektträger. — DEETJEN (Arch. Path. Anat. 164. Bd. 1901 p. 260) bringt den Tropfen auf eine Schicht von Agar-Agar, das mit Chlornatrium und Natriummetaphosphat versetzt ist, und beobachtet die Plättchen lebend oder fixiert sie, indem er 1%ige Osmiumsäure unter das Deckglas fließen läßt.

Zur Färbung nimmt BIZZOZERO (Arch. Path. Anat. 90. Bd. 1882 p. 278)  $\frac{1}{50}$ %ige Lösung von Methylviolett oder  $\frac{1}{30}$ %ige von Gentianaviolett in Normalsalzwasser. — EHRLICH & LAZARUS (Anämie 1. Abth. Wien 1898 p. 132) fixieren (nach Rosin) die Trockenpräparate 20 Minuten lang mit Dämpfen von Osmiumsäure und färben sie in konzentr. wässriger Lösung von Methylenblau. Ferner weisen sie das Alkali in den Plättchen durch Erythrosin nach, indem sie aus einer wässrigen Lösung die Farbsäure durch eine Säure ausfällen, mit Chloroform oder Chloroform-Toluol ausschütteln, hierin die Plättchen färben, das Präparat mit Chloroform waschen und in Balsam bringen. — NOCHT (Encyclop. 1. Aufl. p. 783) färbt nach Romanowsky, VALLET (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 60 1906 p. 21, 132) nach Giemsa. — S. auch § 884.

S. ferner DEKHUYZEN (Anat. Anz. 19. Bd. 1901 p. 533: sehr minutiöse Vorschriften für das lebende Blut), KOPSCH (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 21. Bd. 1904 p. 344: Übersicht der Methoden; ibid. 23. Bd. 1906 p. 359: Färbung der Kerne mit Thionin, des Plasmas mit Pikrinsäure) und DEETJEN (Zeit. Phys. Chemie 63. Bd. 1909 p. 1).

RABL (Wiener Klin. Wochenschr. 1896 N. 46) fixiert die lufttrocknen Deckglaspräparate  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde mit wässriger Sublimatlösung, wäscht sie mit Wasser und tingiert sie mit Eisenhämatoxylin: Plättchen und Leukocyten gefärbt, Erythrocyten nicht. — BIZZOZEROS Methoden zum Zählen der Plättchen und Studium ihrer Regeneration s. in: Arch. Ital. Biol. Tome 16 1892 p. 375. — Die Anwendung der künstlichen Verdauung auf Blut s. bei LILIENFELD (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1892 p. 115), die Methoden zur Gewinnung großer Mengen Blutplättchen bei DRUEBIN (Zeit. Wiss. Mikr. 10. Bd. 1893 p. 493). — S. auch BRODIE & RUSSEL (Journ. Phys. Cambridge Vol. 21 1897 p. 390) und DETERMANN (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 86).

**786. Schnitte durch Blut.** BIONDI (Arch. Mikr. Anat. 31. Bd. 1888 p. 103) veröffentlicht eine komplizierte Methode zum Schneiden der Blutkörperchen. Er bettet das Blut in Agar-Agar ein (s. oben p. 101); SCHIEFERDECKER (Gewebelehre p. 389) empfiehlt dazu Celloidin. — S. auch oben p. 396 (ARNOLD). — Zum Einbetten in Paraffin empfehle ich (MAYER) meine Methode mit den Gelatine kapseln (oben p. 79).



## Drüsen und andere Organe.

**787. Schleimdrüsen und Becherzellen.** HOYER (Arch. Mikr. Anat. 36. Bd. 1890 p. 310) verwendet zur Färbung des thierischen Schleimes („Mucins“) von den Theerfarbstoffen hauptsächlich Thionin, das in der Regel die Gewebe blau, den Schleim roth tingirt, aber auch Toluidinblau etc. Methylenblau färbt den Schleim sehr stark, eignet sich daher gut zu seiner Entdeckung, wenn er nur in Spuren zugegen ist. Die Objekte fixirt Hoyer meist 2—8 Stunden lang mit 5 % iger Lösung von Sublimat, bringt sie durch Alkohol (ohne Jod!) und Chloroform in Paraffin, beizt die Schnitte mit der Sublimatlösung, färbt sie 5—10 Minuten lang (2 Tropfen der konzentrirten Farbstofflösung auf 5 ccm Wasser) und führt sie durch 96 % igen Alkohol und ein Gemisch von Thymianöl (4 Th.) und Nelkenöl (1 Th.) in Cedern- oder Terpentinöl, endlich in Balsam über. — S. auch HARI (Arch. Mikr. Anat. 58. Bd. 1901 p. 678), ferner SUSSDORF (\*D. Zeit. Thiermed. 14. Bd. p. 345; Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1889 p. 205), BIZZOZERO (Arch. Mikr. Anat. 33. Bd. 1889 p. 240; 40. Bd. 1892 p. 331 etc.; Atti Accad. Sc. Torino Vol. 24 1889 p. 130; Vol. 27 1892 p. 19 etc.) und UNNA (Monatsh. Prakt. Derm. 20 Bd. 1895 p. 365): Bizzozero verwendet Safranin, Unna hauptsächlich sein polychromes Methylenblau (oben § 291). — S. auch oben § 282.

MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 303) bespricht nicht nur die gebräuchlichen Theerfarbstoffe (Methylgrün, Jodgrün, Methylenblau, Methylviolett, Thionin, Toluidinblau, Bismarckbraun, Safranin) und die Alaunhämatoxyline, sondern gibt auch die Formeln für 2 Gemische, die ausschließlich den Schleim färben (Mucikarmin und Muchamatein, § 789 u. 790). Ein Gemisch von relativ viel Methylviolett und wenig Methylenblau in wässriger Lösung mit etwas Essigsäure färbt die Kerne blau, den Schleim roth (p. 314); auch Unnas polychromes Methylenblau tingirt sehr gut. Die rothe Färbung des Schleimes mit Thionin ist wenig haltbar, etwas besser die mit Toluidinblau (p. 315). Sehr scharf und in Balsam haltbar färbt sich der Schleim, allerdings schmutzig violett, wenn man die konzentr. Lösung von Safranin in 30 % igem Alkohol, mit Salzsäure schwach angesäuert, auf die Schnitte über Nacht einwirken läßt und mit Alkohol abspült (p. 317). Mit Lösungen von Hämateinthonerde färbt sich, wenn sie freie Säure oder relativ viel Alaun enthalten (z. B. Hämalaun), der Schleim meist nicht, wohl aber, wenn sie mit



relativ viel Hämatein und wenig Alaun bereitet sind, oder wenn man sie mit Wasser verdünnt oder die Säure des Alauns vorsichtig abstumpft (p. 305). Je nach ihrer Provenienz verhalten sich die Schleime verschieden gegen die Färbmittel, wie es ja auch mehr als nur eine Art Mucin gibt; andererseits werden vom Thionin, das Hoyer (s. oben) als spezifisch für die Mucinfärbung anführt, vom Safranin etc. auch Substanzen gefärbt, die kein Mucin enthalten, z. B. die Corpora amy-lacea der Pathologen, Eiweiß, Gummi arabicum etc. (p. 321 ff.) — HOYER (Encyclop. 1. Aufl. p. 1199) hält die beiden Mayerschen Methoden für die zuverlässigsten.

Speziell über die Becherzellen s. ferner PANETH (Arch. Mikr. Anat. 31. Bd. 1888 p. 113), LIST (ibid. 27. Bd. 1886 p. 481) und GUYEISSE (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 62 1907 p. 1212). — RANVIER (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 78 1887 p. 145) räuchert die Mucosa im Pharynx von *Rana* 10—12 Stunden lang mit Osmiumsäure, dann 3 Minuten lang mit Überruthensäure ( $\text{RuO}_4$ ): Mucigen in den Becherzellen schwarz.

KULTSCHITZKY (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 8) fixirt die Gewebe in seinem Gemisch (oben § 59) und färbt die Paraffinschnitte mit Safranin (gelöst in 2%iger Essigsäure) oder Neutralroth (2—3 Tage lang, dann mit Alkohol auswaschen). — Nach SCHAFFER (Sitzungsb. Akad. Wien 106. Bd. 3. Abth. 1898 p. 391) färbt Orcein in saurer Lösung zwar den Schleim nur wenig, stark dagegen das Chondromucoid. Die Vorbehandlung soll unter Umständen die Färbbarkeit des Schleimes aufheben, z. B. bleiben Schleimzellen, in Eisessigsublimat fixirt, sogar in Delafields Hämatoxylin ungefärbt.

BRUNO (Boll. Soc. Natural. Napoli Vol. 18 1905 p. 220) fixirt und färbt zugleich die Haut von *Rana* im Gemische von 100 ccm 1 $\frac{1}{4}$ %igen Formols und 8 ccm 1%iger Lösung von Thionin. Schleimdrüsen roth.

**788. Metachromatische Färbung des Schleimes.** Nach MAYER (l. c. p. 328) sind die Gelbfärbung des Schleimes mit Safranin, die Rothfärbung mit Thionin, Methylviolett etc. wohl rein optisch; dagegen beruht die Metachromasie beim Jodgrün, Methylgrün, polychromen Methylenblau und Safranin (violett) auf Verunreinigungen mit anderen Farbstoffen.

FISCHER (Fixirung etc. 145) sieht es dem Thionin „schon in der Lösung an, daß es ein Gemisch ist, und alle Farbstoffe mit violetten Tönen können rothe und blaue Verunreinigungen enthalten, die zu metachromatischen Färbungen führen müssen“. Dies trifft aber nach MAYER bei der Färbung des Schleimes nicht zu. — Nach HANSEN (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 149) speichern Schleim, Knorpel etc. die in den wässerigen Farbstofflösungen durch Hydrolyse entstandenen freien Molecüle der Farbbase; dies sei eine chemische, obwohl meist lockere Bindung, aber keine Salzbildung. — PAPPENHEIM (Arch. Path. Anat. 200. Bd. 1910 p. 572) beansprucht die Priorität für diese Deutung. — Nach



MICHAELIS (Encyclop. 2. Bd. p. 81) sind „das blaue Thionin der wässerigen Lösung und das rothe Thionin des Schleimes einander tautomer.“

**789. Mucikarmin** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 317). Karmin 1 g, Chloraluminium 0,5 g und destill. Wasser 2 ccm werden über einer kleinen Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzt, bis das Gemisch ganz dunkel geworden ist. Dazu setzt man nach und nach 100 ccm Alkohol von 50 % und filtrirt 24 Stunden später. Diese Stammlösung gebraucht man nur ausnahmsweise direkt oder nach Verdünnung auf  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$  mit Alkohol von 50 oder 70 %, in der Regel aber mit (destillirtem oder) gewöhnlichem Wasser auf  $\frac{1}{10}$  zu Mucikarmin (Gehalt an Karmin  $\frac{1}{1000}$ ) verdünnt, das in Schnitten oder dünnen Membranen nur den Schleim färben darf, nicht auch die Kerne; diese mag man vorher mit Hämalan färbem. Die Färbung ist in Balsam oder Vossellers Terpentin unbegrenzt lange haltbar.

RAWITZ (Anat. Anz. 15. Bd. 1899 p. 439) ist mit dem Mucikarmin nicht zufrieden; vielleicht hatte er kein gutes Karmin zur Verfügung. — In solchen Fällen nehme man mehr Chloraluminium (bis zur doppelten Menge), denn mitunter gelatinirt die Lösung nach einiger Zeit, wenn man sich genau an das obige Quantum (0,5 g) hält. Aber der Schleim färbt sich um so langsamer und weniger stark, je mehr Chloraluminium man nimmt. — S. auch § 791.

**790. Muchämatein** nach MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 307). Man verreibt 0,2 g Hämatein mit einigen Tropfen Glycerin und gibt dazu Chloraluminium 0,1 g, Glycerin 40 ccm und destill. Wasser 60 ccm. Filtriren kaum nöthig. — Alkoholische Lösung (p. 308): Hämatein 0,2 g, Chloraluminium 0,1 g, Alkohol (von 70 %) 100 ccm, Salpetersäure 1—2 Tropfen. Beide Lösungen dienen zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen; namentlich die wässrige färbt ihn gewöhnlich ungemein rasch. Die Kerne mag man vorher mit Parakarmin färben. — Natürlich kann man auch statt des Hämateins dieselbe Menge Hämatoxylin plus  $\frac{1}{5}$  des Gewichtes an Natriumjodat nehmen (s. § 245). — Das Gemisch von BENSLEY (Anat. Anz. 23. Bd. 1903 p. 500) ist 5mal so stark. — S. auch § 777 (VASTARINI).

Neigt der Schleim stark zum Quellen, z. B. in der Haut von Fischen, so empfiehlt sich die Färbung mit dem alkoholischen Mucikarmin oder Muchämatein, da sonst namentlich auf den Schnitten die Bilder leicht unklar werden; man muß dann auch beim Fixiren wässrige Gemische möglichst vermeiden.

HARRIS (Journ. Appl. Micr. 1900 p. 779) fertigt das Muchämatein mit Hämatoxylin an, indem er dieses durch Kochen mit Quecksilberoxyd oxydirt.



**791. Mucikarminsäure** nach RAWITZ (Anat. Anz. 15. Bd. 1899 p. 439): 1 g Karminsäure, 2 g Chloraluminium und 100 ccm Alkohol von 50% werden in einer Schale zur Trockne abgedampft; der Rückstand wird in derselben Menge Alkohol von 50% gelöst. Verwendung wie beim Mucikarmin (§ 789).

Nach MAYER (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 214) wird durch das Abdampfen der Lösung das Chloraluminium weniger sauer. Fügt man also von vornherein etwas Natriumbicarbonat oder Thonerdehydrat hinzu, so wird die Bereitung einfacher. — Ein Gemisch von Karminsäure 1, Natriumbicarbonat 1, Chloraluminium 2, Alkohol 200 hat sich seit über 11 Jahren unverändert gehalten und färbt den Schleim präcis, allerdings blauviolett.

**792. Färbung des Schleimes mit Eisen.** MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 326) läßt Schnitte, mit schwacher Lösung von Eisenacetat in dünner Schicht bedeckt, einige Tage lang in der feuchten Kammer liegen; der Schleim hat dann meist so viel Eisen aufgenommen, daß er gelb geworden ist, jedenfalls aber mit Gerbsäure schwarz oder mit Ferrocyankalium und Salzsäure blau wird. — LIST (ibid. p. 490) behandelt die Schnitte mit einer Lösung von Eisenchlorid, die mit Salzsäure angesäuert ist,  $\frac{1}{2}$  Stunde lang und bläut dann mit Ferrocyankalium. (S. auch § 634.)

**793. Speicheldrüsen.** SOLGER (Festschr. Gegenbaur Leipzig 2. Bd. 1896 p. 211) fixirt die Submaxillaris von *Homo* in Alkohol von 96% oder 3—9 Tage lang in „Formalin (10 procentig)“ oder in Sublimat nach M. Heidenhain etc. Färbung in toto oder der Paraffinschnitte wie gewöhnlich, besonders mit Ehrlichs oder Delafields Alaunhämatoxylin. Auch untersucht er die nach eigener Methode (oben § 182) angefertigten Gefrierschnitte. In Formalin halten sich die Sekretkörner von *Homo* sehr gut (auch nach dem Einlegen der Schnitte in Glycerin), nicht aber die von *Lepus* (p. 229). — KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 45. Bd. 1895 p. 94) färbt die Schnitte mit Eisenhämatoxylin oder dem Gemisch von Biondi oder mit Thionin (dieses ist kein spezifisches Reagens auf Schleim). — S. auch KRAUSE (ibid. 49. Bd. 1897 p. 709, MÜLLER (Zeit. Wiss. Z. 64. Bd. 1898 p. 640) und oben § 56 und 274 (METZNER).

GRAND-MOURSEL & TRIBONDEAU (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 53 1901 p. 187) empfehlen für das Pankreas das Thionin von Nicolle (oben p. 176), weil es die Langerhansschen Inseln fast gar nicht färbt, den Rest des Pankreas hingegen sehr stark.

**794. Magen.** KOLSTER (Zeit. Wiss. Mikr. 12. Bd. 1895 p. 314) differenzirt in den Drüsen die zwei Zellarten dadurch, daß er die Schnitte mit „Hämatoxylin“ überfärbt, mit saurem Alkohol (1% Salzsäure) auszieht, mit alkalischem Alkohol (1% Ammoniak) bläut, auswäscht



und 1—5 Minuten lang mit Säurefuchsin nachfärbt: Hauptzellen hellblau, Deckzellen roth. Nicht anwendbar auf Material aus Osmiumsäure. — S. auch OPPEL, Lehrb. Vergl. Mikr. Anat. Wirbelthiere 1. Der Magen, Jena 1896, und STINTZING (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 54: Alaunhämatoxylin und Congoroth).

MÜLLER (Zeit. Wiss. Z. 64. Bd. 1898 p. 626) fixirt die Magenschleimhaut mit dem Gemisch von Kopsch (oben p. 366) 24 Stunden lang, härtet sie in Müllers Gemisch und färbt die Schnitte mit Eisenhämatoxylin und Rubin; die Drüsen untersucht er nach Golgi. — CADE (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 4 1901 p. 4) fixirt Stücke des Magens von Säugethieren 6—8 Stunden lang in Bouins Gemisch (oben § 111b), bringt sie in Alkohol von 60—90% und färbt die Zellgranula mit 1%iger Lösung von Viktoriablau. — Über den Muskelmagen der Vögel s. BAUER (Arch. Mikr. Anat. 57. Bd. 1901 p. 667).

HARVEY (Amer. Journ. Anat. Vol. 6 1907 p. 208) fixirt Stücke des Magens von *Canis* 2 Stunden lang im Gemische gleicher Theile von Formol, Wasser, 3%iger Lösung von Kaliumbichromat und 6%iger von Sublimat. Färbung nach Bensley: die Schnitte kommen auf je 1 Minute in gesättigte Lösung von Kupferacetat, 3%ige von Bichromat und gesättigte von Hämatoxylin, werden aber dazwischen jedesmal mit Wasser abgespült; nach Wiederholung dieser Prozeduren Differenzieren in Weigerts Boraxferricyankalium. Die Körner in den Parietalzellen bleiben schwarz. — S. auch oben § 327 (BENSLEY).

**795. Darm.** Über die Fixirung nach Möller zum Studium der Drüsen s. oben § 111a.

MAAS (Festschr. Kupffer Jena 1899 p. 207) weist das Bindegewebe im Darm von *Myxine* durch Doppelfärbung mit Boraxkarmin (in toto) und Indulin (Schnitte), besser noch mit Congoroth (etwa 2%ige Lösung) und Hämalan (stark verdünnt) nach, auch durch Säurefuchsin und Pikrinsäure und durch Verdauung bei 4—8° C. mit Pankreassaft, dem etwas Congoroth zugesetzt ist.

ANILE (Glandole duodenali Napoli 1903 p. 50) fixirt Darmstücke 24—48 Stunden lang im Gemisch von 100 g gesättigter Lösung von Pikrinsäure in 75%igem Alkohol und 5—10 g Formol; Auswaschen in 70%igem Alkohol nach Jelinek (oben § 91).

BENSLEY (Amer. Journ. Anat. Vol. 5 1906 p. 323) färbt die Paraffinschnitte durch die Lieberkühnschen Drüsen erst mit Orange G und Säurerubin (gleiche Theile gesättigter Lösungen), dann mit Toluidinblau. Wasser, absol. Alkohol, Benzol, Balsam.

**796. Leber.** BRAUS (Denkschr. Med. Nat. Ges. Jena 5. Bd. 1896 p. 307) färbt die Gallencapillaren nach der schnellen Methode von Golgi (Vorbehandlung mit dem Gemisch von 1 Theil Formol und 3 Theilen Müllerschen Gemisches oder  $\frac{1}{3}$ %iger Chromsäure), schneidet hinterher meist aus freier Hand, sieht aber bei Behandlung der Schnitte nach Kallius (§ 739) und Färbung mit Hämateinthonerde die Capillaren



weiter verlaufen, als das Silberchromat sie anzeigt. Zum Fixiren der Leber dient sonst das Gemisch von 1 Theil Formol und 3 Theilen  $7\frac{1}{2}\%$  iger Sublimatlösung, worin die Gewebe fast gar nicht schrumpfen; Färbung meist mit Bordeaux R und Eisenhämatoxylin oder mit Biondis Gemisch.

HOLM (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 283) fixirt die äußerst fettreiche Leber von *Acanthias* im Gemisch von 5 Theilen Alkohol und 1 Theil Chloroform, bettet sie in Paraffin ein und färbt die Schnitte. — S. auch oben p. 384 (DEFLANDRE) und § 83 (MAYER).

HEINZ (Arch. Mikr. Anat. 58. Bd. 1901 p. 567) fixirt die Leber 24 Stunden lang in  $10\text{--}15\%$  igem Formol und macht entweder Gefrierschnitte oder nach Härtung in Alkohol von  $50\text{--}100\%$  Paraffinschnitte. Färbung mit Biondis Gemisch. S. auch oben p. 64 (HEINZ).

S. ferner KRAUSE (Arch. Mikr. Anat. 42. Bd. 1893 p. 57), MIURA (Arch. Path. Anat. 97. Bd. 1884 p. 144: Vergoldung der Fasernetze), KUPFFER (Sitzungsb. Ges. Morph. Phys. München 5. Bd. 1889 p. 82: Färbung der Gallencapillaren mit Hämatoxylinkupfer nach Heilmeyer, oben § 698, und Anwendung der Golgischen Methode nach Böhm, oben § 732, für jene und die Netze), KUPFFER (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 263: Vergoldung der Sternzellen) und EPPINGER (Zeit. Wiss. Mikr. 19. Bd. 1902 p. 238: Färbung der Gallencapillaren nach Scarpatetti, oben § 716).

OPPEL (Anat. Anz. 5. Jahrg. 1890 p. 144; 6. Jahrg. 1891 p. 168) bringt Stücke der in Alkohol konservirten Leber oder Milz auf 24 Stunden in eine Lösung von Kaliummonochromat ( $\frac{1}{2}\text{--}10\%$ ), spült sie mit sehr schwacher Lösung von Silbernitrat ab, legt sie auf 24 Stunden in  $\frac{3}{4}\%$  ige Lösung von S., wäscht sie aus, entwässert sie und schneidet sie aus freier Hand oder in Paraffin. Die Gitterfasern sind nur nahe der Oberfläche gefärbt, man muß also parallel zu ihr schneiden. — S. auch MARESCH (Zeit. Wiss. Mikr. 23. Bd. 1906 p. 356: Anwendung von Bielschowskys Methode (oben p. 344) auf die Gitterfasern) und oben § 299 (TIMOFEEW).

**797. Lunge.** MÜLLER (Arch. Mikr. Anat. 69. Bd. 1906 p. 3) benutzt zu Korrosionspräparaten von Säugerylungen leicht schmelzbares Metall nach Wickersheimer, erwärmt aber die Lunge vorher in Wasser auf  $65^{\circ}\text{C}$ .; Maceration in  $10\%$  iger Kalilauge. Zur Versilberung der Epithelien füllt er die Lunge mit  $\frac{1}{5}\%$  iger Silbernitratlösung, härtet sie nach einigen Tagen im Dunklen in Alkohol und setzt erst die vom Paraffin befreiten Schnitte im Balsam oder Glycerin dem Lichte aus. — KOPSCH (Internat. Monatschr. Anat. Phys. 23. Bd. 1906 p. 260) füllt die Lunge mit dieser Lösung, legt sie auch auf  $12\text{--}24$  Stunden im Dunkeln hinein und von da (ganz oder Stücke davon) in schwaches Formol, das nach 1 Stunde gewechselt werden muß, schneidet sie auf dem Gefriermikrotom und läßt die Reduktion in Wasser vor sich gehen.



**798. Milz.** KULTSCHITZKY (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 675) studirt die Muskulatur an Schnitten (von Material aus Müllers Gemisch), die wenigstens 1 Tag lang in einer Lösung von Lakmoid in Äther gefärbt und in Balsam eingeschlossen werden; die elastischen Fasern (p. 676) an Schnitten, die  $\frac{1}{2}$ —24 Stunden lang im Gemisch von 96%igem Alkohol (800 Theile), 1%iger Lösung von Kaliumcarbonat (40 Theile), Magdalaroth (2 Theile) und Methylenblau (1 Theil) gefärbt sind; die Blutgefäße (p. 681) an Schnitten (von Material aus Müllers Gemisch), die mit der Lösung von Säurerubin (1—2 Theile) in 3%iger Essigsäure (400 Theile) mehrere Minuten gefärbt, in 2%iger Essigsäure ausgewaschen und in Helianthin etc. oder Chinablau (Wasserblau), die in analoger Weise gelöst sind, so lange nachgefärbt werden, bis das Rubin nur noch in den Erythrocyten bleibt. — S. auch WHITING (Trans. R. Soc. Edinburgh Vol. 38 1896 p. 311), SCHUMACHER (Arch. Mikr. Anat. 55. Bd. 1899 p. 151: elastisches Gewebe), WEIDENREICH (ibid. 58. Bd. 1901 p. 251: Färbung der Schnitte in Alkohol erst mit Orange G, dann mit Säurefuchsin) und oben § 796 (OPPEL).

**799. Niere.** Nach SAUER (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 110) ist von Fixirmitteln für das Epithel das beste das von Carnoy (Alkohol absol. 60, Chloroform 30, Eisessig 10 Theile; 3—5 Stunden lang, dann direkt absoluter Alkohol); danach kommt Alkohol (90 ccm von absolutem oder 90%igem) mit Salpetersäure (10 ccm), dann Perényis Gemisch. Die Stücke sind vom absoluten Alkohol durch Xylol in Paraffin von 56° Schmelzpunkt sehr langsam überzuführen; die aufgeklebten Schnitte färbt man mit Eisenhämatoxylin, dann in 90%igem Alkohol mit Säurerubin, das den Härchensaum tingirt. Macerirt wird in Jodserum oder Drittelalkohol (nachher Färbung mit Dahlia).

SOBIERANSKY (Arch. Gesamte Phys. 98. Bd. 1903 p. 143) fixirt die Niere von *Lepus* 10—24 Stunden lang im Gemisch gleicher Theile von gesättigter Sublimatlösung und 2%iger Osmiumsäure (plus 2—3 Tropfen Eisessig auf je 10 ccm); dann 4—8 Stunden langes Auswaschen, Alkohol etc.

COURMONT & ANDRÉ (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 57 1904 p. 131; Journ. Phys. Path. Gén. Paris Tome 7 1905 p. 255) fixiren zum Nachweis der Harnsäure das Material in absol. Alkohol oder nach Carnoy, behandeln die Schnitte mit 1%igem Ammoniak, um das Chlornatrium zu entfernen, dann mit 1%iger Silbernitratlösung und schwärzen das Silberurat durch einen photographischen Entwickler. — S. auch CIACCIO (Anat. Anz. 33. Bd. 1908 p. 304) und § 883.



**800. Nebenniere und ähnliche Organe.** HULTGREN & ANDERSSON (Skand. Arch. Phys. 9. Bd. 1899 p. 257) fixiren die Nebenniere in Müllers Gemisch mit 4 % Formol, Altmanns Gemisch oder einem Gemisch aus Kaliumbichromat, Formol und Alkohol. — Über die Nebenniere von *Rana* s. SRDÍNKO (Anat. Anz. 18. Bd. 1900 p. 502: Färbung der Schnitte mit Hämäteïn-Mangan und Differenzirung durch Eisenalaun). — KOHN (Arch. Mikr. Anat. 53. Bd. 1898 p. 298) fixirt das Suprarenalorgan der Selachier mit Sublimat (in Normalsalzwasser), Flemmings Gemisch oder Kaliumbichromat.

**801. Phagocytäre Organe und Exkretionsorgane.** Zum Studium der Milz und Niere bei den Vertebraten und der homologen Organe (Lymph- und Lymphoidorgane, Perikardialdrüse, Malpighischen Gefäße etc. etc. der Invertebraten) wird seit KOWALEWSKY (Biol. Centralbl. 9. Bd. 1889 p. 33) die sogenannte physiologische Injektion viel verwandt. Sie besteht wesentlich darin, daß man in die Leibeshöhle oder Gefäße theils feste Substanzen, in Wasser aufgeschwemmt, theils Flüssigkeiten einspritzt, um entweder die Reaktion der Organe auf Lakmus und andere Indikatoren (Säurefuchsin, Orange III) oder das Verhalten der Amöbocyten des Blutes und der Exkretionszellen festzustellen. Die Zellen nehmen nämlich oft die festen Stoffe oder die aus den injizirten Flüssigkeiten im Körper ausgefällten Niederschläge in sich auf. Von festen Stoffen dienen fein angeriebene Tusche oder Sepia, fein vertheiltes Karmin, Ferrum oxydatum saccharatum, auch wohl Erythrocyten von Wirbelthieren, Bakterien, Spermien; von gelösten Ammoniakkarmin oder Natronkarmin (fälschlich meist karminsaures Ammoniak oder Natron genannt), Indigkarmin, Lakmus, das erwähnte Eisensalz oder auch Eisenchlorid, Säurefuchsin, Alizarinblau S, Alizarinroth S, Bismarckbraun und andere Theerfarbstoffe, auch wohl Milch; das Vehikel bilden Wasser, Normalsalzwasser oder Seewasser. Oft werden mehrere Stoffe zugleich injiziert.

Zur Erkennung in den Schnitten dienen, wenn die Stoffe nicht an sich charakteristisch genug sind, Färbungen; z. B. wird das Eisen durch Ferrocyankalium und Salzsäure nachgewiesen, die Erythrocyten durch Säurefuchsin, das Fett in der Milch durch Osmiumsäure. Auch wendet man Kontrastfärbungen für die Kerne an (z. B. Hämalaun bei Karmin). Bei der Fixirung der Organe dürfen natürlich die Farbstoffe in den Zellen nicht alterirt werden. Besonders aber ist dafür zu sorgen, daß die zu injizirenden Lösungen absolut keine festen Partikel



enthalten; man lasse also die Flüssigkeit gut absetzen, schöpfe nur von oben und prüfe mit dem Mikroskope; dies scheint leider nicht nur früher beim Karmin, sondern auch neuerdings oft unterlassen zu werden.

Auch die Fütterung von Thieren mit Karmin, Lakmus, Alizarinblau, Ferr. oxyd. sacch. etc. (Schindler, Eisig, Metschnikoff, Kowalewski etc.) hat mancherlei Resultate über die Exkretionsorgane geliefert.

S. ferner SCHMIDT (Arch. Gesamte Phys. 48. Bd. 1890 p. 34: Karmin für Niere von Vertebraten; enthält auch die ältere Literatur); CUÉNOT (Arch. Biol. Tome 16 1899 p. 51: Allgemeines über die phys. Injekt. und Anwendung auf die Mollusken); KOWALEWSKY (s. oben p. 408; gibt einige ältere Literatur für Invertebraten).

**802. Keimorgane und -produkte.** Die männlichen Organe untersucht man, so weit es sich nicht speziell um ihren Inhalt handelt, mit den gebräuchlichen Mitteln. Auch beim Studium der Spermatogenese kommen diese zur Geltung. Meist werden kleine Stücke des Hodens in Osmiumgemischen, besonders in Hermanns Gemisch, fixirt, oder man injiziert letztere in das Hodengewebe; den Sublimatgemischen wird nachgesagt, daß sie bei den ungemein wasserreichen Jugendstadien der Spermien leicht Schrumpfungen hervorrufen.

So behauptet REGAUD (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 4 1901 p. 105), das Gemisch von Lenhossék führe, warm angewandt, Schrumpfungen der Zellen von über 50% herbei. R. zieht Bouins und besonders Tellyesniczky's Gemisch vor (1—3 Tage, dann auf mehrere Tage oder Wochen 3% iges Kaliumbichromat; Färbung mit Hämalun und Safranin, s. oben p. 180).

SINÉTY (La Cellule Tome 19 1902 p. 211) fixirt die Hoden von Phasmoden ausschließlich in Flemmings Gemisch und färbt die Schnitte mit Eisenhämatoxylin und Kristallviolett (nach Henneguy) oder mit Fuchsin, Pikrinsäure und Indigkarmin (nach Ramón y Cajal). — STEVENS (Journ. Exper. Z. Baltimore Vol. 5 1908 p. 360) fixirt die Hoden der Dipteren auf dem Objektträger in Schneiders Essigkarmin, zerquetscht sie mit dem Deckglas, umrahmt dieses nach 10—15 Minuten mit Vaseline und untersucht 24 Stunden später nur die Chromosomen.

Die reifen Spermien fixirt man nach BALLOWITZ (Encyclop. 2. Bd. p. 506) am besten mit Dämpfen von Osmiumsäure und untersucht sie dann direkt oder trocknet sie in ganz dünner Schicht auf Deckgläser an und färbt sie mit Alaunkarmin oder Gentianaviolett. — S. auch oben § 503, ferner § 37 (GILSON), § 50 (LEE) und § 782 (REGAUD).

Über die Untersuchung der Eier s. Kapitel 22 und 31.

Uterus und Placenta von *Homo*. Jenen bringt Poso (Esperienze microtechniche Napoli 1910 p. 29) gleich nach der Exstirpation in 2% ige Lösung von Chorkalium, die zuerst 33—34° warm ist, dann



aber auf  $37^{\circ}$  erwärmt wird, legt ihn nach einer Stunde in viel 50 % igen sauren (3 % Salpetersäure) Alkohol, spritzt ihn auch von den großen Venen aus damit ein und wäscht durch einen Katheter die Höhle damit aus, wechselt den Alkohol (stets wird  $37^{\circ}$  warmer verwandt) und ersetzt ihn später durch 70 % igen ebenfalls sauren und warmen. Nach 36 Stunden läßt sich der Uterus in Scheiben von etwa  $1\frac{1}{2}$  cm Dicke zerlegen; diese verbleiben im selben Alkohol noch wenigstens 1 Tag und werden nun in 90—100 % igem sorgfältig entsäuert. Auch 1 % ige, mit 5 % Essigsäure versetzte Sublimatlösung ist geeignet; Behandlung ähnlich, nur wird später dem Alkohol Jodjodkalium zugefügt. Als Intermedium dient besonders Terpentinöl; dieses wird in 36 Stunden 3 mal gewechselt, und dann bleiben die Scheiben zunächst bei  $40^{\circ}$ , später bei  $60^{\circ}$  in Gemischen des Intermediums mit Paraffin zuerst in geschlossenen Gefäßen etwa 6 Tage, dann in offenen bei mehrmaligem Wechsel des Paraffins noch wenigstens eine Woche, sodaß der Proceß 14—15 Tage in Anspruch nehmen kann. Jedoch braucht vor der definitiven Einbettung das Terpentinöl durchaus nicht ganz verdunstet zu sein, vielmehr scheint ein Rest von ihm das Gewebe besser schneidbar zu machen. Mit Benzol ist das analoge Verfahren schon in 5—6 Tagen beendet, jedoch schneidet sich mitunter das Objekt dann nicht so gut. — Die Placenta (p. 17) wird in toto ebenfalls bei  $37^{\circ}$  fixirt und zugleich durch die Umbilikalvene injiziert. Auch hier ist der saure Alkohol am besten, aber auch 2—3 % ige Sublimatlösung mit 5 % Essigsäure fixirt gut, Kaliumbichromat (auch angesäuertes) dagegen taugt nicht, und Formol nur dann, wenn die natürliche Farbe der Pl. erhalten bleiben soll (s. unten). Sobald das Gewebe hart genug geworden ist, wird es in Scheiben zerlegt; diese machen ungefähr dieselben Prozeduren durch wie die vom Uterus, nur werden sie ausschließlich mit Benzol als Intermedium behandelt und sind bereits in etwa 5 Tagen eingebettet. — Für kleine Stücke von Uterus und Placenta eignet sich am besten das letzt-erwähnte Sublimatgemisch. — Zur Erhaltung der natürlichen Farbe wird die Placenta im Gemische von 1 Th. Formol und 3 Th. Normal-salzwasser fixirt, nach 24 Stunden in Scheiben geschnitten; diese werden 3—4 Tage später zum Abdunsten auf kurze Zeit an die Luft gebracht, von da in Alkohol von 70, 85, 95 und 100 % und nach guter Entwässerung in Flemmings Gemisch (oben § 7) aufbewahrt.



## 31. Kapitel.

**Methoden zur Untersuchung wirbelloser Thiere.**

**803. Allgemeines.** In diesem Kapitel werden meist nur Abänderungen der gewöhnlichen Methoden angegeben, wie sie zum Studium mancher Organismen dienen können; dabei wird es sich jedoch allermeist um Methoden für histologische Zwecke handeln, nicht um solche zur Präparation von Thieren für Museen oder für die gröbere Anatomie. Freilich können manchmal auch die histologischen Methoden mit gutem Erfolge für die anderen Zwecke dienen.

Über die physiologische Injektion zur Erkennung der phagocytären Organe und Exkretionsorgane s. § 801.

Viele Angaben über die Konservierung von Seethieren macht LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 435 ff.; alle Citate von ihm weiter unten beziehen sich hierauf). Aber in erster Linie handelt es sich um Präparate für Museen.

MEUNIER & VANEY (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 68 1910 p. 727) fixiren das Plankton mit Chinon (0,2—0,4 % ige Lösung) 24 Stunden lang und bringen es dann in 70 % igen Alkohol. Die Kerne werden darin braun. — S. auch § 76 (FOL) und § 846 (GOTO).

**Tunikaten.**

**804. Fixiren.** LO BIANCOS Methode zum Tödten von *Ciona*, *Ascidia* und *Rhopalaea* s. im § 25. *Clavellina*, *Perophora* etc. betäubt er 3—12 Stunden lang durch Chloralhydrat (1:1000 Seewasser), tödtet sie im Gemisch von 1 Theil 1 % iger Chromsäure und 10 Theilen 50 % iger Essigsäure und härtet sie 1 % iger Chromsäure.

Die zusammengesetzten Ascidien mit kontraktilen Einzelthieren läßt man (nach VAN BENEDEN) sich zuerst gut ausstrecken, ergreift sie mit den Fingern, steckt sie rasch in Eisessig, läßt sie



2—6 Minuten (je nach der Größe) darin, wäscht sie in 50%igem Alkohol gut aus und führt sie allmählich in stärkeren Alkohol über. — LO BIANCO narkotisiert sie mit Chloralhydrat (wie oben) und fixiert sie mit Sublimat oder Chromessigsäure.

CAULLERY (Bull. Sc. France Belg. Tome 27 1895 p. 4) betäubt die zusammengesetzten Ascidien mit Cocaïn nach Lahille (einige Tropfen 5%iger Lösung auf 30 ccm Seewasser) rasch und fixiert sie hauptsächlich mit Flemmings Gemisch oder nach van Beneden mit Eisessig. — SCHULTZE (Jena. Zeit. Naturw. 33. Bd. 1899 p. 266) betäubt *Ciona* mit Chromessigsäure nach Lo Bianco und fixiert sie mit Sublimatlösung oder Pikrinschwefelsäure. Operationen am Ganglion nimmt er ebenfalls an betäubten Thieren vor, die dann in reinem Seewasser wieder aufleben.

Die meisten kleinen pelagischen Tunikaten fixiert man mit Osmiumsäure oder angesäuertem Sublimat. — LO BIANCO bringt *Pyrosoma* auf  $\frac{1}{4}$  Stunde in Alkohol von 50% mit 5% Salzsäure, dann allmählich in immer stärkeren neutralen Alkohol. Die harten Salpen tötet er mit 10%iger Essigsäure, die halb weichen in 1%iger Chromsäure mit 5% Essigsäure, die weichen mit Formol und Chromsäure (oben § 111a); die Dolioliden ebenso, aber auch mit Sublimat oder dem Gemisch von Kupfersulfat und Sublimat (§ 80).

### Bryozoen und Brachiopoden.

**805. Bryozoen.** Einige Methoden s. oben in § 14 und 19—21. LO BIANCO empfiehlt für *Pedicellina* und *Loxosoma* Betäuben mit Chloralhydrat und Fixiren mit Sublimat. *Flustra*, *Bugula* etc. betäubt er mit Alkohol (oben § 19). S. auch unten § 853 (BRAUN).

CONSER (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 310) tötet Süßwasserbryozoen mit Cocaïn, bringt sie auf 1 Stunde in 1%ige Chromsäure, von da in Wasser und allmählich in Alkohol von 80%.

CALVET (Contrib. hist. nat. Bryoz. ectopr. mar. Montpellier 1900 p. 15) fixiert mit Chromsalzsäure (100 Th.  $\frac{1}{3}$ %iger Lösung von Chromsäure und 1 Th. 3%iger Salzsäure, oder 100 Th.  $\frac{1}{5}$ %iger Chr. und 1 Th. 5%iger S.). Zur Versilberung räuchert er (p. 31), da die Methode von Harmer (oben § 353) nicht gut sei, die Thiere vorher mit Osmiumsäure (nach Ostroumoff) und wäscht sie sorgfältig aus.

ZSCHIESCHE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 28. Bd. 1909 p. 6) fixiert die auf Celloidin oder Paraffin angehefteten Larven von *Alcyonidium* im Gemisch von 8 Th. Sublimat, 2 Th. Essigsäure und 90 Th. Seewasser 25—30 Minuten lang.

**806. Brachiopoden.** LO BIANCO tötet die kleinen direkt in Alkohol von 70%, größere nach Betäubung mit Alkohol und Seewasser.



BLOCHMANN (Untersuch. fein. Bau Brachiopoden Jena 1892 p. 5) fixirt am liebsten mit Sublimat und macerirt nach Hertwig (oben § 519), entkalkt mit 1%iger Chromsäure (auch mit Zusatz von etwas Salz- oder Salpetersäure) oder mit Salpetersäure in Alkohol von 50—70%, färbt mit Delafields Hämatoxylin (auch Eosin oder Orange G) oder mit Boraxkarmin und Indigkarmin und bettet in Paraffin oder Celloidin ein; in letzterem keine Schrumpfungen. Injektionen mit Berlinerblau oder 2%iger blauer oder rother Gelatine. — EKMAN (Zeit. Wiss. Z. 62. Bd. 1896 p. 172) fixirt den Stiel meist mit Flemmings Gemisch, schneidet ihn aus freier Hand in Leber, selten in Paraffin und färbt fast stets mit Böhmers Hämatoxylin und Eosin.

### Mollusken.

**807. Fixiren.** Um die Lamellibranchien ausgestreckt zu konserviren, narkotisirt sie LO BIANCO wenigstens 6—12 Stunden mit Alkohol (oben § 19) oder Cocaïn (§ 21). — CARAZZI (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 388) führt bei *Ostrea* die Narkose ebenfalls durch Alkohol in 24 Stunden aus, stellt aber das Gefäß mit dem Thier warm (25°C.); dann fixirt er (nach Angaben an Mayer) das Thier im Gemisch von 1 Theil Formol und 3—4 Theilen Seewasser, wäscht es 24 Stunden später rasch mit 70%igem Alkohol ab, bringt es auf 24 Stunden in konzentrierte Lösung von Sublimat in Normalsalzwasser und von da direkt in 95%igen Alkohol mit Jodjodkalium; die Schnitte behandelt er eventuell nochmals mit Jod, um alles Quecksilber fortzuschaffen. Durch die Fixirung in Formol werden Schrumpfungen ganz vermieden.

LIST (Fauna Flora Golf. Neapel 27. Monogr. 1902 p. 292) narkotisirt die Mytiliden mit 2%iger Lösung von Cocaïn in Seewasser und fixirt sie dann 12—24 Stunden lang in saurem (2% Salpetersäure) Alkohol von 70%, besser in Pikrinsalpetersäure oder starkem Flemmingschem Gemisch. (Zur Erhaltung der Cilien vor dem definitiven Fixirgemisch erst 10%iges Formol in Seewasser.) Schnittfärbung mit Hämalaun und Eosin (s. auch § 685). Den Verlauf des Darms studirt er nach Fütterung mit Tusche, Fixirung mit saurem Alkohol oder Pikrinsalpetersäure und Aufhellung in einem Intermedium, den der Nerven an Thieren, die die Eier abgelegt haben, nach Betäubung, Fixirung in Flemmings Gemisch und Übertragung durch Alkohol (eventuell darin dem direkten Sonnenlicht auszusetzen) in Xylol oder Benzol.

Gastropoden. LO BIANCO narkotisirt mit Alkohol, besser mit Cocaïn (§ 21), die Prosobranchier und von den Heteropoden die Atlan-



tiden. — Über die Erstickung von Landschnecken s. § 26, das Narkotisieren mit Hydroxylamin § 22. Die Ophisthobranchien empfehle ich (LEE), rasch mit Perényis Gemisch oder Eisessig (§ 804) zu tödten. — *Aplysia* narkotisiert man nach ROBERT (Bull. Sc. France Belg. Tome 22 1890 p. 449) durch subcutane Injektion von 1 ccm 5—10 % iger Lösung von Cocaïn; nach SCHÖNLEIN (Zeit. Biol. 30. Bd. 1893 p. 187) ebenso mit 1 ccm 4 % iger Lösung von Pelletierin. — LO BIANCO gibt für die Opisthobranchien je nach Genus oder Spezies verschiedene Mittel zum Betäuben und Fixiren an (s. Original p. 467). Von den Pteropoden fixirt er die Cymbuliiden mit Perényis Gemisch  $\frac{1}{4}$  Stunde lang (dann in Alkohol von 50 %), *Hyalea* mit Sublimat, *Creseis* betäubt er erst mit Alkohol, die Gymnosomen mit Chloralhydrat ( $\frac{1}{10}$  %). Noch besser wirkt oft Cocaïn. — S. auch § 889.

ANCEL (Arch. Biol. Tome 19 1903 p. 394) entkalkt junge *Helix* im Gemisch von 100 Th. Alkohol von 70 %,  $2\frac{1}{2}$  Th. Salpetersäure und 1 Th. Phloroglucin, bringt sie vom 90 % igen Alkohol direkt in Chloroform und sehr rasch in Paraffin, damit sie nicht zu hart werden. Die Zwitterdrüse fixirt er in Flemmings oder Hermanns Gemisch (beide mit weniger Osmiumsäure).

Cephalopoden. Nach HEYMANS (Bull. Acad. Belg. (3) Tome 32 1896 p. 578) lassen sie sich durch Injektion von etwas Bromäthyl unter die Haut lähmen, während die Athmung ruhig weiter geht. — LO BIANCO fixirt (nach Mittheilung an Mayer) sie mit seiner Chromessigsäure Nr. 1, die aber die doppelte Menge Essigsäure enthält, 24 Stunden lang, wäscht sie ebenso lange mit Wasser und bringt sie in Alkohol.

Die Larven von *Carinaria*, Atlantiden etc., überhaupt kontraktile Larven und Ciliaten betäubt LO BIANCO (nach Mittheilung an Mayer) mit Cocaïn oder Chloreton, tödtet sie dann im frischen Gemisch gleicher Theile von Formol und Flemmings Gemisch, wäscht sie sofort in destill. Wasser aus und führt sie langsam in Alkohol über.

**808. Leber.** MAC MUNN (Phil. Trans. Vol. 193 B 1900 p. 10) fixirt die Leber von Mollusken und *Homarus* in 20—30 % igem Formaldehyd (1 Theil Formol + 4 oder  $2\frac{1}{3}$  Theil Wasser) 12—24 Stunden lang, bringt sie direkt in 95 % igen Alkohol, bettet sie in Celloidin ein und schneidet sie mit dem Gefriermikrotom, weil sich dann dünnere Schnitte erzielen lassen als sonst.

ENRIQUES (Mitth. Z. Stat. Neapel 15. Bd. 1901 p. 289) fixirt die Leber von *Octopus* und *Sepia* besonders mit Sublimat. Bei *Aplysia* sind als Fixirmittel namentlich im Sommer (durch das Kohlenhydrat in ihren Zellen) ausgeschlossen Alkohol, Formol und alle Gemische mit Chrom-, Osmium- oder Essigsäure; am wenigsten schädlich ist langes (*Pleurobranchaea* 5—6 Tage) Fixiren in Sublimatlösung.



**809. Centralnervensystem.** CARAZZI fixirt das der Cephalopoden mit Formol und Sublimat (s. § 807).

NABIAS (Rech. centres nerveux Gastéropodes Bordeaux 1894 p. 23) fixirt die Ganglien der Pulmonaten im geöffneten Thiere 1 Stunde lang in saurem Alkohol (6 Theile Eisessig auf 100 A. von 90 oder 100 %); oder 15—20 Minuten lang im Sublimatgemisch von Viallanes (§ 679), dann durch Wasser und schwachen Alkohol in 90%igen. Färbung der ganzen Ganglien vorzugsweise mit Hämatoxylin-Eosin von Renaut (§ 318), Hämatoxylin und Kaliumbichromat nach Heidenhain (§ 257) und Hämatoxylinkupfer nach Viallanes; Einbettung durch Chloroform (1 Stunde) in Paraffin von 56° Schm. ( $\frac{1}{2}$ —1 Stunde). Auch Färbung mit Methylenblau (Ganglien in situ in 1%iger Lösung 12—24 Stunden lang) und nach der raschen Methode von Golgi, jedoch werden die Ganglien gleich nach der Fixirung mit Osmiumsäure und Bichromat in Celloidin eingebettet, und erst die Schnitte versilbert (ibid. p. 34).

Mc CLURE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 11. Bd. 1898 p. 17) färbt die Nervenzellen von *Helix* und *Arion* entweder mit Methylenblau und Eosin (ähnlich wie Mann, oben § 681; im Original steht Methylenblau!) oder mit Safranin und Lichtgrün (ähnlich wie Benda, § 321). — LEGENDRE (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 10 1909 p. 312) fixirt sie bei *H.* und *Limax* am liebsten mit Apáthys Sublimat und Osmiumsäure (§ 368) oder Flemmings und Johnsons Gemischen.

**810. Augen der Cephalopoden und Heteropoden.** GRENACHER (Abh. Nat. Ges. Halle 16. Bd. 1896 p. 213) fixirt die Augen der Cephalopoden in Pikrinschwefelsäure oder gesättigter Lösung von Sublimat in dieser (besonders gut für *Octopus*, *Eledone* und *Sepia*) und entpigmentirt sie mit Salzsäure oder seinem Gemisch (§ 565): entweder sofort oder erst nach dem Färben mit Boraxkarmin, sodaß Entpigmentiren und Ausziehen des Karmins eine einzige Operation bilden. Man nimmt hierzu am besten 2—5 mm große Stücke der Retina. Einlegen der Schnitte in Ricinusöl (§ 427). — Ähnliche Methoden wendet GRENACHER (ibid. 17. Bd. 1892 p. 3) für die Heteropoden an.

LENHOSSÉK (Zeit. Wiss. Z. 58. Bd. 1894 p. 636; Arch. Mikr. Anat. 47. Bd. 1896 p. 45) untersucht die Augen der Cephalopoden nach Golgis Methode. Ebenso KOPSCH (Anat. Anz. 11. Bd. 1895 p. 362; Internat. Monatschr. Anat. Phys. 16. Bd. 1899 p. 34), der aber dabei statt der Osmiumsäure Formol nimmt.

HESSE (Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 418) fixirt die Augen der Heteropoden am besten mit Formol (1:4 Wasser) und führt sie behutsam in Alkohol über; der Glaskörper quillt beim Aufkleben der Schnitte mit Wasser nicht mehr. Die Augen der Cephalopoden



bleicht er (p. 456) theils nach Grenacher, theils nach Jander (oben § 566). — S. auch MERTON (ibid. 79. Bd. 1905 p. 326).

**811. Augen der Gastropoden.** FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 6. Bd. 1870 p. 441) wirft den Fühler sammt dem Auge in ganz schwache Chromsäure oder 4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>ige Lösung von Kaliumbichromat; darin stülpt sich das Auge aus und wird in letzterer Lösung oder mit Osmiumsäure oder Alkohol gehärtet. — CARRIÈRE (Z. Anz. 9. Jahrg. 1886 p. 221) räuchert das Auge nebst dem Stücke des Tentakels über Osmiumsäure und entpigmentirt (bei *Helix*) die mit Kollodium aufgeklebten Schnitte durch sehr verdünnte Eau de Javelle. — SMITH (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 48 1906 p. 238) macerirt die Augen der Pulmonaten in 1 Th. schwachen Flemmingschen Gemisches und 9 Th. Wasser wenigstens 2 Tage lang und legt sie dann in 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Glycerin. Die Retina bleicht er auf Schnitten durch Salpetersäure und Kaliumchlorat.

**812. Augen der Lamellibranchien.** HESSE (Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 380) entfernt bei *Arca* das Pigment mit Chromsalpetersäure (oben § 566). Die Augen von *Pecten* legt er unter Anderem (nach Th. List) auf 5 Minuten in 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Formol und fixirt sie dann mit Sublimat oder Pikrinsalpetersäure. — S. auch PATTEN (Mitth. Z. Stat. Neapel 6. Bd. 1886 p. 733) und RAWITZ (Jena. Zeit. Naturw. 22. Bd. 1888 p. 115 und 24. Bd. 1890 p. 579: Pikrinsalpetersäure; zum Bleichen alkoholische Natronlauge, oben § 564).

**813. Schalen.** Schiffe erhält man leicht auf die gewöhnliche Art oder nach den Methoden von Koch, Giesbrecht oder Ehrenbaum (oben § 177, 179 und 180). — MOSELEY (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 25 1885 p. 40) entkalkt mit 3—4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Salpetersäure.

LIST (Fauna Flora Golf. Neapel 27. Monogr. 1902 p. 295) schleift zuerst mit Schmirgel auf einer Eisenplatte, dann auf einem groben Stein und Abziehstein; er kittet die Schale mit Balsam auf.

**814. Injektionen.** FLEMMING (Arch. Mikr. Anat. 15. Bd. 1878 p. 252) bringt eine Muschel durch Schnee und Salz zum Gefrieren und legt sie dann auf 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunde in lauwarmes Wasser: sie ist todt und zum Injizieren gut. (Chloroform oder Äther taugen nicht.) Die Canüle bindet er ins Herz ein, umgibt die Schnittfläche der Schließmuskeln und des Herzbeutels mit frisch angerührtem Gips und injiziert, wenn dieser erstarrt. — S. auch DEWITZ, Anleit. zur Anfert. zootom. Präp. Berlin 1886 p. 44 (*Anodonta*) und p. 52 (*Helix*).

DAKIN (Liverpool Mar. Biol. Comm. Monogr. 17 1909 p. 76) betäubt *Pecten* durch Zusatz von Alkohol und Glycerin zum Seewasser 18—24 Stunden lang, bringt ihn auf 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunde in 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Formol und injiziert ihn von einem Kiemengefäße aus.



MOŽEJKO (Zeit. Wiss. Mikr. 26. Bd. 1909 p. 353; ibid. 1910 p. 542) legt *Anodonta*, *Pecten*, *Mytilus* und *Ostrea* auf etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde in 40—50° warmes Wasser, löst dann vorsichtig die Schale ab und bringt zur Selbstinjektion etwas fein pulverisirtes Kamin ins Herz. Statt des Gipses nimmt er zum Verschlusse Watte, mit Gelatinelösung und Gips getränkt, und macht Einstiche mit einer Kanüle, die eine Verdickung hat. Er injiziert zuerst statt des Amylnitrits eine gesättigte Lösung von Peptonum siccum. — S. auch VLÈS (Mém. Soc. Z. France Tome 22 1909 p. 107) über *Mya*.

**815. Maceriren des Epithels** (s. auch § 817). ENGELMANN (Arch. Gesamte Phys. 23. Bd. 1880 p. 510) macerirt den Darm von *Cyclas*, nachdem er das Thier kurze Zeit auf 45—50° C. erwärmt hat, in  $\frac{1}{5}$  %iger Lösung von Osmiumsäure oder konzentr. Lösung von Borsäure. Wegen der Fortsätze der Cilien in den Zellen zerzupft er (p. 519) frisches Darmepithel von *Anodonta* in 4 %iger Lösung von Kaliumbichromat oder 10 %iger von Kochsalz; um sie in situ zu erhalten, macerirt er die Zellen höchstens 1 Stunde lang in konzentr. Lösung von Bor- oder Salicylsäure oder  $\frac{1}{10}$  %iger Osmiumsäure. Für die Seitenzellen der Kiemen ist am besten (p. 535) Borsäure (5 Theile konzentr. Lösung und 1 Theil Wasser). S. auch oben § 101, ferner § 521 (HALLER), 515 (BROCK und MÖBIUS) und 520 (MÖBIUS). — PATTEN (Mitth. Z. Stat. Neapel 6. Bd. 1886 p. 736) empfiehlt zum Maceriren und Aufbewahren verdünnte Schwefelsäure (40 Tropfen auf 50 ccm Wasser); ganze Muscheln ohne Schale halten sich darin Monate lang.

**816. Die Vertheilung der Schleimdrüsen in der Haut** von Nacktschnecken und Anneliden macht RACOVITZA (Arch. Z. Expér. (3) Tome 2 1894 Notes p. 8) dadurch kenntlich, daß er die Thiere mit Essigsäure tötet, in toto mit Methylgrün, das im Gemisch von Ripart & Petit (§ 394) aufgelöst ist, färbt und nach 3—6 Tagen, wenn nur noch die Drüsen tingirt sind, in Glycerin und Riparts Gemisch zu gleichen Theilen untersucht.

**817. Mantelrand der Prosobranchien.** BERNARD (Ann. Sc. N. (7) Tome 9 1890 p. 100) färbt die Schnitte in starker Lösung von Methylgrün oder Methylenblau in absol. Alkohol und Xylol (zu gleichen Theilen) nach, speziell die Nerven in Lösung von Methylenblau in absol. Alkohol mit etwas fester Chromsäure. Das Epithel macerirt er (p. 101)  $\frac{1}{4}$ —3 Stunden lang im Gemisch von je 1 Theil Glycerin und Essigsäure, je 2 Th. Alkohol von 90 % und Chromsäure von  $\frac{1}{10}$  % und 40 Th. Wasser. Auch (p. 102, 306) Chlorruthenium in schwacher Lösung ist gut, besonders für die Nervenbahnen, Schleimzellen und Cilien. Bereits in Alkohol befindliche Gewebe lassen sich im Gemisch von Glycerin (1), Essigsäure (2), Alkohol (2) und Wasser (40 Th.) maceriren.

## Arthropoden.

**818. Allgemeines.** Zum Studium von Thieren mit chitinöser Haut sind die Methoden und Winke von Mayer (s. § 11 und 12) recht brauchbar. Zum Fixiren, Auswaschen und Färben sollte man, wenn man die Thiere nicht öffnen kann oder darf, nur Flüssigkeiten



verwenden, die leicht eindringen. Daher nehme man, wo es geht, Pikrinsäure-Gemische, z. B. Pikrinschwefelsäure oder Pikrinsalpetersäure (hinterher 70 %igen Alkohol), und zum Auswaschen und Färben alkoholische Mittel. Jedoch ist auch Sublimat für viele Arthropoden vorzüglich, z. B. für Copepoden und Decapodenlarven; mitunter verwendet man es vorteilhaft in alkoholischer Lösung. Manchmal ist auch Osmiumsäure gut (z. B. für *Copilia*, *Sapphirina* und die Phyllosomen).

Kann man vor dem Fixiren die Tiere öffnen oder zerschneiden, so verfährt man nach den gewöhnlichen Methoden.

Das Hautskelett und seine Anhänge studirt man oft vortheilhaft erst nach Entfernung der Weichtheile durch Kalilauge. Am besten legt man hierzu das geöffnete Thier auf Stunden oder Tage in kalte, recht starke Lauge und entfernt dann unter Wasser durch Ausspritzen, Pinseln etc. die gequollenen nicht chitinösen Theile. Eventuell färbt man nach gutem Auswaschen das Skelett (§ 822) und untersucht es, da Balsam meist zu sehr aufhellt, in Glycerin oder Terpeneöl.

**819. Tracheaten.** S. unten § 821 (HAMANN und HENNINGS). Die Larven von *Culex* fixirt METALNIKOFF (Bull. Acad. Sc. Pétersbourg Tome 17 1902 p. 51) im Gemisch von 1 Theil Essigsäure und 4 Th. absol. Alkohols; sie sollen so nicht schrumpfen. — TOWER (Z. Jahrb. Abth. Morph. 17. Bd. 1903 p. 564) tödtet große Larven oder Puppen von Coleopteren bei 80° C. im Gemisch von 25 ccm Eisessig, 5 ccm „nitric. acid. c. p.“ [commercial product?] und 70 ccm gesättigter Lösung von Sublimat in 35 %igem Alkohol, zerschneidet sie und fixirt die Stücke einige Stunden lang bei 30—40° in einem ähnlichen weniger sauren Gemisch. Ganz kleine Stücke fixirt er direkt heiß oder kalt im Gemische von 30 ccm 2 %iger Lösung von Platinchlorid, 10 ccm Eisessig und 60 ccm gesättigter Lösung von Sublimat in 35 %igem Alkohol (dann möglichst rasch durch die Alkohole und Cedernöl in Paraffin). — S. auch HOFFMANN (Zeit. Wiss. Z. 89. Bd. 1908 p. 683: Collembolen). — PHILIPTSCHENKO (ibid. 85. Bd. 1906 p. 271) fixirt die Collembolen uneröffnet in absol. Alkohol plus 5 % Essigsäure oder in „Jodjodkaliumlösung“. — VAN LEEUWEN (Z. Anz. 32. Bd. 1907 p. 318) verwendet für Hexapodenlarven mit nicht zu dickem Chitin (auch von *Tenebrio*) das Gemisch von 12 Theilen 1 %iger Lösung von Pikrinsäure in absol. Alkohol, 2 Th. Chloroform, 2 Th. Formol und höchstens 1 Th. Essigsäure, empfiehlt es auch für die Eier kleiner Hexapoden.



Die schwer durchlässigen Pauropoden fixirt KENYON (Tufts Coll. Stud. Nr. 4 1896 p. 80) im Gemisch von Alkohol, Chloroform und Essigsäure (s. § 83), schneidet sie zum Färben etc. entzwei und bettet sie in Celloidin und nachher in Paraffin ein.

Die Chilopoden fixirt man nach DUBOSCQ (Arch. Z. Expér. (3) Tome 6 1899 p. 483) am besten im starken Gemisch von Flemming; brauchbar ist ein modifizirtes Perényisches Gemisch (gleiche Theile 1% iger Chromsäure, 10% iger Salpetersäure und 95% igen Alkohols), nicht dagegen Formaldehyd. Zum raschen Tödten dient das frische Gemisch von 1 Theil Essigsäure und 10 Theilen absol. Alkohols. Färbung der Schnitte mit Safranin (konzentr. Lösung in Anilinwasser 24 Stunden lang, dann Lösung von Pikrinsäure in absol. Alkohol) oder Eisenhämatoxylin oder Delafields Hämatoxylin und Eosin.

DUBOSCQ theilt mir (Mayer) mit, daß das Gemisch von Perényi ohne Chromsäure genau so gut wirke wie mit ihr. Er hat ferner in Schnitten durch Material aus Flemmings Gemisch nach Beizung mit Alaunlösung die Kerne sehr scharf mit wässriger Lösung von Hämatoxylin tingirt erhalten.

Nach MICHAEL (Trans. Linn. Soc. London (2) Vol. 7 p. 478) läßt sich die Acaride *Bdella* besser mit Pikrinschwefelsäure als mit Flemmings Gemisch fixiren. — BRUCKER (Bull. Sc. France Belg. Tome 35 1901 p. 367) fixirt *Pediculoides* kalt oder heiß einige Stunden lang mit „alcool picrosulfurique“ (Pikrinsäure 2 g, Schwefelsäure 5 ccm, 70% iger Alkohol 160 ccm). — BONNET (Ann. Univ. Lyon (2) Fasc. 20 1907 p. 7) bringt die Ixodiden auf einige Augenblicke in sehr heißen 90% igen Alkohol, um das Blut zu koaguliren, und macht dann Schnitte mit dem Rasirmesser, um das Fixirgemisch von CARNOY & LEBRUN (§ 84) rascher eindringen zu lassen. Er bettet in Celloidin ein, härtet dieses durch Chloroform mit etwas Cedernöl und macht 20 bis 30  $\mu$  dicke Schnitte. — NUTTALL, COOPER & ROBINSON (Parasitology Cambridge 1908 Vol. 1 p. 163) fixiren in heißer Pikrinschwefelsäure, die nach 1—2 Minuten völlig eindringt. Die ganzen Thiere hellen sie direkt in Karbolsäure auf und bringen sie durch Xylol — eventuell zur Färbung des Chitins darin Pikrinsäure — in Balsam.

Die Tardigraden fixirt SCHAUDINN (Fauna Arctica 2. Bd. 1901 p. 189) in 10% igem Formol oder heißem Sublimatalkohol (1 Th. absol. Alk. und 2 Th. gesätt. wäss. Subl.), färbt sie 24 Stunden lang mit Alaunhämatoxylin oder alkoholischem (40% iger Alk.) Alaunkarmin, entwässert sie durch Centrifugiren [wie?] und bringt sie so ungeschrumpft in Balsam. — S. auch § 609 (ERLANGER).



**820. Crustaceen.** Für marine ist nach HERBST (Arch. Entwickelungsmech. 9. Bd. 1899 p. 292) 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Formol in Seewasser das beste Fixirmittel. — S. auch oben § 818.

Ostracoden fixirt MÜLLER (Fauna Flora Golf. Neapel 21. Monogr. 1894 p. 8) im Gemisch von 5 Theilen Äther und 1 Theil absoluten Alkohols und bringt sie dann in 70<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igen Alkohol. — WOLTERECK (Zeit. Wiss. Z. 64. Bd. 1898 p. 601) fixirt *Cypris* mit Pikrinsublimatessigsäure (100 Th. gesättigter Lösung von Pikrinsäure, 50 Th. ebensolcher von Sublimat, 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub>—5 Th. Essigsäure).

Für die Copepoden und Cladoceren des Süßwassers empfiehlt ZACHARIAS (Z. Anz. 22. Bd. 1899 p. 72) Chromessigsäure. — GIESBRECHT nimmt (nach mündlicher Angabe) für die marinen Copepoden konzentr. Lösung von Pikrinsäure in Seewasser, der er auch wohl etwas Osmiumsäure und Essigsäure hinzufügt. — NETTOVICH (Arb. Z. Inst. Wien 13. Bd. 1900 p. 3) fixirt *Argulus* mit dem auf 50° C. erwärmten Gemisch von Tellyesniczky (oben § 55).

Für die Stomatopoden braucht GIESBRECHT (nach mündlicher Angabe) die Chromessigsäure von Lo Bianco (oben p. 414). Die Larven übergießt er mit warmer (40—45°) 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Lösung von Formol in Seewasser, sticht sie nach 5—10 Minuten in Seewasser an oder schneidet ihnen Stacheln und Beine ab, legt sie auf 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub>—2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden in Formol (1) und Seewasser (5 Th.), saugt dieses ab und übergießt sie entweder (zur Untersuchung des Skelets) mit Osmiumsäure (1 : 5000 Seewasser) oder bringt sie nach rascher Abspülung in Alkohol von 35<sup>0</sup>/<sub>0</sub> in Alkohol von 70<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, dem 2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> (für Totopräparate) oder 6<sup>0</sup>/<sub>0</sub> (für Schnitte) 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Osmiumsäure zugefügt sind. In jenem Falle läßt er sie so lange in der Osmiumsäure, bis diese trübe wird, und gießt dann Glycerin darunter, worin die Larven einsinken. Der Alkohol hingegen wird, sobald er sich schwärzt, durch reinen 70- und nach 24 Stunden durch 90<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igen ersetzt. Vor der Überführung in Xylol sind die Stichwunden aufzufrischen. Färbung der Schnitte mit Parakarmin bei 40°.

STAPPERS (La Cellule Tome 25 1909 p. 356) fixirt die Cumaceen nach Gilson (5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Formol 100 Th., Kupferniträt 2 Th.) oder Hornell (5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iges Formol 100 Th., 94<sup>0</sup>/<sub>0</sub>iger Alkohol 40 Th.), bringt sie zur Erweichung des Chitins auf 12—36 Stunden in 3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>ige Sublimatlösung plus 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Salpetersäure, wäscht sie gut mit Wasser aus und bettet sie erst in Celloidin, dann durch Chloroform in Paraffin.



FISCHEL (Zeit. Wiss. Mikr. 25. Bd. 1908 p. 154) löst durch Kochen in Süßwasser Alizarin (nur etwa 0,04 g in 1 Liter) auf und färbt damit *intra vitam* die Perifibrillärgranula der Nerven von Cladoceren. Parpurin thut das nicht. S. auch oben § 336 (FISCHEL).

**821. Erweichen und Aufhellen des Chitins.** LIST (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 212) behandelt die gehärteten Cocciden 12—24 Stunden lang mit Eau de Javelle, die auf das 5 fache verdünnt ist. — SALING (Dissert. Marburg 1906 p. 11) kocht die Larven von *Tenebrio* mehrere Minuten lang in Eau de Labarraque. Das Chitin wird hell und zart, während die Hitze die inneren Organe fixirt; bei richtiger Dauer der Einwirkung sei die Erhaltung der Gewebe gut, und die Methode eigne sich auch für andere Hexapoden und Arachniden. Auswaschen in warmem Wasser, dann Alkohol. S. auch § 539 und § 819 (VAN LEEUWEN).

HAMANN (Sitzungsb. Ges. Nat. Freunde Berlin 1897 p. 2) empfiehlt zum Fixiren von kleinen Tracheaten 10%iges Formol. Das Chitin bleibe geschmeidig und lasse sich gut schneiden (ob in Paraffin, wird nicht gesagt). — GUENTHER (Z. Jahrb. Abth. Morph. 14. Bd. 1901 p. 556) bettet die Flügel von Lepidopteren bis zu 48 Stunden lang in hartes Paraffin ein; das Chitin werde dadurch ganz weich. — S. auch § 605 (BORDAGE) und § 820 (STAPPERS).

KRÜGER (Entwicklung der Flügel. Göttingen 1899 p. 3) legt die Coleopteren auf 24 Stunden in 3%ige Salpetersäure. — HERBST (Arch. Entwicklungsmech. 9. Bd. 1899 p. 291) bringt (nach Bethe, s. § 822) die Crustaceen allmählich in immer saureren Alkohol und läßt sie 4—8 Wochen in absolutem mit 12% Salpetersäure (von 49%).

Zum Erweichen des Chitins und zugleich zum Fixiren der Weichtheile von Tracheaten benutzt HENNINGS (Zeit. Wiss. Mikr. 17. Bd. 1900 p. 312) das komplizierte Gemisch aus 8 Th. Salpetersäure, 8 Th. 1/2%iger Chromsäure, 12 Th. gesättigter Lösung von Sublimat in 60%igem Alkohol, 6 Th. gesättigter wässriger Lösung von Pikrinsäure und 21 Th. absol. Alkohols.

Über das Entpigmentiren der Antennen von Myriopoden s. SAZEPIN (Mém. Acad. Sc. Pétersbourg Tome 32 1884 p. 11): Chloroform mit etwas rauchender Salpetersäure. — S. auch die Methode von Mayer (§ 560) und Viallanes (§ 679).

Über die Prüfung auf Chitin s. ZANDER (Arch. Gesamte Phys. 66. Bd. 1897 p. 545), MAYER (Encyclop. 1. Bd. p. 206) und WESTER (\*Arch. Pharm. 247. Bd. 1909 p. 282, kürzer in: Z. Jahrb. Abth. Syst. 28. Bd. 1910 p. 531).

**822. Färben des Chitins.** BETHE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 8. Bd. 1895 p. 544) erzeugt im Chitin Anilinschwarz. Die aufgeklebten Schnitte bringt er auf 3—4 Minuten in frische 10%ige angesäuerte (auf 10 ccm 1 Tropfen



Salzsäure) Lösung von Anilinchlorhydrat, spült sie mit Wasser ab, legt sie, mit den Schnitten nach unten, in 10%ige Lösung von Kaliumbichromat und wiederholt beide Operationen so oft, bis die Färbung intensiv genug wird. Das Chitin ist zuerst grün, wird aber in Leitungswasser oder Alkohol mit etwas Ammoniak blau. — Speziell die Otolithen von *Mysis* bringt er auf 8—14 Tage in Alkohol von 40% und fügt allmählich Salpetersäure hinzu, sodaß schließlich der Alkohol 20% Säure enthält; das Chitin erweicht, und die Otolithen lockern sich, sodaß man mitunter gute Schnitte durch sie erhält.

Zum Färben hellen, dünnen Chitins, besonders wenn es vorher mit Kalilauge von den Weichtheilen etc. gereinigt worden und gut ausgewaschen ist, dient mir (MAYER) schon seit vielen Jahren eine Lösung von Pyrogallussäure in Alkohol oder Glycerin. Wenn darin die Objekte zu dunkel geworden sind, so lassen sie sich durch eine schwache Säure wieder aufhellen. — HOFFMANN (Zeit. Wiss. Z. 89. Bd. 1908 p. 684) legt die Objekte auf wenigstens 1 Tag in rohen Holzessig. — S. auch § 819 (NUTTALL).

**823. Flügel.** FREILING (Zeit. Wiss. Z. 92. Bd. 1909 p. 213) fixirt die der Lepidopteren bei etwa 30° in Flemmings Gemisch oder bei 40—50° im Gemisch von 6 Th. Formol, 1 Th. Essigsäure, 15 Th. Alkohol von 96% und 30 Th. Wasser.

MEIXNER (Insektenbörse 22. Jahrg. 1905 p. 60) füllt die Adern mit gesättigter Lösung von Fuchsin (oder Methylgrün etc.) in absol. Alkohol, spült das Präparat mit 70%igem Alkohol und Wasser ab, läßt es trocknen, durchtränkt es mit Xylol und legt es in Balsam. — S. auch § 821 (GUENTHER und KRÜGER).

**824. Tracheen.** MARTIN (C. R. Soc. Philomath. Paris 1893 N. 5 p. 3) injiziert kleine Mengen von Indigweiß (Indigo 4, Zinkstaub und Kalk je 2, Wasser 400) in die Leibeshöhle der Larven von *Libellula* etc. und bringt sie dann in heißes, durch Kochen luftleer gemachtes Wasser. Der Indigo färbt die Tracheen blau.

**825. Gehirn von Apis.** KENYON (Journ. Comp. Neur. Cincinnati Vol. 6 1896 p. 133) behandelt es nach Golgi (nur 15—20% der Thiere geben gute Resultate) oder härtet es im Gemisch von 1 Theil Formol und 2 Theilen 5%iger Lösung von Kupfersulfat und färbt es mit Hämatoxylin nach Mallory (oben § 265).

**826. Bauchstrang.** BINET (Journ. Anat. Phys. Paris 30. Année 1894 p. 469) fixirt den Bauchstrang theils nach Flemming oder Hermann, theils mit Sublimat nach Viallanes (§ 679), behandelt die ganzen Ganglien mit Hämatoxylinkupfer nach Viallanes und färbt die Paraffinschnitte mit Safranin nach. Die Methoden von Golgi und Ehrlich bieten geringen Nutzen. — FLOYD (Mark Annivers. Vol. New York 1904 p. 355) fixirt die Ganglien von *Periplaneta* 80 Minuten lang durch Formoldämpfe und bringt sie dann direkt in Alkohol.



**827. Augen.** HESSE (Zeit. Wiss. Z. 70. Bd. 1901 p. 348) fixirt sie in „Sublimat-Essigsäure“, härtet sie in Alkohol und sprengt durch seitlichen Druck mit einem Messerchen die Weichtheile vom Chitin los oder schält dieses nach dem Einbetten des Auges in Paraffin ab und bettet von Neuem ein; ganz kleine Augen bettet er in Celloidin-Paraffin (nach Field & Martin, oben § 171) und schneidet das Chitin mit. Die entparaffinirten Schnitte überzieht er mit  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  % iger Lösung von Photoxylin, entpigmentirt sie, färbt sie mit Alaun- oder Eisenhämatoxylin (Delafield, Heidenhain) und löst vor dem Überführen in Balsam das Photoxylin wieder auf. — S. ferner LANKESTER & BOURNE (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 23 1883 p. 180: *Limulus*), HICKSON (ibid. Vol. 25 1885 p. 243: *Musca*) und PARKER (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 20 1890 p. 1: *Homarus*). Ferner oben § 298, 565 und 679 (PARKER, HENNINGS und VIALLANES).

PHILLIPS (Proc. Acad. N. Sc. Philadelphia Vol. 57 1905 p. 125) fixirt die Augen von *Apis* im Gemisch von 10 oder 20 Theilen Essigsäure und 90 oder 80 Th. Alkohol (von 80—100%), auch wohl in Pikrinschwefelsäure oder einer Lösung von Pikrinsäure in 50%igem Alkohol.

PURCELL (Zeit. Wiss. Z. 58. Bd. 1894 p. 1) fixirt die Augen der Phalangiden 20 Minuten lang im Gemisch gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure und absol. Alkohol zu gleichen Theilen kalt (für Retina und Rhabdome) oder bei 45° C. (für Nervenfasern). — WIDMANN (ibid. 90. Bd. 1908 p. 260) macht die Linse der Arachniden durch Einlegen in sauren (10—15%  $\text{HNO}_3$ ) Alkohol auf  $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$  Tage schneidbar und bleicht die Schnitte 1 Stunde lang in frischem Gemisch von 1 Th. Chlorwasser und 2 Th. Alkohol von 95%.

HEMENWAY (Biol. Bull. Boston Vol. 1 1900 p. 207) macerirt die Augen von *Scutigera* 1 Jahr lang in einer Modifikation von Hallers Gemisch (1 Th. Glycerin, je 2 Th. Essigsäure und Wasser).

ROSENSTADT (Arch. Mikr. Anat. 47. Bd. 1896 p. 748) fixirt die Augen von Dekapoden im warmen Gemisch von 3 Theilen konzentr. Sublimatlösung und 1 Theil Perényischen Gemisches und entpigmentirt sie bei 56° C. in verdünntem Königswasser (Salzsäure und Salpetersäure je 3, Wasser 100). — STRAUSS (Wiss. Ergeb. D. Tiefsee Exp. 20. Bd. 1909 p. 3) fixirt die Amphipoden der Augen wegen in 96%igem Alkohol mit 3% Essigsäure.

**828. Leber.** Über die Leber von *Homarus* s. oben § 808.

**829. Injektion von kleinen Arthropoden.** SCHNEIDER (Tablettes Zool. Poitiers Tome 2 1892 p. 123) betäubt die Thiere mit Chloroform, injizirt sie sofort mit lithographischer Tusche und legt sie in starken Alkohol. — CAUSARD (Bull. Sc. France Belg. Tome 29 1896 p. 16) injizirt die Spinnen mit Tusche, bringt sie sofort in starken Alkohol und sezirt sie später unter Wasser, eventuell mit einer Spur Ammoniak (nach VOGT & YUNG, Lehrb. Prakt. Vergl. Anat. 2. Bd. 1889 p. 199).



**830.** Über Mittel zur **Beruhigung** lebender Copepoden und Cladoceren s. unten § 836 (VOLK).

### Würmer.

**831. Enteropneusten.** LO BIANCO (Mitth. Z. Stat. Neapel 9. Bd. 1890 p. 460) fixirt sie mit Pikrinschwefelsäure oder  $\frac{1}{2}$  iger Chromsäure, betäubt sie auch wohl vorher mit Alkohol. — WILLEY (Z. Results Willey Cambridge Part 3 1899 p. 325) fixirt sie 12 Stunden lang im Gemisch von 100 Th. 1 iger Chromsäure und 2 Th. 1 iger Osmiumsäure.

**832. Myzostoma.** WHEELER (Mitth. Z. Stat. Neapel 12. Bd. 1896 p. 227) fixirt mit Sublimat, Sublimat und Essigsäure, oder Pikrinsäure und Essigsäure; die Schnitte färbt er mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain), dann mit Orange G in konzentr. wässriger Lösung.

**833. Chätopoden.** *Lumbricus* betäubt man, indem man ihn in Wasser mit etwas Chloroform bringt. PERRIER (Arch. Z. Expér. Tome 3 1874 p. 373) stellt das Chloroform in einem Schälchen neben das Gefäß mit dem Wasser und deckt über beide eine Glocke. — CERFONTAINE (Arch. Biol. Tome 10 1890 p. 327) injiziert den Thieren etwa 2 ccm  $\frac{1}{5}$  iger Lösung von Curare und legt sie in Wasser. — COLLIN (Zeit. Wiss. Z. 46. Bd. 1888 p. 474) bringt *Criodrilus* mit wenig Wasser in ein Glas und hängt darin einen mit Chloroform getränkten Streifen Fließpapier auf. — JAQUET (Bibliogr. Anat. Paris 3. Année 1895 p. 32) tödtet *Lumbricus* gut ausgestreckt in reichlicher Menge verdünnter Salpetersäure (1 : 125 Wasser). — KÜKENTHAL (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 61) narkotisiert die Anneliden durch Alkohol in 4—8 Stunden oder 1 iges Chloralhydrat (in Seewasser). — LO BIANCO (l. c. p. 463) betäubt die meisten marinen Anneliden mit Alkohol (5 % von absolutem) 2—12 Stunden lang und fixirt sie dann in Alkohol von 70 und 90 %; *Siphonostomum* erfordert erst 5 % ige Lösung von Chloralhydrat und dann 1 % ige Chromsäure; auch einige Röhrenwürmer betäubt er erst mit Chloralhydrat ( $\frac{1}{10}$  %). Die Alciopiden fixirt er in seinem Gemisch von Sublimat und Kupfersulfat (oben § 80), wäscht sie gut aus und bringt sie in Alkohol; ebenso die Tomopteriden, für die sich aber auch einfache Sublimatlösung eignet. — Ich (LEE) finde, daß die 1 % ige Chromsäure zwar für Schaustücke gut ist, histologisch aber weniger befriedigen wird als Sublimat. Letzteren darf man bei den Röhrenwürmern mit ihren



zarten Kiemen nie warm verwenden; ähnlich empfindlich sind *Eunice* und *Onuphis*. Im Übrigen vergl. § 19—27; über das Gemisch von Ehlers s. § 42.

RIEVEL (Zeit. Wiss. Z. 62. Bd. 1896 p. 292) fixirt *Ophryotrocha* ausgestreckt in heißem Gemisch von Lang (oben p. 43) 5—8 Minuten lang, *Lumbricus* in heißem Sublimat-Alkohol oder heißer Pikrinschwefelsäure 10—15 Minuten lang. — S. auch oben p. 34 (MICHEL).

RIBAUCOURT (Bull. Sc. Francè Belg. Tome 35 1901 p. 213) fixirt die Lumbriciden in 6%iger Lösung von Sublimat in 75%igem Alkohol (mit 1‰ Osmiumsäure, Chromsäure oder Pikrinsäure), speziell für die Morrenschen Drüsen in 90—95%igem Alkohol mit 1‰ Sublimat.

EISIG (Fauna Flora Golf. Neapel 16. Monogr. 1887 p. 295) fixirt die betäubten (§ 19) Capitelliden, nachdem er sie mit Cactusstacheln festgesteckt und geöffnet hat, mit konzentr. Sublimatlösung, wäscht sie nach kurzer Zeit mit Seewasser  $\frac{1}{2}$  Stunde lang aus, spült sie mit Wasser ab, färbt sie direkt mit Boraxkarmin, zieht aus etc. und führt sie in Balsam über oder bettet sie in Paraffin ein. (Über die Maceration s. § 515.) Um ganze Organe herauszupräparieren, legt er vorher die Thiere auf mehrere Stunden in 1%ige Essigsäure.

Nervensystem. HAMAKER (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 32 1898 p. 91) betäubt *Nereis* mit Chloralhydrat oder Alkohol und fixirt sie mit Pikrinplatinosmiumessigsäure (oben § 100) oder Sublimatlösung plus 1—5% Essigsäure. — LENHOSSÉK (Arch. Mikr. Anat. 39. Bd. 1892 p. 102) verwendet die rasche Methode von Golgi. — S. auch LEWIS (Anat. Anz. 12. Bd. 1896 p. 292) und Apáthy (§ 686 u. 368).

LANGDON (Journ. Comp. Neur. Granville Vol. 10 1900 p. 4) injiziert bei *Nereis* eine starke Lösung des Methylenblaus in die Leibeshöhle, legt das Thier (in Seewasser) auf einige Stunden ins Dunkle und findet viel mehr nervöse Elemente gefärbt als im Hellen. Der Zutritt der Luft ist nicht nöthig. Weiterbehandlung nach Bethe. Die Paraffinschnitte dürfen wohl mit Eiweiß, nicht aber mit Wasser aufgeklebt werden, da dieses die Färbung zu beschädigen scheint. Nachfärbung mit Cochenilletinktur. — S. auch § 336 (NILSSON).

Haut. Präparate von der ganzen Cuticula macht LEWIS (Z. Bull. Boston Vol. 1 1898 p. 243) durch Narkotisiren der Thiere mit Alkohol, Einlegen in 10%ige Lösung von Chlornatrium und Abnehmen der losen Cuticula mit Messer und Pinzette. — Zur Topographie der Hautdrüsen s. Racovitza (oben § 816), über die Muskeln § 656, die Nephridien § 875.

Blutgefäße. KÜKENTHAL (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 61) legt die geöffneten Thiere auf 2—3 Stunden in Königswasser (2 Th.



Salpetersäure, 1 Th. Salzsäure): Gefäße schwarz auf gelbem Grunde. — S. auch oben p. 216 (BERGH).

Reinigen des Darms von *Lumbricus*. KÜKENTHAL (Biol. Centralbl. 8. Bd. 1888 p. 80) bringt die Thiere in ein Glas voll feuchten Fließpapiers; sie entleeren allmählich ihren Koth und füllen ihren Darm mit Papier. — VOGT & YUNG (Lehrb. Prakt. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 448) nehmen dafür Kaffeesatz, da dieser später in Paraffin nicht hart wird wie Papier. — JOEST (Arch. Entwicklungsmech. 5. Bd. 1897 p. 425) hält die Würmer einige Tage lang in feuchter Leinwand. — PEARL (Journ. Appl. Micr. Vol. 3 1901 p. 680) spritzt den durch 3—6%igen Alkohol betäubten Würmern vom After und Munde aus 6%igen Alkohol ein und rollt sie dabei etwas zwischen den Fingern.

**834. Hirudineen.** Zum Tödten dienen dieselben Methoden wie für *Lumbricus* (§ 833), ferner die im § 19—27. — WHITMAN (Methods p. 27) tödtet mit Sublimat, der ungemein rasch wirkt. — Ich (LEE) habe bessere Resultate mit Kohlensäure (§ 27) und Flemmings Gemisch erhalten (kleine *Nephelis* sind schon nach einigen Minuten betäubt); auch Citronensaft tödtet sie schön ausgestreckt. Zum Färben in toto ist Karmalaun ausgezeichnet; für Schnitte eignet sich mitunter das Gemisch von Ehrlich-Biondi. — GRAF (Jena. Zeit. Naturw. 28. Bd. 1893 p. 165, s. auch oben p. 63) narkotisiert mit Absud von Tabak. — Über das Macerirgemisch von Apáthy s. § 531.

BERGH (Zeit. Wiss. Z. 69. Bd. 1901 p. 446) maceriert die Epidermis der Larven von *Aulastoma* 1 Stunde lang in sehr schwacher Essigsäure oder dem Gemisch von 1 Theil 2%iger Essigsäure und 3—4 Th. Alkohol von 30%, untersucht sie auch darin.

APÁTHY (s. Carazzi, Manuale p. 272) legt die Thiere in Alkohol von etwa 40%, nimmt sie heraus, sobald sie schlaff sind, dehnt sie, steckt sie in einer Schale mit Cactusstacheln fest und fixirt sie mit Sublimat in wässriger oder alkoholischer Lösung.

Injektionen. Nach WHITMAN (Amer. Natural. Vol. 20 1896 p. 313) eignen sich Selbstinjektionen von Thieren, die mit schwacher Chromsäure konservirt waren, am besten zum Studium der Gefäße auf Schnitten. — JAQUET (Mitth. Z. Stat. Neapel 6. Bd. 1885 p. 298) legt die Thiere auf 1—2 Tage in Wasser mit etwas Chloroform und injiziert sie dann.

**835. Gephyreen.** VOGT & YUNG (Lehrb. Prakt. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 376) halten *Sipunculus nudus* einige Tage in reinem Seewasser, damit der Darmkanal frei von Sand wird, und narkotisieren ihn mit Chloroform. — WARD (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 21 1891 p. 114) betäubt die Geph. in 4—8 Stunden mit Alkohol (und bringt sie dann



in 50% igen Alkohol), LO BIANCO (l. c. p. 462) mit  $\frac{1}{10}$ %iger Lösung von Chloralhydrat in Seewasser, *Phascolosoma* und *Phoronis* mit Alkohol, neuerdings die Larven von *Sipunculus* mit Cocaïn (§ 21).

APEL (Zeit. Wiss. Z. 42. Bd. 1885 p. 461) erwärmt *Priapulus* und *Halicryptus* im Wasser auf 40° C. oder wirft sie in kochendes Wasser, holt sie rasch heraus, schneidet sie auf und härtet sie in  $\frac{1}{2}$ %iger Chromsäure oder Pikrinschwefelsäure.

METALNIKOFF (Zeit. Wiss. Z. 68. Bd. 1900 p. 265) betäubt *Sipunculus*, injiziert Sublimat mit Osmiumsäure nach Apáthy, Gilsons Gemisch etc. in die Leibeshöhle, legt das Thier in dasselbe Gemisch, zerschneidet es, wenn die dicken Muskeln abgetödtet sind, und fixirt es weiter. Zum Färben ist besonders gut Apáthys Nachvergoldung (oben § 368). Durch schwache Salpetersäure hebt sich die Haut oft in toto ab (p. 264).

**836. Rotatorien.** Um die lebendigen Thiere unter dem Mikroskope in Ruhe beobachten zu können, empfiehlt WEBER (Arch. Biol. Tome 8 1888 p. 713) eine 2%ige Lösung von Cocaïn oder für *Brachionus* und *Hydatina* warmes Wasser. — HARDY (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1889 p. 475) setzt dem Wasser tropfenweise dicken Zuckersyrup zu, HUDSON (ibid. p. 476) schwache Lösung von Salicylsäure. — VOLK (Jahrb. Hamburg. Wiss. Anst. 18. Jahrg. 2. Beih. 1901 p. 164) empfiehlt (auch für Cladoceren, Copepoden und Infusorien) Quittenschleim: 40 g Samen auf 1 Liter Wasser. — S. auch § 22, § 24 und § 28. Auch mag man nach Braun (§ 853), Eismond und Jensen (§ 863) verfahren oder Methylenblau (§ 293) oder Neutralroth (SCHOLTZ in: Centralbl. Med. Wiss. 24. Jahrg. 1886 p. 449) etc. zu intravitalen Färbungen verwenden.

Dauerpräparate gewinnt ROUSSELET (Journ. Quekett Micr. Club (2) Vol. 6 1895 p. 6), indem er dem Wasser in einem Uhrglase allmählich einige Tropfen des Gemisches von 3 Th. Cocaïn (in 2%iger Lösung), 1 Th. Alkohol von 90% und 6 Th. Wasser zusetzt, wenn dann die Cilien nicht mehr schlagen, 1 Tropfen Flemmingschen Gemisches oder von  $\frac{1}{4}$ %iger Osmiumsäure hinzugibt, nach spätestens  $\frac{1}{2}$  Minute die Thiere mit der Pipette herausholt, durch 2 oder 3 Uhrgläser voll Wasser hindurchführt und definitiv in Wasser (16 Theilen) mit Formol (1 Theil) aufhebt. — Ähnlich verfährt BEAUCHAMP (Arch. Z. Expér. (4) Tome 4 Notes 1906 p. 29), findet aber für einige Spezies das Stovaïn in 1%iger Lösung besser als das Cocaïn (1 g in je 10 cem



Wasser und Methylalkohol). Die gut betäubten Thiere fixirt er (ibid. Tome 10 1909 p. 77) 5—10 Minuten lang im Gemisch von 4 Th. 1 % iger Osmiumsäure, 1 Th. 6 % iger Sublimatlösung und 5 Th. 5 % iger Kaliumbichromatlösung (auch wohl auf je 2 ccm 1 Tropfen Essigsäure), bettet sie sorgfältig in Celloidin, von da durch Chloroform in Paraffin (nur 3—10 Minuten lang bei 50—55 °) ein und färbt die Schnitte mit Safranin, Orange G und Lichtgrün oder nach Prenant mit Eisenhämatoxylin, Lichtgrün und Eosin. — S. auch § 888.

CONSER (Trans. Amer. Micr. Soc. Vol. 17 1896 p. 310) behandelt die Rotatorien wie die Bryozoen (oben § 805), speziell die Melicertiden aber mit viel Cocaïn, dann mit Formol (20 %), zuletzt mit Chromsäure ( $\frac{1}{2}$  %). — ZOGRAT (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 124 1897 p. 245) narkotisirt sie mit Cocaïn, bringt sie auf 2—4 Minuten in Osmiumsäure ( $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  %), von da auf 5—10 Minuten in verdünnten rohen Holzessig, alsdann in Wasser, Alkohol von 50—100 %, zuletzt in Glycerin oder Harz. (Dieselbe Methode, aber ohne Narkotisiren, ist auch gut für *Hydra* und Protozoen.)

LENSEN (La Cellule Tome 14 1898 p. 428) übergießt *Hydatina* mit heißer konzentrierter Lösung von Sublimat, bringt sie sofort in Wasser, entwässert sie äußerst vorsichtig, färbt sie schwach, bettet sie in filtrirtes Paraffin ein und färbt die Schnitte mit Hämalaun.

**837. Acanthocephalen.** SÄFFTIGEN (Morph. Jahrb. 10. Bd. 1884 p. 121) tödtet sie langsam in  $\frac{1}{10}$  % iger Osmiumsäure; zwar sind sie in den ersten Stunden stark kontrahirt, sterben aber ganz ausgestreckt; ähnlich in  $\frac{1}{10}$  % iger Chromsäure, aber erst nach 2 Tagen. — HAMANN (Jena. Zeit. Naturw. 25. Bd. 1890 p. 113) wendet Sublimat oder auch Alkohol und ein wenig Platinchlorid an. — KAISER (Bibl. Z. Chun & Leuckart 7. Heft 1891 p. 3) fixirt sie 5—30 Minuten lang in heißer (56—60 ° C.) wässriger Sublimatlösung oder in seinem Sublimatgemisch (oben § 62 c); oder  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde lang in gesättigter wässriger Lösung von Cyanquecksilber bei 45—50 ° C. (dann 70 % iger Alkohol); oder im Gemisch von je 1 g Pikrinsäure und Chromsäure, 10 g Schwefelsäure und 1 Liter Wasser bei 55 ° C. 15—20 Minuten lang, wäscht sie 5—10 Minuten lang mit warmem Wasser aus und bringt sie auf einige Tage in Alkohol von 60 %. Für Embryonen und kleine Thiere nimmt er gesättigte Lösung von Quecksilberacetat in Wasser mit einer Spur Essigsäure.

**838. Nematoden.** Die Schwierigkeiten, die ihre Cuticula bereitet, lassen sich nach LOOSS (Z. Anz. 8. Jahrg. 1885 p. 318) durch Eau de Javelle oder Labarraque (oben § 540) überwinden.



Zum Fixiren empfehlen die neueren Autoren meist Sublimatgemische; ZUR STRASSEN (Zeit. Wiss. Z. 54. Bd. 1892 p. 655) fixirt jedoch *Bradynema rigidum* wenigstens 12 Stunden lang in Flemmings Gemisch, VEJDOVSKÝ (ibid. 57. Bd. 1894 p. 645) *Gordius* in  $\frac{1}{2}\%$  iger Chromsäure 24 Stunden lang, AUGSTEIN (Arch. Naturg. 60. Jahrg. 1894 p. 255) *Strongylus filaria* in Pikrinsalpetersäure, LO BIANCO (l. c. p. 262) die freien und parasitischen marinen Nematoden mit  $6\%$  iger Sublimatlösung oder Pikrinschwefelsäure, GLAUE (Zeit. Wiss. Z. 95. Bd. 1910 p. 554) *Ascaris* im heißen Gemisch von 100 Th.  $6\%$  iger Sublimatlösung, 100 Th. absol. Alkohols und 1 Th. Eisessig. — COBB verwendet seinen Differentiator (oben p. 7) zum Überführen der Nematoden aus dem Fixirgemisch in Balsam.

Das Färben ist oft schwer, und mitunter ergibt nur alkoholisches Karmin (oben § 236) brauchbare Resultate.

BRAUN (\*Thierische Parasiten d. Menschen 1. Aufl.; Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 5 1885 p. 897) fixirt kleine Nematoden in verdünntem Müllerschem Gemisch, bringt sie in Alkohol von  $25\%$  und  $40\%$ , darauf in Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen, endlich definitiv in Glyceringelatine (20 Theile Gelatine, 100 Theile Glycerin, 120 Theile Wasser und 2 Theile Karbolsäure). Kanadabalsam soll sie mitunter trübe machen. — ANDRÉ (Zeit. Wiss. Mikr. 24. Bd. 1907 p. 278) tödtet die Thiere in kochendem Wasser — die großen Spezies vorher in ein nur etwas weiteres Glasrohr gesteckt — bringt sie sofort in kaltes und von da in das Gemisch von 80 Th. Wasser, 10 Th. Formol und 10 Th. Glycerin, läßt dieses langsam verdunsten und schließt in Glycerin oder Glyceringelatine ein. — S. auch oben § 406 (LANGERON).

Lebende Trichinen. BARNES (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1898 p. 406) verdaut Trichinenfleisch mit Pepsin und Salzsäure 3 Stunden lang bei  $37^{\circ}$  C. und untersucht dann die Trichinen auf einem heizbaren Objektisch.

**839. Nemertinen.** Zum Fixiren empfehle ich (LEE) kalte Sublimatlösung mit etwas Essigsäure, dagegen nicht die Osmium- und Chromgemische, denn sie (besonders die letzteren, auch Eisenchlorid) tödten nicht rasch genug und deformiren die Thiere. Besser noch ist vielleicht (nach Du Plessis) das Fixiren mit kochendem Wasser: die Thiere sterben ausgestreckt, ohne ihren Rüssel auszustoßen. Dies gibt auch JOUBIN (Bull. Mus. N. H. Paris Tome 10 1905 p. 326) an.

LO BIANCO (l. c. p. 461) betäubt die Nemertinen mit  $\frac{1}{10}\%$  iger Lösung von Chloralhydrat in Seewasser 6—12 Stunden lang (resistentere Spezies noch einige Stunden lang in  $\frac{2}{10}\%$  iger) und härtet sie dann in Alkohol von  $70\%$ . Neuerdings verwendet er Cocaïn (s. oben § 21). — DENDY (Proc. R. Soc. Victoria f. 1891 1892 p. 89) narkotisirt



*Geonemertes* mit Dämpfen von Chloroform  $\frac{1}{2}$  Stunde lang und konservirt sie in starkem Alkohol.

Zum Färben in toto empfehle ich (LEE) nur alkoholische Mittel, besonders Boraxkarmin oder Mayers Karmin. Einbettung in Paraffin nach Durchtränkung mit Cedernöl (nicht mit Chloroform, das oft selbst nach Wochen noch nicht eingedrungen ist).

BÜRGER (Fauna Flora Golf. Neapel 22. Monogr. 1895 p. 443) studirt Nerven, Nephridien, Haut, Muskeln und Darm mit Methylenblau intra vitam (oben § 296). Ferner macerirt er die Körperwand mit Drittelalkohol oder Hertwigs Osmiumessigsäure (§ 519). Die großen Spezies betäubt und fixirt er nach Lo Bianco, die kleinen legt er direkt in heiße konzentrierte Sublimatlösung oder Sublimateisessig oder übergießt sie damit und bringt sie nach einigen Minuten in 70 % igen Alkohol, der für alle das beste Medium ist. Färben in toto mit Boraxkarmin, Hamanns Karmin, Pikrokarmin, besser mit Mayers alkohol. Karmin, ferner mit Hämalan; Einbetten durch Xylol in Paraffin bei 50—54° C., aber höchstens 6—8 Stunden lang, damit sie nicht zu hart werden. Aufkleben der Schnitte mit Eiweiß und Gelatine (oben § 195), Nachfärben mit Eosin, Ehrlichs Hämatoxylin, Methylgrün etc. etc.

MONTGOMERY (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 6) empfiehlt Sublimat (für die kleineren Spezies in 6 % iger wässriger Lösung, 40° C. warm, für die größeren in 50 % igem Alkohol gelöst), ferner Hermanns, Flemmings und Perényis Gemisch, rath dagegen ab von Chromsäure, Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure und absolutem Alkohol. Das beste Intermedium ist Cedernöl. Das Bindegewebe färbt sich gut mit Hämateinthonerde, Biondis Gemisch, Borax- und Indigkarmin, Alaunkarmin oder mit Safranin, Gentianaviolett und Orange G. — S. auch BÖHMIG (Zeit. Wiss. Z. 64. Bd. 1898 p. 484).

**840. Cestoden.** Sie müssen hauptsächlich nach den gebräuchlichen Schnittmethoden studirt werden. Immerhin kann die Beobachtung am lebenden Thiere dienlich sein. Nach PINTNER (Vogt & Yung, Lehrb. Prakt. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 202) bleiben Tänien einige Tage in gewöhnlichem Wasser mit ein wenig Eiweiß am Leben, und nach LÖNNBERG (Centralbl. Bakt. 11. Bd. 1892 p. 89) hat *Triaenophorus nodulosus* sogar 1 Monat lang in „schwach saurer Pepsinpeptonlösung“ (3—4 % mit nicht ganz 1 % Chlornatrium) gelebt.

ZERNECKE (Z. Jahrb. Abth. Morph. 9. Bd. 1895 p. 94) tödtet *Ligula* mit Golgis Gemisch von Osmiumsäure und Kaliumbichromat (1:4), imprägnirt wie gewöhnlich mit Silber, schneidet sie in Leber und behandelt sie mit Hydrochinon nach Kallius (§ 739). Auch Methylenblau leistet gute Dienste. — TOWER (Z. Anz. 19. Bd. 1896 p. 323; Z. Jahrb. Abth. Morph. 13. Bd. 1900 p. 366)



fixirt die Cestoden zum Studium des Nervensystems im Gemisch von 500 ccm gesätt. Lösung von Pikrinsäure, 5 g Platinchlorid, 3 ccm Essigsäure und 2 g Osmiumsäure 10 Stunden lang, schneidet sie in Stücke von 1—3 cm Länge, legt diese auf 6—10 Stunden in rohen Holzessig, dann auf 24 Stunden in 70%igen Alkohol und bettet sie in Paraffin.

KÖHLER (Zeit. Wiss. Z. 57. Bd. 1894 p. 386) wickelt die vorher mit Salzwasser (0,6%) ab gespülte Tänie über eine Glasplatte oder spannt sie mit Igelstacheln auf Kork fest und fixirt sie 2—3 Stunden lang mit 5%iger Sublimatlösung. Dann 70%iger Alkohol. Färbung der Schnitte 24 Stunden lang mit Orange G (auf 100 g der gesättigten Lösung 5 Tropfen Eisessig), dann nach dem Auswaschen in destill. Wasser mit Hämateinthonerde. Oder die Thiere kommen (nach Hermann, s. § 370) aus dem Alkohol auf 3 Stunden in Wasser, dann auf 1 Tag in  $\frac{1}{4}$ %ige Osmiumsäure und nach 2 stündigem Auswaschen auf 1 Tag in rohen Holzessig, von da wie gewöhnlich in Paraffin.

LÜHE (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 30. Bd. 1901 p. 166) fixirt die Proglottiden in Pikrinessigsäure nach Hofer (gesättigte wässrige Lösung von Pikrinsäure 50, Essigsäure 2, Wasser 48 Theile) und färbt sie mit Alaunkarmin. Oder er schüttelt den Inhalt des Wirthdarmes in einem Tubus mit starker Sublimatlösung durch. — RANSOM (U. S. Nation. Mus. Bull. 69 1909 p. 8) reinigt die Vogeltänien vom Darminhalte in Normalsalzwasser, fixirt sie 10—20 Minuten lang heiß oder kalt im Gemische gleicher Theile 6%iger Sublimatlösung und 70%igen Alkohols plus 1% Essigsäure, bringt sie in 70%igen Alkohol mit Jod und färbt sie mit Salzsäurekarmin.

**841. Trematoden.** FISCHER (Zeit. Wiss. Z. 40. Bd. 1884 p. 5) bettet *Opisthotrema* zum Schneiden in Seife ein und legt die Schnitte in Glycerin. — WRIGHT & MACALLUM (Journ. Morph. Boston Vol. 1 1887 p. 1) fixiren *Sphyranura* in Flemmings Gemisch und färben sie mit Alauncochenille. — LO BIANCO (l. c. p. 460) verwendet heiße konzentr. Sublimatlösung, LOOSS (Arch. Mikr. Anat. 46. Bd. 1895 p. 7) für *Bilharzia* warme (50—60° C.) 1%ige Lösung von Sublimat in 70%igem Alkohol.

MÜHLING (Arch. Naturg. 64. Jahrg. 1898 p. 5) läßt das Thier sich auf einem Deckglase gut ausbreiten und drückt dieses schnell auf den mäßig erwärmten Objektträger in einen Tropfen des Fixirgemisches (je 50 Th. Pikrinsalpetersäure und Wasser und 2 Th. Essigsäure); dann Abspülen mit Wasser und langsames Überführen in 70%igen Alkohol. — BETTENDORF (Z. Jahrb. Abth. Morph. 10. Bd. 1897 p. 308) findet Golgis schnelle Methode nur für *Distoma hepaticum* gut und zieht Methylenblau (0,1 g, Kochsalz 0,75 g, Wasser 100 ccm) vor. — S. auch oben p. 208.

Für Cercarien ist nach SCHWARZE (Zeit. Wiss. Z. 43. Bd. 1885 p. 45) das einzige gute Fixirmittel kalt gesättigte Sublimatlösung auf 35—40° C. erwärmt. — S. auch oben § 380 (HOFMANN).



**842. Turbellarien.** BRAUN (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 398) bringt die lebenden Rhabdocölen auf einen Objektträger, plattet sie mit dem Deckglase etwas ab und läßt das Gemisch von 1 Theil 1% iger Osmiumsäure und 3 Theilen Langschen Gemisches (oben p. 43) hinzufließen. Einbettung in Paraffin. — BÖHMIG (ibid.) findet für Muskeln und Parenchym Salpetersäure und Pikrinschwefelsäure sehr gut.

DELAGE (Arch. Z. Expér. (2) Tome 4 1886 p. 114) fixirt *Convoluta* im Gemisch von Karmin und Osmiumsäure (oben § 233) oder mit konzentrierter Lösung von Eisenoxydulsulfat. Er färbt sie mit diesem Karmin, oder indem er 33% ige Ameisensäure 2 Minuten lang, dann 1% iges Goldchlorid 10 Minuten, endlich 2% ige Ameisensäure 2—3 Tage lang im Dunkeln einwirken läßt, recht stark am Lichte reduziert und mit 1% iger Lösung von Cyankalium die Färbung blasser macht. — BÖHMIG (Zeit. Wiss. Mikr. 3. Bd. 1886 p. 241) fixirt Plagiostomiden mit Sublimat und färbt sie mit Osmiumkarmin.

Nach GRAFF (Organisation d. Turb. acoela, Leipzig 1891) ist die Fixirung mit Flemmings Gemisch und die Färbung mit Hämateinthonerde gut für die Haut (nicht für die Rhabdite der Acölen und Allöocölen), ferner für das Parenchym von *Amphichoerus* und *Convoluta paradoxa* und *sordida*. Sublimat ist gut für *C. roscoffensis*. Bei einigen Spezies zerstört Pikrokarmin das centrale Parenchym. Das Nervensystem behandle man nach Delage (s. oben).

LO BIANCO (l. c. p. 461) tödtet Rhabdo- und Dendrocölen mit heißer Sublimatlösung, schüttet sie sofort in viel kaltes Wasser und bringt sie in Alkohol. Einige Polycladen vertragen jedoch nur schwach erwärmte Sublimatlösung.

CHICHKOFF (Arch. Biol. Tome 12 1891 p. 438) nimmt für die Süßwasserarten ein Gemisch von 6 Th. 2% iger Lösung von Sublimat, 4 Th. 15% iger Essigsäure, 2 Th. Salpetersäure, 8 Th. 14% iger Lösung von Chlornatrium und 1 Th. 2% iger Lösung von Alaun. — S. auch Lang (oben p. 43).

VOIGT (Verh. Nat. Ver. Bonn 53. Jahrg. 1896 p. 118) tödtet *Planaria*, nachdem er das Wasser abgeschüttet hat, durch Übergießen mit dem Gemisch von 1 Theil konzentr. Salpetersäure und 3 Th. Wasser und bringt sie nach 1 Minute in 70—90% igen Alkohol. — KLINKOWSTRÖM (Arch. Mikr. Anat. 48. Bd. 1897 p. 589) fixirt *Prostheceraeus* nach Boveri in 70% igem Alkohol mit 4% Eisessig.

Die Landplanarien fixirt GRAFF (Monogr. Turbell. 2. Triclad. terr. 1899 p. 38) mit heißer konzentr. Sublimatlösung (auch mit 1% Essigsäure). Zum Durchfärben dient Alaunkarmin (eventuell Tage lang), als Intermedium für Paraffin Cedernöl (Xylol ist nicht gut).

JÄNICHEN (Zeit. Wiss. Z. 62. Bd. 1896 p. 256) empfiehlt für Planarien, besonders ihre Augen, Pikrinschwefelsäure (1—2 Stunden lang, dann Alkohol,



von 70 %). Osmiumsäure ist nicht gut, Müllers Gemisch maceriert. Die Schnitte werden mit Boraxkarmin gefärbt, mit Salzsäure-Alkohol entfärbt, dann 10 Minuten mit Osmiumsäure (Stärke nicht angegeben) und 5—10 Minuten mit Holzessig behandelt, beides „auf dem Wärmeschränk“. Maceration der Sehkolben im Gemisch von 100 ccm Wasser, 1 ccm Essigsäure und 1 g Kochsalz. Zum Bleichen des Augenpigmentes dient Wasserstoffhyperoxyd.

WILHELM (ibid. 80. Bd. 1906 p. 548) wirft die Tricladen einzeln, sobald sie sich ausgestreckt haben, in fast siedendes Zenkersches Gemisch; 10—30 Minuten später überträgt er sie in Wasser, nach 4—6 Stunden in Alkohol von 40 %, nach 6—12 St. in „Jodalkohol“, zuletzt in 96 %igen. — Totalpräparate macht er (Fauna Flora Golf. Neapel 32. Monogr. 1909 p. 14) auch, indem er das Thier unter dem Deckglas durch Absaugen des Wassers quetscht, 1—2 Sekunden lang über eine Flamme hält, Wasser zusetzt, das Deckglas abhebt und das Thier mit Sublimat fixiert; für Schnitte dient zum Fixiren Sublimat, Zenkers oder Apáthys Gemisch (oben § 111 h). Über die Einbettung s. § 171, die Schnittfärbung § 303, 309 und 758.

### Echinodermen.

**843. Allgemeines.** CUÉNOT (Arch. Biol. Tome 11 1891 p. 316) fixiert die Echinodermen mit den gebräuchlichen Mitteln, hebt sie in 90 % igem Alkohol auf, entkalkt sie in 70 % igem mit Salpeter- oder Salzsäure, bringt sie zur Entfernung der Kohlensäure auf wenigstens 12 Stunden in Alkohol unter die Luftpumpe und färbt sie doppelt (Pikro- oder Boraxkarmin, und Methylenblau in absol. Alkohol), die Paraffinschnitte aber 12—18 Stunden lang mit einer Art Ehrlichsehen Gemisches (Helianthin statt Orange G). S. auch oben § 542.

BOVERI (Zellen-Studien Heft 4 Jena 1900 p. 30) läßt die Eier von Echinodermen in seiner Pikrinessigsäure etwa 8 Tage lang, setzt Alkohol von 50 und 70 % allmählich zu und wäscht sie so langsam aus.

RUSO (Atti Accad. Gioen. Catania (4) Vol. 15 1902 p. 79) betäubt die ganzen Thiere mit Cocaïn (2 % in Seewasser), fixiert sie in Mingazinis Sublimat (oben § 62 d) oder Sublimat-Essigsäure, bringt sie zum Entkalken in Müllers Gemisch (auf einige Stunden bis Wochen) und wäscht sie in 35 % igem Alkohol gut aus. Die Fixirung durch Zusatz von etwas Osmiumsäure zum Seewasser taugt nur für die Gefäßräume. Einbettung durch Chloroform in Paraffin.

**844. Holothurioideen.** Sie sind schwer zu fixiren, da sie leicht ihre Eingeweide ausspeien oder sich zerstückeln. LO BIANCO (l. c.



p. 459) läßt *Holothuria* und *Stichopus* in reinem Seewasser die Tentakel ausstrecken, preßt sie dicht dahinter mit den Fingern oder der Pincette zusammen und taucht sie mit dem Vorderkörper in konzentrierte Essigsäure; zugleich injiziert ein Assistent durch den Anus 90 %igen Alkohol, und sowie das Thier todt ist, wird es in 70 %igem konservirt. Ähnlich werden die anderen Holothurien getödtet. Die großen *Synapta* läßt man im Gemisch gleicher Theile von Seewasser und Äther (oder Chloroform) ausgestreckt sterben und bringt sie durch Wasser und schwachen Alkohol allmählich in starken. — Neuerdings betäubt Lo B. die Thiere mit Cocaïn (oben § 21). — HÉROUARD (Arch. Z. Expér. (2) Tome 7 1889 p. 537) tödtet *Cucumaria* durch Eintauchen in 40 ° C. warme 1 %ige wässerige Lösung von Chloralhydrat, während er ihr mit einer Pincette den Anus zuhält, sodaß sie sich nicht kontrahiren kann.

GEROULD (Bull. Mus. Harvard Coll. Vol. 29 1896 p. 125) lähmt *Caudina* mit Magnesiumsulfat (oben § 24) und fixirt sie mit Perénys Gemisch, die Ovarien jedoch mit Sublimat. Die Zellgrenzen der Epithelien stellt er nach dem Abspülen der frischen Gewebe in destill. Wasser mit 1 %iger Silbernitratlösung dar. Die Nerven ließen sich nach Golgi oder mit Methylenblau nicht nachweisen.

Nach WEBER lassen sich die Holothurien vorzüglich in schwacher Lösung von Formaldehyd aufbewahren.

Über das Färben der Muskeln mit Methylenblau s. IWANZOFF (Arch. Mikr. Anat. 49. Bd. 1897 p. 103). — Zum Studium der Kalkkörper fixirt WOODLAND (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 49 1906 p. 534) *Cucumaria* 10 Minuten lang mit 1 %iger Osmiumsäure, wäscht sie mit Wasser aus, färbt sie 3 Stunden lang mit Pikrokarmin, bringt sie in Alkohol, färbt sie  $\frac{1}{4}$  Stunde lang mit gesättigter Lösung von Lichtgrün in absol. Alkohol und führt sie durch Xylol in Balsam über.

**845. Echinoideen.** Ich (LEE) rathe an, das Fixirmittel zu injizieren. Nach WEBER ist Formaldehyd für die definitive Konservirung dem Alkohol weit überlegen. — LO BIANCO (l. c. p. 458) tödtet die Echinoideen wie *Luidia* (s. unten) oder macht 2 Löcher in die Schale, läßt alles Wasser auslaufen und dafür Alkohol eintreten.

Zur Freilegung des Skeletts der Pedicellarien und Spicula verwendet DÖDERLEIN (Wiss. Ergeb. D. Tiefsee-Exp. 5. Bd. 1906 p. 67) Eau de Javelle. — Über das Schleifen s. § 179.

**846. Asteroideen.** HAMANN (Beitr. Hist. Echinodermen 2. Heft 1885 p. 2) injiziert das Fixirmittel vom Ende eines Armes aus in die Leibeshöhle und legt das Thier, sobald die Füßchen und Kiemen geschwollen sind, in eine große Menge desselben Mittels. Die Augen



härtet er im Gemisch gleicher Theile 1%iger Osmiumsäure und 1%iger Essigsäure, bettet sie in Gummiglycerin (oder eine andere Masse ohne Vorbehandlung mit Alkohol) und erhält so Schnitte mit dem Pigment in situ; zum Maceriren dient Drittelalkohol.

LO BIANCO (l. c. p. 458) läßt die Thiere, auf den Rücken gelegt, in Alkohol von 20—30% sterben, um die Füßchen gut ausgestreckt zu haben; *Luidia* wird in derselben Lage mit Chromessigsäure (10 Theilen 50%iger Essigsäure, 1 Theil 1%iger Chromsäure) übergossen und sofort in schwachen Alkohol gebracht. *Brisinga* ist mit absolutem Alkohol zu tödten.

GOTO (Journ. Coll. Sc. Japan Vol. 10 1898 p. 239) fixirt die Eier von *Asterias* im Gemisch von 16 Th. konz. wässeriger Sublimatlösung, 3 Th. Glycerin, 1 Th. Eisessig und 50 Th. Wasser 3—5 Minuten lang und bringt sie gradatim in Alkohol von 30—70%. Er empfiehlt obiges Gemisch für zarte pelagische Larven.

**847. Ophiuroideen.** Die kleinen fixirt LO BIANCO (l. c. p. 458) mit schwachem Alkohol, *Ophiopsila* mit absol. Alkohol, *Ophiomyxa* mit  $\frac{1}{2}$ %iger Chromsäure. Die übrigen läßt er zuvor in Süßwasser absterben, damit sie die Arme nicht abwerfen.

RUSO (Ricerche Lab. Anat. Roma Vol. 4 1895 p. 157) fixirt *Ophiothrix* in Osmiumsäure (etwa  $\frac{1}{2}$ %ig) 1—2 Stunden lang oder im Gemisch von 2 Theilen konzentr. Sublimatlösung, 1 Theil 70%igen Alkohols und 1 Theil Essigsäure (spez. Gew. 1,06) 3 Minuten lang. Zur Entkalkung dient Müllers Gemisch oder 70%iger Alkohol mit 10% Essigsäure, zur Färbung Parakarmin. — S. auch § 843 (Russo).

**848. Crinoideen.** LO BIANCO (l. c. p. 458) konservirt *Antedon rosacea* direkt mit 70%igem, *phalangium* mit 90%igem Alkohol.

**849. Larven und Eier** (s. auch § 843). BARROIS (Lee & Henneguy, Traité 2. Ed. 1896 p. 457) fixirt die Plutei 2—3 Minuten lang mit konzentr. Sublimatlösung, wäscht sie mit Wasser und bringt sie auf 12—24 Stunden in Cochenilletinktur (oben § 237), die mit Alkohol von 70% so verdünnt ist, daß sie kaum noch gefärbt aussieht. Zum Einschluß dient statt des Balsams oft besser Nelkenöl oder Cedernöl. Bipinnarien und Auricularien behandelt er ebenso, fixirt aber die ersten Stadien der Metamorphose mit Osmiumsäure, färbt sie mit Beales Karmin und schließt sie in Glycerin ein. Die Larven von *Antedon* fixirt er mit Langs Gemisch (oben p. 43) und färbt sie mit verdünntem Boraxkarmin. — Das Betäuben vor dem Fixiren ist



nützlich, besonders für die Pentacrini (Lo BIANCO thut es mit Cocaïn, s. § 21), die sich sonst ganz zusammenschließen, und die jungen Synapten, die sonst durch Kontraktion verunstaltet werden.

Um Plutei mit dem Skelete gut gefärbt zu erhalten, fixire ich (MAYER) sie durch Zusatz von Osmiumsäure oder neutralisirtem (durch MgO) Formol zum Seewasser — weniger gut ist absol. Alkohol, gar nicht brauchbar Sublimat — bringe sie in Alkohol, färbe sie mit Magnesiakarmin und schaffe sie in Vossellers Terpentin oder Balsam.

Um keine Plutei zu verlieren, bringe ich sie nach dem Färben aus dem Waschwasser mit der Pipette auf ein Stück Gelatinefolie, das mit Euparal auf dem Objektträger aufgeklebt ist; nach  $\frac{1}{2}$ —1 Minute wird der Wassertropfen abgesaugt, mehrere Male durch absol. Alkohol ersetzt, und das Deckglas mit der richtigen Menge Euparal darauf gelegt. Bei vorsichtigem Verfahren behalten alle Plutei ihre Lage bei.

WOODLAND (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 49 1905 p. 307) centrifugirt die Plutei, um sie vom Seewasser zu befreien, und bringt sie direkt in absol. Alkohol. Färbung wenigstens 1 Woche lang in Safranin, dann  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde lang in Lichtgrün oder Nigrosin; von den Farbstoffen sind dazu gesättigte Lösungen in absol. Alkohol nöthig.

MAC BRIDE (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 34 1892 p. 131) fixirt die Larven von *Amphiura* mit 1%iger Osmiumsäure 5 Minuten lang, spült sie ab, bringt sie auf 18—20 Stunden in Müllers Gemisch, dann in Alkohol von 30—90% und entkalkt sie in diesem mit  $\frac{1}{2}$ —1%iger Salpetersäure. — Die von *Asterina* (ibid. Vol. 38 1896 p. 340) fixirt und entkalkt er ebenso, bettet sie in Celloidin und nachher in Paraffin ein und färbt die Schnitte mit Karmalaun oder Delafields Hämatoxylin; von beiden Farbstoffen nehmen sie mehr auf, wenn man sie vorher 24 Stunden lang in Boraxkarmin läßt. — S. auch MAC BRIDE (Phil. Trans. Vol. 195 B 1903 p. 292: Larven von *Echinus*) und § 846 (GOTO).

SEELIGER (Z. Jahrb. Abth. Morph. 6. Bd. 1892 p. 168) wirft die Pinnulae von *Antedon* in gesättigte Lösung von Sublimat in Seewasser (für die Furchung nach Zusatz von  $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{60}$  Vol. Essigsäure) und bringt die Embryonen dann in Alkohol von 20%—80%. Soll der Kalk erhalten bleiben, so fixirt er sie in absol. Alkohol.

## Cölenteraten.

**850. Nesselkapseln.** IWANZOFF (Bull. Soc. Natural. Moscou (2) Tome 10 1896 p. 97) empfiehlt für die Aktinien Maceration im Gemisch gleicher Teile von 0.04%iger Osmiumsäure und 0.2%igem Eisessig (beides in Seewasser), noch mehr Räuchern mit Osmiumsäure 2—5 Minuten lang, dann kurzes Auswaschen in See- oder destill. Wasser; weniger gut sei Drittelalkohol. Für die Medusen das Gemisch gleicher Theile von 0.5%iger Osmiumsäure und 0.2%igem Eisessig (beides in destill. Wasser); weitere Maceration in 0.1%iger Essigsäure. Oder eine Lösung von Methylgrün und Gentianaviolett mit etwas Osmiumsäure.



**851. Aktinien.** Über das Betäuben s. oben § 16 ff.

Fixiren. ANDRES (Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880 p. 131) injiziert größeren Thieren Sublimatlösung durch den Mund und übergießt sie auch damit. Auch setzt er wohl das Glas mit den Aktinien in Schnee und Salz und läßt später den Eisblock in Alkohol oder einem anderen Fixirmittel zergehen. — LO BIANCO (l. c. p. 448) fixirt je nach der Spezies mit kochender Sublimatlösung (darauf einige Minuten in  $\frac{1}{2}$  %ige Chromsäure, dann Alkohol) oder mit kalter oder mit Chrompikrinsäure (gleichen Theilen von 1 %iger Chromsäure und Pikrinschwefelsäure), Chromessigsäure oder Essigsäure (Genaueres s. im Original). Neuerdings bringt er einige Spezies direkt in Formol.

DUERDEN (Journ. Inst. Jamaica Vol. 2 1898 p. 449) betäubt die Aktinien mit Magnesiumsulfat und fixirt sie mit 3—5 %igem Formol.

Maceriren. Über Hertwigs Gemisch s. oben § 519. Die Gewebe müssen wenigstens 24 Stunden in der Essigsäure bleiben und werden dann in Glycerin zerzupft. — LIST (Zeit. Wiss. Mikr. 4. Bd. 1887 p. 211) behandelt die Tentakel von *Anthea* und *Sagartia* 10 Minuten lang mit Flemmings Gemisch (3 Theile starkes und 10 Th. Seewasser), wäscht sie 2—3 Stunden lang mit  $\frac{1}{5}$  %iger Essigsäure und zerzupft sie in Glycerin; zum Färben dient Pikrokarmine.

HAVET (La Cellule Tome 18 1902 p. 388) wendet Golgis Methode auf *Metridium* an, erhält aber auch die Drüsen- und Nesselzellen gefärbt.

**852. Korallen mit Kalkskelett** sind wegen der großen Kontraktilität der Polypen schwer zu konserviren. LO BIANCO (l. c. p. 446) verwendet je nach der Spezies Chromessigsäure und kalte oder heiße Sublimatlösung. Schliffe macht man nach Koch und Ehrenbaum (oben § 177 und 180), Schnitte von entkalkten Thieren nach den gewöhnlichen Methoden. S. auch § 542 und 853 (BRAUN).

**853. Alcyonarien.** In einer früheren englischen Auflage rieth ich (LEE) zum Fixiren heiße Sublimatlösung oder Eisessig (oben § 82) an; LO BIANCO hat später Ähnliches angegeben. — GARBINI (Manuale Tec. Micr. 4. Ed. Milano 1899 p. 255) fixirt die Polypen ausgestreckt durch Übergießen mit Äther und bringt sie dann in Alkohol von 35 %. — WILSON (Mitth. Z. Stat. Neapel 5. Bd. 1884 p. 3) tödtet sie mit dem Gemisch von 1 Theil Essigsäure und 2 Th. 6 %iger Sublimatlösung und härtet sie 2—3 Stunden lang in letzterer. — BRAUN (Z. Anz. 9. Jahrg. 1886 p. 458) übergießt *Alcyonium*, *Sympodium*, *Gorgonia* etc., wenn sie sich gut entfaltet haben, mit dem kochenden Gemisch von



konzentr. Sublimatlösung in Seewasser (20—25 ccm) und 1% iger Osmiumsäure (4—5 Tropfen), spült sie nach 5 Minuten mit Seewasser ab und bringt sie in Alkohol von 30%—90%. (Diese Methode eignet sich auch für Bryozoen, Rotatorien und *Hydra*.)

BUJOR (Arch. Z. Expér. (3) Tome 9 1901 Notes p. 50) tötet *Veretillum* ausgestreckt durch Eintauchen in die Lösung von je 10% Formol und Äther in Seewasser; 1 Minute später bringt er es in 2% iges Formol (in Seewasser).

**854. Hydroiden.** Über das Betäuben s. oben § 16ff. — Fixiren. In der Regel tötet man sie durch Eintauchen in 6% ige Sublimatlösung und bringt sie sofort in Alkohol; man nimmt die Lösung kalt für die Gymnoblasten, heiß für die meisten Calyptoblasten. Die Campanulariden lassen sich auch gut durch vorsichtig angewandten Äther fixiren. *Hydra* tötet man auf dem Objektträger durch Lösung von Osmiumsäure; BRECKENFELD (Amer. Month. Micr. Journ. Vol. 5 1884 p. 49) erhitzt sie auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser 3—5 Sekunden lang über einer Lampe. S. auch § 836 (ZOGRAF) und § 853 (BRAUN). — LO BIANCO (l. c. p. 451) begießt die gut ausgestreckten, eventuell mit Cocaïn narkotisirten (§ 21) Thiere mit heißer 6% iger Sublimatlösung, bringt sie sofort in Süßwasser und 5 Minuten später in schwachen Alkohol. Für die Tubulariden genügt kalte Lösung.

Über die Anwendung von Methylenblau intra vitam s. § 293.

**855. Medusen.** LO BIANCO (l. c. p. 452) fixirt die kleinen Hydro-medusen im Gemisch von 2 Theilen konzentr. Sublimatlösung und 1 Th. Essigsäure, oder von Sublimat und Kupfersulfat (oben § 80), die größeren erst, nachdem sie durch Essigsäure getötet worden sind, in Chromosmiumsäure (1% iger Chrms. 50, 1% iger Osmiums. 1) oder in 1% iger Chrmsäure. Für die Scyphomedusen verwendet er 1% ige Osmiumsäure oder Chromosmiumsäure oder Chrmsäure (Genaueres s. im Original). Neuerdings braucht er an Stelle der Osmiumgemische sein Gemisch von Chrmsäure und Formol (oben § 111a).

BIGELOW (Mem. Boston Soc. N. H. Vol. 5 1900 p. 193) fixirt die Scyphistomen von *Cassiopeja* mit Kupfersulfat und Sublimat (§ 80), härtet sie in 5% iger Lösung von Kaliumbichromat, wäscht sie in 35% igem saurem (etwas HCl) Alkohol und hebt sie in 70% igem Alkohol auf.

WADDINGTON bringt (nach Mittheilung an Mayer) die Meduse in ein Glas mit Seewasser, läßt sie sich gut ausstrecken, führt durch ein Glasrohr einige Luftblasen unter den Schirm, sodaß sie nicht untersinken kann, und läßt durch



einen Trichter mit langem Rohr etwa  $\frac{1}{20}$  des Seewassers an Formol auf den Boden des Glases fließen; dieses diffundirt allmählich nach oben und tödtet die Meduse.

Ich (LEE) empfehle für die Arten mit langen Tentakeln folgenden Kunstgriff von LO BIANCO. Man bringt in ein flaches Glas eine genügende Menge Essigsäure, bewegt dieses so im Kreise, daß die Säure lebhaft rotirt, schöpft inzwischen eine Meduse mit möglichst wenig Seewasser in einen Löffel und läßt sie in die Säure fallen; dann werden sich die Tentakel hinter dem Thiere ausstrecken. Ist sie gut fixirt, so bringt man sie sorgfältig in Alkohol.

Schneiden. Paraffin oder Kollodium erlauben wohl von manchen Organen, aber nicht von allen Geweben gute Schnitte. Die HERTWIGS (Nervensystem der Medusen 1878 p. 5) betten die Thiere mit Gummi-glycerin in Leber ein und härten das Ganze in Alkohol. Vielleicht könnte man eine der Gefriermethoden (§ 181—184) anwenden.

Maceriren. Hierzu eignen sich die Methoden der HERTWIGS (oben § 519), wahrscheinlich aber oft besser die Reaktion mit Pyrogallussäure (§ 370). Zur Isolirung der Elemente klopft man sanft auf das Deckglas, das man auf Wachsfüßchen legen mag. Auch ein feiner Pinsel leistet manchmal gute Dienste.

**856. Siphonophoren.** BEDOT (Arch. Sc. Physiq. Nat. Geneve (3) Tome 21 1889 p. 556) gießt von 15—20%iger Lösung von Kupfersulfat viel auf einmal zum Seewasser mit den Siphonophoren. Nach etlichen Minuten, wenn sie fixirt sind, fügt er einige Tropfen Salpetersäure hinzu, um die Bildung von Niederschlägen zu verhindern, und läßt das Gemisch 4—5 Stunden lang stehen. Dann gibt er auf je 1 Vol. der Kupferlösung 2 Vol. starken Flemmingschen Gemisches hinzu und läßt die Thiere wenigstens 24 Stunden darin. Zuletzt bringt er vorsichtig etwas 25%igen Alkohol hinein und verstärkt den Alkohol so langsam, daß er nicht vor 14 Tagen bis zu 70% gediehen ist. Zum endgültigen Aufheben dient 90%iger. — FRIEDLÄNDER (Biol. Centralbl. 10. Bd. 1890 p. 483) übergießt die Thiere mit dem Gemisch von 1 Theil Kupfersulfat, 1 Theil Zinksulfat und 8 Theilen Wasser.

LO BIANCO (l. c. p. 454) gießt in das Seewasser mit den Thieren plötzlich die gleiche oder doppelte Menge des Gemisches von Kupfersulfat und Sublimat (oben § 80) und härtet dann je nach der Spezies entweder in Alkohol von 35% (nach 2 Stunden 70%) oder Flemmings Gemisch (2—6 Stunden lang) oder 1%iger Chromsäure etc. *Rhizophysa* und *Diphyes* jedoch tödtet er mit heißer Sublimatlösung, *Physalia* mit Sublimat und Essigsäure, *Vellela* mit Chrompikrinsäure oder Chromsäure und Sublimat, *Porpita* durch Vergiftung mit Pikrinschwefelsäure.



Über Korotneffs Methode s. oben § 18. Ich (LEE) habe *Physophora* sehr gut durch vorsichtigen Zusatz von Äther tödten sehen.

Nach dem Fixiren und Auswaschen lassen sich die Siphonophoren statt in Alkohol auch in Formol aufbewahren (WEBER). — DAVIDOFF (Anat. Anz. 11. Bd. 1896 p. 503) stellt in ein Gefäß voll 6—8%iger Lösung von Formol den Glastubus mit der lebenden Siphonophore in Seewasser unter einem Winkel von etwa 30° so auf, daß die mit Watte locker verschlossene Öffnung nach unten schaut. Die Formollösung tödtet durch die Watte hindurch in etwa 1 Stunde das Thier. Nachher kann man Osmiumsäure, Chromsäure etc. darauf einwirken lassen.

**857. Ctenophoren.** Die kleinen konservirt man mit Osmiumsäure. Für die größeren verwendet LO BIANCO (l. c. p. 457) je nach der Spezies sein Kupfersulfat und Sublimat (oben § 80) etc., neuerdings aber auch sein Gemisch aus Formol und Chromsäure (§ 111a).

SAMASSA (Arch. Mikr. Anat. 40. Bd. 1892 p. 157) bettet die Ctenophoren zum Schneiden in Celloidin und Paraffin (oben § 171) ein.

### Poriferen.

**858. Allgemeines.** Die älteren Methoden findet man bei VOSMAER (Bronn, Class. Ord. Thierreichs 2. Bd. 1884 p. 111—118) angegeben. In erster Linie wird zum Fixiren starker Alkohol, zum Präpariren der Kieselnadeln Kochen mit Salzsäure empfohlen.

**859. Ganze Schwämme.** Die kleineren Spezies lassen sich mit den gewöhnlichen Mitteln fixiren, besonders mit Osmiumsäure. Für die größeren scheint es hingegen noch kein befriedigendes Mittel zu geben. Die Gewebe sind nämlich sehr wasserreich und zart, nach dem Härten sehr brüchig, maceriren auch ungemein leicht. Vielleicht ist für alle Spezies, mit Ausnahme der ganz kleinen, absoluter Alkohol das beste.

FIEDLER (Zeit. Wiss. Z. 47. Bd. 1888 p. 87) braucht für *Spongilla* außer dem absoluten Alkohol eine Lösung von Sublimat in schwachem Alkohol sowie Pikrinschwefelsäure und Flemmings Gemisch. — MINCHIN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 40 1898 p. 474) fixirt Kalkschwämme, unmittelbar nachdem sie gefischt worden sind, 5—10 Minuten lang in 1%iger Lösung von Osmiumsäure, die mit dem gleichen Quantum Seewasser vermischt ist, und legt sie nach Abspülen mit Wasser in Pikrokarmin auf höchstens 24 Stunden. Zum Einschluß ist Glycerin besser als Balsam. — S. auch unten § 861 (MAAS).

**Schneiden.** Die Kalkschwämme entkalkt man in saurem Alkohol und bettet sie dann wie gewöhnlich ein. Die Kieselschwämme kann man nach Mayer (oben § 558) entkieseln. S. auch § 542.



VOSMAER & PEKELHARING (Verh. Akad. Amsterdam (2) Deel 6 No. 3 1898 p. 43) entkalken in Alkohol mit Pikrinsäure, schneiden dagegen die Kieselnadeln ruhig mit; da sich dann aber die Schnitte leicht vom Objektträger ablösen, so werden sie noch mit Traumaticin (oben § 197) übergossen.

Färben. Von alkoholischen Färbmitteln empfehle ich (LEE) aus eigener Erfahrung speziell die Cochenilletinktur. — LENDENFELD (Zeit. Wiss. Mikr. 11. Bd. 1894 p. 22) verwendet für die Kragenzellen wässrige Lösungen von Anilinblau und Congoroth. — MINCHIN (l. c. p. 569) färbt die Scheiden der Spicula mit Pikronigrosin nach Freeborn (oben § 757), sonst aber mit Pikrokarmin.

Kalkschwämme, nach Minchin (s. oben) fixirt, lassen sich in toto mit Ranviers Pikrokarmin (von Grübler & Hollborn: 2% des Pulvers in destill. Wasser gelöst und mit  $\frac{1}{2}$ % Karbolsäure versetzt) gut färben, besser als mit meinem (MAYER) Magnesiakarmin. Macht man dieses aber durch Zusatz der gleichen Menge Magnesiawasser etwas alkalischer, so färbt es genau so gut; andererseits ruinirt es die Schnitte durch entkalkte Poriferen weniger als das Ranviersche und die anderen gewöhnlichen Pikrokarmine.

Über die intravitale Färbung s. LOISEL (Journ. Anat. Phys. Paris 34. Année 1898 p. 5, 194 u. 207), das Versilbern oben § 353.

Schleifen. S. oben § 178 (JOHNSTON-LAVIS & VOSMAER).

**860. Skelett.** Die Kieselnadeln reinigt man von den Weichtheilen durch heiße Salpeter- oder Salzsäure oder durch Kali- oder Natronlauge. Die Säuren greifen allerdings zarte Spicula mitunter an (s. DEZSÖ in: Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. 1879 p. 627), daher ist Kalilauge oft besser, obwohl sie nicht so reine Präparate gibt. — Nach NOLL ist Eau de Javelle (§ 539) diesen Mitteln überlegen.

LENDENFELD (Zeit. Wiss. Mikr. 21. Bd. 1904 p. 23) kocht Stücke des Schwammes im Reagensglase mit Salpetersäure, sortirt dann die Nadeln durch Sedimentiren in mehreren Gläsern nach einander und centrifugirt die feinsten.

**861. Jugendstadien.** MAAS (Z. Jahrb. Abth. Morph. 7. Bd. 1894 p. 334) fixirt die Cornacuspongien mit Larven in Flemmings Gemisch (die Larven 1—3 Minuten lang), die freien Larven auch wohl in Hermanns Gemisch. Färbung mit Boraxkarmin oder mit Gentianaviolett und Orange G nach Flemming. — S. auch oben § 329 (FIEDLER).

MAAS (Zeit. Wiss. Z. 67. Bd. 1900 p. 218) hat bei Syconen die besten Übersichtsbilder (mit den Nadeln!) durch Fixiren in absol. Alkohol und Färben in Ammoniakkarmin, die besten Schnittbilder durch Flemmings Gemisch und Pikrokarmin erhalten. Auch Sublimatalkohol (hinterher Parakarmin oder Hämalan) ist gut.



DELAGÉ (Arch. Z. Expér. (2) Tome 10 1892 p. 421) bringt die Deckgläser mit den daran sitzenden Larven von *Spongilla* auf je 3 Minuten in absoluten und 70%igen Alkohol, auf 10 Minuten in das alkoholische Karmin von Grenacher-Mayer, auf 1½—2 Minuten in sauren Alkohol, auf je 3 Minuten in 70%igen und absoluten Alkohol und Bergamottöl. Sollen die Larven geschnitten werden, so löst er sie nun ab und bringt sie auf 3 Minuten in Paraffin; falls nicht, so kommen sie in situ in einen Tropfen Kanadabalsam, der auf einem anderen Deckglas liegt, sind somit von beiden Seiten her bequem sichtbar. Die Schnitte werden eventuell mit Bleu de Lyon nachgefärbt.

### Protozoen.

**862. Allgemeines.** Auf die Protozoen als frei lebende Zellen lassen sich natürlich die Methoden und Reagentien der Cytologie meist anwenden. Sehr nützlich ist Methylgrün in saurer Lösung (oben § 269) zur Darstellung der Kerne, ferner schwache Lösungen von Alaun, Kaliumcarbonat oder Borax zur Demonstration der Streifen in der Cuticula und der Insertionen der Cilien bei den Infusorien. — S. auch MAGGI, *Tecnica protistologica* (Milano 1895) und \*PROWAZEK, *Taschenbuch mikr. Techn. Protistenuntersuch.* (2. Aufl. Leipzig 1909).

SCHUBERG (Arch. Protistenk. Jena 6. Bd. 1905 p. 63) färbt die Cilien der Ciliaten nach Golgi (auch unter dem Deckglase haltbar) oder Löffler (unten § 871; Fixirung der Thiere mit Osmium-Dämpfen, weitere Behandlung unter dem Deckglase).

**863. Lähmen.** S. oben § 20—24. Nach SCHÜRMAYER (Jena. Zeit. Naturw. 24. Bd. 1890 p. 402) ist Strychninnitrat (1 : 10000 oder schwächer) bei *Stentor* und *Carchesium* gut; Antipyrin (1 : 1000) oder Cocaïn (1 : 10000) scheinen nur den Stiel der gestielten Ciliaten ausgestreckt zu lähmen.

EISMOND (Z. Anz. 13. Jahrg. 1890 p. 723) verlangsamt die Bewegungen der Ciliaten (aber auch kleiner Würmer und Krebse) durch Zusatz einer dicken Lösung von Kirschgummi: die Thiere bleiben an Ort und Stelle, aber alle Lebensprozesse gehen ihren gewohnten Weg. CERTES (Bull. Soc. Z. France 16. Vol. 1891 p. 93) hat sogar die Thiere intra vitam durch Zusatz von „bleu de méthyle“ oder Dahlia („violet Dalia No. 170“) zum Gummi gefärbt. — JENSEN (Biol. Centralbl. 12. Bd. 1892 p. 558) verfährt ähnlich wie 1884 STAHL mit *Euglena*: von 3%iger Gelatine mischt er einen schwach erwärmten Tropfen mit einem Tropfen Infusorienwasser; mit weniger (0,8—1%) Gallerte kann man die Bewegungen verlangsamen oder auch in ihr die Thiere operieren. — S. auch oben § 836 (VOLK).



STATKEWITSCH (Arch. Protistenk. Jena 5. Bd. 1904 p. 17) setzt zu den Culturen von Süßwasser-Protozoen Stücke von Caragheen (vorher mit  $\frac{1}{2}$ —1%iger Lösung von Natriumcarbonat gewaschen) oder ein Decoct von Semen psyllii (1:200); auch Traganth und Quittenschleim sind brauchbar. — LYON (Amer. Journ. Phys. Vol. 14 1905 p. 427) verwendet einen mit absolut reinem destill. Wasser bereiteten, mit Natriumhydroxyd neutralisirten und gegen destill. Wasser dialysirten Gummischleim; die Thiere leben darin über eine Woche lang.

**864. Färben intra vitam.** Es wurde zuerst von BRANDT (Arch. Anat. Phys. Phys. Abth. f. 1878 p. 563), später von Certes (s. unten) und HENNEGUY (Bull. Soc. Philom. Paris (7) Tome 5 1881 p. 52) ausgeübt. — S. ferner oben § 209 (PRZESMYCKI, LOISEL, l. c. p. 224, und CERTES) sowie PRZESMYCKI (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1897 p. 480).

BRANDT nimmt Bismarckbraun in Lösung von 1:3000 und (Biol. Centralbl. 1. Bd. 1881 p. 202) „verdünnte wässrige Hämatoxylinlösung“ [mit ganz wenig Alaun!] direkt oder nach Bismarckbraun (1:5000). — CERTES (Bull. Soc. Z. France 6. Vol. 1881 p. 21, 226, 264; Z. Anz. 4. Jahrg. 1881 p. 208, 287) verwendet schwache Lösungen von Bismarckbraun, Dahlia etc. und „Hämatoxylin“. Gleich Brandt löst er die Farbstoffe im Infusorienwasser und nimmt sie nur ganz schwach (1:10000 und schwächer, von Chinolinblau 1:500000).

Zur Beobachtung der ungefärbten Thiere in einem farbigen Medium empfiehlt CERTES (Bull. Soc. Z. France 13. Vol. 1888 p. 230) eine Lösung von Anilinschwarz, worin sie wochenlang am Leben bleiben, FABRE-DOMERGUE (Ann. Microgr. Paris Tome 2 1889 p. 545) konzentrierte Lösung von Diphenylaminblau.

**865. Fixiren, Schneiden etc.** PFITZNER (Morph. Jahrb. 11. Bd. 1885 p. 454) läßt konzentrierte Lösung von Pikrinsäure unter das Deckglas treten. — BLANC (Z. Anz. 6. Jahrg. 1883 p. 22) nimmt verdünnte Pikrinschwefelsäure mit einer Spur Essigsäure, ENTZ (ibid. 4. Jahrg. 1881 p. 575) gibt Pikrinschwefelsäure zum Infusorienwasser, KORSCHOLT (ibid. 5. Jahrg. 1882 p. 217) verwendet 1%ige Osmiumsäure oder für Amöben 2%ige Chromsäure, LANDSBERG (ibid. p. 336) ebenfalls Osmiumsäure, bringt aber die Thiere mit einer Pipette in die Säure, statt diese unter das Deckglas treten zu lassen. — Über das Jodjodkalium oder Jod s. oben § 50. — CATTANEO (Boll. Sc. Pavia Anno 5 1883 p. 89 u. 122) fixirt mit  $\frac{1}{3}$ %iger wässriger Lösung von Chlorpalladium, BRASS (Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 p. 39) mit Sublimat oder dem Gemisch von je 1 Theil Chromsäure, Essigsäure und Platinchlorid und 400—1000 Theilen Wasser, CERTES (C. R. Acad. Sc. Paris Tome 88 1897 p. 433) mit 2%iger Osmiumsäure (meist mit ihren Dämpfen 10—30 Minuten lang).



DU PLESSIS (Vogt & Yung, Handb. Prakt. Vergl. Anat. 1. Bd. 1888 p. 85) fixirt die Protozoen mit  $\frac{1}{5}\%$ iger Lösung von Sublimat, läßt sie eintrocknen, färbt sie und schließt sie in Balsam ein. Diese etwas rohe Methode soll unter Umständen gute Präparate geben. — LONGHI (Boll. Mus. Z. Anat. Comp. Genova No. 4 1892) empfiehlt zum raschen Töden das Gemisch von 10 ccm  $1\%$ iger Lösung von Eserinsulfat und 1 Tropfen  $1\%$ iger Lösung von Sublimat. — SCALA (Rev. Mus. La Plata Buenos Aires Tomo 15 1908 p. 57) fixirt im Gemisch von 2 mg Atropin, 10 Tropfen Formol, 10 g Glycerin und 50 ccm Wasser 5—10 Minuten lang.

FOL (Lehrbuch p. 102) fixirt die Tintinnen besonders zur Erhaltung der Cilien mit seinem Eisenchlorid (oben § 76) und färbt sie mit Gerbsäure. — WADDINGTON (Journ. R. Micr. Soc. London (2) Vol. 3 1883 p. 185) setzt zu dem Wassertropfen mit den Infusorien einen Tropfen der Lösung von 1 Theil Tannin in 4 Theilen Glycerin oder eine Spur konzentrierter alkoholischer Lösung von schwefliger Säure (§ 49).

LO BIANCO (l. c. p. 444) konservirt die Gregarinen mit Pikrinschwefelsäure (1 Stunde lang), Vorticellen mit heißer Sublimatlösung, Acineten mit Sublimatlösung in Seewasser oder mit Osmiumsäure; ferner von den Radiolarien *Thalassicolla* mit  $\frac{1}{2}\%$ iger Chromsäure (1 Stunde lang), die Acanthometren und Aulacanthen mit  $50\%$ igem Alkohol oder konzentrierter Sublimatlösung oder durch Zusatz von etwas Osmiumsäure zum Wasser, die Sphärozoeen nach Brandt (s. § 866).

ZOGRAF fixirt die Rhizopoden und Infusorien wie die Rotatorien (s. oben § 836), aber ohne sie vorher zu betäuben.

FABRE-DOMERGUE (Ann. Microgr. Paris Tome 1 1889 p. 518) fixirt die Protozoen mit Osmiumsäure ( $1\%$ ) oder dem Gemische gleicher Theile  $1\%$ iger Osmiumsäure und  $20\%$ iger Essigsäure unter dem Deckglase, fügt auch wohl von vornherein etwas Methylgrün bei. Zum Aufbewahren ist gut das Gemisch von Brun (oben § 404) oder verdünntes, leicht mit Methylgrün gefärbtes Glycerin. Einschluß in Balsam wie gewöhnlich. — Ferner (ibid. Tome 2 1890 p. 50) verwendet er für Infusorien konzentrierte Lösung von Osmiumsäure, die auch bei der Methode von Balbiani (s. unten) gute Dienste leistet. Zum Schneiden nimmt er jedesmal nur ein einziges, mit Pikrokarmine gefärbtes Thier und bettet es in einem mit Glycerin bestrichenen Uherschälchen in filtrirtes Paraffin ein. S. auch § 139 (RHUMBLER). — BALBIANI (Z. Anz. 13. Jahrg. 1890 p. 133) fixirt *Loxophyllum* in Osmiumsäure ( $\frac{1}{2}$ — $1\%$ ig), färbt es mit Methylgrün und Essigsäure, behandelt es unter dem Deckglas mit Ammoniak (1—2 Tropfen auf 15—20 ccm Wasser) und wäscht dieses durch rein wässrige Lösung von Methylgrün wieder aus. Es zeigen sich dann allerlei Einzelheiten im Kern. — FLORENTIN (Ann. Sc. N. (8) Tome 10 1900 p. 248) fixirt *Spirostomum* mit einem Gemisch von sehr schwacher Osmiumsäure und Eisenchlorid (genauere Angaben fehlen), tingirt es mit Methylgrün und differenzirt nach Balbiani.



SCHAUDINN (Zeit. Wiss. Z. 59. Bd. 1895 p. 193) fixirt *Calcituba* nur mit 1 % iger Osmiumsäure oder dem Gemisch von 1 Theil wässerigen Sublimates mit 2 Theilen absoluten Alkohols; ferner (Anh. Abh. Akad. Berlin 1899 p. 9) *Trichosphaerium* mit einem ähnlichen Sublimatgemisch. Die Kerne von *T.* färbt er mit „43 % iger alkoholischer Alaunkarminlösung“. Nach dem Fixiren führt er das Auswaschen, Färben etc. mit der Centrifuge aus und zerschlägt das Glas erst, wenn das Paraffin darin erstarrt ist.

HOYER (Arch. Mikr. Anat. 54. Bd. 1899 p. 97) fixirt *Colpidium* im Gemisch von 1 Th. 5 % iger Lösung von Sublimat und 2 Th. 3 % iger Lösung von Kaliumbichromat etwa 1 Stunde lang. Bei wenig Material führt er alle Operationen bis zum Einbetten in einem Glasrohr (5 cm hoch, 7 mm weit) aus, das unten mit Pergamentpapier zugebunden ist, und nimmt dieses erst ab, wenn das Paraffin im Rohr erstarrt ist. — MAIER (Arch. Protistenk. Jena 2. Bd. 1903 p. 77) fixirt die Infusorien im Gemisch von 2 Theilen 5 % iger Sublimatlösung (in 0,6 % iger Kochsalzlösung) und 1 Th. absol. Alkohols; eventuell setzt er davon ein gleiches Quantum zu dem Wasser mit den Thieren und centrifugirt. Über die Härtung etc. im Glasröhrchen und das Einbetten in Gelatine kapseln s. oben § 139 (MAYER, etc.).

SCHRÖDER (Arch. Protistenk. Jena 7. Bd. 1906 p. 186, 396) färbt aufgeklebte Paraffinschnitte von Ciliaten und Sporozoen nach Mallory (oben p. 380).

NIRENSTEIN (Zeit. Allg. Phys. 10. Bd. 1909 p. 138) gibt zu den Infusorien alkoholische Lösung von Sudan III, legt ein Deckglas auf, wäscht mit Wasser aus und setzt nun Kalilauge zu: die Thiere werden durchsichtig, vom Fett sind auch die kleinsten Tropfen deutlich.

**866. Radiolarien.** BRANDT (Fauna Flora Golf. Neapel 13. Monogr. 1885 p. 7) fixirt die Sphärozoeen je nach der Spezies mit  $\frac{1}{2}$ —1 % iger Chromsäure ( $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang) oder Jodspiritus (70 % iger Alkohol mit der gleichen Menge Seewasser und etwas Jodtinktur;  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde, dann Süßwasser und 30—70 % iger Alkohol) oder 5—15 % iger Sublimatlösung in Seewasser. — KARAWAIEW (Z. Anz. 18. Jahrg. 1895 p. 286) fixirt *Aulacantha* 1 Tag lang im Gemisch von Eisessig und starkem Flemmingschem Gemisch zu gleichen Theilen und bringt sie dann auf 1 bis mehrere Tage in letzteres Gemisch. — BORGERT (Z. Jahrb. Abth. Morph. 14. Bd. 1900 p. 207) verwendet Sublimatlösung mit Essigsäure (10:2—3; es scheint aber viel ausgezogen zu werden) oder Pikrin-osmiumplatinchlorid (oben § 100). — S. auch § 865 (LO BIANCO).



**867. Foraminiferen.** S. RHUMBLER (Nord. Plankton Kiel Nr. 14 p. 9).

**868. Acineten.** S. SAND (Etude monogr. Tentaculifères 1901 p. 12).

**869. Sporozoen.** WASIELEWSKI (Sporozoenkunde Jena 1896 p. 153) legt Werth auf die Untersuchung der lebendigen Thiere in ihrem Medium, Normalsalzwasser oder Eiweißlösung (20 ccm Hühnereiweiß, 200 ccm Wasser, 1 g Kochsalz). Zum Fixiren der Gregarinen und Coccidien dienen Osmiumsäure, Sublimat, Pikrinessigsäure, der Myxosporidien Flemmings Gemisch; die Hämosporidien und Acystosporidien werden, auf dem Deckglas angetrocknet, mit Flemmings Gemisch behandelt und mit Methylenblau und Eosin nach Chenzinski (oben § 320) oder mit Delafields Hämatoxylin, Säurefuchsin (oder Bengalroth) und Aurantia gefärbt. Für die Gregarinen sind Safranin, Pikrokarmine etc., ferner Goldchlorid, Silbernitrat, Essigsäure, Ammoniakwasser geeignet, für die Myxosporidien Safranin oder Gentianaviolett und Eosin.

SCHAUDINN fixirt die Coccidien wie *Trichosphaerium* (oben p. 445). S. auch § 870 sowie PIANESE (Arch. Parasit. Paris Tome 2 1899 p. 412; s. § 877 der 2. Aufl. dieses Buches). — Über die Myxosporidien s. STEMPELL (Z. Jahrb. Abth. Morph. 16. Bd. 1902 p. 239) und p. 445 (SCHRÖDER).

STEMPELL (Arch. Protistenk. 16. Bd. 1909 p. 289) fixirt die mit *Nosema* infizierten Raupen im Gemisch von 2 Th. 6%iger Sublimatlösung, 1 Th. 96%igen Alkohols und „einer Spur Eisessig“. Die Schnitte von reichlich 2  $\mu$  Dicke färbt er bis zu 4 Tagen mit Giemsas Gemisch, spült sie rasch mit Alkohol ab und bringt sie durch Xylol in Balsam. Die Färbung sei aber „launisch“.

CUÉNOT (Arch. Biol. Tome 17 1901 p. 582) fixirt *Monocystis* mehrere Stunden lang in 70%igem Alkohol (dann Alaunkarmine; Schnitte mit Lichtgrün oder Orange), die Gregarinen aus *Gryllus* mit Flemmings Gemisch oder Sublimat, die aus *Blatta*  $\frac{1}{4}$  Stunde lang mit „liquide de Carnoy“ (Schnittfärbung mit Boraxkarmin und Lichtgrün).

LÉGER (Arch. Protistenk. Jena 3. Bd. 1904 p. 311) fixirt die Cysten in „sublimé acétique“  $\frac{1}{2}$ —1 Minute lang, bringt sie auf ebenso lang in absol. Alkohol und färbt sie dann wie „un frottis“ mit Hämalan, Eisenhämatoxylin etc. — BRASIL (Arch. Z. Expér. (4) Tome 4 1905 p. 74) fixirt sie 24 Stunden lang im Gemisch von 1 g Pikrinsäure, 15 ccm Eisessig, 60 ccm Formol und 150 ccm 80%igen Alkohols. Färbung der Paraffinschnitte sehr lange in Eisenhämatoxylin, dann in Eosin + Orange G oder Lichtgrün + Pikrinsäure.

**870. Blutparasiten (Hämatozoen).** Nach SCHAUDINN (Arb. Reichsgesundheitsamt Berlin 19. Bd. 1902 p. 188) zeigt bei Protozoen „ein gut conservirtes Präparat nicht viel mehr als das lebende Objekt“, falls dies überhaupt direkt untersuchbar ist; der Kern ist speziell beim



lebenden Malaria-Parasiten „nicht viel undeutlicher als bei den meisten anderen Protozoen“. — Über Schaudinns Methoden s. oben p. 397, die Färbung nach Romanowski etc. § 320. S. auch § 780 (STÄUBLI).

GRASSI (Atti Accad. Lincei Mem. (5) Vol. 3 1900 p. 357) untersucht Darm, Leibeshöhle und Speicheldrüsen von *Anopheles* auf Malariaparasiten entweder in Normalsalzwasser oder in diesem mit Zusatz von 2% Formol (in reinem Formol quellen sie zu sehr) oder im Gemisch von 1½ g Kochsalz, 250 ccm Wasser und dem Weißen von einem Ei. Fixierung in Sublimat; Färbung der Paraffinschnitte mit Hämalan oder Eisenhämatoxylin. Die Sporozoite fängt er (nach Romanowski) in Normalsalzwasser auf, bringt diese Flüssigkeit auf Deckgläser, läßt sie antrocknen, legt die Deckgläser auf 25 Minuten in absol. Alkohol, trocknet sie und färbt mit Eosin und Methylenblau (oben § 320). — WASIELEWSKI & SENN (Zeit. Hyg. 33. Bd. 1900 p. 451) machen zum Studium von *Herpetomonas* Trockenpräparate des Blutes, fixieren diese durch Hitze oder absol. Alkohol und färben sie ebenfalls nach Romanowski.

BRADFORD & PLIMMER (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 45 1902 p. 452) räuchern die Trypanosomen über Eisessig und 2%iger Osm. (zu gleichen Theilen) oder nach Gulland (Formol und absol. Alkohol) und färben sie mit Methylenblau und Erythrosin; die Präparate halten sich am besten in „terpentine colophonium“. — HINDLE (Univ. California Publ. Z. Vol. 6 1909 p. 129) bestreicht nach Salvin-Moore & Breinl (1901) ein Deckglas ganz dünn mit Eiweiß, macht darauf den Ausstrich, fixiert ihn 5 Minuten lang auf Flemmings Gemisch, bringt ihn durch Wasser bis zu absol. Alkohol, dann auf 10 Minuten in 80%igen Alkohol mit viel Jodjodkalium, von da in 30%igen und färbt ihn mit Eisenhämatoxylin oder besser erst mit Safranin nach Babes, nun mit polychrom. Methylenblau, zuletzt mit Unnas Orange-Tannin; von da durch die Alkohole (rasch) und Xylol in Balsam.

Nach MINCHIN (Q. Journ. Micr. Sc. (2) Vol. 53 1909 p. 762) werden die Ausstriche von Trypanosomen auf Deckgläsern am besten über 4%iger Osmiumsäure (20 Th.) und Essigsäure (1 Th.) geräuchert — als Zelle dazu wird ein Glasring unten in einen Paraffinblock eingeschmolzen — dann (direkt in absol. Alkohol oder) trocken in Balsam gebracht. Je trockner, desto getreuer wird die Form der T. bewahrt; sie färben sich gut nach Giemsa, schlecht mit Eisenhämatoxylin. Aus dem absol. Alkohol dagegen wandert der Ausstrich langsam in Wasser zum Färben (p. 771); Giemsas Färbung wird erst mit destill. Wasser abgespült, dann in Unnas Tannin-Orange, wieder in Wasser und (durch Aceton oder trocken) in Balsam geschafft. Nach Fixierung in Sublimat ist Giemsas Gemisch schlecht, Eisenhämatoxylin gut, ebenso (p. 781) „Twort's stain“: halbgesättigte wässrige Lösungen von Neutralroth und Lichtgrün werden gemischt, das Präcipitat bei 37° getrocknet und zu etwa 1/10% in Methylalkohol plus 5% Glycerin gelöst. Hiervon



werden 3 Theile mit 1 Th. Wasser verdünnt und darin die Ausstriche 1 Stunde lang gefärbt, dann mit Unnas Glycerinäther differenzirt und in Balsam übergeführt.

**871. Flagellaten** (s. auch § 870). LAUTERBORN (Zeit. Wiss. Z. 59. Bd. 1895 p. 170) fixirt Ceratien vorzugsweise mit Flemmings Gemisch etwa 10 Minuten lang, bringt sie in Alkohol von 35 %—100 %, schafft sie nach 24 Stunden wieder allmählich in Wasser, bleicht sie eventuell durch 3 %ige Lösung von Wasserstoffhyperoxyd und färbt sie mit Pikrokarmin oder Delafields Hämatoxylin. (Über das Einbetten in Paraffin s. § 139.) Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin.

ZACHARIAS (Z. Anz. 22. Bd. 1899 p. 72) fixirt *Uroglena* etc. im Gemisch aus 2 Vol. konzentr. wässriger Lösung von Borsäure und 3 Vol. ebensolcher Lösung von Sublimat.

Färben der Geißeln. LÖFFLER (Centralbl. Bakt. 6. Bd. 1889 p. 209; 7. Bd. 1890 p. 629) setzt zu 10 ccm der Lösung von 20 g Tannin in 80 ccm Wasser 5 ccm gesättigter Lösung von Eisenoxydulammoniumsulfat und 1 ccm wässriger oder alkoholischer Lösung von Fuchsin, Methylviolett oder Wollschwarz. (Hierzu kommt für einige Bacillen eine Spur Natronlauge, für andere eine Spur Essig- oder Schwefelsäure). Mit einem Tropfen dieses Gemisches werden die Trockenpräparate von Bakterien, Flagellaten etc.  $\frac{1}{2}$ —1 Minute lang erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen, und nach Abspülung (in Wasser und absolutem Alkohol) ebenso mit konzentrierter Lösung von Fuchsin in Anilinwasser behandelt, die vorher mit  $\frac{1}{10}$  %iger Lösung von Ätznatron bis zur Schwebefällung versetzt wird. — S. auch LIEBETANZ (Arch. Protistenk. 19. Bd. 1910 p. 23).

BUNGE (Centralbl. Bakt. 16. Bd. 1894 p. 218 und 700) nimmt zur Beize auf 15 ccm der Tanninlösung 5 ccm verdünnten (1 : 20) Liq. Ferri sesquichlorati und 2 ccm gesättigter wässriger Lösung von Fuchsin; dieses Gemisch muß aber einige Zeit an der Luft reifen oder (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1895 p. 248) mit Wasserstoffhyperoxyd versetzt werden, bis es rothbraun ist. Es wird dann umgeschüttelt und direkt auf das Deckglas filtrirt; eine Minute später wird abgespült, das Deckglas getrocknet und mit Karbol-Gentianaviolett gefärbt.

PEPPLER (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 29. Bd. 1901 p. 345) beizt mit dem Gemisch von Tanninlösung (1 : 4) und  $2\frac{1}{2}$  %iger Lösung von reiner Chromsäure und färbt mit Karbol-Gentianaviolett oder -Fuchsin.

FISCHER (Jahrb. Wiss. Bot. 26. Bd. 1894 p. 188) hat die älteste Methode von Löffler mit Erfolg auf Flagellaten angewandt. S. ferner WASIELEWSKI & SENN (Zeit. Hyg. 33. Bd. 1900 p. 455) und oben § 241 (REICHERT).



S. auch TRENKMANN (Centralbl. Bakt. 6. Bd. 1889 p. 433), BROWN (Journ. R. Micr. Soc. London f. 1893 p. 268), JULIEN (ibid. f. 1894 p. 403), VAN ERMENGEM (ibid. p. 405), SCLAVO (Zeit. Wiss. Mikr. 13. Bd. 1896 p. 96), HESSERT (ibid. p. 98: ohne Beize), BOWHIL (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 23. Bd. 1898 p. 667: Orcein und Tannin als Beize, dann Gentianaviolett), ZETTNOW (Zeit. Wiss. Mikr. 16. Bd. 1899 p. 250, 253 u. 254: Antimonbeize, dann Gold oder Silber), DE'ROSSI (Arch. Sc. Med. Torino Vol. 24 1900 p. 300: Beizung mit Tannin und Kalilauge, Färbung mit Karbolfuchsin), KUNTZE (Centralbl. Bakt. 1. Abth. 32. Bd. Orig. 1902 p. 558: Silber photochemisch), GEMELLI (ibid. 33. Bd. 1903 p. 319: Beizung mit Kaliumhyperpermanganat, dann Neutralroth) und LEVADITI (C. R. Soc. Biol. Paris Tome 59 1905 p. 326: speziell für *Spirochaete pallida* die Methode von RAMÓN, oben § 690).



## Nachträge während des Druckes.

**872.** (Nachtrag zu § 23 und § 108.) SCHLEGEL (Bull. Soc. Z. France 35. Vol. 1910 p. 117) betäubt Ascidien, Opisthobranchien und Aktinien mit einer Emulsion von 10 ccm Seewasser und 5 Tropfen Eugenol, von der er zu je 100 ccm 10 Tropfen im Laufe von 3 Tagen ganz allmählich auf die Oberfläche des Wassers gibt. Von da in 5%ige Lösung von Formol in Seewasser oder Gemische von Glycerin und solchem 5—10%igem Formol, die an Glycerin langsam verstärkt werden, bis das Thier darin schwimmt.

**873.** (Nachtrag zu § 12.) CHIARUGI (Monit. Z. Ital. Anno 21 1910 p. 117) klebt kleine Embryonen von Wirbelthieren mit Gelatine auf schwarzes Mattglas, härtet die Gelatine in 5%igem Formol und präparirt hierin oder in Kochsalzlösung. Oder er bettet zuvor den Embryo in Paraffin, legt durch Schnitte mit dem Mikrotom das betreffende Organ von der gewünschten Seite frei, zieht das Paraffin aus und klebt nun das Präparat fest.

**874.** (Nachtrag zu § 110 und § 732.) SCHMIDT (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 215) weicht die in Formol zu hart gewordenen Objekte (Fische, *Homo*) durch Einlegen in 1%ige Lösung von Silbernitrat oder (p. 216) 1%ige Lösung von Citronensäure oder  $\frac{1}{2}$ %ige Salpetersäure wieder auf. Die Behandlung mit dem Silber-salze (eventuell vorher mit der Citr.) ergibt eine Färbung des Centralnervensystems.

**875.** (Nachtrag zu § 329 und § 833.) SHEARER (Q. Journ. Mier. Sc. (2) Vol. 55 1910 p. 288) färbt *Histriobdella* intravital mit Methylblau in ganz schwacher Lösung, um den Verlauf der Nephridien zu ermitteln.

**876.** (Nachtrag zu § 414.) MOŽEJKO (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 256) macht injizierte *Petromyzon* nach Bleichung in Chlorwasser im Gemisch von 1 Vol. Methylenjodid und 6 Vol. von Lundvalls Gemisch (1 Vol. CS<sub>2</sub> und 4 Vol. Benzol) ganz durchsichtig.

**877.** (Nachtrag zu § 567.) Eine Zusammenstellung der Methoden für die künstliche Parthenogenese gibt HARVEY (Biol. Bull. Woods Hole Vol. 18 1910 p. 269ff.).



**878.** (Nachtrag zu § 633 und 760.) Mikrochemisches über Fett und Mitochondrien s. bei FAURÉ-FREMIET, MAYER & SCHAEFFER (Arch. Anat. Micr. Paris Tome 12 p. 19 ff.).

**879.** (Nachtrag zu § 698.) Über eine Modifikation von Weigerts Methode s. PÖTTER (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 239: Färbung der 10—15  $\mu$  dicken Celloidinschnitte durch ganze Hirne von *Homo* mit „Weigerts Eisenlack“, aber ohne Salzsäure).

**880.** (Nachtrag zu § 764.) CILIMBARIS (Arch. Mikr. Anat. 75. Bd. 1910 p. 708) färbt die Schnitte durch Muskeln erst mit Fuchsin und Pikrinsäure nach van Gieson, dann mit Resorcinfuchsin, zuletzt mit 1%iger saurer Orceinlösung!

**881.** (Nachtrag zu § 745.) Über eine sehr umständliche Methode für Neuroglia s. FIEANDT (Arch. Mikr. Anat. 76. Bd. 1910 p. 135).

**882.** (Nachtrag zu § 741.) Nach BREMER (Anat. Rec. Philadelphia Vol. 4 1910 p. 265) können die nach Cox imprägnirten Objekte auch ohne Schaden in Celloidin eingebettet, und die Schnitte mit Alaunhämatein und Eosin gefärbt werden.

**883.** (Nachtrag zu § 799.) Über den Nachweis des Guanins nach Burian s. DE GIACOMO (Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 257).

**884.** (Nachtrag zu § 785.) Zum Studium der Blutplättchen in den Geweben fixirt WRIGHT (Journ. Morph. Philadelphia Vol. 21 1910 p. 274) diese mit Sublimat (gesättigte Lösung in 0,9% NaCl), übergießt die aufgeklebten Paraffinschnitte mit einer Art von Giemsa's Gemisch, spült sie mit Wasser ab und bringt sie durch Aceton und Terpentinöl in Kolophonium.

**885.** (Nachtrag zu § 38, 241, 539, 570, 630, 633 und 766.) SCHULTZE (Verh. Physik. Med. Ges. Würzburg (2) 40. Bd. 1910 p. 159) läßt die Osmiumsäure auf die Objekte bei nicht über 15° R. wirken und bringt diese dann direkt oder „nach kurzem Aufenthalt in Wasser in alkoholische ausgereifte Hämatoxylinlösung“. Hierin werden sie so schwarz, daß die Schnitte nur 1—2  $\mu$  dick sein dürfen. Für Zellgrenzen, Fasern, Granula etc. in den Zellen und den feineren Bau des Plasmas überhaupt. — Ferner p. 164: Embryonen und Larven von Anuren lassen sich frisch oder aus Formol (10%) durch das Gemisch von Chromsäure (1%) 80 ccm, Eau de Javelle 5—20 ccm und 10 Tropfen 10%iger Kalilauge derart bleichen und macerieren, daß die inneren Organe deutlich hervortreten. Nachbehandlung mit Formolglycerin, Kaliglycerin (s. oben § 766) etc.



**886.** (Nachtrag zu § 629 und 632.) Reduktionsorte und Sauerstofforte. Nach brieflicher Mittheilung an Mayer unterscheidet UNNA im Körper der Säugethiere histologische „Reduktionsorte“ und „Sauerstofforte“. Jene demonstriert er durch Behandlung der Eisschnitte von frischem oder in Formol fixirtem Gewebe mit 1%iger Lösung von Kaliumhyperpermanganat, worin sie braun werden; der Nachweis durch Eisenchlorid und Ferricyankalium (s. oben p. 325) sowie durch 1%ige Lösung von Tetranitrochrysophansäure in Chloroform (sie werden roth) ist weniger sicher, weil auf diese Reagentien auch die Basicität Einfluß hat. Die Sauerstofforte treten durch „Rongalitweiß“ hervor, indem sie damit blau werden; auch hier sind Eisschnitte des frischen Gewebes erforderlich. Rongalit ist (s. auch UNNA & GOLODETZ in: Monatsh. Prakt. Derm. 50. Bd. 1910 p. 456) eine Verbindung von Formaldehyd mit Natriumsulfoxylat; das Methylenblau läßt sich dadurch zur Leukoverbindung reduzieren und wird an der Luft nicht wieder blau. Rongalitweiß: 2 g Methylenblau, 4 g Rongalit, 40 Tropfen HCl (25 %) und 100 ccm Wasser werden bis zur Entfärbung erwärmt; außer diesem Gemische benutzt Unna eins, das daraus durch Neutralisation mit 1%iger Natronlauge gewonnen wird. Die Schnitte verweilen im Gemische 2—5 Minuten, werden dann in viel Wasser durch rasches Bewegen vom Rongalitweiß befreit, bleiben zur Bläuung in Wasser oder unbedeckt auf dem Objektträger 15—20 Minuten liegen und werden in dicken Gummischleim eingeschlossen.

**887.** (Nachtrag zu § 629.) LIESEGANG (Biochem. Zeit. 28. Bd. 1910 p. 413) verascht Paraffin- oder Eisschnitte von Säugethieren, um darin chemisch die anorganischen Stoffe lokalisirt nachzuweisen: Eisen, Jod und Phosphorsäure bisher vergeblich.

**888.** (Nachtrag zu § 836.) HIRSCHFELDER (Zeit. Wiss. Z. 96. Bd. 1910 p. 211ff.) fixirt die durch Cocaïn nach Weber betäubten Rotatorien auch mit Pikrinchromsäure nach Fol (s. oben § 93).

**889.** (Nachtrag zu § 809.) DREYER (Zeit. Wiss. Z. 96. Bd. 1910 p. 380) fixirt zum Studium der Nerven die Nacktschnecken nach Betäubung durch Cocaïn mit Mayers Pikrinformol (oben § 111b), legt sie dann auf etwa 1 Woche in das Gemisch von 1 g Eisenalaun, 2 ccm Formol und 40 ccm Wasser, wäscht sie mit 30%igem Alkohol aus und färbt die Schnitte nach Heidenhain mit Eisenhämatoxylin, benutzt aber dabei das obige Gemisch.

**890.** (Nachtrag zu § 802.) Die Arbeit von POSO ist erschienen in: Arch. Ostetr. Gin. Napoli (2) Anno 2 1910 p. 621—666; kürzer in: Zeit. Wiss. Mikr. 27. Bd. 1910 p. 353—359.



## Register.

Die Zahlen geben die Seiten an. ä = ae, ö = oe, ü = ue. Was man bei C nicht findet, suche man bei K.

Abbe Monobromnaphthalin 233.

Absoluter Alkohol 57; Brechungszahl 68; s. Alkohol.

Abziehstein 115, 389.

*Acanthias* Kopf 49, 64, 332; Leber 406.

*Acanthocephalen* 428.

Acariden 419.

Acetal für Neurofibrillen 343.

Acetessigester 317.

Aceton zum Auswaschen 53; für Celloidin 105; zum Entwässern 8; für Fette 384; zum Fixiren 58; als Intermedium 83; für Schießbaumwolle 126; nach Thionin 176.

A. und Alkohol 383; A. u. Formol 64, 356; A. u. Methylenblau 336; A. u. Resoreinfuchsin 387; A. u. Salpetersäure 342, 345; A. u. Sublimat 44; A. u. Xylol 342.

Acetonchloroform 16.

Achard & Aynaux Versilberung 217.

Acidophiles Gemisch von Ehrlich 207.

Acineten 446.

*Acipenser* Fettzellen 382; Hirn 368.

Acölen 432.

Adamkiewicz Myelin 358.

*Adamsia* Betäuben 15.

Adenoides Gewebe 262.

Adler *Bufo* 285.

Äther Reinigung 104; Wassergehalt 52; zum Aufkleben 128; zum Betäuben 16; als Intermedium 82; zum Tödten 437.

A. u. Alkohol zum Aufkleben 128, 129, für Celloidin 104, zum Fixiren 420, für Myelin 346; A. u. Chloroform 223; A. u. Formol 438; A. u. Nelkenöl 105 — s. auch Ätheralkohol.

Aether acetico-aceticus 317.

Ätheralkohol u. Eosin 395.

Ätherische Öle 68.

Äthylalkohol s. Alkohol.

Äthylamin für Neurofibrillen 343.

Äthylbromid zum Lähmen 414.

Äthylchlorid zum Gefrieren 116.

Äthylendiamin 345; u. Silberphosphat 339.

Ätzkali u. Alkohol für Säurefuchsin 357 — s. auch Kalilauge.

Ätznatron s. Natronlauge.

Agababow Elastisches Gewebe 386.

Agar-Agar zum Aufkleben 127; von Deetjen 396; zum Einbetten 101.

Agassiz & Whitman Fischeier 288.

*Agelastica* Embryonen 295.

Aguerre Neuroglia 372.

Akridinroth 381, 388.

Aktinien 437; Betäuben 15—18; Maceriren 259; Nesselkapseln 436.

Aktol für Golgis Methode 365.

Alaun zum Auswaschen 264; zum Beizen 419; zum Fixiren 49; für Medien 229; nach Salpetersäure 279, 287.

A. u. Anilin 384; A. u. Azorubin 183; A. u. Baumwollblau 339; A. u.



- Brasilin 211; A. u. Cochenille 150; A. u. Gallein 183; A. u. Hämatein oder Hämatoxylin 162—165; A. u. Indigkarmin 210; A. u. Indoinblau 339; A. u. Indulin 207; A. u. Kaliumhyperpermanganat 319; A. u. Karmin 150; A. u. Karminsäure 149; A. u. Orange G 296; A. u. Osmiumsäure 29; A. u. Polychromes Methylenblau 386; A. u. Purpurin 209; A. u. Säure-Alizarinblau oder -grün 209; A. u. Salpetersäure 265; A. u. Vegetabilische Farbstoffe 212.
- Alaun, gebrannter 150.  
 Alauncochenille 150.  
 Alaunhämatoxylin 164, 165; u. Safranin 180 — s. auch Hämalaun.  
 Alaunkarmin 150; u. Alkohol 419.  
 Alaunlösung zum Auswaschen 162, 163.  
 Alaunwasser zum Auswaschen 163.  
 Albrecht & Stoerk Aufkleben 122.  
 Alcyonarien 437.  
*Alcyonidium* Larven 412.  
*Alcyonium* Fixiren 437; Tödten 15.  
 Aldehyd u. Alkohol 342; A. u. Formol 367; A. u. Kaliumbichromat 366.  
 Alexander Definirlinien 275.  
 Alferow Silbersalze 216.  
 Alfieri Bleichen 269.  
 Alizarin 209; für Knochen 393, 394; für Nervensystem 335.  
 Alizarinblau S für Injektionen 408.  
 Alizarincyanin 209.  
 Alizarinroth S für Injektionen 408.  
 Alkaliblau 207.  
 Alkanna für Fett 383; für Paraffin 80.  
 Alkohol (Äthylalkohol) 57; absoluter 57, denaturirter 55, saurer 57, siedender 57; Prüfung 54; Verdünnen 55 — zum Aufkleben 119, 121, 122; zum Aufbewahren 8; zum Auswaschen 6; zum Betäuben 16; für Celloidin 108; Entfernung durch Intermedien 65; zum Entwässern 6, 8; zum Fixiren 54; zum Härten 55; zum Maceriren 256; für Terpentin 237.
- A. u. Aceton 383; A. u. Aldehyd 342; A. u. Äther zum Aufkleben 128, 129, für Celloidin 104, zum Fixiren 420, für Myelin 346; A. u. Ätzkali für Säurefuchsin 357; A. u. Alaunkarmin 419; A. u. Ameisensäure 221, 322, 334; A. u. Ammoniak 343; A. u. Anilin 338; A. u. Benzol 356; A. u. Chloroform 50, 111, 418; A. u. Chlorsäure oder Chlorwasser 268, 423; A. u. Chromsäure 34, 419, 421; A. u. Cocaïn 427; A. u. Cochenille 157; A. u. Dahlia 385; A. u. Eisenchlorid 49; A. u. Essigsäure 44, 45, 49, 50, 63, 277, 294, 295, 299, 301—303, 332, 415, 417—419, 422, 423, 426, 435, 446; A. u. Flußsäure 267; A. u. Formol 63, 277, 294, 328, 330, 345, 385, 392, 418, 420, 422, 446; A. u. Fuchsin 391; A. u. Glycerin 8, 16, 231, 269, 417; A. u. Goldchlorid 368; A. u. Jod 331, 332; A. u. Kaliumbichromat 40; A. u. Kreosot 367; A. u. Kupfersulfat 40; A. u. Methylenblau 392; A. u. Müllers Gemisch 329; A. u. Natriumchlorid 256, 257; A. u. Natronlauge 269, 383; A. u. Osmiumsäure 29, 420; A. u. Oxalsäure 34; A. u. Phosphorsäure 383; A. u. Phosphorwolframsäure 37; A. u. Pikrinsäure 52, 259, 332, 418, 421, 423, 446; A. u. Platinchlorid 277; A. u. Safranin 392; A. u. Salpetersäure 34, 49, 54, 264, 265, 270, 295, 344, 407, 410, 419, 421—423; A. u. Salzsäure 270, 308; A. u. Schwefelsäure 309, 389; A. u. Schweflige Säure 37; A. u. Sublimat 44, 45, 205, 277, 294—297, 299, 332, 421, 425, 429, 431, 435, 445; A. u. Thionin oder Toluidinblau 385; A. u. Toluol 113; A. u. Zinkchlorid 49.
- Alkoholbalsam 235.  
 Alleger Aufkleben 127; Formol 61.  
 Allen Methylenblau 188.  
 Allerhand Myelin 352.  
 Allöocölen Embryonen 302.



Alt Congoroth 335.

Altmann Bioblasten 312; Granula 39;  
Goldchlorid 30; Korrodiren 263; Sal-  
petersäure 37.

Alumen ustum 150.

Aluminiumacetat 147; u. Vanadium-  
chlorid 357.

Aluminiumchlorid zum Auswaschen 166.

A. u. Cochenille 157; A. u. Hä-  
matein 165, 403; A. u. Karmin 403;  
A. u. Karminsäure 149, 156, 404.

Aluminiumkarminat 147.

Aluminiumnitrat u. Cochenille 150; u.  
Hämatein 164.

Amann Bernsteinlack 243; Kalium-  
quecksilberjodid 233; Laktophenol  
230; Medium 233.

Amberger s. Paal & Amberger.

Ambrohn & Held Myelin 352.

Ameisensäure zum Fixiren 50; im  
Formol 59, 62, 64; nach Goldchlorid  
218, 220—223; für Sudan III 383.

A. u. Alkohol 221, 322, 334; A. u.  
Amylalkohol 216; A. u. Bleiacetat  
371; A. u. Chromogen 372; A. u.  
Chromsäure 35; A. u. Formol 220,  
221; A. u. Goldchlorid 220; A. u.  
Kaliumbichromat 40; A. u. Osmium-  
säure 29, 40, 221, 231; A. u. Oxalsäure  
221; A. u. Platinchlorid 40; A. u.  
Silbernitrat 216.

Ameisensäurekarmin 151.

Amethystviolett 141.

Ammoniak nach Formol 328; nach Häm-  
alaun 161, 162; für Karmin 245 ff.;  
Karminsäure 147; zum Maceriren 258;  
für Methylenblau 189; nach Methyl-  
grün 444; nach Osmiumsäure 353.

A. u. Alkohol oder Formol zum  
Fixiren 343; A. u. Karmin 153; A.  
u. Silbernitrat 215, 344, 345.

Ammoniakalaun 149 — s. auch Alaun.

Ammoniakkarmin 153, 154.

Ammoniumacetat für Medien 229.

Ammoniumbichromat 38, 40; für Rücken-  
mark 222; für Golgis Methode 364,  
366.

Ammoniumcarbonat u. -pikrat 190.

Ammoniumchlorid für Methylenblau  
188; für Sublimat 41; für Toluidin-  
blau 192.

Ammoniumchromat 40; zum Maceriren  
258.

Ammoniumferrisulfat s. Eisenalaun.

Ammoniumhypersulfat zum Bleichen  
269; für Resorcinfuchsin 387.

Ammoniumkarminat 147.

Ammoniummolybdat zum Beizen 341,  
342, 346, 355, 357, 367; zum Im-  
prägniren 225; zum Maceriren 258;  
für Methylenblau 190—192; für  
Phosphor 307; nach Safranin 392.  
A. u. Chromsäure 312.

Ammoniumoxalat für Kalk 309.

Ammoniumpikrat 153, 154; für Methylen-  
blau 189 ff.

A. u. Ammoniumcarbonat 190; A. u.  
Osmiumsäure 191; A. u. Pikrinsäure  
342; A. u. Säurefuchsin 197.

Ammoniumpikrokarminat 153.

Ammoniumrhodanat zum Beizen 180;  
zum Maceriren 258.

A. u. Goldchlorid 345, 346; A. u.  
Natriumhyposulfit 367.

Ammoniumsulfocyanid s. Ammonium-  
rhodanat.

Ammoniumvanadat zum Imprägniren  
371.

A. u. Hämatoxylin 171.

Amnioswasser u. Jod 227.

Amphibien Embryologisches 282; Künst-  
liche Befruchtung 271; Organe des  
6. Sinnes 318; Sehnen 322.

*Amphichoerus* Fixiren 432.

*Amphioxus* Embryologisches 288; Ner-  
vensystem 325.

Amphipoden Augen 423; Embryologi-  
sches 298.

*Amphiura* Larven 436.



- Amylalkohol zum Ausschütteln 173.  
     A. u. Ameisensäure 216.  
 Amylnitrit für Gefäße 244.  
 Anas Embryonen 281; Schnabelhaut 318.  
 Ancel *Helix* 414.  
 Andeer Entkalken 266.  
 Anderson s. Langley & Anderson.  
 Andersson s. Hultgren & Andersson.  
 André (Ch.) s. Courmont & André.  
 André (E.) Nematoden 429.  
 André Retina 376.  
 Andres Aktinien 437; Betäuben 15, 16.  
 Andres, Giesbrecht & Mayer Einbetten  
     78; Schnittstrecker 94.  
 Andrews Einbettflasche 78; *Gallus* 279;  
     Osmiumsäure 28.  
 Andriezen Pyridin 58.  
 Anethol 71; zum Einbetten 108.  
 Anglade & Morel Neuroglia 374.  
*Anguilla* Betäuben 16; Haut 315.  
*Anguis* Embryonen 282.  
 Anile Darm 405; Fixirgemisch 52;  
     Paraffinschnitte 94.  
 Anilin (Anilinöl) 72; Brechungszahl 68;  
     als Intermedium 82; für Theerfarb-  
     stoffe 179.  
     A. u. Alaun 384; A. u. Alkohol 338;  
     A. u. Xylol 112, 317, 349, 372—374.  
 Anilinblau 207; für Centrosomen 311;  
     für Nerven 359.  
     A. u. Bordeauxroth 340; A. u. Orange  
     G 380; A. u. Oxalsäure 380; A. u.  
     Säurefuchsin 340; A. u. Safranin 208.  
 Anilin-Blue-Black 208, 334.  
 Anilinchlorhydrat 422.  
 Anilinfarben s. Theerfarbstoffe.  
 Anilingrün 206, 377.  
 Anilinöl s. Anilin.  
 Anilinroth 182.  
 Anilinschwarz für Chitin 421; für Proto-  
     zoen 443.  
 Anilinviolett 181.  
 Anilinwasser 180; für Erythrosin 292;  
     für Methylviolett 317; zum Reduzieren  
     371; für Säurefuchsin 312.  
 Anisöl 71; Brechungszahl 68.  
 Anitschkow Aufkleben 128; Gefrieren  
     117.  
 Anneliden Betäuben 17—19; Schleim-  
     drüsen 417 — s. auch Chätopoden,  
     Hirudineen und Polychäten.  
*Anobium* Larven 296.  
*Anodonta* Fixiren 61; Darm 417; Ge-  
     fäße 416, 417; Nerven 188.  
*Anopheles* Parasiten 447.  
 Ansäurer im Sinne von Fischer 23.  
 Anser Schnabelhaut 318.  
*Antedon* Fixiren 435; Embryonen 436.  
*Anthea* Tentakel 437.  
 Anthracenblau SWR 347.  
 Anthraceneisengallustinte 340.  
 Antimonbeize für Geißeln 449.  
 Antipyrin für Ciliaten 442.  
 Anuren Embryonen 284.  
 Apáthy Aufkleben 124, 129; Bergamott-  
     öl 69, 82; Celloidin 103 ff.; Chloro-  
     form 83; Circulationskästchen 3; *Clep-*  
     sine 300; Doppelte Einbettung 112;  
     Einbetten Historisches 76, in Paraffin  
     83; Eiweißglycerin 124; Feuchte Kam-  
     mer 3; Fixirung 21; Formol 64; Ge-  
     schichte der Methoden 5; Glycerin-  
     gelatine 101; Goldlösung 213; Gummi-  
     syrop 190, 230; Hämatein I A 165;  
     Hämatoxylin-Chrom 168; Imprägna-  
     tion 212; Kanadabalsam 235; Karmin  
     146; Kitte 243; Maceriren 258, 260;  
     Medium 197; Messerstellung 90, 91;  
     Methylenblau 184, 186—190; Muskeln  
     323; Nachvergoldung 222; Neuro-  
     fibrillen 223, 341; Paraffin 82, 99;  
     Paraffinschnitte 95; Photoxylin 104;  
     Rahmen von Rizinusöl 2; Säure-  
     fuchsin u. Ammonium pikrat 197; Serien-  
     klammer 10; Stufenobjektträger 3;  
     Sublimat 42, 44, 295; Terpeneöl 101,  
     110, 129; Tinktion 212; Vergolden  
     218; Vormedien 65; Vorvergoldung  
     222.  
 Apel Gephyreen 427.  
*Apis* Augen 423; Embryonen 295; Hirn  
     422.



- Aplysia* Embryonen 292; Leber 414; Narkotisiren 414.  
 Aqua destillata s. Destilliertes Wasser.  
 Arachniden Augen 423; Embryologisches 297; Gefäße 423.  
*Arca* Augen 416.  
*Arcangeli* Karmin 155.  
*Arenicola* Embryonen 300.  
 Argentamin 339, 355.  
*Argulus* Fixiren 420.  
 Argutinsky Aufkleben 128; Methylenazur 206.  
*Argyroneta* Embryonen 297.  
*Arion* Embryonen 292; Nervenzellen 415.  
 Arkansasstein für Zahnschliffe 390, 391.  
 Arndt Doppelsäge 389.  
 Arnold Blut 396; Glykogen 307; Jodjodkalium 38, 256.  
 Arnstein Goldchlorid 222; Goldmethode 318; Methylenblau 187, 191; Papillae foliatae 318.  
 Aronson Axencylinder 358.  
 Arsenige Säure als Antisepticum 229, 232, 245; zum Maceriren 260.  
     A. u. Formol 367.  
 Arsensäure zum Entkalken 267; für Goldchlorid 222.  
 Arthropoden 417 ff.; Embryologisches 293 ff.  
 Artom *Ascaris* 303.  
*Ascaris* Fixiren 45, 429; Eier 54; Embryonen 302.  
*Ascidia* Betäuben 18.  
 Ascidien 411; Follikelzellen 289; Knospen 290.  
 Asphalt u. Benzol 253; A. u. Paraffin 99.  
 Asphaltlack 242.  
 Asphaltmasse 253.  
 Assmann Blut 395; Methylenazur 205.  
*Astacus* Blut 398; Embryonen 298; Nerven 187, 189, 320, 342.  
*Asteracanthion* Betäuben 17.  
*Asterias* Eier und Larven 435.  
*Asterina* Larven 436.  
 Asteroideen 434; Betäuben 16.  
 Atropin u. Formol 444.  
 Atropinsulfat für Gefäße 251.  
*Atta* Embryonen 297.  
 Aubert Kitte 240, 241.  
 Auburtin Aufkleben 128.  
 Auerbach Axencylinder 340.  
 Aufbewahren der Objekte, vorläufiges 8.  
 Auffrischen verblaßter Präparate 11; der Balsampräparate 234.  
 Aufhellmittel 65.  
 Aufkleben der Celloidinschnitte 128 ff.; der Paraffinschnitte 119 ff.  
 Augen der Invertebraten s. bei den Thiergruppen.  
 Augen der Vertebraten 374 ff. — s. auch Cornea, Retina etc.  
 Augstein *Strongylus* 429.  
*Aulacantha* Fixiren 445.  
*Aulastoma* Epidermis 426.  
*Aurantia* 196; u. Eosin oder Indulin 207.  
 Auricularien Fixiren 435.  
 Aurnatrium chloratum 219.  
 Aurum chloratum 219.  
 Ausstrichpräparate von Blut etc. 395.  
 Austrocknen als Fixirmittel 25.  
 Auswaschen des Fixirmittels 6, 24; der Gefäße (Adern) 244.  
 Axencylinder 340, 343, 356 ff.  
 Aynaud s. Achard & Aynaux.  
 Azokarmin B 201.  
 Azorubin 183.  
 Azosäureblau B 207.  
 Azoschwarz 208.  
 Azoulay Ammoniumvanadat 371; Golgis Methode 364; Myelin 354.  
 Azur I und II 204.  
 Babcock Celloidin 109.  
 Babes Safranin 179.  
 Baglioni Normalsalzwasser 227.  
 Bakay Knorpel 392.  
 Balbiani Eier von Arthropoden 272; Eosin u. Methylgrün 203; *Loxophyllum* 444.  
 Balfour s. Foster & Balfour.  
 Ballowitz (E.) Spermien 257.



- Ballowitz (K.) Elektrische Organe 378;  
 Muskeln 323; *Pelias* 282; Spermien  
 409.  
 Balsam s. Kanadabalsam.  
 Balsame Allgemeines 233, 234.  
 Balsampräparate Auffrischen 234.  
 Band ohne Ende für Schnitte 97.  
 Bandschneiden 96.  
 Bardeen Gefrieren 116.  
 Barjon & Regaud Blut 396.  
 Barnes Trichinen 429.  
 Barrois Plutei etc. 435.  
 Bartel Neuroglia 372.  
 Bartel & Stein Mallorys Methode 380.  
 Barythydrat zum Entsäuern 388; zum  
 Maceriren 257.  
 Baryumbichromat 38.  
 Baryumsulfat zum Injizieren 249.  
 Basische Theerfarbstoffe 140.  
 Bassal s. Morel & Bassal.  
 Bastian Goldchlorid 221.  
 Bataillon & Köhler Methylenblau 310.  
 Bauchstrang der Arthropoden 422.  
 Bauer Muskelmagen 405.  
 Baumgarten Bleu de Lyon 208; Knorpel  
 392.  
 Baumwollblau 207, 208; B. u. Alaun 339.  
 Bausch & Lomb Mikrotome 76.  
 Bayerl Entkalken 266; Indigkarmin  
 210; Knorpel 392.  
*Bdella* Fixiren 419.  
 Beale Ammoniakkarmin 154; Glycerin-  
 gelatine 231; Injektionsmassen 250,  
 251; Schellackfirniß 243; Verdauen 261.  
 Beauchamp Rotatorien 427.  
 Becherzellen 401.  
 Becker Mikrotome 75, 76.  
 Bedot Siphonophoren 439.  
 Beer Neurokeratin 346.  
 Befruchtung künstliche 271.  
 Behrens (G.) Salmoniden 287.  
 Behrens (W.) Brechungszahlen 67;  
 Glycerin-gelatine 231; Kitte 240, 243;  
 Medium 233; Nelkenöl 69; Thymianöl  
 71.  
 Behrens, Kossel & Schiefferdecker Mac-  
 eriren 257; Muskelzellen 320.  
 Beizen 21, 139; für Theerfarbstoffe 172.  
 Beizenfarbstoffe 139.  
 Bell Scharlach 383.  
 Bell Kitt 241.  
 Bellarminow Schellackmasse 253.  
 Bellonci Myelin 353.  
*Belone* Embryonen 286.  
 Benario Blut 395.  
 Benda Beizlacke 167; Centrosomen 311;  
 Eosin u. Methylenblau 203; Färbung  
 135, 140; Fettsäuren 384; Hämatoxylin-  
 Eisen 168; Hämatoxylin-Kupfer 170;  
 Kritik Fischers 22; Lichtgrün 206;  
 Mitochondrien 312; Myelin 352; Neu-  
 roglia 373; Orcein 386; Postchromi-  
 rung 33; Retina 375; Säureviolett  
 206; Salpetersäure 37; Sekretgranula  
 312.  
 Beneden (E. van) Ascidien 411; Essig-  
 säure 49; *Lepus* 276; Sublimat 41;  
*Taenia* 302.  
 Beneden (van) & Julin *Lepus* 276.  
 Beneden (van) & Neyt *Ascaris* 303;  
 Fixirgemisch 50; Malachitgrün 175.  
 Benedicenti Formol 60.  
 Beneke Bindegewebe 379.  
 Bengalroth 446.  
 Bengtsson *Phalacrodera* 295.  
 Bensley Acidophiles Gemisch 207; Darm  
 405; Dreifachfärbung 195; Magen 405;  
 Muchämatein 403; Phosphor 307.  
 Benzin für Harze 236; als Intermedium  
 338; für Paraffin 82.  
 Benzoazurin 182.  
 Benzol 72; Brechungszahl 68; für Harze  
 233 ff.; für Paraffin 84.  
 B. u. Alkohol für Myelin 356; B.  
 u. Asphalt 253.  
 Benzolazobetanaphtholdisulfosäure 194.  
 Benzopurpurin 201.  
 Benzoylgrün 175.  
 Berg Kritik Fischers 22.  
 Bergamottöl 68; Brechungszahl 68; für  
 Celloidinschnitte 129; als Intermedium



- 384, 385; für Myelin 347; nach Osmiumsäure 31; für Paraffin 283, 285, 294, 442.  
 B. u. Cedernöl 112; B. u. Karbolsäure 112.  
 Berger Alkohol 55.  
 Bergh *Aulastoma* 426; Silbernitrat 216.  
 Bergonzini Plasmazellen 384.  
 Berkley Golgis Methode 365; Kleinhirn 332; Myelin 351.  
 Berlinerblau (F.) Myelin 349.  
 Berlinerblau zum Imprägnieren 225; zum Injizieren 245, 247, 248; Lösliches 251, 247, 252; für Neurofibrillen 343; für Nucleolen 313; für Richtebeinen 274.  
 B. u. Alkohol 252; B. u. Chlorkalium 251; B. u. Chlornatrium 252.  
 Bernard Mantelrand 417.  
 Berner Fettsäuren 384.  
 Bernheim Goldchlorid 222.  
 Bernsteinfirniß oder -lack 243.  
 Best Glykogen 306; Lithionkarmin 153.  
 Besta Axencylinder 356; Binnennetze 367; Neurofibrillen 344.  
 Betäuben 15 ff.  
 Beta-Eucaïn zum Betäuben 17.  
 Betegh Trichromin 206.  
 Bethe Anilinschwarz 421; Färbung 135; Intravitalfärbung 137; Methode von Cox 339; Methylenblau 186, 190, 191; Neurofibrillen 341; Salpetersäure 37; Toluidinblau 186 — s. auch Mönkeberg & Bethe.  
 Bettendorf *Distoma* 431; Wasserblau 208.  
 Betz Hirn etc. 331.  
 Bialaszewicz Hämatoxylin-Eisen 169.  
 Bichromate Allgemeines 38; für Golgis Methode 364, 365.  
 B. u. Chromfluorid 350.  
 Bidder Schrumpfung der Poriferen 10.  
 Biebricher Scharlach 201.  
 Biedermann Methylenblau 187; Nervenenden 320, 321.  
 Bjeloussow Gummi arabicum 250.  
 Bielschowsky Neurofibrillen 345.  
 Bielschowsky & Brühl Felsenbein 377.  
 Bielschowsky & Plien Kresylviolett 209.  
 Bielschowsky & Pollack Neurofibrillen 344.  
 Bielschowsky & Wolff Neurofibrillen 344.  
 Biffi Blut 398.  
 Bigelow *Cassiopeja* 438; *Lepas* 299; Pikrinessigsäure 54.  
 Bikfalvi Verdauen 261.  
 Bildumdrehendes Ocular 2.  
*Bilharzia* Fixiren 431.  
 Billet Methylenazur 206.  
 Biltz Färbung 135; Farblacke 140.  
 Bimstein zum Schleifen 389, 391.  
 Bindegewebe 379 ff.  
 Binet Bleichen 30; Bauchstrang 422; Ganglien 335.  
 Bing & Ellermann Nerven 64; Myelin 356.  
 Binnennetze 340, 366.  
 Bioblasten von Altmann 312.  
 Biondi Agar-Agar 101; Blut 396, 400.  
 Biondis Gemisch 198, 337.  
 Bipinnarien Fixiren 435.  
 Bismarckbraun 175; nach Hämatoxylin 337; für Knorpel 393.  
 B. u. Essigsäure 174; B. u. Malachitgrün 174.  
 Bittermandelwasser zum Betäuben 16.  
 Bizzozero Blutplättchen 400; *Gentiana*-violett 181; Haut 314; Pikrokarmin 154; Schleim 401.  
 Bizzozero & Torre Blut 398.  
 Blackley Blue 206.  
 Blanc Protozoen 443.  
 Blanchard Sublimat 43.  
 Blattiden Embryonen 296.  
 Blaue Masse zum Injizieren 249.  
 Blauholz 159, -extrakt 159, 349.  
 Blausäure zum Betäuben 16.  
 Blauschwarz B 208; u. Pikrinsäure 209.  
 Bleiacetat 329; u. Ameisensäure 371.  
 Bleicarbonat zum Injizieren 249.  
 Bleichen 267 ff.  
 Bleichromat zum Imprägnieren 225; zum Injizieren 249.  
 Bleiformiat u. Formol 371.  
 Bleisulfid zum Imprägnieren 371.



- Bles Anuren 285; Fixirgemisch 63.  
 Bleu Borrel 205.  
 Bleu carmin 208.  
 Bleu de Lyon 208.  
 Bleu de nuit 207.  
 Bleu diamine u. Pikrinsäure 381.  
 Bleu lumière 207.  
 Blochmann Aufkleben 126; Brachiopoden 413; Färbgemisch 208; Golgis Methode 370; Laich 283.  
 Blum Celloidin 108; Formol 59, 62; Schnellhärtung 62.  
 Blut 394 ff.; Färben 398; Fixiren 395 — s. auch Blutserum.  
 Blotalbumin 123.  
 Blutholz 159.  
 Blutlaugensalz gelbes s. Ferro-, rothes s. Ferricyankalium.  
 Blutparasiten 446.  
 Blutplättchen 399, 451.  
 Blutserum als Medium 228; für Tusche 253.  
 Bobretzky Lepidopteren 294.  
 Boccardi Goldchlorid 221; Nervenzellen 337.  
 Böhm Goldchlorid 221; Herbstsche Körperchen 318; Leber 365; Salmoniden 287.  
 Böhm & Oppel Bichromat 39; *Gallus* 279; Haut 314; *Lacerta* 282; Methylgrün 174; Myelin 351; Reptilien 281; Serum 228.  
 Böhmer Alaunhämatoxylin 164; Balsam 235.  
 Böhmig Nemertinen 430; Turbellarien 432.  
 Boeke Neurofibrillen 345.  
 Böttcher Färbung 134.  
 Bolton Axencylinder 357; Golgis Methode 366; Myelin 348.  
*Bombyx* Embryonen 294.  
 Bonne Thionin 177.  
 Bonnet (A.) Ixodiden 419.  
 Bonnet (R.) *Canis* 277.  
 Bonney Dreifachfärbung 195.  
 Bonvicini Hirn 333.  
 Borax Löslichkeit in Alkohol 156.  
 B. u. Ferricyankalium 349; B. u. Gummi arab. 250; B. u. Karmin 155; B. u. Methylenblau 358; B. u. Methylgrün 174; B. u. Toluidinblau 356.  
 Boraxkarmin 155; zum Beizen 436; für Gelatine 247.  
 Borchert Myelin 353.  
 Bordage *Rhaphiderus* 296.  
 Bordeauxroth 201; für Centrosomen 311.  
 B. u. Anilinblau 340; B. u. Methylgrün oder Thionin 201.  
 Borgert Einbetten 79; Intermedien 67; Radiolarien 445.  
 Borme s. Moleschott & Borme.  
 Born Rekonstruktion 274, 275; Schnittstrecker 94 — s. auch Halle & Born.  
 Born & Peter Richtebenen 274.  
 Born & Wieger Aufkleben 127.  
 Borrels Gemisch 48, 294.  
 Borsäure zum Maceriren 417; B. u. Sublimat 448.  
 Borsäurekarmin 155.  
*Bos* Augenmuskeln 322.  
 Botezat Herbstsche Körperchen 318.  
 Bottazzi Normalsalzwasser 227.  
 Bougault Äther 52.  
 Bouin Fixirgemische 63, 64; Formol sublimé 64; Salmoniden 288.  
 Bouma Knorpel 392.  
 Bourne s. Lankester & Bourne.  
 Boveri *Ascaris* 302, 303; Centrosomen 311; Echiniden 272; Echinodermen 433; Eisenhämatoxylin 139; Markhaltige Nerven 347; Pikrinessigsäure 54.  
 Bowhill Geißelfärbung 449.  
 Boyce & Herdman Kupfer 308.  
*Brachionus* Betäuben 427.  
 Brachiopoden Fixiren 412.  
 Bradford & Plimmer Trypanosomen 447.  
 Bradley s. Mendel & Bradley.  
*Bradydema* Fixiren 429.  
 Braem Statoblasten 290.  
 Branca Fixirgemisch 64 — s. auch Félizet & Branca.



- Brandeis Azorubin 183.  
 Brandt (K.) Protozoen 443; Radiolarien 445.  
 Brandt (O.) Glyceringelatine 231.  
 Brasil Sporozoen 446.  
 Brasileïn 211.  
 Brasilin 211; für Glykogen 307.  
 Brasilin-Eisen 212.  
 Brass Benzol 73; Paraffin 100; Protozoen 443.  
 Brauer *Euscorpius* 297.  
 Braun Alcyonarien 437; Nematoden 429; Turbellarien 432.  
 Braus Gallencapillaren 405; Leber 406; Selachier 286; *Triton* 284.  
 Braus & Drüner Fixiren 23.  
 Brechungszahlen der Intermedien 67.  
 Brechweinstein als Beize 173, 182, 207, 339, 371.  
 Breckenfeld *Hydra* 438.  
 Breglia Myelin 349.  
 Bremer Eosin u. Methylenblau 203; Methode von Cox 451; Nervenenden 321.  
 Bresslau Holzessigkarmin 151; Karmalaun 149; Mesostomiden 302.  
 Breyer Flimmerepithel 227.  
 Brillantkresylblau für Blut 398.  
 Brillantschwarz 3 B 209.  
 Brinkmann Einbetten 85; Fixirgemisch 64.  
*Brisinga* Fixiren 435.  
 Brissy Gefrieren 117.  
 Bristol Wasserstoffhyperoxyd 30.  
 Brock Maceriren 258.  
 Brodie & Russel Blutplättchen 400.  
 Brösike Oxalsäure 224.  
 Bromäthyl zum Lähmen 414.  
 Broman Rekonstruktion 275; Schrumpfen 10.  
 Brombeerroth 212.  
 Bromwasser zum Bleichen 269.  
 Bromwasserstoff für Golgis Methode 369.  
 Brown Geißelfärbung 449.  
 Brucker *Pediculoides* 419.  
 Bruchige Objekte in Paraffin 95.  
 Brücke Berlinerblau 248, 252; Verdauen 261.  
 Brüel Alkohol 57; Dipteren 294.  
 Brühl Korrodiren 263; Ohr 377 — s. auch Bielschowsky & Brühl.  
 Bruhns Ölfarben 253.  
 Brun Medium 230.  
 Brunnenwasser nach Hämalaun 161.  
 Bruno Schleimdrüsen 402.  
 Brunotti Gelatine 114.  
 Bruns Gemisch 230.  
 Bryozoen Betäuben 17; Fixiren 412; Statoblasten 290.  
 Budge Asphaltmasse 253.  
 Budgett Rekonstruktion 273.  
 Bühler Spinalganglien 339.  
 Bürger Aufkleben 127; Methylenblau 188; Nemertinen 430 — s. auch Carrière & Bürger.  
 Bürker Blutplättchen 399.  
 Bütschli Dünne Schnitte 95; Einbetten 84; Hämatoxylin-Eisen 170; Saures Hämatoxylin 165.  
*Bufo* Embryonen 285; Haut 314.  
*Bugula* Betäuben 412.  
 Bujor *Veretillum* 438.  
 Bumpus Celloidin 110; Thymianöl 71.  
 Bunge Flagellaten 448.  
 Bunes Reagens auf Eisen 308.  
 Burchardt Bichromate 38; Holzessigfarben 151; Methylgrün 174; Neuroglia 374.  
 Burckhardt *Protopterus* 332.  
 Burian Guanin 451.  
 Burzyński Fixirgemisch 59; Gelatine 102.  
 Busch (Ch.) Degenerirte Nerven 354; Osmiumsäure 28, 29.  
 Busch (F.) Entkalken 264; Knochen 389, 390.  
 Busch (P. W. C. M.) Glykogen 306.  
 Busse Celloidin 105, 106, 108; Photoxylin 104.  
 Butzke Maceriren 257.  
 Cactusstacheln 425, 426.  
 Cade Magen 405.



- Cadmiumchlorid für Medium 231.  
 Cadmiumsulfür zum Injizieren 249.  
 Cajal s. Ramón (y Cajal).  
 Cajeputöl 70; für Kollodium 303.  
     C. u. Kreosot oder Xylol 338.  
 Calberla Eosin u. Methylgrün 203; Indulin 206; Maceriren 258; Medium 231; Vert en cristaux 173.  
*Calcituba* Fixiren 445.  
 Calciumacetat zum Entsäuren 37.  
 Calciumbichromat 38, 365.  
 Calciumcarbid für Alkohol 57.  
 Calciumcarbonat zum Entsäuren 264, 265; zum Injizieren 254; Löslichkeit in Glycerin 231.  
 Calciumchlorid Brechungszahl 68; für Äther 104; als Medium 227, 228.  
     C. u. Cochenille 157; C. u. Hämatein 165; C. u. Karminsäure 156.  
 Calciumhydroxyd u. Indigo oder Zink 422.  
 Calciumkarminat 157.  
 Calciumnitrat u. Gelatine 250.  
 Calciumoxyd für Alkohol 57.  
 Calciumpikrat u. Erythrosin 379.  
 Caldwell Bandschneiden 97.  
 Calleja Indigkarmin 210.  
 Calvet Bryozoen 412.  
 Cambridge Rocking Microtome 76.  
 Caminiti Silbergelatine 248.  
 Campari s. Ciaccio & Campari.  
 Campecheholz 159.  
 Camsal 237.  
 Canfield Iris 324.  
*Canis* Embryonen 277; Ganglienzellen 329; Hirn 330; Kiefer 390; Kleinhirn 332, 365; Magen 405; Rückenmark 328.  
 Cantacuzène s. Nicolle & Cantacuzène.  
 Capillarheber 7.  
*Capitella* Embryonen 300.  
 Capitelliden 425; Betäuben 16.  
 Caragheen zum Lähmen 443.  
 Carazzi *Aplysia* 292; Aufkleben 119, 128; Biondis Gemisch 199; Bleichen 269; Eisen 308; Einbetten in Paraffin 87; Methode von Cox 370, von Golgis 363; Natriumhyperborat 31; *Ostrea* 413; Sublimat 44, 45.  
*Carchesium* Lähmen 442.  
*Carcinus* Neurofibrillen 342.  
*Carinaria* Larven 414.  
 Carnoy *Ascaris* 303; Fixirgemisch 50; Flemmings Gemisch 36; Mikrochemie 305; Osmiumsäure 227; Tolubalsam 243.  
 Carnoy & Lebrun *Ascaris* 303; Bleichen 269; Congoroth 201; Eisen 308; Embryonen 283; Hämateingemisch 283; Nucleolen 313; Zellkern 306.  
 Carnoys Gemische 50.  
 Carpenter Marineleim 242.  
 Carrière Augen 416; Herbstsche Körperchen 318.  
 Carrière & Bürger *Chalicodoma* 295.  
 Cassiaöl 71.  
*Cassiopeja* Scyphistomen 438.  
 Castle *Ciona* 289.  
 Catois Methylenblau 360.  
 Cattaneo Palladiumchlorür 48; Protozoen 443; Sehnen 322.  
*Caudina* Fixiren 434.  
 Caullery Ascidien 412.  
 Caullery & Chappellier Einbetten 80.  
 Caullery & Lavallée Einbetten 80.  
 Caullery & Mesnil Borrels Gemisch 48.  
 Causard Injektionen 423.  
 Cavalié Elektrisches Organ 378.  
 Cavazzani Säurefuchsin 196.  
*Cavia* Embryonen 277; Hoden 63; Schnecke 376.  
 Cecherelli Goldchlorid 220.  
 Cedernholzöl s. Cedernöl.  
 Cederöl 69, Brechungszahl 68; zum Aufbewahren der Objekte 8; für Celloidin 106; als Medium 13, 212, 238, 435; für Paraffin 83, 84.  
     C. u. Balsam 235; C. u. Bergamottöl 112; C. u. Celloidin 113; C. u. Chloroform 110, 111, 113, 197, 235; C. u. Fenchelöl 273; C. u. Karbolsäure 112; C. u. Nelkenöl 180.  
 Cedernölbalsam 300.



Celloidin zum Aufkleben 129; zum Einbetten 103; zum Korrodieren 264; für Paraffinschnitte 95.

C. u. Cedernöl 113; C. u. Eiweiß 124; C. u. Kampher 296 — s. auch Kollodium, Kolloxylin u. Photoxylin.

Celloidinlösung zum Fixieren 58.

Celloidinmasse zum Injizieren 253.

Celloidinschnitte 10, 109 ff.; Aufkleben 128 ff.

Celloidinum inelasticum 106.

Celluloidmasse 253.

Celluloidplatten für Rekonstruktion 273.

Centralnervensystem der Invertebraten s. bei den Tiergruppen.

Centralnervensystem der Vertebraten 325 ff.; Einbetten u. Schneiden 332 ff.; Färben 334 ff.; Härten 327 ff.

Centrifuge 4, 396, 419, 436, 441, 445.

Centrosomen Färbung 311; in Nervenzellen 336.

Cephalopoden 414; Augen 415; Embryologisches 290 ff.; Muskeln 323; Nerven 415.

Cercarien Fixieren 431.

Cerfontaine *Amphioxus* 289; *Lumbricus* 424.

Certes Ciliaten 442; Cyanin 207; Intravitalfärbung 137; Protozoen 443.

Cesaris-Demel Blut 398.

Cestoden 430; Embryologisches 302.

Chätopoden 424 ff.

*Chaetopterus* Embryonen 300.

*Chalicodoma* Embryonen 295.

Chappellier s. Caullery & Chappellier.

*Chelifer* Chitin 66.

Chenzinski Eosin u. Methylenblau 203.

Chiarugi Embryonen 450.

Chichkoff Turbellarien 432.

Child *Arenicola* 300.

Chilesotti Axencylinder 357.

Chilopoden 419.

Chinablau 207; für Neurokeratin 346.

Chinolinblau (Cyanin) 207.

Chinon für Plankton 411.

*Chironomus* Embryonen 294; Speicheldrüsen 41.

Chitin 420, 421.

*Chiton* Embryonen 293.

Chlor zum Bleichen 268; zum Differenzieren 351.

C. u. Salpetersäure 421 — s. auch Chlorwasser.

Chloralhydrat als Antisepticum 154, 228, 246; zum Betäuben 17; für Hirn 329; zum Macerieren 257; als Medium 228, 229, 231, 232.

C. u. Gelatine 250; C. u. Glycerin 376; C. u. Hämalun 164.

Chloraluminium s. Aluminiumchlorid.

Chlorammonium s. Ammoniumchlorid.

Chlorcadmium s. Cadmiumchlorid.

Chlorealcium s. Calciumchlorid.

Chloreton zum Betäuben 16.

Chlorgold s. Goldchlorid.

Chloriridium s. Iridiumchlorid.

Chlorkalium s. Kaliumchlorid.

Chlorkalk für Nervenfasern 358.

C. u. Soda 268.

Chlorkohlenstoff s. Tetrachlorkohlenstoff.

Chlorkupfer s. Kupferchlorid.

Chlormagnesium s. Magnesiumchlorid.

Chlormangan s. Manganchlorid.

Chlornatrium s. Natriumchlorid.

Chloroform 72, Brechungszahl 68; als Antisepticum 232; zum Ausschütteln 173, 180; zum Betäuben 15, 16; für Blut 395; für Celloidin 107—110, 112; für Harze 233 ff.; für Kopal 115; für Myelin 347; für Paraffin 83, 84.

C. u. Äther 223; C. u. Alkohol 50, 111, 418; C. u. Cedernöl 110, 111, 113, 197, 235; C. u. Cocaïn oder Eucaïn 16; C. u. Essigsäure 50, 418; C. u. Formol oder Pikrinsäure 418; C. u. Sublimat 44.

Chlorophyll als Beize 174.

Chlorpalladium s. Palladiumchlorür.

Chlorplatin s. Platinchlorid.



- Chlorquecksilber s. Quecksilberchlorür u. Sublimat.
- Chlorruthenium s. Rutheniumchlorid.
- Chlorsäure zum Bleichen 268.
- Chlorsilber s. Silberchlorid.
- Chlorstrontium s. Strontiumchlorid.
- Chlorvanadium s. Vanadiumchlorid.
- Chlorwasser zum Bleichen 268, 423.
- Chlorzink s. Zinkchlorid.
- Chlorzinn s. Zinnchlorid und -chlorür.
- Cholesterin 316.
- Chromalaun für Gummi oder Gelatine 127.  
C. u. Hämatoxylin 167; C. u. Kupferacetat 372.
- Chromameisensäure 35.
- Chromate für Hirn etc. 329.
- Chromatin Reaktionen 305 — s. auch Chromosomen.
- Chromessigsäure 35, 18, 283, 285, 287, 435.
- Chromfluorid 350, 372.
- Chromhämatoxylin s. Hämatoxylin-Chrom.
- Chromogen 372.
- Chromosmiumessigsäure 35, 36; zum Entkalken 267; zum Maceriren 259.
- Chromosmiumsäure 35, 438.
- Chromosomen Färbmittel 310; Fixirmittel 309 — s. auch Chromatin.
- Chromotrope 201.
- Chromoxyd 32.
- Chrompikrinsäure 437, 439.
- Chromsäure 32 ff.; zum Beizen 351, 357; für Embryonen 272; zum Entkalken 266, 267; zum Fixiren 290, 291; nach Goldchlorid 221; für Golgis Methode 365; zum Härten 33; zum Maceriren 259; nach Osmiumsäure 30; zum Reinigen von Glas 11; für Resorcinfuchsin 387; zum Vergiften 18.  
C. u. Alkohol 34, 417, 419, 421; C. u. Ameisensäure 35; C. u. Ammoniummolybdat 190, 312; C. u. Chloralhydrat 257; C. u. Eau de Javelle 451; C. u. Essigsäure 35, 38, 50, 267, 283—285, 287, 298, 315, 394, 417, 435, 443; C. u. Formol 62, 64, 394, 405; C. u. Glycerin 417; C. u. Holzessig 312; C. u. Kaliumbichromat 38, 265, 287; C. u. Osmiumsäure 48, 332, 424; C. u. Pikrinsäure 45, 53, 421, 428; C. u. Pikrinsalpetersäure 54; C. u. Pikrinschwefelsäure 278, 286, 437, 439; C. u. Platinchlorid 45, 47, 48, 443; C. u. Salpetersäure 267, 282, 287, 332, 377, 419, 421; C. u. Salzsäure 266, 377, 412; C. u. Schwefelsäure 428; C. u. Sublimat 36, 45, 46, 64, 284, 285, 421; C. u. Tannin 448.
- Chromsalpetersäure zum Bleichen 270.
- Chromsalzsäure 412.
- Chromsulfat u. Kaliumbichromat 334.
- Chromtrioxyd 32.
- Chrysomela* Embryonen 295.
- Chun Seife zum Einbetten 100.
- Ciaccio (C.) Harnsäure 407; Lecithin 384; Sehnen 322; Sublimat 44.
- Ciaccio (G. V.) Goldchlorideadmium 221, 222.
- Ciaccio & Campari Eau de Labarraque 268.
- Ciagliński Anilin 82; Axencylinder 359.
- Ciliano Eläidin 316.
- Cilien s. Flimmerepithel.
- Cilimbaris Muskeln 451.
- Ciona* 412; Betäuben 18; Embryonen 289.
- Cirripeden Embryologisches 299.
- Cistudo* Embryonen 282.
- Citronenöl Brechungszahl 68.
- Citronensäure zum Erweichen 450; für Häkalaun 164; für Hämastrontium 166; für Nerven 326.
- Citronensaft für Goldchlorid 220.
- Cladoceren 420; Embryologisches 299; Nerven 421.
- Clark Corpora lutea 277; Terpentinöl 70.
- Clasmatocyten 386.
- Claudius Brombeerroth etc. 212.
- Clavellina* Fixiren 411.
- Clepsine* Embryonen 300.
- Cobb Differentiator 7, 429.



- Coca Mallorys Methode 381.  
 CocaIn (hydrochlorid) zum Betäuben 17.  
   C. u. Alkohol oder Methylalkohol 427.  
*Coccus cacti* 148.  
 Cochenille 147.  
   C. u. Alaun 150; C. u. Alkohol 157;  
   C. u. Aluminiumsalze 150, 157; C. u.  
   Eisenalaun 152; C. u. Kobaltammoni-  
   umsulfat 151.  
 Cochenilletinktur 157.  
 Cochlea Maceriren 259.  
 Coe *Cerebratulus* 272; *Distomum* 302.  
 Cölenteraten 436 ff.  
 Cörulein S 206.  
 Cohnheim Goldchlorid 219; Nerven-  
   enden 321.  
 Cole Gefrieren 118.  
 Coleopteren Embryologisches 295 ff.;  
   Flügel 421.  
 Coles Blut 394.  
 Collin (A.) *Criodrilus* 424.  
 Collin (R.) Tigroid 339.  
 Collinge Fischeier 288.  
 Colloide in Härtgemischen 26.  
 Colombo Intravitalfärbung 138.  
*Colpidium* Fixiren 445.  
 Colquhoun Zähne 390.  
*Coluber* Embryonen 282.  
 Colucci Neutraler Balsam 235; Retina  
   376.  
*Columba* Embryonen 281; Inneres Ohr  
   62; Nervensystem 340.  
 Compressorium 2, von Ziegler 3, 4.  
 Congo-Corinth G 201.  
 Congoroth 201; für Axencylinder 358;  
   für Nervensystem 335, 337.  
 Conklin *Crepidula* 292; *Fulgur* 292.  
 Conser Bryozoen 412; Rotatorien 428.  
*Convoluta* Fixiren 432.  
 Cooper s. Nuttall, Cooper & Robinson.  
 Copepoden 420; Embryologisches 299.  
*Copilia* Fixiren 418.  
 Coraini Paraffinschnitte 94.  
 Cori Betäuben 16, 17; Flemmings Ge-  
   misch 35; Osmiumsäure 28.  
 Cornea der Vertebraten 318, 214.  
 Cornil Methylviolett 209.  
 Corning Anuren 285; Bleisulfat 371;  
   Neurokeratin 347.  
 Corti Karmin 146.  
 Corti & Ferrata Färbung 141.  
 Coupiers Blau 206.  
 Courmont & André Harnsäure 407.  
 Cox Neurokeratin 346; Spinalganglien  
   339; Sublimatmethode 370.  
 Cramer s. Wilson & Cramer.  
 Creighton Glykogen 306.  
*Crepidula* Embryonen 292.  
*Creseis* Fixiren 414.  
 Cresylol als Intermedium 102.  
 Crinoideen 435.  
*Criodrilus* Betäuben 424.  
 Crismer Absoluter Alkohol 57.  
*Cristatella* Betäuben 16, 17; Stato-  
   blasten 290.  
 Crocein 196.  
 Crownlas Brechungszahl 68.  
 Crustaceen 420 ff.; Embryologisches 298 ff.  
 Cruz Trichter zum Waschen 7.  
 Csokor Alauncochenille 150; Kreissäge  
   389; Terpentin 242.  
 Ctenophoren 440.  
 Cuccati Pikrokarmen 154; Retina 376;  
   Sodakarmin 155.  
*Cucumaria* 434; Kalkkörper 434.  
 Cuénot Blut 394; Echinodermen 433;  
   *Monocystis* 446; Physiol. Injektion 409.  
*Culex* Larven 418.  
 Cumaceen 420.  
 Curare 304, 424.  
 Curreri Golgis Methode 339.  
 Curtis Safraninbase 180.  
 Curtis & Lemoult Bindegewebe 381.  
 Cyanin 207; für Mastzellen 385.  
 Cyankalium s. Kaliumcyanid.  
 Cyanquecksilber s. Quecksilbercyanid.  
 Cybulski Cyankalium 223.  
*Cyclas* Darm 412; Embryonen 293.  
*Cyclops* Embryonen 299.  
 Cyclostomen Embryologisches 288.  
*Cypris* Fixiren 420.



Cytologisches 304 ff.

Czokor s. Csokor.

Daddi Sudan III 382.

Da Fano Neuroglia 373.

Dahlia 181, 385.

Dakin Normalsalzwasser 227; *Pecten* 416.

Dalla Rosa Tusche 253.

Dammarharz 235, Brechungszahl 68; für Rahmen 241.

Dantschakoff Aufkleben 128.

Darm der Vertebraten 405, 62.

Dauen Neutralroth 183.

Davidoff *Distaplia* 289; Pikrinessigsäure 54; Siphonophoren 440; Sublimat 44.

Deane Glyceringelatine 231.

Decker Schnittstrecker 94.

Deckgläser putzen 12, reinigen 11.

Deegener *Hydrophilus* 296; Zimmers Gemisch 52.

Deetjen Agar-Agar 396, 400; Blut 397; Blutplättchen 400; Formol 61.

Definirebenen u. -linien 274, 275.

Deflandre Seifen u. Lecithine 384.

Degenerirte Nerven 353.

De Giacomo Guanin 451.

De Groot Eisenkarmalaun 151; Schlemmkreide 121.

Dejerine Nervencentren 325, 333.

Dekapoden Augen 423; Embryologisches 298.

Dekhuyzen Blut 398, 400; Normalsalzwasser 227; Osmacet 396; Osmirtes Fett 382; Osmiumsäure 27; Silbernitrat 215.

Delafeld Alaunhämatoxylin 164.

Delage *Convoluta* 432; Osmiumkarmin 155; *Spongilla* 442.

Delamare Bindegewebe 381.

Della Valle *Orchestia* 298.

Deltapurpurin 201.

Demoor s. Everard, Demoor & Massart.

Dendrocölen 432.

Dendy *Geonemertes* 429.

Denker Korrodieren 263; Ohr 377.

De' Rossi Geißelfärbung 449.

*Desmognathus* Hirn 332.

Destillirtes Wasser als Medium 226.

Determann Blutplättchen 400.

De Vecchi Photoxylin 104.

De Waele Nachweis von Zucker 51.

De Witt Elastisches Gewebe 388.

Dewitz Injizieren 416.

Dextrin u. Zucker zum Aufkleben 131.

Dextrinlösung zum Gefrieren 118.

Dextrose für Glykogen 307 — s. auch Traubenzucker.

Dezsö Kieselnadeln 441.

Diamant Brechungszahl 68.

Diazingrün 206.

Dichromsäure 32.

*Didelphys* Embryonen 278.

*Diemyctylus* Laich 283.

Differentiator von Cobb 7.

Differenzirung optische 21.

Diffuse Färbung 132.

Diffusionsapparate 7.

Diffusionsgeschwindigkeit der Fixirmittel 22.

Dimmer Aufkleben 131.

Dimmock Karminsäure 147.

Dinitrosoresorcin 346.

Diomidoff Hirn 329.

Dioxynaphthalinsäure 372.

Diphenylaminblau für Protozoen 443.

*Diphyes* Fixiren 439.

Dipnoer Embryologisches 286.

Dipteren Embryologisches 294; Kochen 409; Larven u. Puppen 294, 295.

Direkte Färbung 133.

Disse Zahnbein 392.

Dissektion kleiner Objekte 12.

Dissociation Allgemeines 255.

*Distaplia* Embryonen 289.

*Distoma* Färben 431.

*Distomum* Miracidien 302.

Dixon Radiumbromid 97.

Dobberke Fischnerven 326.

Döderlein Pedicellarien 434.

Döllken Natronseife 100; Resorcin 117;

Weigerts Färbung 351.



- Dogiel Cornea 318; Golgis Methode 364; Iris 323; Methylenblau 184, 186, 189, 191, 192; Riechorgane 318; Sehnen 322.
- Doléris s. Morel & Doléris.
- Dolioliden Fixiren 412.
- Dominici Blut 395.
- Donacia* Embryonen 295.
- Donaggio Axencylinder 357; Hämatoxylin-Zinn 171; Neurofibrillen 342 — s. auch Vassale & Donaggio.
- Donaldson Hirn von *Ovis* 329.
- Doppelfärbung 134, 143.
- Doppelhämateate 167.
- Doppelmesser 4.
- Doppelsäge für Knochen 389.
- Doppelte Einbettung 112.
- Dostoiewsky Iris 324.
- Drasch Papillae foliatae 318; Vergoldung 219.
- Dreifachfärbung nach Flemming 195; nach Galeotti 201; nach Gräberg 201.
- Dreuw Haut 316.
- Drew Orientiren 89.
- Dreyer Nacktschnecken 452.
- Driessen Glykogen 307.
- Drittel-Alkohol 57, 256, 324.
- Druebin Blutplättchen 400.
- Drüner Biondis Gemisch 199; Sublimat 46 — s. auch Braus & Drüner.
- Drüsenmühle von Müller 4.
- Drzewina Zenkers Gemisch 46.
- Duboseq Blut 395, 396; Chilopoden 419; Fixirgemisch 51; Golgis Methode 366; Methylenblau 188.
- Dubreuil Bindegewebe 381; Resorcinfuchsin 388 — s. auch Regaud & Dubreuil.
- Dürck Elastisches Gewebe 388.
- Duerden Aktinien 437; Betäuben 18.
- Dunham Celloidin 111.
- Dunin-Karwicka Indophenol 383.
- Du Plessis Nemertinen 429; Protozoen 444.
- Durig Golgis Methode 366.
- Dustin Neurofibrillen 346.
- Duval Aufkleben 124; Celloidinschnitte 333; *Gallus* 278, 280; Hirn 330; Kollodium 103, 105; Silbernitrat 215, 217.
- Eau de Javelle für Chitin 295; zum Differenziren 351; für Eihüllen 283, 285; zum Korrodiren 263; für Myelin 346.
- E. u. Chromsäure 451.
- Eau de Labarraque Bereitung 268; zum Korrodiren 263.
- E. u. Salzsäure 351 — s. auch Natriumhypochlorit.
- Ebner Entkalken 266.
- Echiniden Ersticken 18, 19.
- Echinodermen 433 ff.; Larven u. Eier 435.
- Echinoideen 434.
- Echinus* Larven 436.
- Echtblau R oder B 206.
- Echtgelb 196.
- Echtgrün 175; für Neurokeratin 346.
- Edinger Entchromung 33.
- Edwardsia* Betäuben 15.
- Ehlers Chromessigsäure 35.
- Ehrenbaum Schleifen 116 — s. auch Heincke & Ehrenbaum.
- Ehrlich (Leo) Plasmazellen 384.
- Ehrlich (P.) Acidophiles Gemisch 207; Alaunhämatoxylin 165; Anilinwasser 180; Blut 399; Chinolinblau 207; Dahlia 181; Gemisch C 207; Gentianaviolett 358; Mastzellen 385; Methylenblau 186, 187; Neutralroth 202; Pyronin 182; Säurefuchsin u. Methylenblau 196; Theerfarbstoffe 140; Triacid 197.
- Ehrlich-Biondis Gemisch 198.
- Ehrlich & Lazarus Alaunhämatoxylin 165; Blut 394, 395, 400; Eosin u. Methylenblau 203; Färbung 133; Glykogen 307; Intravitalfärbung 138; Kresylviolett R 209; Neutrale Farbstoffe 141; Neutralroth 202; Triacid 197; Zellgranula 312.



- Ehrmann Plasmafasern 317.  
 Eichler Ohr 377.  
 Einbetten Allgemeines 9, 75 ff.; kleiner  
 Objekte 79, 87, 88; in Gelatine etc.  
 100; in Kollodium (Celloidin) 103 ff.;  
 in Paraffin 82 ff. (in vacuo 86); in  
 Seife 100.  
 Einbettflasche von Andrews 79.  
 Einbettmassen Allgemeines 76; für Pa-  
 raffinschnitte 98.  
 Einbettmethoden 80.  
 Einbettung doppelte 112.  
 Einschließen der Paraffinschnitte 98.  
 Eisschnitte Veraaschung 452.  
 Eisen (G.) Aufkleben 122, 127; Biondis  
 Gemisch 199; Brasilin 211; Gum Thus  
 236; Iridiumchlorid 48; Ruthenium-  
 roth 225; Thionin 176.  
 Eisen in Geweben 308; in Nucleolen  
 313.  
 Eisenacetat als Beize 170; für Nucle-  
 olen 313; für Schleim 404.  
 Eisenalaun zum Beizen 168, 177, 212;  
 zum Bleichen 31; zum Fixiren 49.  
 E. u. Cochenille 152; E. u. Ferro-  
 cyankalium 251, 343; E. u. Formol  
 332, 452; E. u. Hämatoxylin 167, 168.  
 Eisenammoncitrat 151.  
 Eisenammonchlorid für Methylenblau  
 188.  
 Eisenammonsulfat s. Eisenalaun.  
 Eisenberg Fett 383.  
 Eisenbrasilin 212.  
 Eisenchlorid zum Beizen 170, 351, 352;  
 zum Fixiren 48; zum Imprägniren  
 224; nach Karminsäure 334; für  
 Nerven 346; für Schleim 404.  
 E. u. Brasilin 212; E. u. Ferro-  
 cyankalium 245, 248, 251, 252; E. u.  
 Gallussäure 211; E. u. Hämatoxylin  
 388; E. u. Kaliumbichromat 354; E.  
 u. Karmin 151; E. u. Karminsäure  
 152; E. u. Kresofuchsin 387; E. u.  
 Lugols Gemisch 388; E. u. Osmium-  
 säure 354, 444; E. u. Resorcinfuchsin  
 387 — s. auch Liquor ferri ses-  
 quichlorati.  
 Eisencochenille 152.  
 Eisenhämatoxylin s. Hämatoxylin-Eisen.  
 Eisenkarmalaun 151.  
 Eisenkarminate 151.  
 Eisenoxydammoniumcitrat 151.  
 Eisenoxydsulfat zum Beizen 212; zum  
 Bleichen 31.  
 E. u. Ferrocyanalkalium 247; E. u.  
 Gallussäure 211; E. u. Hämatoxylin  
 168.  
 Eisenoxydulammonsulfat 151; E. u.  
 Tannin 448 — s. auch Ferroammon-  
 sulfat.  
 Eisenoxydulsulfat u. Ferricyankalium  
 248 — s. auch Eisenvitriol und  
 Ferrosulfat.  
 Eisentartrat als Beize 170; für Nucle-  
 olen 313.  
 Eisentinte 211.  
 Eisenvitriol für Haut 316 — s. auch  
 Eisenoxydulsulfat.  
 Eisessig 50, s. Essigsäure.  
 Eisig *Capitella* 300; Capitelliden 16,  
 425; Maceriren 258; Merckels Gemisch  
 47; Sublimat 44.  
 Eismond Kirschgummi 442.  
 Eiweiß zum Gefrieren 117, 118; für  
 Medien 227—229; für Objektträger  
 121; für Parasiten 446, 447.  
 E. u. Celloidin 124; E. u. Glycerin  
 122, 128; E. u. Karmin 250; E. u.  
 Tusche 253; E. u. Wasser zum Auf-  
 kleben 124 — s. auch Eiweißlösung.  
 Eiweißglycerin zum Aufkleben 13, 122,  
 128.  
 Eiweißlösung Brechungszahl 68; für  
 Methylenblau 188; für Toluidinblau  
 192.  
 Ekman Brachiopoden 413.  
 Eläidin 316.  
 Elasthämatein 388.  
 Elastinlack 126.  
 Elastisches Gewebe 386.  
 Eledone Augen 415.



Elektive Färbung 132, 133.  
 Elektrische Organe 378.  
 Elektrischwerden der Schnitte 97.  
 Ellermann Marchis Methode 354 — s.  
 auch Bing & Ellermann.  
 Elschnig Celloidin 104.  
 Embryologisches 271 ff.  
 Embryoskop von Gerlach 279.  
 Emery Injizieren 252.  
 Emich Mikrochemisches 306.  
*Emys* Embryonen 282.  
 Engelmann *Anodonta* u. *Cyclas* 417;  
 Maceriren 259.  
 Enriques Leber 414.  
 Entchromung 33.  
 Enteropneusten 424.  
 Entkalken 264 ff., 377.  
 Entkieseln 267.  
 Entpigmentiren s. Bleichen.  
 Entspriten 65.  
 Entwässern 6.  
 Entz Einbetten 80; Orientiren 89;  
 Protozoen 443.  
 Eosin 202; nach Hämatoxylin-Eisen 170.  
 E. u. Ätheralkohol 395; E. u.  
 Aurantia 207; E. u. Essigsäure 340;  
 E. u. Häkalaun 165; E. u. Indulin  
 207; E. u. Methylblau 207, 208, 336;  
 E. u. Methylenblau 203, 312, 340;  
 E. u. Methylgrün 203; E. u. Orange  
 G 446.  
 Eosinsaures Methylenblau 395.  
*Epeira* Embryonen 297.  
 Epidermis der Vertebraten 314 ff.  
 Epithel der Vertebraten 314 ff.  
 Eppinger Gallencapillaren 406.  
*Erinaceus* Embryonen 278; Nerven-  
 system 365.  
 Erlanger *Ascaris* 303; Tardigraden 297.  
 Erlicki Fixirgemisch 39.  
 Ermengem (van) Geißelfärbung 449.  
 Ernst Verhornung 316.  
 Errera Nigrosin 183.  
 Ersticken 18.  
 Erythrocyten s. Blut.  
 Erythrosin 202; als Reagens 400.

E. u. Anilinwasser 292; E. u.  
 Calciumpikrat 379.  
 Escherich Dipteren 294.  
 Eserinsulfat u. Sublimat 444.  
 Essigsäure (Eisessig) 49; als Ansäurer  
 23; zum Differenziren 337; für Gela-  
 tine 127; nach Goldchlorid 219; nach  
 Hämatoxylin-Eisen 168; zum Mace-  
 riren 259; für Myelin 346; für Nerven  
 326.  
 E. u. Alaunkarmin 150; E. u. Alko-  
 hol 44, 45, 49, 50, 63, 277, 294, 299,  
 301—303, 332, 415, 417—419, 422, 423,  
 426, 435, 446; E. u. Ammoniumoxalat  
 309; E. u. Bismarckbraun 174; E. u.  
 Chloroform 50, 418; E. u. Chromsäure  
 35, 38, 50, 267, 283—285, 287, 298,  
 315, 394, 417, 435, 443; E. u. Dahlia  
 385; E. u. Drittelalkohol 324; E. u.  
 Eosin 203, 304; E. u. Flemmings Ge-  
 misch 445; E. u. Formol 62, 63, 253,  
 286, 294, 339, 394, 418, 422, 446; E.  
 u. Glycerin 259, 299, 326, 417, 435;  
 E. u. Häkalaun 164, 165; E. u.  
 Iridiumchlorid 48; E. u. Kalium-  
 bichromat 39, 40, 62; E. u. Kampher-  
 spiritus 288; E. u. Karmin 151;  
 E. u. Methylgrün 173, 174; E.  
 u. Müllers Gemisch 46; E. u.  
 Osmiumsäure 28, 35, 40, 45, 48, 50,  
 259, 339, 354, 396, 431, 434, 436, 444,  
 447; E. u. Pikrinsäure 45, 52—54, 63,  
 299, 300, 332, 418, 420, 431, 446; E.  
 u. Pikrinsalpetersäure 431; E. u.  
 Pikrinschwefelsäure 281, 287; E. u.  
 Pikrinsublimat 277, 292; E. u. Platin-  
 chlorid 47, 48, 277, 332, 339, 394, 418,  
 431, 443; E. u. Salpetersäure 260, 418;  
 E. u. Sublimat 36, 41, 43—47, 277,  
 286, 300, 303, 339, 418, 420, 435; E.  
 u. Uranacetat 331.  
 Essigsäurekarmin 151.  
 Esterly Mallorys Methode 381.  
 Eternod Hartgummiringe 214; Zu-  
 schneiden 97.  
 Eucaïn zum Betäuben 17.



- Eucalyptol für Sandarak 237.  
 Eucalyptusöl für Harze 233.  
 Eugenol 70; zum Betäuben 450; für Celloidin 105.  
 Eugenol-Kollodium zum Einbetten 90.  
 Euler Formol 59.  
 Eunice Fixiren 425.  
 Euparal 237.  
 Euscorpius Embryonen 297.  
 Eve Sympathicus 340.  
 Everard, Demoor & Massart Häkalaun 165.  
 Ewald Blut 396; Capillarheber 7; Flimmerepithel 315; Knochenstrahlen 393; Waschapparat 7.  
 Exkretionsorgane 408.  
 Exner Myelin 353.  
 Exsiccator beim Einbetten 86.  
 Eycleshymer Celloidin 110, 112.  
  
 Fabre-Domergue Medium 230; Protozoen 443, 444.  
 Färben Allgemeines 132 ff.; F. u. Fixiren zugleich 143; intra vitam 136 — s. auch Färbung.  
 Färbmittel für Chromatin 310; für Plasma 310.  
 Färbung Arten 132; Haltbarkeit 144; Subtraktive 311; Theorie 135 — s. auch Färben.  
 Fajersztajn Axencylinder 357; Neurofibrillen 344; Zunge 318.  
 Fairchild Porzellancyylinder 7.  
 Farbenumschlag 134.  
 Farblacke 140, 160.  
 Farbstoffe adjektive u. substantive 139, progressive 173, regressive 177; Bezug 145; Wahl 142.  
 Farnkrautwolle zum Einbetten 80.  
 Farrants Medium 229.  
 Fauré-Fremiet, Mayer & Schaeffer Mikrochemisches 451.  
 Faussek Cephalopoden 291.  
 Federici Äther 82; Doppelte Einbettung 113; Mastzellen 385.  
 Federkiele bei Sublimat 42.  
 Feilen für Zahnschliffe 390.  
 Feist Methylenblau 191; Orientiren 333.  
 Felis Hirn 330, 366; Kiefer 390.  
 Felix Salmoniden 287.  
 Félizet & Branca Thionin 177.  
 Fenchelöl u. Cedernöl 273.  
 Fenster im Ei von *Gallus* 278.  
 Ferlito s. Motta-Coco & Ferlito.  
 Fernambukholz 211, 349 — s. auch Rothholz.  
 Ferrata s. Corti & Ferrata.  
 Ferreri Entkalken 266.  
 Ferria Elastisches Gewebe 386.  
 Ferriammonalaun und Ferriammon-sulfat s. Eisenalaun.  
 Ferrieyankalium zum Bleichen 30, 339; nach Goldchlorid 223; für Methylenblau 191, 323; als Reagens 308.  
 F. u. Borax 349; F. u. Eisenchlorid 225; F. u. Eisensulfat 248.  
 Ferrisulfat s. Eisenoxydsulfat.  
 Ferroammonsulfat 151; u. Tannin 448 — s. auch Eisenoxydulammonsulfat.  
 Ferrocyankalium zum Bleichen 30; nach Goldchlorid 220; für Methylenblau 191; als Reagens 308.  
 F. u. Eisenalaun 251, 343; F. u. Eisenchlorid 245, 248, 251, 252; F. u. Eisensulfat 247; F. u. Kaliumbichromat 354; F. u. Kupfersulfat 245; F. u. Osmiumsäure 354.  
 Ferrocyan kupfer zum Imprägniren 225.  
 Ferrocyan kupfermasse 245.  
 Ferrosulfat zum Fixiren 432; zum Maceriren 260.  
 Ferrotrioxyhämatein 167.  
 Ferrum oxydatum saccharatum 408.  
 Feste Kohlensäure zum Gefrieren 117.  
 Fett in Geweben 382; Mikrochemie 451.  
 Fettes Öl als Medium 2 — s. auch Öle.  
 Fettponceau 383.  
 Fettzellen 382.  
 Feuchte Kammer 3.  
 Fibrillensäure 186.  
 Fibrin Färben 399, nach Weigert 372.



- Fick Golgis Methode 368; Keratohyalin 316; *Siredon* 283.
- Fieandt Neuroglia 451.
- Fiedler Bleu de Lyon 208; *Spongilla* 440.
- Field & Martin Aufkleben 126; Doppelte Einbettung 113; Orientiren 89; Petroläther 73.
- Fiessinger Glykogen 307.
- Film photographischer 95.
- Filmrollen zum Einbetten 77.
- Filtrirpapier als Unterlage 26.
- Finotti Axencylinder 357; Myelin 355.
- Firniß für Rahmen 241.
- Firnisse 239 ff.
- Fische Embryologisches 286 ff.; Epidermis 315; Fixiren 23; Nerven 326; Rückenmark 335; Schleim 403; Skelett 388, 393.
- Fischeier pelagische 288.
- Fischel Alizarin 209, 421; *Anas* 281; Frommannsche Linien 347; Intravitalfärbung 136, 137; Silbernitrat 216.
- Fischer (A.) Acidophiles Gemisch 207; Alkohol 55; Altmanns Gemisch 40; Chromsäure 32; Eisenhämatoxylin 311; Essigsäure 50; Färbung 135; Fixirmittel 21; Flagellaten 448; Flemmings Gemisch 35; Formol 60; Glykogen 307; Hämalun 162; Hermanns Gemisch 48; Jodgrün 206; Kaliumbichromat 38; Methylgrün 173, 174, 200; Nucleolen 313; Osmiumsäure 31; Salpetersäure 37; Spiegelfärbung 139; Sublimat 42; Thionin 402; Zellgranula 312.
- Fischer (B.) Injiziren 244, 253; Fuchselin u. Safranelin 387; Sudan 383.
- Fischer (E.) Eosin 202; Goldchlorid 220; Tastkörperchen 317.
- Fischer (P.) *Opisthotrema* 431.
- Fischler Fettsäuren 384.
- Fish Celloidin 105, 110, 111; Formol 59; Golgis Methode 366; Hirn 329—332; Sublimat 46; Thymianöl 71.
- Fixiren 5, 20 ff.; von Seethieren; F. u. Färben zugleich 143.
- Fixirmittel 27 ff., 305, heiße 23; Wahl 22; Wirkung 21; für Zellen 370.
- Fixirnatronbad 344.
- Flagellaten 448.
- Flatau Hirn 329; Rückenmark 328; Sublimat 370.
- Flechtsig Goldchlorid 221; Myelin 352; Rothholz 371.
- Fleischer Trichloressigsäure 52.
- Flemming Aufbewahren der Objekte 8; Bindegewebe 379; Chromessigsäure 35; Chromosmiumessigsäure 35, 36; Dahlia 181; Dammar 235; Essigsäure 49; Fettzellen 382; Gastropoden 416; Gentianaviolett 181; Injektionen 416; Knochen 391; Maceriren 256; Magdalaroth 182; Orange G 141, 194, 195; Osmiumsäure 29, 30; Pikrinosmiumsäure 53; Pikrinsäure 52, 193; Regressive Färbung 134; Safranin 179, 180; Seife 100; Solidgrün 175.
- Flemmings Gemisch 35, 36, 300.
- F. u. Essigsäure 445; F. u. Formol 414; F. u. Kupfersulfat 439.
- Flesch Blut 396; Chromosmiumsäure 35; Monobramnaphthalin 233; Myelin 349; Rothkohl 212; Schnecke 377; Zähne 392.
- Flimmerepithel 315.
- Flint Celluloidmasse 253; Verdauen 262.
- Flögel Aufkleben 126.
- Florentin *Spirostomum* 444.
- Florman Celloidin 108.
- Floyd *Periplaneta* 422 — s. auch Parker & Floyd.
- Flügel von Hexapoden 422, 421.
- Flüssige Kohlensäure zum Gefrieren 116.
- Flüssige Luft zum Gefrieren 117.
- Flüssigkeit (Gemisch) von Carnoy etc. s. bei den Autoren.
- Fluorchrom s. Chromfluorid.
- Fluornatrium s. Natriumfluorid.
- Fluorsilber s. Silberfluorid.
- Flußsäure zum Entkieseln 267.



*Flustra* Betäuben 412.

Foa Safranin 180; Zenkers Gemisch 46.

Foettinger Chloralhydrat 17.

Fol Absoluter Alkohol 57; Ammoniumbichromat 40; Aufkleben 127; Berlinerblaugelatine 248; Betäuben 19; Bleichen 30; Dammar 236; Einbetten in vacuo 86; Eisenchlorid 48; Erlitzkis Gemisch 39; Eucalyptusöl 233; Flemmings Gemisch 35; Gelbe Masse 249; Glyceringelatine 232; Karmingelatine 246; Maceriren 257; Metagelatine 249; Osmiumsäure 29, 30; Pikrinchromsäure 53; Pikrinsäure 52; Pikrinschwefelsäure 53; Pikrokarmen 154; Reflektor 93; Rekonstruktion 273; Ribesin 212; Sandarak 238; Silbergelatine 249; Styrax 238; Tintinnen 444.

Fols Gemisch u. Sublimat 374.

Foot & Strobell Paraffinschnitte 93.

Foraminiferen 446.

Formaldehyd 58; s. Formol.

Formalin 58; s. Formol.

Formalin-Alkohol 63.

Formalose 58; s. Formol.

Formamid für Neurofibrillen 343.

Formol 58 ff., neutrales 344; als Beize 172; als Antisepticum 149, 152, 228 etc.; zum Aufbewahren 8; für Embryonen 272; zum Fixiren 60; nach Goldchlorid 223; zum Härten 61, der Gelatine 101; für Hirn etc. 330; zum Maceriren 257; nach Silber 344, 345; nach Sublimat 286.

F. u. Aceton 64, 356; F. u. Äther 438; F. u. Aldehyd 367; F. u. Alkohol 63, 277, 294, 328, 330, 345, 385, 392, 418, 420, 422, 446; F. u. Ameisensäure 63, 220, 221; F. u. Ammoniak 343; F. u. Arsenige Säure 367; F. u. Atropin 444; F. u. Bleiformiat 371; F. u. Chloroform 418; F. u. Chromsäure 62, 64, 394, 405; F. u. Eisenalaun 49, 332, 452; F. u. Essigsäure 62, 63, 253, 286, 294, 339, 394, 418, 422,

446; F. u. Flemmings Gemisch 414; F. u. Gelatine 245; F. u. Glycerin 444; F. u. Hydrochinon 343—345, 367, 371; F. u. Kaliumbichromat 366, 375, 384, 405; F. u. Kaliumsalze 59, 62; F. u. Kupfernitrat 51, 420, 422; F. u. Kupfersalze 63; F. u. Müllers Gemisch 63, 366, 397, 405, 408; F. u. Natriumsulfat 397; F. u. Natriumsulfid 367; F. u. Osmiumsäure 366; F. u. Pikrinsäure 52, 63, 64, 405, 418, 446; F. u. Platinchlorid 63, 64, 360, 394; F. u. Pyrogallol 343, 371; F. u. Salpetersäure 64, 265, 279, 345, 346; F. u. Schwefelsäure 316; F. u. Schwefelwasserstoff 371; F. u. Sublimat 64, 279, 286, 339, 405, 406; F. u. Thionin 402; F. u. Trichloressigsäure 63; F. u. Zenkers Gemisch 46; F. u. Zinkchlorid 330; F. u. Zinnammonchlorid 356.

Formol-Müller 63.

Foster & Balfour *Gallus* 278, 280.

Fränkel Myelin 356.

François-Franck Kautschuk 254.

Francotte Einbetten in vacuo 86; Eisentartrat 170; Eiweißglycerin 123; Methylgrün 174; Polycladen 301; Schnittstrecker 94.

Frankl Glasklötze 78; Glyceringelatine 245.

Freeborn Karminsäure 334; Pikro-nigrosin 379.

Freidenfelt Methylenblau 188.

Freiling Flügel 422.

Frenkel Palladiumchlorür 48.

Frenzel Aufkleben 127; Sublimat 44.

Freud Maceriren 260.

Frey (H.) Ammoniakkarmen 155; Jodserum 228; Sublimat 43; Weiße Masse 249.

Frey (M. v.) Markscheiden 355.

Friedenthal Fixirgemisch 51; Gelatine 245.

Friedländer (B.) Golgis Methode 361; Siphonophoren 439.

Friedländer (C.) Alaunhämatoxylin 165.



Fromherz s. Thoma & Formherz.

Frommannsche Linien 347.

Froriep Maceriren 259.

Froschhalter 3.

Fruchtzucker als Medium 230.

Fuchselin 387; u. Scharlach R. 388.

Fuchselinscharlach 388.

Fuchsin 182.

F. u. Alkohol 391; F. u. Eisensalze 448; F. u. Jodgrün 313; F. u. Karbolwasser 337; F. u. Kollodium 391; F. u. Resorcin 387; F. u. Tannin 448.

Fuchsin S 196; s. Säurefuchsin.

Fuchsintannat 182.

Fühner Methylgrün 173.

Fürst *Ascaris* 303; Bleichen 269; Centrosomen 311.

Fuhrmann Celloidin 104; Einbetten 86.

Fulgur Embryonen 292.

Fuliński s. Nusbaum & Fuliński.

Funck Messerschneide 90.

Fusari Knorpel 393.

Fuss Aceton 58.

Gad & Heymans Myelin 346.

Gage Alaunlösung 260; Aufkleben 126, 128; Celloidin 110; Diffusionströme 143; Entkalken 265; Formol 257; Glykogen 306; Kaliumacetat 257; Medium 229; Pikrinsäure 52, 259; Pikrokarmine 154; Rekonstruktion 274; Schießbaumwolle 105; Stärke 254.

Gager Radiumbromid 97.

Galeotti Dreifachfärbung 201; Intravitalfärbung 137; Neutralroth 202.

Galesescu Neuroglia 374.

Gallein für Glykogen 307; u. Alaun 183.

Gallein-Paste als Beize 358.

Gallemaerts Aufkleben 126.

Galli Neurokeratin 346.

Gallus Embryologisches 278 ff.; Inneres Ohr 62; Nervensystem 340.

Gallussäure nach Eisenchlorid 49, 224.

G. u. Eisenchlorid 307; G. u. Eisensalze 211; G. u. Natriumacetat oder

Tannin 345 — s. auch Gerbsäure u. Tannin.

*Gammarus* Eier einbetten 85.

Gandolfi Doppelte Einbettung 113.

Garbini Alcyonarien 437; Anilinblau 208; Dammar 236; Einbetten in vacuo 86; Muschelwasser 228; Safranin 180.

Gardiner *Polychoerus* 301.

Gardner Elastisches Gewebe 386; Fixiergemisch 49.

Gariaeff Neurofibrillen 345.

Garnier Bouins Gemisch 63.

Gaskell Aufkleben 120.

Gastropoden Fixiren 413; Augen 416; Embryologisches 291 ff.; Schalen 116.

Gaule Aufkleben 119.

Gaules Gemisch 43.

Gaultheriaöl 71.

Gavazzeni Trichohyalin 316.

Geberg Goldchlorid 222; Herbstsche Körperchen 318; Nerven 326.

Gebhardt Aufkleben 126; Linse 319; Maceriren 257.

Gebrannter Alaun u. Cochenille 150.

Gebrauchte Deckgläser und Objektträger 12.

Gedoelst Neurokeratin 346 Verdauen 262.

Gefäße (Adern) Auswaschen 244.

Gefäße zum Einbetten 77; zum Schnittfärben 10.

Gefriermassen 116 ff.

Gefriermethode 116.

Gefriermikrotom 75.

Gefrierschnitte veraschen 452.

Gehirn s. Centralnervensystem.

Gehuchten (van) Fixiergemisch von Zacharias 50; Golgis Methode 363; Tigroid 338.

Gehuchten (van) & Nelis Spinalganglien 340.

Geißeln der Flegellaten 448.

Gelatine zum Aufkleben 127, 131; zum Einbetten 100, 114; beim Einbetten in Paraffin 89, 90; zum Gefrieren 117, 118; für Golgis Methode 367;



- zum Injizieren 245 ff., flüssige 249;  
zum Lähmen 442.  
G. u. Formol 245; G. u. Glycerin 245.  
Gelatinefolie für kleine Objekte 436.  
Gelatinekapseln zum Einbetten 79; beim  
Paraffinschneiden 95.  
Gelbe Masse zum Injizieren 249.  
Gelder *Mysis* 51.  
Gelpke Weigerts Nervenfärbung 349.  
Gemelli Geißelfärbung 449.  
Gemisch von Ehrlich etc. — s. bei den  
Autoren.  
Gentianablau 6 B 207.  
Gentianviolett 181; für Axencylinder  
358; Neutrales 195.  
G. u. Methylgrün 436; G. u. Orange  
G 195; G. u. Safranin 181, 195.  
Geoffroy Glyceringelatine 232.  
*Geonemertes* Fixiren 430.  
Gephyreen 426.  
Gerbsäure nach Eisenchlorid 352; zum  
Maceriren 259; nach Methylenblau  
356; nach Osmiumsäure 354; nach  
Toluidinblau 356; nach Vanadium-  
chlorid 376.  
G. u. Orcein 212 — s. auch Gallus-  
säure u. Tannin.  
Gerhardt *Tropidonotus* 282.  
Gerlach (J.) Goldchloridkalium 222;  
Karmin 146; Karmingelatine 247;  
Pikrinsäure 194.  
Gerlach (L.) Embryoskop 279; Fenster  
278; Glyceringelatine 232; Nerven-  
enden 321.  
Gerota Formol 59; Golgis Methode 366;  
Hirn 330; Myelin 349; Ölfarben 253;  
Silbernitrat 216.  
Gerould Betäuben 18; *Caudina* 434.  
Gesättigte Lösungen 178.  
Gewebe überlebende 4.  
Giacomo s. De Giacomo.  
Gibbes Boraxkarmin 155.  
Giemsa Methylenazur 204, 205.  
Gierke Anilin-Blue-Lack 334; Mace-  
riren 258; Urankarmin 155.  
Giesbrecht Aufkleben 125; Chloroform  
72; Copepoden 420; Einbetten 84;  
Filmrollen 77; Intermedien 66;  
Schleifen 115; Stomatopoden 420;  
Sublimat 43 — s. auch Andres, Gies-  
brecht & Mayer.  
Gieson (van) Formol 330; Origanumöl  
70; Säurefuchsin 196.  
Giglio-Tos Blut 394, 398, 399; Neutral-  
roth 202.  
Gilson Camsal 237; Celloidin 110, 111;  
Entchromung 33; Euparal 237; For-  
molgemisch 64; Glyceringelatine 232;  
Kupferniträt 51; Medium 228; Sper-  
matozoen 28; Sublimat 45; Uran-  
acetat 51; Zinkchlorid 49.  
Gilsons Sublimatgemisch 45.  
Giltay Leinöl 238; Mikrotom 76.  
Gips beim Injizieren 416, 417.  
Gitterfasern in Leber u. Milz 406.  
Glätten der Paraffinschnitte 97.  
Glasflasche zum Einbetten 79.  
Glasklötze zum Einbetten 78.  
Glasplatten für Rekonstruktion 273.  
Glastrog zum Einbetten 80.  
Glastuben zum Schnittfärben 10.  
Glaswolle zum Filtriren 231; beim  
Härten 26, 338.  
Glaszellen 242.  
Glaue *Ascaris* 429.  
Glia s. Neuroglia.  
Glycerin Brechungszahl 68; als Medium  
230, 231; zum Reduziren 216, 220.  
G. u. Alkohol 8, 16, 231, 269, 417;  
G. u. Berlinerblau 251; G. u. Chloral-  
hydrat 376; G. u. Chromsäure 417;  
G. u. Eiweiß 122, 128; G. u. Essig-  
säure 259, 299, 326, 417, 435; G. u.  
Formol 444; G. u. Gelatine 231, 245;  
G. u. Gummigutt 251; G. u. Häm-  
alaun 164, 165; G. u. Hausenblase  
231; G. u. Kalilauge 388; G. u.  
Kaliumacetat 59; G. u. Karmin 250;  
G. u. Methylalkohol 256; G. u.  
Salpetersäure 260; G. u. Salzsäure  
260, 266; G. u. Schwefelammonium



- 308; G. u. Sublimat 435; G. u. Wasserglas 353.
- Glycerinäthergemisch nach Unna 184.
- Glyceringelatine für Celloidinblöcke 108; zum Einbetten 101; zum Injizieren 245; als Medium 231; für Nematoden 429; für Papierzellen 241.
- Glycerin-Karmalaun 149.
- Glychämalaun 164.
- Glycol 184.
- Glykogen 306.
- Goadby Medium 229; Sublimat 43.
- Godlewski Perényis Gemisch 34.
- Götte Embryonen 285.
- Gold kolloidales 346.
- Goldchlorid 219 ff.; nach Jod 371; nach Silber 344—346.
- G. u. Alkohol 368; G. u. Sublimat 371.
- Goldchlorideadmium 221.
- Goldchloridkalium 221, 322.
- Goldchloridnatrium 219.
- Goldgrund 242.
- Goldorange 195, 384.
- Goldsize 242.
- Golgi Binnennetze 366; Goldchloridkalium 222; Injizieren 326; Silbernitrat 361 ff.; Sublimat 369 ff.
- Golgis Methoden mit Höllenstein 361; mit Sublimat 369.
- Golgische Binnennetze 366.
- Golgische Körperchen 322.
- Golodetz s. Unna & Golodetz.
- Golodetz & Unna Cholesterin 316; Eisenchlorid 225; Manganoxyd 225.
- Golovin Hämatoxylin - Molybdän 171; Neutralroth 202.
- Goodall Rückenmark 332.
- Goodsiria Knospen 290.
- Gordius Fixiren 429.
- Gorgonia Fixiren 437.
- Goronowitsch Salmoniden 287.
- Gothard Tigroid 338.
- Goto *Asterias* 435; Sublimat 44.
- Gräberg Dreifarbengemisch 201.
- Graefe Paraffin 83, 87.
- Graf Fixirgemisch 34; Hirudineen 426; Pikro-Formalin 63.
- Graff Acölen 432; Landplanarien 432.
- Gram Jodjodkalium 181.
- Grandis Eiweißglycerin 123.
- Grandis & Mainini Kalksalze 308.
- Grand-Moursel & Tribondeau Pankreas 404.
- Grandryse Körperchen 318.
- Granula s. Zellgranula.
- Graphische Rekonstruktion 273.
- Graser Fuchsin 182; Methylviolett 181.
- Grassi Malaria 447.
- Gravis Aufkleben 127.
- Gray Aufkleben 127; Ohr 378.
- Greeff Retina 374.
- Grenacher Alaunhämatoxylin 164; Alaunkarmin 150; Augen 415; Bleichen 269; Boraxkarmin 155; Purpurin 209; Rizinusöl 238; Salzsäurekarmin 156.
- Greppin Bromiren 369.
- Grieb Alaunkarmin 150.
- Griesbach Benzopurpurin 201; Blut 396; Bordeauxroth 201; Congoroth 201; Elastisches Gewebe 386; Helianthin 195; Jodgrün 206; Metanilgelb, Säuregelb etc. 196; Rose bengale 202; Scharlach 201.
- Grönroos *Salamandra* 284.
- Groot s. De Groot.
- Grosser Tusche 252.
- Grübler & Hollborn Gentianaviolett 181; Goldsalze 219.
- Grüne Masse zum Injizieren 249.
- Grünstein Harnblase 324.
- Gryllotalpa* Embryonen 295.
- Grynfeldt & Mestrezat Chlorsäure 268.
- Guanin Nachweis 451.
- Guarnieri Hämatoxylin-Eisen 170.
- Guccione s. L'Hermitte & Guccione.
- Gudden Golgis Methode 365; Weigerts u. Pals Färbung 351.
- Gudernatsch Objektträger 121.
- Gudger Knochenfische 286.
- Guéguen Methylsalicylat 71.
- Günther (G.) Orcein 386.



- Guenther (K.) Flügel 421.  
 Günther (M.) Haare 316.  
 Guernsay Blue 206.  
 Guerrini Orcein 386.  
 Guieysse Becherzellen 402; Lichtgrün 206.  
 Guignard Hämatoxylin-Zink 171.  
 Guignet Blaue Masse 249.  
 Gulland Blut 395, 397, 399; Fixirgemisch 63.  
 Gummi arabicum Brechungszahl 68; zum Aufkleben 126; zum Einbetten 114, 389, 391; zum Einschließen 235; zum Injizieren 250; als Medium 229.  
     G. u. Bichromat 353; G. u. Zucker 190.  
 Gummiglycerin zum Einbetten 114.  
 Gummigutt u. Glycerin 251.  
 Gummischleim zum Gefrieren 118; zum Lähmen 443.  
 Gummisyrup von Apáthy 190; als Medium 230.  
 Gumpertz s. Heller & Gumpertz.  
 Gum Thus 236.  
 Gurwitsch Hämatoxylin-Eisen 169.  
 Gutmann Schnellhärtung 62.  
 Guttapercha zum Aufkleben 127.  
 Guyer Laich 282.  
*Gymnotus* Elektrisches Organ 378.  
  
**Haack** Doppelhämateate 167.  
 Haare der Vertebraten 316.  
 Häcker *Cyclops* 299; *Myzostoma* 301; *Sida* 299; Zellkern 306.  
 Hämacalcium 165, 280, 300.  
 Hämalalaun 162, saures 164; nach Boraxkarmin 300.  
     G. u. Eosin 165; G. u. Lichtgrün 385; G. u. Safranin 385.  
 Hämastrontium 166.  
 Hämatein 160; für Kalk 308.  
     H. u. Alaun 163—165; H. u. Aluminiumnitrat 164; H. u. Chloraluminium 165, 403; H. u. Chlorcalcium 165; H. u. Chlorstrontium 166; H. u. Eisenacetat 170; H. u. Eisensulfat 168.  
 Hämatein I A von Apáthy 165.  
 Hämatein-Ammoniak 160, 161.  
 Hämatein-Mangan 408.  
 Hämatein-Thonerde 158, 161 ff.; für Nerven 321, 322, 357; für Schleim 401.  
     H. u. Eosin 202.  
 Hämateintinktur von Apáthy 165.  
 Hämatoxylin 160; für Eisen u. Kupfer 308; für Glykogen 307; für Kalk 309; für Nervenzellen 337.  
     H. u. Alaun 162, 164, 165; H. u. Ammoniumvanadat 171; H. u. Chromalaun 167; H. u. Eisenalaun 167; H. u. Eisenchlorid 388; H. u. Kaliumbichromat 167, 168, 172; H. u. Kaliumchromat 167; H. u. Lithiumcarbonat 349; H. u. Lugols Gemisch 388; H. u. Molybdänsäure 171; H. u. Natriumjodat 160; H. u. Osmiumsäure 452; H. u. Phosphormolybdänsäure 171; H. u. Phosphorwolframsäure 171; H. u. Zinnammonchlorid 171.  
 Hämatoxylin-Chrom 167, 168; für Axencylinder 357; für Fett 383.  
 Hämatoxylin-Eisen 168, 170, 452.  
 Hämatoxylingemische 158 ff.; von Kleinenberg 166.  
 Hämatoxylin-Kupfer 170; für Nervensystem 335, 357.  
 Hämatoxylin-Magnesium 171.  
 Hämatoxylin-Molybdän 171, 335.  
 Hämatoxylin-Vanadium 171; für Axencylinder 356.  
 Hämatoxylin-Wolfram 171.  
 Hämatoxylin-Zink 171.  
 Hämatozoen 446.  
 Haemers Hämatoxylin-Eisen 170.  
 Härtmittel 27 ff.; für Centralnervensystem 328 ff.  
 Härtung 5, 25.  
 Hahn Einbetten 87.  
*Halicryptus* Fixiren 427.  
 Halle & Born Celloidin 106.  
 Haller Maceriren 259.  
 Halliburton s. Mott & Halliburton.  
 Hamaker *Nereis* 425.



- Hamann Acanthocephalen 428; Am-  
 moniakkarmin 155; Asteroideen 434;  
 Tracheaten 421.  
 Hamburger (C.) *Argyroneta* 297.  
 Hamburger (H. J.) Formol 60, 61;  
 Normalsalzwasser 227; Tusche 253.  
 Hamilton Gefrieren 117; Hirn 329.  
 Handwerck Fett 382, 383.  
 Hangender Tropfen 5.  
 Hannover Chromsäure 32.  
 Hansen Bindegewebe 381; Chrom-  
 hämateine 167; Eisencochenille 152;  
 Eisenhämatein 167; Eosin 203; Fär-  
 bung 135; Hämalan 164; Hämatein  
 159; Knorpel 388; Metachromasie  
 402; Orcein 386; Säurefuchsin 196.  
 Hantsch Medium 231.  
 Hardy Rotatorien 427.  
 Hari Schleim 401.  
 Harmer Plasticin 274; Versilbern 217.  
 Harnblase von *Rana* 324.  
 Harnsäure in Niere 407.  
 Harnstoff für Medium 227.  
 Harris (D. F.) Berlinerblau 252.  
 Harris (H. F.) Elasthämatein 388; Hä-  
 malan 164; Markscheiden 356; Me-  
 thylenazur 205; Methylenblau 191;  
 Muchämatein 403; Nervenzellen 337;  
 Toluidinblau 177, 192.  
 Harrison Salmoniden 287.  
 Hart Resorcinfuchsin 387.  
 Hartgummiringe für Membranen 214.  
 Hartig Karmin 146.  
 Harting Chlorcalcium 228; Gummigutt  
 251; Weiße Masse 249.  
 Harvey (B. C. H.) Magen 405.  
 Harvey (E. N.) Parthenogenese 450.  
 Harvey & Wilkie Brechungszahlen 67.  
 Harze Allgemeines 233, 234.  
 Haswell Differentiator 7; *Temnocephala*  
 302.  
 Hatschek Mikrotom 76.  
 Hauck Muskeln 320.  
 Haug Boraxkarmin 155; Entkalken 266,  
 267; Myelin 352.  
 Hausenblase u. Glycerin 231.  
 Haut der Vertebraten 314 ff.  
 Hautnerven der Vertebraten 317.  
 Hautskelett der Arthropoden 418.  
 Havet *Metridium* 437.  
 Hayem Blut 394, 397.  
 Heidecke Amphipoden 298; Einbetten 85.  
 Heidenhain (M.) Aufkleben 122; Azo-  
 karmin B 201; Benzopurpurin 6 B 201;  
 Blauschwarz B 208; Bordeaux R 311;  
 Brillantschwarz 3 B 209; Centrosomen  
 311; Chromotrope 201; Cörulein S  
 206; Congo-Corinth G 201; Einbetten  
 82, 84; Eiweißlösung 123; Färbung  
 135, 136; Fettzellen 382; Glycerin-  
 gelatine 232; Hämatoxyline 167;  
 Hämatoxylin-Chrom 167; Hämatoxy-  
 lin-Eisen 168; Hämatoxylin-Vanadium  
 171; Intravitalfärbung 138; Messer-  
 stellung 90; Methylalkohol 178;  
 Nervenfärbung 348; Objektträger 121;  
 Osmiumsulfid 31; Paraffin 99; Re-  
 gressive Farbstoffe 178; Safranin  
 180; Salicylsäure 54; Schwefelkohlen-  
 stoff 73; Sublimat 42, 43; Subtraktive  
 Färbung 311; Subtriessig 52; Thionin  
 176; Triacid 198 ff.; Trichloressig-  
 säure 51.  
 Heidenhain (R.) Hämatoxylin-Chrom 167;  
 Triacid 198.  
 Heider Doppelte Einbettung 112; Pa-  
 raffinschnitte 95.  
 Heilmeyer Myelin 351.  
 Heimann Brasilin 211; Nervenzellen  
 336; Orcein 212.  
 Heincke & Ehrenbaum Fischeier 288.  
 Heine Imprägnieren 225; Phosphor 307;  
 Zellkern 306.  
 Heinrich Bindegewebe 380.  
 Heinz Formol 61; Knochenmark 64;  
 Leber 406.  
 Heißes Wasser s. Wasser.  
 Helbing Celloidin 108.  
 Held Aceton 44; Hämatoxylin-Eisen 169;  
 Inneres Ohr 62; Nervenzellen 336;  
 Paraffinschnitte 93; Pikrinschwefel-



- säure 53; Sublimat 44 — s. auch Ambronn & Held.
- Helianthin (Orange III) 195, 433.
- Helix* 414; Augen 416; Embryonen 291; Gefäße 416; Nervenzellen 415.
- Heller Myelin 355.
- Heller & Gumpertz Myelin 355; Osmiumsäure 224.
- Helly Objektträger 121; Zenkers Gemisch 46.
- Hemenway *Scutigera* 423.
- Henchman Gastropoden 291.
- Hendrickson Maceriren 260.
- Henking Dipteren 294; Insekten 293; Medium 231; Paraffinschnitte 95; Phalangiden 297.
- Henneberg Band ohne Ende 97.
- Henneguy Aufkleben 124, 127; Beizen 172; Bruns Gemisch 230; Embryologisches 271 ff.; *Helix* 291; Johnsons Gemisch 40; Protozoen 443; Safranin 180; Salmoniden 287; Thionin 176 — s. auch Lee & Henneguy.
- Hennings Bleichen 270; Tracheaten 421.
- Hénocque Goldchlorid 221.
- Hensen Schneideapparat 76.
- Heptamethylpararosanilinchlorid 173.
- Herbst Crustaceen 420, 421; Formol 60.
- Herbstsche Körperschen 318.
- Herdman s. Boyce & Herdman.
- Herla Vesuvium 176.
- Hermann (E.) Färbung 134; Safranin 179.
- Hermann (F.) Archoplasma 311; Centrosomen 311; Formol 59, 61; Gemisch 47; Hämatoxylin 171; Holzessig 224; Papillae foliatae 318; Safranin 181.
- Hermanns Gemisch 47, 310.
- Hérouard *Cucumaria* 434.
- Herpetomonas* Fixiren 447.
- Herrick (C. J.) *Menidia* 332; Myelin 348.
- Herrick (F. H.) *Astacus* 298.
- Herrmann s. Tourneux & Herrmann.
- Hertwig Anuren 284; Fixirgemisch 64; Maceriren 259; Medusen 439; Silbernitrat 215, 217; *Triton* 284.
- Herxheimer Fett 383; Kresylechtviolett 209; Plasmafasern 317.
- Herzog Bleichen 269; Linse 319; Retina 374, 376.
- Hesse Augen 415, 416, 423.
- Hessert Geißelfärbung 449.
- Heteropoden Augen 415.
- Heurck (van) Monobromnaphthalin 233.
- Hexamethylpararosanilinchlorid 181.
- Hexanitrodiphenylamin 196.
- Hexapoden 418 ff.; Embryologisches 293 ff.
- Heydenreich Firnisse 243.
- Heyder *Arion* 292.
- Heymans Bromäthyl 414 — s. auch Gad & Heymans.
- Heymons Blattiden 296; Perényis Gemisch 34.
- Hickson Brasilin-Eisen 212; Maceriren 256, 257; *Musca* 423.
- Hill (A.) Golgis Methode 365; Myelin 352.
- Hill (E. C.) Embryonen 275.
- Hill (J. P.) s. Wilson & Hill.
- Hindle Trypanosomen 447.
- Hippel Retina 375.
- Hirn s. Centralnervensystem.
- Hirota *Gallus* 280.
- Hirschfeld Blut 399.
- Hirschfelder Rotatorien 452.
- Hirschler *Donacia* 295.
- Hirudineen 426; Betäuben 19; Embryologisches 300.
- Hirudo* Embryonen 300; Nerven 189, 341, 342.
- His Cornea 319; Imprägnation 213; Rekonstruktion 275; Salpetersäure 37; Selachier 286.
- Histriobdella* Nephridien 450.
- Hitze für Blut 395; zum Tödten 14.
- Hochstetter Celloidinmasse 253; Tusche 253.
- Hoden 409; Maceriren 259.
- Höber Intravitalfärbung 138.
- Hoehl Fixirgemisch 40; Verdauen 262.
- Höhnel Knochen 389.



- Höllenstein s. Silbernitrat.  
 Hofer Betäuben 17; Pikrinessigsäure 431.  
 Hoffmann (E. H.) Blastoderm 279.  
 Hoffmann (F. W.) Einbetten in vacuo 86.  
 Hoffmann (R. W.) Chitin 422; Collem-bolen 418; Orientiren 89.  
 Hofmann (K.) Medium 227.  
 Hofmann (K. A.) Berlinerblau 247.  
 Hofmann (M.) Tusche 253.  
 Hofmanns Grün 206.  
 Hoggans Eisenchlorid 224; Hartgummi-ringe 214; Silbernitrat 215.  
 Holl Toluol 73.  
 Hollborn s. Grübler & Hollborn.  
 Hollundermark künstliches 101; Rahmen 215.  
 Hollunderroth 212.  
 Holm Leber 406.  
 Holmes *Planorbis* 292.  
 Holmgren Methylenblau 187; Trichlor-essigsäure u. Trichlormilchsäure 51.  
 Holmgrensche Zellkanäle 343.  
*Holothuria* 434; Betäuben und Er-sticken 18.  
 Holothurioideen 433.  
 Holzessig für Chitin 422; als Medium 229; nach Osmiumsäure 54, 224.  
 H. u. Chromsäure 312; H. u. Karmin 151.  
 Holzessigfarben 151.  
*Homarus* Augen 423; Embryonen 298; Leber 414; Nerven 188.  
*Homo* Blut 394; Haut 316; Hirn 325 ff.; Knorpel 392; Neuroglia 372; Placenta 410; Retina 374; Submaxillaris 404; Uterus 409; Zahnbein 392.  
 Hopewell-Smith Odontoblasten 390.  
 Horn 316.  
 Hornell Formol 62, 63.  
 Hornhaut s. Cornea.  
 Hoskins Anuren 284; *Gallus* 279.  
 Hottinger Gummi arabicum 235; Os-mirtes Fett 382.  
 Hoyer (sen.) Ammoniakkarmin 153; Blaue etc. Massen 249; Formol 60, 61; Goldchloridkalium 221; Karmin-gelatine 246; Karminlösung 246; Leinölkitt 254; Medium 229; Ölfarben 253; Pikrokarmin 154; Schellack-masse 253; Schleimfärbung 401, 402; Silbergelatine 248; Silbernitrat 215; Zenkers Gemisch 46.  
 Hoyer (jun.) *Colpidium* 445; Injiziren 244; Jodgelatine 249.  
 Hrdlicka Hirn 328.  
 Huber Celluloidmasse 253; Golgis Me-thode 368; Markhaltige Nerven 347.  
 Hubrecht *Sorex* etc. 278.  
 Hudson Rotatorien 427.  
 Hühnereiweiß s. Eiweiß.  
 Hürthle Muskeln 320.  
 Hultgren & Andersson Nebenniere 408.  
 Humor aqueus als Medium 227; für Methylenblau 188.  
 Hunter Golgis Methode 362.  
*Hyalea* Fixiren 414.  
 Hyaloplasma Fixirmittel 310.  
 Hyatt Schellack 114.  
*Hydatina* 427, 428; Embryonen 301.  
*Hydra* Fixiren 428, 438.  
 Hydrochinon für Methylenazur 204; nach Pyronin 182, 384; nach Silber 216, 343—345.  
 H. u. Formol 367, 371; H. u. Natriumsulfit 367, 369.  
 Hydroiden 438; Betäuben 17; Ersticken 18.  
 Hydromedusen 438.  
*Hydrophilus* Embryonen 296; Nerven-enden 321.  
 Hydroxylamin zum Betäuben 17.  
 Hymenopteren Embryologisches 295.  
 Hypersulfate zum Bleichen 269; zum Oxydiren 164.  
 Jackson Färben der Paraffinschnitte 10; Fuchsin 182; Intermedien 66; Medium 230.  
 Jacobs Gefrieren 118.



- Jäderholm Donaggios Methode 342.  
 Jäger Medium 231.  
 Jänichen Planarien 432.  
*Jaera* Embryonen 299.  
 Jakimowitsch Axencylinder 347; Silber-  
 nitrat 216.  
 Jander Bleichen 270.  
 Janssens Hämatoxylin - Eisen 170;  
 Patentblau 208.  
 Janusgrün 206.  
 Japanische Aufklebemethode 124.  
 Japanisches Rothholz 352, 371.  
 Jaquet Gefäße 426; *Lumbricus* 424.  
 Jaschtschinski Wasserglas 254.  
 Ide Doppelte Einbettung 112; Stachel-  
 zellen 315.  
 Jelgersma Anilin-Blue-Black 334.  
 Jelinek Pikrinsäure 52; Stabilität 109.  
 Jennings Rotatorien 301.  
 Jensen Ciliaten 442.  
 Igelstacheln 42, 214, 280, 322, 421.  
 Ijima Planarien 301.  
 Ilberg Tigroid 338.  
 Imprägnation 212 ff.; mit Gold 217; mit  
 Silber 214; mit anderen Metallen 224  
 — s. auch Golgis Methoden.  
 Indaminblau 207.  
 Indifferente Medien 226.  
 Indigen 206.  
 Indigkarmin 210; zum Injizieren 251.  
 Indigo für Tracheen 422.  
 Indigweiß für Tracheen 422.  
 Indirekte Färbung 133.  
 Indoinblau BB u. Alaun 339.  
 Indophenol für Fett 383.  
 Indulin 206.  
 I. u. Alaun 207; I. u. Aurantia 207;  
 I. u. Eosin 207.  
 Indulin-Aurantia-Eosin 207.  
 Injektionen 244 ff., natürliche 254,  
 physiologische 408; für Korrosions-  
 präparate 263.  
 Injizieren 244 ff.  
 Inneres Ohr der Vertebraten 376 ff., 62.  
 Insekten 418 ff.; Embryologisches 293 ff.  
 Intercellularkanäle 315.  
 Intermedien 9, 65 ff.; Eintheilung 67;  
 optische Eigenschaften 67.  
 Intravitalfärbung 136; mit Methylen-  
 blau 185 ff.  
 Inversion der Färbung 173.  
 Jod als Beize 139; zum Fixiren 37; für  
 Glykogen 306.  
 J. u. Alk. zum Härten 331, 332;  
 J. u. Sublimat 395 — s. auch Jod-  
 kalium, Jodtinktur u. Jodwasser.  
 Jodgrün 206; u. Fuchsin 313.  
 Jodjodkalium für Blut 394, 396; zum  
 Fixiren 37; nach Flemmings Gemisch  
 447; für Hirn 331; zum Maceriren  
 256; für Methylenblau 191; nach  
 Sublimat 42; nach Theerfarbstoffen  
 181 — s. auch Lugols Gemisch.  
 Jodkalium s. Kaliumjodid.  
 Jodnatrium s. Natriumjodid.  
 Jodpalladium s. Palladiumjodid.  
 Jodquecksilber s. Quecksilberjodid.  
 Jodsäure für Blut 398.  
 Jodserum zum Maceriren 256; als  
 Medium 227, 228.  
 Jodsilber u. Silbernitrat 216.  
 Jodtinktur nach Goldchlorid 30; für  
 Serum 227, 228; nach Sublimat 42.  
 J. u. Sublimat 44; J. u. Zenkers  
 Gemisch 46.  
 Jodviolett für Mastzellen 385.  
 Jodwasser nach Hämalan 283.  
 Joest *Lumbricus* 426.  
 Johne Gefrieren 116.  
 Johnson Fixirgemisch 40; Metallsalze  
 213; Nervenzellen 337; Retina 50, 375.  
 Johnsons Gemisch 40; ohne Platin-  
 chlorid 315.  
 Johnston Einbettmasse 98; Golgis Me-  
 thode 368; Pikronigrosin 335.  
 Johnston-Lavis & Vosmaer Schleifen 115.  
 Joliet Gummiglycerin 114.  
 Jolly Blut 397.  
 Jordan Ätherische Öle 68 ff.; Celloidin  
 105, 113; Linaloeöl 112; Orientiren  
 89; Paraffinschnitte 95.  
 Joris Neurofibrillen 346.



Joseph (G.) Karmin u. Eiweiß 250.  
 Joseph (H.) Centrosomen 311.  
 Joseph (M.) Haut 316.  
 Josué Blut 395.  
 Joubin Nemertinen 429.  
 Iridiumchlorid 48.  
 Iris der Vertebraten 323.  
 Isobutylalkohol 237.  
 Isopoden Embryologisches 298.  
 Istonie 60; der Medien 226.  
 Israel Acidophiles Gemisch 207; Biondis  
 Gemisch 199; Cedernöl 238; Orcein  
 212.  
 Israel & Pappenheim Neutralroth 138.  
 Julien Geißelfärbung 449.  
 Julin s. Beneden (van) & Julin.  
 Juliusburger Nervenzellen 337.  
 Jullien Indigkarmin 210.  
 Jung Mikrotom 75, 76, 116.  
 Juschtschenko Golgis Methode 365.  
 Iwanzoff Elektrische Organe 378; Holo-  
 thurien 434; Nesselkapseln 436.  
 Ixodiden 419.  
  
 Kadyi Formol 60; Hirn 327, 331; Seife  
 100.  
 Kaes Myelin 351.  
 Kahle *Miastor* 294.  
 Kaiser Acanthocephalen 428; Glycerin-  
 gelatine 101, 232; Myelin 351; Rücken-  
 mark 335; Sublimat 44.  
 Kaiserling Fixirgemisch 59.  
 Kaktusstacheln 42.  
 Kalialaun s. Alaun.  
 Kalilauge für Arthropoden 418; für  
 Embryonen 275; zum Korrodieren 263;  
 zum Maceriren 257.  
 K. u. Glycerin als Medium 388.  
 Kaliseife für Objektträger 121.  
 Kalium in Geweben 309.  
 Kaliumacetat Brechungszahl 68; nach  
 Hämacalcium 166; nach Hämalaun  
 161; als Medium 228, 229, 257.  
 K. u. Formol oder Glycerin 59.  
 Kaliumbichromat 38; als Beize 307;  
 für Gelatine 127, 241; zum Härten

38; zum Maceriren 258; nach Osmium-  
 säure 30; nach Salpetersäure 37; für  
 Resorcinfuchsin 387.

K. u. Aldehyd 366; K. u. Alkohol  
 40; K. u. Chromsäure 38, 265, 287;  
 K. u. Chromsulfat 334; K. u. Eisen-  
 chlorid 354; K. u. Essigsäure 39, 40,  
 62; K. u. Ferrocyanokalium 354; K.  
 u. Formol 62, 366, 372, 375, 384, 405;  
 K. u. Hämatoxylin 167, 168, 172; K.  
 u. Jodserum 256; K. u. Kalium-  
 monochromat 370; K. u. Kupferacetat  
 372; K. u. Kupfersulfat 39, 40, 364,  
 371; K. u. Osmiumsäure 39, 40, 312,  
 354, 362—366, 428; K. u. Pikrin-  
 säure 40; K. u. Pikrinschwefelsäure  
 290; K. u. Platinchlorid 40, 366; K.  
 u. Salpetersäure 287; K. u. Schwefel-  
 säure 11; K. u. Sublimat 46, 370,  
 405, 428, 445.

Kaliumcarbonat für Äther 104; für  
 Chromatin 306; zum Maceriren 258;  
 für Methylenblau 184.

Kaliumchlorat u. Salpetersäure 260,  
 268; K. u. Salzsäure 268.

Kaliumchlorid für Medium 227; für  
 Uterus 409.

Kaliumchromat für Golgis Methode 406;  
 nach Hämatoxylin 167.

K. u. Kaliumbichromat 370; K. u.  
 Silbernitrat 390; K. u. Sublimat 370.

Kaliumcyanid für Chromatin 306; nach  
 Gold 220, 223, 318.

Kaliumhyperpermanganat zum Beizen 172,  
 372, 373; für Glas 11; für Häma-  
 toxylin 164, 169; nach Hämatoxylin  
 350; für Haut 316; zum Maceriren  
 260; für Osmiumsäure 28; nach Os-  
 miumsäure 30; als Reagens 452; nach  
 Silbernitrat 216.

K. u. Alaun 319; K. u. Oxalsäure  
 269.

Kaliumhypochlorit s. Eau de Javelle.  
 Kaliumjodid u. Gelatine 249; K. u.  
 Quecksilberjodid 232.



- Kaliumnatriumtartrat u. Kupferacetat 349.  
 Kaliumnitrat (Salpeter) für Alaun-cochenille 150; zum Auswaschen 215, 217.  
 K. u. Formol 59; K. u. Osmiumsäure 315.  
 Kaliumphosphat u. Ammoniumchromat 258.  
 Kaliumquecksilberjodid 232.  
 Kaliumrhodanat zum Maceriren 258.  
 Kaliumsulfid für Kupfer u. Zink 308; nach Sublimat 347.  
 Kaliumsulfid u. Oxalsäure 350.  
 Kalk in Geweben 308; für absoluten Alkohol 57 — s. auch Kalkwasser.  
 Kalkschwämme 440 ff.  
 Kalkwasser nach Goldchlorid 222; zum Maceriren 257.  
 Kallhardt Kiefer 390.  
 Kallius Golgis Methode 364, 369; Knorpel 393; Laich 283.  
 Kalomel s. Quecksilberchlorür.  
 Kammer feuchte 3.  
 Kampher als Antisepticum 227, 247 etc.  
 K. u. Celloidin 296; K. u. Phenylsalicylat 237; K. u. Photoxylin 253.  
 Kampherspiritus 288.  
 Kampherwasser 51.  
 Kanadabalsam 235, Brechungszahl 68; zum Schleifen 115.  
 K. u. Dammar 236; K. u. Paraffin 243; K. u. Piperin 233; K. u. Schellack 243; K. u. Tolubalsam 243.  
 Kapelkin *Petromyzon* 315.  
 Kaplan Neurokeratin 347; Axencylinder 340.  
 Kappers Serienklammer 10.  
 Karawaiew *Anobium* 296; *Aulacantha* 445.  
 Karbolfuchsin 182.  
 Karbolsäure (Phenol) 72, Brechungszahl 68; als Antisepticum 228 etc.; für Ixodiden 419.  
 K. u. Bergamottöl 112; K. u. Cedernöl 112; K. u. Fuchsin 182; K. u. Methylgrün 384; K. u. Milchsäure 230; K. u. Pyronin 384; K. u. Sublimat 44; K. u. Thionin 176; K. u. Xylol 112, 350.  
 Karbolwasser für Fuchsin 337.  
 Karbolxylol 82, 112, 350.  
 Karmalaun 149.  
 Karmin 146; für Centralnervensystem 334, 357; zum Injizieren 245 ff.  
 K. u. Alaun 150; K. u. Aluminiumchlorid 403; K. u. Borax 155; K. u. Essigsäure 151; K. u. Indigkarmin 210; K. u. Magnesia 152; K. u. Salzsäure 156.  
 Karmingemische Allgemeines 148.  
 Karminmassen zum Injizieren 245—247.  
 Karminsäure 146; für Glykogen 307.  
 K. u. Alaun 149; K. u. Aluminiumchlorid 149, 156, 404; K. u. Calciumchlorid 156; K. u. Eisensalze 152; K. u. Natriumbicarbonat 404; K. u. Strontiumchlorid 156.  
 Karminsaures Ammoniak 147.  
 Karminsaures Natron 147.  
 Karusin & Tschernyscheff Nervenfärbung 351.  
 Kastschenko Bänderschneiden 97; Rekonstruktion 273, 275; Selachier 286.  
 Kathariner Zähne 392.  
 Kato Glykogen 306.  
 Katz Schnecke 377.  
 Kaustischer Kalk für Alkohol 57.  
 Kautschuk zum Aufkleben 127; zum Injizieren 254.  
 K. u. Paraffin 98.  
 Kautschukdose zum Entkieseln 267.  
 Kautschukflasche für Biondis Gemisch 199.  
 Kautschukkitt 242.  
 Keibel *Sus* 277.  
 Keimorgane u. -produkte 409.  
 Keller Sandarak 238.  
 Kemp Blutplättchen 399.  
 Kennel *Peripatus* 298.  
 Kent (A.) Golgis Methode 368.  
 Kent (S.) Jodjodkalium 37.



- Kenyon *Apis* 422; Formol 59; Pauro-  
 poden 419.  
 Keratin 316.  
 Keratohyalin 315.  
 Kernfärbung 132.  
 Kernfarbstoffe 141.  
 Kernkörper s. Nucleolen.  
 Kernschwarz 211.  
 Kernseife zum Einbetten 100.  
 Kerr Aufkleben 124; Dipnoer 286; Ein-  
 betten 87; Perényis Gemisch 34; Re-  
 konstruktion 273.  
 Kerschner Goldchlorid 221.  
 Kieselnadeln der Poriferen 441.  
 Kieselschwämme 440 ff.  
 King *Bufo* 285; Hirn von *Mus* 328,  
 330; Thionin 176.  
 Kingsley *Limulus* 298.  
 Kionka *Gallus* 280.  
 Kirschgummi zum Lähmen 442.  
 Kishi Entkalken 264; Hämatoxylin 160;  
 Ohr 377.  
 Kischinouye Arachniden 297; *Limulus*  
 298.  
 Kissling Paraffin 99.  
 Kitte 239 ff.  
 Kitton Asphaltlack 242.  
 Kittsteiner Denaturirter Alkohol 55.  
 Klebs Glyceringelatine 101, 231.  
 Klebwachs s. Wachsfüßchen.  
 Klein Ammoniumchromat 40; Cornea  
 318; Fixirgemisch 34.  
 Kleine Objekte Einbetten 87, 88.  
 Kleinenberg Einbetten 76; Hämatoxy-  
 lin 166; Kolophonium 236; *Lopado-  
 rhynchus* 300; Pikrinschwefelsäure 53.  
 Klemensiewicz Pikrokarmine 154.  
 Klercker (af) Schnittstrecker 94.  
 Klingmüller & Veiel Sublamin 47.  
 Klinkowström *Prostheceraeus* 432.  
 Klosetpapier für Celloidinschnitte 130.  
 Knecht Färbung 135.  
 Knochen 388 ff.  
 Knochenfische Embryologisches 286 ff.;  
 Künstliche Befruchtung 271.  
 Knochenmark 392; Ausstrichpräparate  
 395.  
 Knochenzellen 390.  
 Knoll Blut 399.  
 Knorpel 388 ff.  
 Knower Injizieren 244; Orientieren 89.  
 Kobaltammoniumsulfat 151.  
 Kobaltchlorid zum Fixieren 49.  
 Kobaltcochenille 151.  
 Kobert Blut 394.  
 Koch Kopal 115.  
 Kochsalz s. Natriumchlorid.  
 Kockel Fibrin 399.  
 Kodis Hämatoxylin-Molybdän 171; Mye-  
 lin 352; Nervengewebe 331.  
 Köhler (E.) Tannin 431.  
 Köhler (R.) s. Bataillon & Köhler.  
 Kölliker *Lepus* 275, 276; Muskeln 320;  
 Sharpeysche Fasern 391; Sublimat 43.  
 Königstein Macerieren 260.  
 Königswasser 423, 425.  
 Köppen Orcein 386.  
 Kofoid Gastropoden 292.  
 Koganei Iris 324.  
 Kohlensäure zum Betäuben 19; zum  
 Gefrieren 116, 117; für Paraffin-  
 schnitte 93.  
 Kohn Suprarenalorgane 408; Zenkers  
 Gemisch 46.  
 Kollargol für Neurofibrillen 346.  
 Kollmann (J.) Salmoniden 287.  
 Kollmann (M.) Blut 394.  
 Kollodium zum Aufkleben 125; zum  
 Einbetten 103; für Paraffinschnitte  
 95.  
 K. u. Fuchsin 391; K. u. Lavendel-  
 öl 125; K. u. Nelkenöl 125; K. u.  
 Rizinusöl 126 — s. auch Celloidin.  
 Kollodium-Papier 126.  
 Kolloidales Gold 346.  
 Kolloxylin zum Einbetten 104.  
 Kolmer Retina 375.  
 Kolmer & Wolf Einbetten 86.  
 Kolophonium 236; Brechungszahl 68.  
 K. u. Wachs 116, 242.



- Kolossow Goldchlorid 221; Golgis Methode 365; Osmiumsäure 29, 224; Stachelzellen 315.
- Kolster Centrosomen 336; Diffusionsapparat 7; Magendrösen 404.
- Koltzoff Cyclostomen 288.
- Koniński Aufkleben 127.
- Kopal zum Schleifen 115.
- Kopalfirniß 243.
- Kopsch Binnennetz 340; Blutplättchen 400; Cephalopoden 415; Golgis Methode 366; Lunge 406.
- Korallen 437; Schleifen 115.
- Kornauth Schnittstrecker 94.
- Korotneff *Pyrosoma* 289; Siphonophoren 15.
- Korrodiere 263 ff.
- Korrosionspräparate 253.
- Korschelt *Loligo* 291; *Ophryotrocha* 300; Protozoen 443.
- Kossa Kalk in Geweben 308.
- Kossel s. Behrens, Kossel & Schieferdecker.
- Kossinski Nigrosin 207.
- Kostanecki *Myzostoma* 301.
- Kostanecki & Siedlecki *Ascaris* 303; Sublimat 45.
- Kostanecki & Wierzejski Hämalun 163; *Physa* 291.
- Kotlarewski Bleiacetat 329.
- Kowalewski Knochenfische 286.
- Kowalewsky Physiologische Injektion 408, 409.
- Kozowsky Myelin 351.
- Krassiltschik Methylenazur 205.
- Krassuskaja Celluloidmasse 253.
- Krause (R.) Aufkleben 131; Biondis Gemisch 198, 200; Differentiator 7; Gefrieren 117; Hämatoxylin-Eisen 169; Intravitalfärbung 137; Karmingelatine 247; Leber 406; Methylenblau 361; Neuroglia 372; Paraffinschnitte 93; Schnecke 377; Schwannsche Scheide 346; Speicheldrüsen 404.
- Krause (R.) & Philippson Methylenblau 360.
- Krause (W.) Elektrisches Organ 378; Imprägnieren 225; Macerieren 258; Nervenenden 321; Retina 376; Thio-phengrün 206.
- Krausesche Körperchen 318.
- Krauss Silbernitrat 216.
- Kreide s. Calciumcarbonat.
- Kreislauf von Blut und Lymphe 3.
- Kreissäge für Knochen 389.
- Kreosol 184.
- Kreosot 72, Brechungszahl 68; zum Differenzieren 373; als Intermedium 370; gegen Schwellungen 53; für Schellack 125.
- K. u. Alkohol 367; K. u. Cajeputöl 338; K. u. Xylol 338.
- Kresofuchsin 183; für Glykogen 307.
- K. u. Eisenchlorid 387.
- Kresylechtviolett 209; für Haut 316.
- Kresylviolett 209.
- Kristallinse s. Linse.
- Kristallviolett 181; für Neuroglia 373.
- Krönig Kitt 242.
- Krösing s. Passarge & Krösing.
- Kromayer Plasmafasern 317.
- Kronecker Serum 228.
- Kronthal Bleisulfid 371; Golgis Methode 363.
- Krüger Coleopteren 421.
- Krukenberg Knochen 391.
- Krysinsky Photoxylin 104.
- Kubo Aufkleben 130.
- Kühne (H.) Anisöl 71.
- Kühne (W.) Goldchlorid 220; Goldchloridkalium 222; Macerieren 260; Nervensystem 321.
- Kükenthal Anneliden 424—426; Betäuben 17.
- Künstliche Befruchtung 271.
- Künstliche Parthenogenese 450.
- Künstlicher Speichel zum Macerieren 258.
- Künstliches Hollundermark 101.
- Künstliches Jodserum oder Serum 228.
- Kuhnt Myelin 346; Retina 376.
- Kultschitzky Blutfärbung 195; Doppelte Einbettung 112; Fixiergemische 40;



- Hämatoxylin 351; Milz 407; Myelin 351; Neuroglia 373; Orcein 386; Schleim 402; Tastkörperchen 317.
- Kuntze Geißelfärbung 449.
- Kupfer in Geweben 308.
- Kupferacetat zum Beizen 170, 332, 348, 352; zum Fixiren 51; für Golgis Methode 364; nach Hämalan 163, 349.
- K. u. Chromalan 372; K. u. Chromfluorid 350, 372; K. u. Hämatoxylin-Eisen 170; K. u. Formol 372; K. u. Kaliumbichromat 372; K. u. Osmiumsäure 51; K. u. Seignettesalz 349.
- Kupferbichromat 38, 365; u. Formol 64.
- Kupferchlorid zum Fixiren 51.
- Kupfernitrat 51; u. Formol 64, 420.
- Kupfersalze als Medium 229; u. Formol 63.
- Kupfersulfat für absoluten Alkohol 57.
- Kupfersulfat für absoluten Alkohol 57; zum Beizen 335; zum Fixiren 49.
- K. u. Alkohol 40; K. u. Ferrocyankalium 245; K. u. Flemmings Gemisch 439; K. u. Formol 422; K. u. Kaliumbichromat 39, 40, 364, 371; K. u. Osmiumsäure 49; K. u. Sublimat 49, 64; K. u. Zinksulfat 439.
- Kupfervitriol s. Kupfersulfat.
- Kupfer Axencylinder 340; Leber 406; Reptilien 282; Sternzellen 406.
- Kuskow Verdauen 261.
- Kutschin Kreosot 72.
- Lab zum Verdauen 262.
- Lacerta* Embryonen 282.
- Lachi Hirn 330.
- Lähmen 15 ff.; von Seethieren 19.
- Lävulose als Medium 230.
- Lahille Ascidien 412.
- Laich von Amphibien 282.
- Lakmoid für Milz 407.
- Lakmus für physiol. Injektionen 408.
- Laktophenol 230.
- Lambert *Epeira* 297.
- Lamellibranchien 413; Augen 416; Embryologisches 293; Schalen 116.
- Landau Karmingelatine 246.
- Landois Golgis Methode 370; Maceriren 258; Schwefelmetalle 225.
- Landois & Sommer Golgis Methode 370.
- Landplanarien 432.
- Landsberg Protozoen 443.
- Lang Sublimat 43.
- Langdon *Nereis* 425.
- Langenbeck *Microdeutopus* 298; Pikrinschwefelsäure 53.
- Langerhans *Amphioxus* 325; Medium 229; Tastkörperchen 317.
- Langeron Medium 230.
- Langley & Anderson Marchis Methode 353.
- Langs Gemisch 43; für Turbellarien 432.
- L. u. Osmiumsäure 432.
- Langsam kontraktile Thiere 15.
- Lankester & Bourne *Limulus* 423.
- Laubsäge für Knochen 389; für Korallen etc. 115.
- Laurent Methylenazur 206; Orcein 212.
- Lauterborn Ceratien 448; Einbetten 80.
- Lauths Violett 176.
- Lavallée s. Caullery & Lavallée.
- Lavdowsky Blut 398; Fixirgemische 63; Maceriren 257; Medium 228; Methylenblau 188, 191, 192; Myrtillus 212; Schnecke 377.
- Lavendelöl u. Kollodium 125.
- Laveran Bleu Borrel 205.
- Lawrence Glyceringelatine 231.
- Lazarus s. Ehrlich & Lazarus.
- Lebende Organismen 1 ff.
- Leber (Th.) Imprägniren 225; Retina 375.
- Leber der Mollusken 414.
- Leber der Vertebraten 405, 61; Austrichpräparate 395; für Definirlinien 275, 333.
- Lebrun Centrosomen 311; Laich 283 — s. auch Carnoy & Lebrun.
- Lécaillon Coleopteren 295.
- Lecanora parella* 212.
- Lecithin Reaktionen 354, 384.
- Leclerq Blut 398.



- Ledermann Haut 316.
- Lee Acidophiles Gemisch 207; Alaun 49; Alcyonarien 437; Aufbewahren der Objekte 8; Aufkleben 120, 128; Beizen von Rawitz 173; Betäuben 15, 17—19; Bordeauxroth 202; Bouins Gemisch 63; Cedernöl 69, 83, 238; Celloidin 105—108, 110; Chätopoden 424; Chlormangan 227; Chromatin 309, 310; Dammar 236; Echinodermen 434; Eisenkarminat 152; Eiweißglycerin 123, 128; Essigsäure u. Alkohol 50; Farbstoffe 145; Formol 58, 60; Gilsons Gemisch 45; Goldchlorid 221, 223; Hämatoxylin-Eisen 169; Hermanns Gemisch 48; Hirudineen 426; Injizieren 244, 251; Intravitalfärbung 137; Jod zum Fixieren 37; Iridiumchlorid 48; Kernschwarz 211; Kolophonium 236; Malachitgrün 175; Medium 231, 233; Medusen 439; Müllers Gemisch 39; Nemertinen 429, 430; Nigrosin 183; Opisthobranchien 414; Orange G 194; Osmiumsäure 27, 28, 31; Papierzellen 241; Paraffin 99; *Physophora* 440; Plasma 310; Poriferen 441; Pyrogallussäure 224; Rizinusöl 238; Safranin 179, 180; Salpetersäure zum Fixieren 37; Sandarak 238; Schällibaums Methode 125.
- Lee & Henneguy Auffrischen der Präparate 11; Alaunkarmin 150.
- Leeuwen (van) Hexapodenlarven 418.
- Lefevre Einbetten 79.
- Legal Alaunkarmin 150.
- Legendre Binnennetze 367; Nervenzellen 415.
- Léger Sporozoen 446.
- Le Goff Protagon 354.
- Legros *Amphioxus* 288; Silbernitrat 216.
- Leicht schmelzbares Metall 263, 264, 406.
- Leinöl als Medium 238.
- Leinölkitt zum Injizieren 254.
- Leishman Methylenazur 205.
- Leitungswasser nach Hämalan 161.
- Lemoult s. Curtis & Lemoult.
- Lendenfeld Kieselnadeln 441; Kragenzellen 441; Paraffinschnitte 93.
- Lenhossék Cephalopoden 415; Chätopoden 425; Cörulein S 206; Nervenzellen 336, 337; Neurofibrillen 344; Sublimat 46, 47; Zunge 318.
- Lennox Retina 376.
- Ienssen *Hydatina* 301, 428.
- Lepas Eier 54; Embryonen 299.
- Lepidopteren Embryologisches 294; Flügel 421, 422; Spinndrüsen 49.
- Lepidosiren* Eier 88, 124.
- Lepkowski Zähne 393.
- Leptodora* Embryonen 299.
- Lepus* Embryologisches 275; Ganglienzellen 329; Hirn 360; Inneres Ohr 62; Knorpel 392; Niere 407; Sehnen 322; Speicheldrüsen 404; Sympathicus 340; Zunge 318.
- Lernaea* Embryonen 299.
- Leukocyten s. Blut.
- Leutert Kalk 308.
- Levaditi Blut 398; Geißelfärbung 449.
- Levi Bindegewebe 380; Macerieren 257; Nucleolen 313.
- Levinson Fett 383.
- Lewis (B.) Gehirn 325, 329, 332, 334.
- Lewis (M.) Chätopoden 425.
- L'Hermitte & Guccione Neuroglia 374.
- Libellula* Larven Tracheen 422.
- Licht Wirkung auf Metallsalze 213.
- Lichtgrün S F 206.
- L. u. Alkohol 434, 436; L. u. Hämalan 385; L. u. Neutralroth 447; L. u. Pikrinsäure 446; L. u. Safranin 385.
- Lieberkühnsche Drüsen 405.
- Liebermann Cochenille 148; Karmin 146.
- Liebetanz Flagellaten 448.
- Liesegang Veraschung 452.
- Ligroin 73.
- Ligula* Fixieren 430.
- Lilienfeld Blut 400.
- Lillie *Unio* 293.
- Limax* Embryonen 291, 292; Nervenzellen 415.



- Limulus* Augen 423; Embryologisches 298.  
 Linaloeöl 70; für Celloidin 112; als Medium 13.  
 Linse D\* von Zeiß 3, 5.  
 Linse der Vertebraten 319, 85.  
 Liquidambar 238.  
 Liquor ferri sesquichlorati 170; zum Fixiren 49; für Resorcinfuchsin 387.  
   L. u. Fuchsin 448; L. u. Gallussäure 307; L. u. Tannin 448 — s. auch Eisenchlorid.  
 Liquor ferri sulfurici oxydati 168.  
 List (I. H.) Aktinien 437; Anilingrün 206; Becherzellen 402; Cocciden 421; Eosin u. Methylgrün 203; Maceriren 256.  
 List (Th.) Eosin 203; Mytiliden 413; Neurofibrillen 340; Nucleolen 313; *Pecten* 416; Pikrinsalpetersäure 54; Schalen 416; Schleim 404.  
 Lithionkarmin 153.  
 Lithionpikrokarmin 154.  
 Lithiumcarbonat zum Entsäuren 267; für Gallein 358; nach Pikrinsäure 52, 336.  
   L. u. Hämatoxylin 349; L. u. Karmin 153; L. u. Toluidinblau 184.  
 Lithiumsulfat zum Auswaschen 264.  
 Lithographirschiefer zum Poliren 389.  
 Lithographische Tusche 423.  
 Lo Bianco Betäuben 15—18; Chromessigsäure 35, 50; Chromosmiumsäure 35; Chromsäure 34; Formolgemisch 63; Kupfersulfat 49; Saurer Alkohol 58; Seethiere 411ff.; Sublimat 41, 46.  
 Locke Medium 227, 188.  
 Locy Arachniden 297.  
 Löffler Geißeln 448; Methylenazur 206.  
 Lönnerberg *Triaenophorus* 430.  
 Lörcher Lab 262.  
 Lösliches Berlinerblau 251, 247, 252.  
 Lösliches Blau 207.  
 Lösung (Gemisch) von Flemming etc. — s. die Autoren.  
 Löwe Linse 319.  
 Löwenthal Methylenazur 205; Pikrokarmin 154; Plasmazellen 385; Salzsäurekarmin 156.  
 Löwit Blut 397—399; Goldchlorid 220.  
 Löwy Epidermis 314.  
 Logwood 159.  
 Loisel Intravitalfärbung 137; Orcein 386; Poriferen 441.  
*Loligo* Embryonen 291.  
 Longhi Protozoen 444.  
 Longworth Cornea 318.  
 Looss *Bilharzia* 431; Korrodiren 263; Nematoden 428.  
*Lopadorhynchus* Larven 300.  
 Lord Tigroid 339.  
 Lott Maceriren 257.  
*Loxophyllum* Fixiren 444.  
*Loxosoma* Fixiren 412.  
 Loyez Sublimat 42.  
 Lubosch *Triton* u. *Petromyzon* 284.  
 Lühe Cestoden 431.  
 Luft flüssige zum Gefrieren 117.  
 Luftbad aus Asbest 115; für Paraffin 86.  
 Luftbläschen im Balsam 233.  
 Luftpumpe für Kohlensäure 433.  
 Luftthiere lebende 2.  
 Lugaro Neurofibrillen 342, 345; Tigroid 339; Toluidinblau 186.  
 Lugols Gemisch zum Fixiren 37; nach Sublimat 42.  
   L. u. Eisenchlorid 388; L. u. Hämatoxylin 388 — s. auch Jodjodkalium.  
*Luidia* Fixiren 435.  
 Luithlen & Sorgo Tigroid 339.  
*Lumbricus* 424, 425; Darm 426; Nerven 189.  
 Lundvall Knorpel u. Knochen 393.  
 Lundvalls Gemisch u. Methylenjodid 450.  
 Lunge der Vertebraten 406, 85.  
 Lustgarten Kaliumhyperpermanganat 351; Viktoriablau 182.  
 Lymph- und Lymphoidorgane 408, 46.  
 Lyon Gummischleim 443.  
 Lysol zum Maceriren 261.



- Maas** Bindegewebe 405; Malachitgrün 206; Poriferen 441; Verdauen 262.  
**Macallum** Eisen 308; Indigkarmin 210; Kalium 309; Kalk 309; Kupfer 308; Phosphor 307; Versilberung 217 — s. auch Wright & Macallum.  
**Mac Bride** *Amphioxus* 288; Echinodermenlarven 436.  
**Mac Clung** Brechungszahlen 67, 68.  
**Mac Clure** Nervenzellen 415.  
**Macdonald** Platinirung 370; Toluidinblau 186.  
**Mac Dougall** Muskeln 320.  
**Maceriren** 255 ff.; Haut 314.  
**Mac Gill** Bindegewebe 380.  
**Mac Munn** Leber 414.  
**Mac Murrich** *Jaera* 299.  
**Mac Neal** Methylenviolett 206.  
**Madan** Medium 233.  
**Mährenthal** Holzessig 224.  
**Magdalaroth** 182; für Nervengewebe 350.  
     M. u. Methylenblau 407.  
**Magen** der Vertebraten 404.  
**Magendrösen** für Pepsin 261.  
**Magenta** 182.  
**Magenta S** 196; s. Säurefuchsin.  
**Maggi** Protozoen 442.  
**Magini** Chlorzink 370.  
**Magnesia usta** (gebrannte) 152.  
**Magnesiakarmin** 152; u. Magnesiawasser 441.  
**Magnesiawasser** 152, 171, 441.  
**Magnesiumbichromat** 38, 365.  
**Magnesiumcarbonat** 154; für Formol 60, 345; für Objektträger 121.  
**Magnesiumchlorid** zum Betäuben 18.  
**Magnesiumhyperoxyd** zum Bleichen 31, 269.  
**Magnesiumpikrat** 154.  
**Magnesiumsulfat** zum Betäuben 18.  
**Maier** Einbetten 80; Infusorien 445.  
**Mainini** s. Grandis & Mainini.  
**Majoranöl** 70.  
**Malachitgrün** 175, 206.  
     M. u. Bismarckbraun 174; M. u. Vesuvin 176.  
**Malaria-Parasiten** 447.  
**Malassez** Normalsalzwasser 227.  
**Mall** Skelett 388.  
**Mallock** Messerschneide 90.  
**Mallory** Anilinblau u. Orange 380; Bindegewebe 380; Hämatoxylin-Eisen 170; Hämatoxylin-Molybdän 171; Hämatoxylin-Wolfram 171; Neuroglia 372.  
**Malopterurus** Elektrisches Organ 378.  
**Malpighische** Gefäße 408.  
**Manchesterbraun** 175.  
**Manfredi** Goldchlorid 221.  
**Manganchlorid** als Medium 227.  
**Manganoxyd** zum Imprägnieren 225.  
**Mangold** Methylenblau 188.  
**Mann** Aufkleben 124; Bleichen 30; Brasilin 211; Celloidin 105; Entchromung 33; Färbung 135; Fixiren durch Injektion 23; Formol 60; Formolgemisch 64; Hämalaun 164, 165; Hirn 331; Methode von Cox 370, von Golgi 368; Methylblau 207, 208, 336; Nervencentrum 29; Nervenzellen 336; Osmiumsäure 32; Pikrokarmin 154; Retina 374; Sublimat 41, 42, u. Chromsäure 46, u. Pikrinsäure 45; Tigroid 339; Toluidinblau 177.  
**Mantelrand** der Prosobranchien 417.  
**Marcacci** Maceriren 260.  
**Marcano** Blut 397.  
**Marceau** Hämalaun 163.  
**Marchesini** Markhaltige Nerven 347.  
**Marchi** Degenerirte Nerven 353; Sehnen 322.  
**Marchis** Methode 353.  
**Marchoux** Fixirgemisch 63.  
**Marcus** Myelin 351; Rückenmark 330; Tigroid 339.  
**Marengi** Retina 376.  
**Maresch** Gitterfasern 380, 406.  
**Marfori** Kupfer 308.  
**Marina** Hirn 330.  
**Marineleim** 242.  
**Mark** Kollodium 95.



Markhaltige Nervenfasern 346, 347 — s. auch Myelin.  
 Marsh Glyceringelatine 241.  
 Marshall Nervenenden 321.  
 Martin (Jo.) Trachen 422 — s. auch Field & Martin.  
 Martin (P.) Benzoazurin 182; Benzo- u. Deltapurpurin 201.  
 Martinotti (C.) Elastisches Gewebe 386; Golgis Methode 367.  
 Martinotti (G.) Bismarckbraun 176; Blut 396; Dammar 236; Elastisches Gewebe 386; Hirn 334; Intravitalfärbung 136.  
 Martinotti (L.) Polychromes Toluidinblau 184.  
 Martinotti & Resegotti Safranin 180.  
 Maskenlack 242.  
 Mason Nervensystem 332.  
 Massart s. Everard, Demoor & Massart.  
 Masslow Helianthin 195.  
 Mastix für Paraffinschnitte 95.  
 Mastzellen 385, 386.  
 Mathews Kernfärbung 135; Plasmafärbung 174.  
 Matschinsky Knochenkanäle 391.  
 Matuszewski Marchis Methode 353.  
 Maurer Methylenazur 206.  
 Maximow Aufkleben 128; Intravitalfärbung 137; Mastzellen 385; Zenkers Gemisch 46.  
 May Methylenazur 206.  
 Mayer (A.) s. Fauré-Fremiet, Mayer & Schaeffer.  
 Mayer (A. G.) Betäuben 18, 19.  
 Mayer (P.) Aceton 83; Alauncochenille 150; Alaunkarmin 150; Alkohol 55, 57; Ammoniakkarmin 153; Anilin 82; *Aplysia* 293; Aurantia 196; Band ohne Ende 97; Benzol 73; Berlinerblau 252; Bildumdrehendes Ocular 2; Bismarckbraun 175, 176; Bleichen 267 ff.; Osmiumpräparate 30; Bleu de Lyon 208; Blut 396, 400; Boraxkarmin 155; Brasilin 211, 212; Carnoys Gemisch 50; Celloidin 104, 105; Chitin 421,

422; Chloroform 74; Chromatin 310; Chromhämatein 167; Cochenille 147; Cochenilletinktur 157; Corainis Methode 94; Dammar 236; Delafields Gemisch 165; Diffusionströme 143; Doppelte Einbettung 113; Ehrlichs Alaunhämatoxylin 165; Einbetten in Paraffin 84, 85, 87; Eisenkarmalaun 151; Eisenkarminat 151; Eiweißglycerin 122; Entchromung 32; Entkalken 265; Entkieseln 267; Euparal 238; Färbbarkeit im Paraffin 88; Färben der Paraffinschnitte vor dem Aufkleben 10; Färbung 136, 139; Farbstoffe 145; Fett 382; Filtrieren 175; Fixieren u. Färben zugleich 143; Formen zum Einbetten 78, 80; Formol 60, 61, 64; Formolgemisch 63; Friedenthals Gemisch 51; Fuchsintannat 182; Gallein 183; Gefärbte Schnitte 121; Gelatinekapseln 79; Gesättigte Lösungen 178; Glyceringelatine 232; Glycerin-Karmalaun 149; Glychämalaun 164; Glykogen 306; Gummi arab. 114; Gummisyrup 230; Gum Thus 236; Hämacalcium 165; Häkalaun 162, 164, 169; Hämastrontium 166; Hämatein 160; H.-Ammoniak 161; Hämatoxylin 158, 160—162, 166, 171; Haut 315; Hirnschnitte 333; Hoffmanns Methode 89; Hollundermark 101; Holzessigfarben 151; Hypersulfate 164; Indigkarmin 210; Intermedien 66; Intravitalfärbung 138; Jodgrün 206; Iridiumchlorid 48; Kalkschwämme 441; Karbolxylol 82; Karmalaun 149; Karmin 146; Karminsäure 147, 149; Kautschuk u. Paraffin 99; Kernfärbung 135; Kernschwarz 211; Kirschfarbstoff 212; Kitte 239; Kleinenbergs Hämatoxylin 166; Knorpel 393; Kolophonium 236; Linaloeöl 112; Linse D und Planktonsucher 3; Lithionkarmin 153; Macerieren 258; Magnesiakarmin 152; Malachitgrün 175; Maskenlack 242; Metachromasie 402; Meta-



- gelatine 249; Methylenazur 204; Methylenblau u. Methylviolett 185; Methylgrün 173, 174; Methylsalicylat 71, 238; Milch zum Injizieren 253; Mikrotome 75, 76; Muchämäteïn 403; Mucikarmin 403; Mucikarminsäure 404; Nelkenöl 69; Nerven u. Gefäße 326; Neutraler Balsam 235; Nitrocochenille 151; Nitrohämäteïn 164; Nucleolen 313; Objektträger 121; Orange G 194; Origanumöl 70; Osmirtes Fett 382; Osmiumsäure 27, 28; Paraffin 99; Parakarmin 156; Patentblau 208; Perényis Gemisch 34; Petroläther 73; Pikrinsäure 52; Pikrinsälpetersäure 54; Pikrinsalzsäure 54; Pikrinschwefelsäure 53; Pikrokarmine 153, 154; Pikromagnesiakarmin 154; Plutei 436; Purpurin 209; Pyridin 58; Resorcinfuchsin 387; Riesenschnitte 81, 94; Safranin 180; Salpetersäure zum Fixieren 37; Salzsäurekarmin 156; Schällibaums Methode 126; Scharlach 383; Schellacklösung 125; Schleim 401, 402, 404; Schneiden in Paraffin 90 ff.; Schnittstrecker 94; Schwefelkohlenstoff 74; Selachier-Embryonen 286; Stabilität 109; Sublimat 42, 43, 45; Sudan III 382; Tellyesniczky's Gemisch 39; Terpentin 237; Terpentinöl 71; Terpeneol 71, 238; Tetrachlorkohlenstoff 74; Tetrander 75, 81; Thionin 176, 177; Toluidinblau 177; Triacid 197, 198, 200; Viktoriablau 182; Wachszellen 240; *Wagnerella* 67; Wasserbad 87; Weigerts Gemisch 170 — s. auch Andres, Giesbrecht & Mayer.
- Mayer (P.) & Schoebel Messerstellung 91.  
 Mayer (S.) Bindegewebe 379; Gentianaviolett 181; Hornhaut 314; Methylenblau 187, 191, 192; Methylviolett 209; Neutralroth 202.  
 Mays Nervenenden 321.  
 Mc Chung Brechungszahlen 67, 68.  
 McClure-Nervenzellen 415.  
 M'Dougall Muskeln 320.  
 McGill Bindegewebe 380.  
 Mc Murrich *Jaera* 299.  
 Mead *Chaetopterus* 300.  
 Medien zum Einschließen u. Untersuchen 226 ff.; indifferente 226.  
 Medusen 438; Betäuben 18; Macerieren 259; Nesselkapseln 436.  
 Mehnert Reptilien 282.  
 Mehrfachfärbung 134, 143.  
 Meisenheimer *Limax* 291.  
 Meissnersche Körperchen 318.  
 Meixner Flügelgeäder 422.  
 Melnikoff-Rasvedenkoff Fixirgemisch 59.  
 Mendel & Bradley Zink 308.  
 Mendelejef'scher Kitt 2, 242.  
*Menidia* Hirn 332.  
 Menthol zum Betäuben 18.  
 Mercier Myelin 352; Nervensystem 325.  
 Merck Formol 59.  
 Merk Flemmings Gemisch 36; Osmiumsäure 27; Sekundäre Osmirung 383.  
 Merkel Hirn 334; Imprägnieren 225; Indigkarmin 210; Plasmazellen 385; Platinchlorid 47; Xylol 73.  
 Merckels Gemisch 47; nach Osmiumsäure 30.  
 Merton Augen 416; Vergoldung 371.  
 Mesnil s. Caullery & Mesnil.  
 Mesostomiden Embryonen 302.  
 Messer Einstellung beim Schneiden 90; Schneide 90.  
 Messerhalter 90.  
 Mestrezat s. Grynfeldt & Mestrezat.  
 Metachromasie 134; des Schleims 402.  
 Metagelatine 249.  
 Metall leicht schmelzbares 263, 264, 406.  
 Metallformen zum Einbetten 78.  
 Metallsalze Lösungen 213.  
 Metalnikoff *Culex* 418; *Sipunculus* 427.  
 Metanilgelb 196.  
 Metaphenylendiamin 176.  
 Metcalf *Chiton* 293; Einbetten 80.  
 Methoden Historisches 5.  
*Metridium* Nervensystem 437.



Methylal zum Entwässern 8; für Eosin 203; für Sublimat 191.

Methylaldehyd s. Formol.

Methylalkohol Brechungszahl 68; im Alaunhämatoxylin 165; zum Betäuben 16; für Blut 396; für Celloidin 104, 105; zum Differenzieren 178; im Formol 59; als Medium 228; für Methylenazur 204.

M. u. Cocaïn 428; M. u. Glycerin 256; M. u. Kaliumacetat 228.

Methylanilin 181.

Methylated spirit 55.

Methylblau 207; intravital 450.

M. u. Eosin 207, 336; M. u. Pikrinsäure 381.

Methylenazur 184, 204.

Methylenblau 184 ff., eosinsaures 206, 395, polychromes 184, 205; für Chromatin 310; nach Fuchsin 182; zur Imprägnation 192; intravital 185, für Nerven 186 ff., 359; für Knorpel 392; für Myelin 356, 358; nach Nissl 338; nach Rehm 335; für Zellgrenzen 299.

M. u. Aceton 336; M. u. Borax 358; M. u. Chromsäure 417; M. u. Eosin 203, 312, 340; M. u. Kaliumcarbonat 184; M. u. Magdalaroth 407; M. u. Methylviolett 185, 401; M. u. Natriumbicarbonat 361; M. u. Natronlauge 205; M. u. Neutralroth 202; M. u. Rongalit 452; M. u. Salpetersäure 312; M. u. Seife 338; M. u. Silberoxyd 205.

Methylenjodid Brechungszahl 68; als Medium 233.

M. u. Lundvalls Gemisch 450.

Methylenviolett 206.

Methyleosin u. Pikrinsäure 316.

Methylgemisch zum Macerieren 256.

Methylgrün 173, 197, 198; für Knorpel 393; als Medium 229; als Reagens 305; für Schleim 417.

M. u. Bordeauxroth 201; M. u. Eosin 203; M. u. Gentianaviolett 436;

M. u. Natriumcarbonat 175; M. u. Orange G 197; M. u. Osmiumsäure 305; M. u. Phenol 384; M. u. Pyronin 384; M. u. Säurefuchsin 197; M. u. Safranin 313; M. u. Thionin 201.

Methylorange s. Helianthin.

Methylsalicylat 71, 238.

Methylviolett 181, 209; für elastisches Gewebe 388; für Glykogen 306; in Methylgrün 173.

M. u. Anilinwasser 312; M. u. Methylenblau 185, 401; M. u. Oxalsäure 372, 374.

Methylwasserblau 207.

Metzner Einbetten 85; Fixirgemisch 40; Toluidinblau 177.

Meunier & Vaney Chinon 411.

Meves Bendas Methode 373; Biondis Gemisch 200; Flemmings Gemisch 36.

Meyer (E.) Auffrischen der Präparate 11; Celloidin 110, C. u. Paraffin 112; *Lopadorhynchus* 300.

Meyer (F.) Medien 229.

Meyer (P.) Palladiumchlorür 377.

Meyer (S.) Methylenblau für Nerven 359; Neurofibrillen 343.

*Miastor* Embryonen 294.

Mibelli Elastisches Gewebe 386.

Michael *Bdella* 419.

Michaelis Eosin 202; Färbgemisch 312; Färbung 135, 136; Janusgrün 206; Intravitalfärbung 138; Lävulose 230; Mastzellen 385; Metachromasie 135; Methylenazur 204, 205; Neutralroth 202; Orceïn 386; Polychromes Methylenblau 184; Pyronin 182; Resorcinfuchsin 387; Scharlach 383; Thionin 403; Triacid 197; *Triton* 284.

Michailow Methylenblau 188, 191.

Michel Paraffin 99; Perényis Gemisch 34.

*Microdeutopus* Embryonen 298.

Migula Serum 228.

Mikrochemisches 305 ff.

Mikrotome 75.



- Milch zum Injizieren 253, 408.  
 Milchsäure zum Entkalken 267; für Gefäße 245, 365.  
 M. u. Karbolsäure 230.  
 Miller Kautschuk Kitt 242; Purpurne Masse 249.  
 Millons Reagens für Keratin 316.  
 Milz der Vertebraten 407; Ausstrichpräparate 395; Gitterfasern 406.  
 Minchin Kalkschwämme 440, 441; Trypanosomen 447.  
 Minervini Resorcinfuchsin 387.  
 Mingazzini Sublimat 44.  
 Minot Epidermis 314; Mikrotom 76; Pikrinsäurekarmin 155.  
 Miracidien von *Distomum* 302.  
 Mitochondrien 312; Mikrochemie 451.  
 Mitrophanow Celloidinschnitte 103; Doppelte Einbettung 112; *Gallus* 280; Myelin 351; Organe des 6. Sinnes 318; Photoxylin 104; *Siredon* 314, 315; Wasserblau 208.  
 Mitsukuri Schildkröten 281.  
 Miura Leber 406.  
 Möbius Maceriren 258, 259.  
 Möller Fixirgemisch 62; Säurefuchsin u. Pikrinsäure 196.  
 Mönckeberg & Bethe Myelin 355; Nerven 347; Osmiumsäure 30, 32.  
 Mörner Trachealknorpel 392.  
 Moleschott Maceriren 257.  
 Moleschott & Borme Maceriren 257.  
 Moll Knorpel 393.  
 Mollison Alkanna 383.  
 Mollusken 413 ff.; Betäuben 17; Embryologisches 290 ff.  
 Molybdänsäure u. Hämatoxylin 171.  
 Mombromnaphthalin 233; Brechungszahl 68.  
*Monocystis* Fixiren 446.  
 Monophenylrosanilin 181.  
 Montgomery Nemertinen 430; *Theridium* 297.  
 Monti (A.) Imprägnation 371.  
 Monti (R.) Golgis Methode 363, 364; Säurefuchsin 196.  
 Moodie Skelett 388.  
 Moore Blut 398; Gefrieren 118; Serum 228.  
 Moreaux Fixirgemisch 63.  
 Morel s. Anglade & Morel.  
 Morel & Bassal Formol 62; Hämatoxylin-Eisen 170.  
 Morel & Doléris Triacid 198.  
 Morgan Ascidien 289; *Periplaneta* 296; *Rana* 284.  
*Mormyrus* Elektrisches Organ 378.  
 Morris Orange G 194.  
 Moseley Entkalken 416.  
 Moser Knochenkerne 388.  
 Mosse Argentamin 339; Markscheiden 355; Tigroid 339.  
 Mosso Blut 397.  
 Mott & Halliburton Myelin 354.  
 Motta Coco & Ferlito Maceriren 259.  
 Mozejko Injizieren 417; *Petromyzon* 450.  
 Muchämatein 403; für elastisches Gewebe 388; für Knorpel 392.  
 Mucikarmin 403; für elastisches Gewebe 388.  
 Mucikarminsäure 404.  
 Mucin Färbung 401 ff.  
 Mühling Trematoden 431.  
 Müller (C. F.) Silbernitrat 216.  
 Müller (E.) Drüsenmühle 4; Magen 405; Speicheldrüsen 404.  
 Müller (G. W.) Ostracoden 420.  
 Müller (H.) Fixirgemisch 39; Gummi-glycerin 114.  
 Müller (H. F.) Blut 399.  
 Müller (J.) Einbetten 85; Lunge 406.  
 Müller (W.) Berlinerblau 252.  
 Müller-Formol 63.  
 Müllers Gemisch 39; zum Beizen 351; zum Entkalken 433, 435; zum Maceriren 258; nach Osmiumsäure 30.  
 M. u. Alkohol 329; M. u. Essigsäure 46; M. u. Formol 366, 397, 405, 408; M. u. Jodserum 256; M. u. Osmiumsäure 353, 366, 375; M. u. Sublimat 46.  
 Münder Farbstoffe 145.



Muir Blut 397.  
 Mulon Fett 383.  
 Munson Medium 228.  
 Murawjeff s. Rossolimo & Murawjeff.  
*Mus* Embryonen 277; Fixirgemisch 45;  
 Haut 315; Hirn 328; Hoden 47;  
 Plasmazellen 385.  
*Musca* Augen 423.  
 Muskeln glatte 322 ff., 381; querge-  
 streifte 320 ff.  
 Muskens Normalsalzwasser 227.  
*Mya* Gefäße 417.  
 Myelin 346, 347; Färbung 348 ff.  
 Myers Aufkleben 128; Celloidin 103,  
 105, 107, 109, 110; Neutraler Balsam  
 235; Tigroid 338.  
 Myriopoden 421; s. auch Chilopoden.  
 Myrtillus 212.  
*Mysis* Otolithen 422.  
 Mytiliden Fixiren 413.  
*Mytilus* Eier 313; Gefäße 417.  
*Myxine* Darm 262, 405.  
*Myzostoma* 424; Embryologisches 301.  
  
 Nabias Pulmonaten 415; Vergoldung  
 371.  
 Nachvergoldung 218, 222.  
 Nägel 316.  
 Naegeli Blut 395 — s. auch Schridde  
 & Naegeli.  
 Nakanishi Blut 398; Methylenblau 138.  
 Nansen Maceriren 258.  
 Naphtha 73, 82.  
 Naphthalinroth 182.  
 Naphthol-Orange 141.  
 Naphthylaminbraun 335.  
 Narcein 141.  
 Narcotica 15 ff.  
 Narkotisiren s. Betäuben.  
 Nathusius Haare 316.  
 Natriumacetat nach Hämalan 161.  
 N. u. Gallussäure 345; N. u.  
 Tannin 345.  
 Natriumalizarinsulfat 335, 373.  
 Natriumbicarbonat nach Hämalan 161,  
 162; für Medium 227, 228.

N. u. Formol 331; N. u. Methylen-  
 blau 361.  
 Natriumbichromat 38, 364.  
 Natriumbisulfit 30; u. Salzsäure 355.  
 Natriumcarbonat (Soda) für Formol  
 60; zum Maceriren 258; für Objekt-  
 träger 121.  
 N. u. Chlorkalk 268; N. u. Kern-  
 farbstoffe 175; N. u. Mucikarmin-  
 säure 404.  
 Natriumchlorid (Chlornatrium, Koch-  
 salz, Salz) für Chromatin 305; zum  
 Fixiren 320; für Golgis Methode 369;  
 zum Maceriren 257; als Medium 227.  
 N. u. Alkohol 256, 257; N. u. Jod-  
 jodkalium 394; N. u. Natriumsulfat  
 394, 397; N. u. Pikrinsäure 322; N.  
 u. Salzsäure 266; N. u. Sublimat 41,  
 43—45; N. u. Zinkchlorid 330, 331.  
 Natriumfluorid als Antisepticum 249;  
 zum Maceriren 257.  
 N. u. Salzsäure 267.  
 Natriumhydrat s. Natronlauge.  
 Natriumhyperborat zum Bleichen 31.  
 Natriumhyperoxyd zum Bleichen 269.  
 Natriumhypochlorit s. Eau de Labarra-  
 que.  
 Natriumhyposulfit nach Gold 344, 368;  
 nach Jod 42, 205; nach Silber 216,  
 339.  
 N. u. Ammoniumrhodanat 367.  
 Natriumindigsulfat 251.  
 Natriumjodat für Brasilin 211; für  
 Hämatoxylin 160; für Hämalan 162;  
 für Osmiumsäure 28, 29.  
 Natriumkarminat 147.  
 Natriumkobaltinitrit 309.  
 Natriumnitrat für Gefäße 244; zum  
 Maceriren 257.  
 Natriumnitrit u. Metaphenylendiamin  
 176.  
 Natriummetaphosphat für Blut 400.  
 Natriumphosphat für Chromatin 305.  
 Natriumphosphormolybdat 190.  
 Natriumsalicylat als Antisepticum 122,  
 149.



- Natriumsilikat zum Injizieren 254.  
 Natriumstearinat 106.  
 Natriumsulfat zum Auswaschen 217, 264; zum Entwässern 68; für Gefäße 244; in Müllers Gemisch 39.  
   N. u. Ammoniumchromat 258; N. u. Formol 397; N. u. Indaminblau 207; N. u. Jodjodkalium 394; N. u. Natriumchlorid 394, 397; N. u. Sublimat 397.  
 Natriumsulfid nach Osmiumsäure 31; nach Sublimat 370.  
 Natriumsulfit nach Gold 222; nach Silber 216, 343.  
   N. u. Chromogen 372; N. u. Formol 367; N. u. Hydrochinon 367, 369.  
 Natriumthiosulfat s. Natriumhyposulfit.  
 Natron karminsaures 147.  
 Natronlauge zum Bleichen 269; nach Goldchlorid 221; zum Korrodieren 263; zum Macerieren 257; für Medium 228; für Scharlach 383.  
   N. u. Silbernitrat 344, 345.  
 Natronpikrokarmine 154.  
 Natronseife zum Einbetten 100.  
 Natürliche Injektionen 254.  
 Nealey Knochen 390.  
 Nebenniere 408.  
 Neelsen & Schiefferdecker Ätherische Öle 68 ff.  
 Negative Imprägnationen 213.  
 Nelis Fixirgemisch 63 — s. auch Gehuchten (van) & Nelis.  
 Nelkenöl 69, Brechungszahl 68; für Celloidin 105; zum Differenzieren 179; als Medium 13, 435; zum Reduzieren 215; für Schellack 125; nach Theerfarbstoffen 172.  
   N. u. Cedernöl 180; N. u. Kollodium 125; N. u. Thymianöl 111, 401.  
 Nelkenöl-Kollodium zum Aufkleben 13; zum Einbetten 88 ff.  
 Nematoden 428; Embryologisches 302 ff.  
 Nemertinen 429; Betäuben 17.  
 Nemiloff Fettzellen 382.  
 Nephelis Fixiren 426.  
 Nereis 425; Embryonen 299.  
 Nerven der Vertebraten 334 ff.; Cytologisches 336 ff.  
 Nervenenden in Muskeln 320 ff.  
 Nervenfasern für Definirlinien 275; markhaltige 346, 347.  
 Nervengewebe Färbung intra vitam 186.  
 Nervenmark s. Myelin.  
 Nervensystem der Vertebraten 325 ff. — der Invertebraten s. bei den Thiergruppen.  
 Nervenzellen Nucleolen 313.  
 Nesselkapseln 436.  
 Nesteroffski Goldchlorid 221.  
 Nettovich *Argulus* 420.  
 Netzhaut s. Retina.  
 Neuberger Entkalken 266.  
 Neufuchsin 182; u. Resorcin 387.  
 Neugrün 175.  
 Neukirch Glykogen 307.  
 Neumann (?) Bromiren 369.  
 Neumann (A.) Methylenazur 204.  
 Neumayer (L.) *Ovis* 278; Richtebenen 274, 275.  
 Neumayer (V. L.) Hirn 328.  
 Neurofibrillen 341 ff.  
 Neuroglia der Vertebraten 372 ff.  
 Neurogliabeize für Fettsäuren 384.  
 Neurokeratin 346.  
 Neuromucin von Unna 354.  
 Neutrale Theerfarbstoffe 140.  
 Neutraler Balsam 235.  
 Neutrales Gentiana 195.  
 Neutralroth 183, 202, 337; u. Lichtgrün 447.  
 Neu-Viktoriagrün für Blut 398.  
 Neuville Celloidin 111; Formol 59; Silbergelatine 249; Silbernitrat 215.  
 Neyt s. Beneden (van) & Neyt.  
 Nicolas Fixirgemisch 37; Glyceringelatine 101; Osmirtes Fett 382.  
 Nicolle Thionin 176.  
 Nicolle & Cantacuzène Rutheniumoxychlorid 225.  
 Niere der Vertebraten 407.  
 Niessing Hermanns Gemisch 48.



Nigrosin 183, 206.

N. u. Alkohol 436; N. u. Biondis Gemisch 337; N. u. Pikrinsäure 334, 379; N. u. Safranin 207.

Nikiforoff Acidophiles Gemisch 207; Axencylinder 359; Blut 395; Celloidinschnitte 111.

Nikotin zum Betäuben 15; für Neurofibrillen 343.

Nilblau BB für Fett 383.

Nilsson Alizarin 209.

Nirenstein Infusorien 445.

Nissen Hämalun 163.

Nissl Anhärten 327; Cajeputöl 70; Congoroth 358; Kolophonium 237; Marchis Methode 353; Methylenblau 338; Nervenzellen 337, 338.

Nissl & Ranke Hirn von *Homo* 333.

Nisslsäure 186.

Nisslsche Körper s. Tigroid.

Nitrocochenille 150.

Nitrochrysophansäure 452.

Nitrohämäteïn 164.

Nitroprussidnatrium für Kupfer und Zink 308.

Noack Dipteren 294; Orientiren 89.

Nocht Blutplättchen 400; Methylenblau 203, 205.

Noir naphthol B u. Pikrinsäure 381.

Noll Kieselnadeln 441; Korrodiren 263; Medium 229.

Nordmann Mastzellen 385.

Normalsalzwasser 227.

Norris & Shakespeare Indigkarmin 210.

Nowak Fixirgemisch 63.

Nucleïne und Nucleohiston 306.

Nucleolen Färbung 312.

Nusbaum Aufkleben 122.

Nusbaum & Fuliński *Gryllotalpa* 295, 296.

Nussbaum Nerven 326.

Nuttall, Cooper & Robinson Ixodiden 419.

Obersteiner Nervensystem 325, 328, 329, 334.

Objekte brüchige in Paraffin 95.

Objektträger Reinigen 11, 121; hohlgeschliffene 2.

Obregia Aufkleben 131; Golgis Methode 368; Photoxylin 104.

*Octopus* Augen 415; Leber 414.

Ocular bildumdrehendes 2.

Odenius Maceriren 261.

Odier Golgis Methode 368.

Odontoblasten 390.

Öle ätherische 68; als Medien 233.

Öle fette als Medien 2; zum Imbibiren 323.

Ölfarben zum Injizieren 253.

Östergren Betäuben 16.

Ogneff Elektrisches Organ 378.

Ogushi Laich 283.

Ohlmacher Axencylinder 358; Beizen 172; Hirn 329; Säurefuchsin u. Pikrinsäure 196; Sublimat 44; Triacid 198.

Ohr inneres der Vertebraten 62, 376 ff.

Olivöl Brechungszahl 68 — s. auch Öle.

Olt Aufkleben 127, 131; Gefrieren 117.

*Onuphis* Fixiren 425.

Opalblau 207.

*Ophiomyxa* Fixiren 435.

*Ophiopsila* Fixiren 435.

*Ophiothrix* Fixiren 435.

Ophiuroideen 435.

*Ophryotrocha* 425; Embryonen 300.

Opisthobranchien 452; Schleimdrüsen 417.

*Opisthotrema* Schneiden 431.

Oppel Gitterfasern 406; Leber 365; Magen 405; Silbernitrat 216.

Optische Differenzierung 21, 132.

Optische Hilfsmittel 1.

Orange III 195; als Indikator 408.

Orange G 194, 197, 198; nach Boraxkarmin 280; nach Flemmings Gemisch 195; nach Safranin 180.

O. u. Alaun 296; O. u. Anilinblau 380; O. u. Anilingrün 377; O. u. Eosin 446; O. u. Essigsäure 431; O.



- n. Methylgrün 197; O. u. Oxalsäure 380; O. u. Säurefuchsin 196, 197, 392, 405.
- Orcein 212; zum Beizen 449; für elastisches Gewebe 386, 388; für Knorpel 393.
- O. und Wasserblau 380.
- Orchestia* Embryologisches 298.
- Orcin 212.
- Organe des 6. Sinnes der Amphibien 318.
- Organismen lebende 1 ff.
- Orientiren kleiner Objekte im Paraffin 88.
- Origanumöl 70.
- Orr Degenerierte Nerven 354.
- Orseille 212.
- Orth Fixirgemisch 63; Lithionkarmin 153; Pikrokarmin 154.
- Orthopteren Embryologisches 296.
- Osborn s. Scott & Osborn.
- Osmacet für Blut 396.
- Osmirung sekundäre 383.
- Osmiumkarmin 155.
- Osmiumsäure 27 ff.; zum Beizen 357; Dämpfe 28, 374, 375, 447; für Embryonen 272; für Fett 383; nach Formol 340, 353, 354; zum Maceriren 259; Sublimat 277; zum Vergiften 18.
- O. u. Alaun 29; O. u. Alkohol 29, 420; O. u. Ameisensäure 29, 221, 231; O. u. Ammoniummolybdat 190; O. u. Ammoniumpikrat 191; O. u. Chromsäure 48, 332, 424; O. u. Eisenchlorid 354, 444; O. u. Essigsäure 28, 35, 40, 45, 48, 50, 259, 339, 354, 396, 431, 434, 436, 444, 447; O. u. Ferrocyankalium 354; O. u. Formol 366; O. u. Goldchloridkalium 222; O. u. Hämatoxylin 452; O. u. Kaliumbichromat 39, 40, 312, 354, 362—366, 428; O. u. Kaliumnitrat 315; O. u. Kupferacetat 51; O. u. Kupferchlorid 51; O. u. Kupfersulfat 49; O. u. Langs Gemisch 432; O. u. Methylgrün 305; O. u. Müllers Gemisch 353, 366, 375; O. u. Palladiumchlorid 48; O. u. Pikrinsäure 40, 45, 53, 54, 215, 355, 431; O. u. Pikrinsalpetersäure 54; O. u. Pikrinschwefelsäure 294, 297; O. u. Platinchlorid 40, 48, 54, 339, 366, 431; O. u. Protargol 216; O. u. Salpetersäure 37, 332; O. u. Silbernitrat 215, 365; O. u. Sublimat 29, 36, 45, 46, 223, 301, 339, 407, 428, 438; O. u. Uranacetat 51; O. u. Zenkers Gemisch 46.
- Osmiumsulfid 31.
- Osmiumtetroxyd 27; s. Osmiumsäure.
- Ostracoden 420.
- Ostrea* Fixiren 413; Eier 308; Gefäße 417; Glykogen 307; Kupfer 308.
- Ostroumoff Bryozoen 412.
- Otolithen von *Mysis* 422.
- Ottendorff Nerven 326.
- Overton Bleichen 30; Entchromen 33; Intravitalfärbung 138; Joddämpfe 38; Schweflige Säure 37.
- Oviatt & Sargent Amylnitrit 244.
- Ovis* Embryonen 278; Hirn 329, 330.
- Owen Medium 229.
- Oxalsäure zum Auswaschen 162, 199; für Berlinerblau 248; zum Differenziren 356; nach Eisenchlorid 49; nach Goldchlorid 221; zum Maceriren 260; nach Osmiumsäure 224.
- O. u. Alkohol 34; O. u. Ameisensäure 221; O. u. Anilinblau 380; O. u. Azosäureblau 207; O. u. Indigkarmin 210; O. u. Kaliumhyper-manganat 269; O. u. Kaliumsulfat 350; O. u. Methylviolett 372, 374; O. u. Orange G 380.
- Oxner Haut von Fischen 315.
- Ozorovitz s. Silbermann & Ozorovitz.
- Paal & Amberger Osmiumsäure 29.
- Pacaut Sublimat 45.
- Pacini Medien 229.
- Pal Methode von Cox 370, von Weigert 350.



- Paladino Jodpalladium 356; Scharlach 201.
- Palaemon* Nerven färben 187.
- Palinurus* Augen 335; Eier 54.
- Palladiumchlorür 48; zum Entkalken 377; für Nervensystem 334, 356.
- Paneth Becherzellen 402; Myelin 349.
- Pankreas der Vertebraten 404.
- Pankreatin 262.
- Panoptische Färbung 133.
- Pansch Stärke 254.
- Pantel Intravitalfärbung 137; *Thrixion* 295.
- Pantopoden Chitin 66.
- Papierkästchen zum Einbetten 77.
- Papierkapseln zum Einbetten 78.
- Papierzellen 241.
- Papillae foliatae 318.
- Pappenheim Metachromasie 384; Methylgrün 174; Plasmazellen 384; Pyronin 182; Sublimat 44 — s. auch Israel & Pappenheim und Unna & Pappenheim.
- Pappenheims Gemisch 141.
- Paraffin zum Korrodieren 264; Löslichkeit in Intermedien 82; als Medium 368; Schmelzpunkte 99; überhitztes 100; für Zellen 241; Zusammenziehung 87, 88.
- P. u. Asphalt 99; P. u. Kanadabalsam 243; P. u. Vaseline 93; P. u. Wachs 98.
- Paraffinblock 87 ff.
- Paraffinschnitte Allgemeines 92 ff.; Aufkleben 119 ff.; Bänder 96; brüchige 95; Färben vor dem Aufkleben 10; Schrumpfung 10; Veraschung 452.
- Paraffinum liquidum 238; Brechungszahl 68; für Haut 314; als Medium 191.
- Paraformaldehyd 59.
- Parafuchsin 182; u. Resorcin 387.
- Parakarmin 156.
- Paraldehyd für Euparal 237.
- Paravicini Neurofibrillen 342.
- Pariser Violett 181.
- Parker Aceton u. Methylal 8; Bleichen 270; *Homarus* 423; Methylenblau 191; Terpentin 242.
- Parker & Floyd Hirn 330.
- Parmablau 207.
- Parry Brechungszahlen 67.
- Parthenogenese künstliche 450.
- Partsch Alauncochenille 150; Entkalken 266.
- Passarge & Krösing Elastisches Gewebe 386.
- Patellani Bindegewebe 379; Hämatoxylin-Molybdän 171.
- Patentblau 208.
- Paton Neurofibrillen 345.
- Patten Blattiden 296; Orientiren 88; *Pecten* 416, 417.
- Patterson *Columba* 281.
- Pauropoden 419.
- Pavlow Celloidin 105; Pals Methode 351.
- Peabody Korrodieren 264.
- Pearl Gelatine 249; *Lumbricus* 426.
- Pecten* Augen 416; Gefäße 416, 417.
- Pectinaria* Nerven färben 209.
- Pedaschenko *Lernaea* 299.
- Pedicellarien Skelett 434.
- Pedicellina* Fixiren 412.
- Pediculoides* Fixiren 419.
- Pekelharing Glykogen 307 — s. auch Vosmaer & Pekelharing.
- Pelagische Fischeier 288.
- Pelias* Embryonen 282.
- Pelletierin für *Aplysia* 414.
- Pentacrini Fixiren 436.
- Pentamethylpararosanilinchlorhydrat 181.
- Peppler Flagellaten 448; Reinigen von Glas 11.
- Pepsin u. Oxalsäure 261; u. Salzsäure 261, 294.
- Pepsinpepton für Cestoden 430.
- Pepton als Gefäßerweiterer 417.
- Peremeschko Zellen 304.
- Perényi Fixiren u. Färben 143; Gemisch 34.



- Perényis Gemisch 34, 289, 291, 423; modifiziert 419.  
 Pérez Dipteren 294; Marchouxs Gemisch 63.  
 Pergens Pikrokarmine 154.  
 Perikardialdrüsen 408.  
 Peripatus Embryologisches 298.  
 Periplaneta Embryonen 296; Ganglien 422.  
 Perl Karmin 155.  
 Perophora 411; Knospen 290.  
 Perrier (E.) Lumbricus 424.  
 Perrier (R.) Aufkleben 127.  
 Peter Eisencochenille 152; Hämatoxylin-Eisen 170; Lichtgrün 206; Rekonstruktion 273 ff. — s. auch Born & Peter.  
 Petersen Chromhämatein 167.  
 Petit s. Ripart & Petit.  
 Petroläther 73.  
 Petromyzon Eier 284; Haut 315.  
 Petrunkewitsch Apis 295; Sublimat 45.  
 Pfeiffer v. Wellheim Eisenkarminat 151.  
 Pfitzner Dammar 236; Protozoen 443; Safranin 179 — s. auch Stilling & Pfitzner.  
 Pflüger Sudan III 382.  
 Phagocytaire Organe 408.  
 Phalacroceras Larven 295.  
 Phalangiden Augen 423; Embryologisches 297.  
 Phascolosoma 426.  
 Phasmiden Hoden 409.  
 Phenol s. Karbolsäure.  
 Phenolgelatine von Olt 117, 131.  
 Phenylbraun 175.  
 Phenylendisazometaphenylendiamin 175.  
 Phenylhydrazin zum Reduzieren 307.  
 Phenylrosanilinchlorhydrat 208.  
 Phenylsalicylat u. Kampher 237.  
 Philippson (L.) Epidermis 314.  
 Philippson (M.) s. Krause & Philippson.  
 Philpitschenko Collembolen 418.  
 Phillips Apis 423.  
 Phloroglucin zum Entkalken 266, 414.  
 Phloxin 202.  
 Pholas Eier 313.  
 Phoronis 426.  
 Phosphor Brechungszahl 68; in Geweben 307.  
 Phosphormolybdänsäure zum Beizen 171, 380.  
 P. u. Hämatoxylin 171, 335; P. u. Silbernitrat 366.  
 Phosphorsäure zum Entkalken 266.  
 P. u. Alkohol 383.  
 Phosphorwolframsäure zum Fixieren 37.  
 P. u. Hämatoxilin 171.  
 Photoxylin zum Einbetten 104, 112.  
 P. u. Kampher 253.  
 Phyllosomen Fixieren 418.  
 Physa Embryonen 291.  
 Physalia Fixieren 439.  
 Physiologische Injektion 408.  
 Physiologische Salzlösung 227.  
 Physophora Fixieren 440.  
 Pianese Ameisensäurekarmin 151; Coccidien 446; Eosin u. Methylenblau 203; Kobaltchlorid 49.  
 Pick Schnellhärtung 62.  
 Pictet Manganchlorid 227.  
 Picton Intravitalfärbung 137.  
 Piersol Hämatoxylin-Kupfer 170; Lepus 277.  
 Pikrinchromsäure 53.  
 Pikrinchromsalpetersäure 54.  
 Pikrinessigsäure 54; nach Hofer 431 — s. auch Pikrinsäure.  
 Pikrinosmiumplatinchlorid 54.  
 Pikrinosmiumsäure 53.  
 Pikrinosmiumsalpetersäure 54.  
 Pikrinplatinchlorid 54.  
 Pikrinsäure zum Auswaschen 170; nach Chromsäure 291; zum Differenzieren 183; für Embryonen 272; zum Entkalken 266; zum Färben 193, des Celloidins 109; nach Hermanns Gemisch 48; zum Fixieren 52 ff.; für Methylenblau 191, 356; nach Safranin 180.  
 P. u. Alkohol 259, 332, 418, 421, 423, 446; P. u. Alaunkarmin 150; P.



- u. Ammonpikrat 342; P. u. Blauschwarz 209; P. u. Bleu de Lyon 208; P. u. Bleu diamine 381; P. u. Chloroform 418; P. u. Chromsäure 45, 53, 421, 428; P. u. Essigsäure 45, 52—54, 63, 299, 300, 332, 418, 420, 431, 446; P. u. Formol 52, 63, 64, 405, 418, 446; P. u. Indigkarmin 210; P. u. Kaliumbichromat 40; P. u. Lichtgrün 446; P. u. Methylenblau 381; P. u. Methyl-eosin 316; P. u. Natriumchlorid 322; P. u. Nigrosin 334, 379; P. u. Noir naphthol 381; P. u. Orcein 386, 387; P. u. Osmiumsäure 40, 45, 53, 54, 215, 355, 431; P. u. Platinchlorid 45, 54, 431; P. u. Poiriers Blau 374; P. u. Ponceau S 381; P. u. Säurefuchsin 170, 196, 358, 373, 381; P. u. Säureviolett 374; P. u. Salpetersäure 54, 421; P. u. Salzsäure 54, 288; P. u. Schwefelsäure 53, 428; P. u. Silbernitrat 215; P. u. Sublimat 45, 64, 300, 332, 346, 420, 421; P. u. Thionin 176; P. u. Trichloressigsäure 63; P. u. Violet rouge 381; P. u. Wasserblau 208; P. u. Xylol 419.
- Pikrinsäurekarmin 155.
- Pikrinsalpetersäure 54; zum Entkalken 266, 291.
- P. u. Chrom- oder Osmiumsäure 54; P. u. Essigsäure 431.
- Pikrinsalzsäure 54; zum Entkalken 266.
- Pikrinschwefelsäure 53; in Alkohol 284, 299, 419; zum Entkalken 281; zum Macerieren 300; zum Vergiften 18.
- P. u. Chromsäure 278, 286, 437, 439; P. u. Eissigsäure 277, 281, 287; P. u. Kaliumbichromat 290; P. u. Osmiumsäure 294, 297; P. u. Sublimat 43, 415.
- Pikrinsublimat u. Essigsäure 292.
- Pikro-Formalin 63.
- Pikrokarmin 153, 441; für Methylenblau 191; vor Paraffin 297.
- Pikrolithionkarmin 154.
- Pikromagnesiakarmin 154.
- Pikronigrosin 334.
- Pilliet Methylenblau 185.
- Pinksalz 171.
- Pintner Cestoden 430.
- Piperidin für Neurofibrillen 343.
- Piperin u. Kanadabalsam 233.
- Pisenti Alaunkarmin 150.
- Pizon Ascidien 290.
- Placenta von *Homo* 410.
- Planaria* Fixiren 432.
- Planarien 432; Embryonen 301.
- Plankton Fixiren 411.
- Planktensucher von Zeiß 3.
- Planorbis* Embryonen 292.
- Plasma s. Zellplasma.
- Plasmafärbung 132.
- Plasmafarbstoffe 141, 193 ff.
- Plasmafasern im Epithel 317.
- Plasmazellen 384.
- Plasticin für Rekonstruktion 274.
- Plastische Rekonstruktion 273.
- Platinchlorid 47; für Methode von Cox 370.
- P. u. Alkohol 277; P. u. Ameisensäure 63; P. u. Chromsäure 45, 47, 48, 443; P. u. Essigsäure 47, 48, 277, 339, 394, 418, 431, 443; P. u. Formol 63, 64, 360, 394; P. u. Iridiumchlorid 48; P. u. Kaliumbichromat 40, 366; P. u. Osmiumsäure 40, 48, 54, 339, 366, 431; P. u. Pikrinsäure 45, 54, 63, 431; P. u. Sublimat 45, 47, 472, 277, 339, 418.
- Platinchlorwasserstoff 47.
- Platinnitrat für Nervenzellen 337.
- Platinosmiumessigsäure 47.
- Platinsieb zum Waschen 7.
- Platner Eisenchlorid 49; Hämatoxylin-Chrom 168; Kernschwarz 211; Neurokeratin 346.
- Plato Intravitalfärbung 138; Neutral-roth 202.
- Platydictylus* Embryonen 282.
- Plečnik Tetrachlorkohlenstoff 74.
- Plenge Formol 59, 62; Gefrieren 117.
- Pleschko Methylenblau 191.



- Plessis s. Du Plessis.  
*Pleurobranchaea* Leber 414.  
 Plien s. Bielschowsky & Plien.  
 Plimmer s. Bradford & Plimmer.  
 Plutei Fixiren 435.  
 Podwyssozki Fixirgemisch 36; Safranin 180.  
 Pölz am Seife 100.  
 Pötter Hirnschnitte 451.  
 Poiriers Blau u. Pikrinsäure 374.  
 Polaillon Eisenchlorid 224.  
 Polano Preußisch-Blau 253.  
 Polarisationsapparat für Myelin 352.  
 Poljakoff Pikrokarmine 154.  
 Police Mallorys Gemisch 335.  
 Politzer Ohr 377.  
 Pollack s. Bielschowsky & Pollack.  
 Polychäten Embryologisches 299 ff.  
*Polychoerus* Embryonen 301.  
 Polychromes Methylenblau 184, 205, 356, 386.  
 Polychromes Toluidinblau 184.  
 Polycladen Eier 174; Embryonen 301.  
 Ponceau S u. Pikrinsäure 381.  
*Pontobdella* Embryonen 300; Nerven 189.  
 Popow Neuroglia 373.  
 Porcellancylinder von Fairchild 7.  
 Poriferen 440 ff.; Schleifen 115.  
*Porpita* Fixiren 439.  
 Positive Imprägnationen 213.  
 Poso Paraffin 99; Placenta u. Uterus 409, 452.  
 Postchromirung 33.  
 Pouchet Bleichen 268.  
 Präoccupation tinktorielle 311.  
 Präparate Auffrischen 11; Verkitten 239.  
 Präparieren ganzer oder kleiner Objekte 12.  
 Präparirmikroskop 1.  
 Pranter Orcein 386; Tetrachlorkohlenstoff 74.  
 Prenant Lichtgrün 206; Macerieren 259; Mikrochemisches 306; Safranin 180; Schnecke 376.  
 Preußisch-Blau zum Injizieren 253.  
 Preyer Betäuben 16.  
*Priapul* Fixiren 427.  
 Primerose i l'alcool 202.  
 Primerose soluble 202.  
 Primula für Mastzellen 385.  
 Prince Blut 399.  
*Pristiurus* Eier 313.  
 Pritchard Fixirgemisch 34, 216; Schnecke 377.  
 Pritchards Gemisch 221.  
 Progressive Färbung 133.  
 Progressive Theerfarbstoffe 173.  
 Propylalkohol 237.  
 Prosobranchier Mantelrand 417.  
*Prostheceraeus* Fixiren 432.  
 Protagon Reaktionen 354.  
 Protargol 216.  
 Protoplasma s. Zellplasma.  
*Protopterus* Nervensystem 332.  
 Protozoen 442 ff.  
 Prowazek Protozoen 442.  
 Prudden Alaunhämatoxylin 164.  
 Przesmycki Intravitalfärbung 137; Protozoen 443.  
 Pteropoden Fixiren 414.  
 Pulmontaten Augen 416; Embryonen 291; Ersticken 18; Nervensystem 415.  
 Purcell *Atta* 297; Phalangiden 423.  
 Purpurin 209; für Kalk 308.  
 Purpurne Masse 249.  
 Pusateri Neurofibrillen 344.  
 Pyridin zum Fixiren 58, 345; Intermedium 332; Neurofibrillen 342, 345.  
 Pyridinnitrat 342, 373.  
 Pyrogallol s. Pyrogallussäure.  
 Pyrogallussäure nach Argentamin 339, 355; für Chitin 422; nach Eisenchlorid 224, 225; nach Gold 221; für Kalk 308; nach Osmiumsäure 224, 355; nach Silber 248, 343, 344; nach Vanadium 376.  
 P. u. Formol 371.  
 Pyronin 182; u. Methylgrün 384.  
 Pyrosin B 202.



*Pyrosoma* 412, 15; Embryonen 289.  
Pyroxylin 103.

Quecksilberacetat 428.

Quecksilberchlorid 41; s. Sublimat.

Quecksilberchlorür (Kalomel) 41, 42, 64.

Quecksilbercyanid 331, 428.

Quecksilberjodid (u. -jodür) 42; u.  
Kaliumjodid 232.

Quecksilberoxyd und Hämatoxylin 164.

Quecksilbersulfat-Äthylendiamin 47.

Quergestreifte Muskeln 320 ff.

Quervain Injizieren 326.

Quittenschleim zum Aufkleben 127; zum  
Lähmen 443.

Rabaud Blastoderm 280.

Rabl (C.) Alauncochenille 150; Auf-  
kleben 125; Chromameisensäure 35;  
Einbetten 84; Embryonen 272; Fixir-  
gemisch 45, 47; Linse 319; Medium  
228; Messerstellung 90; Paraffin 99;  
Paraffinschnitte 95; Platinchlorid 47;  
Safranin 181; *Salamandra* 284.

Rabl (H.) Blutplättchen 400; Frommann-  
sche Linien 347; Verhornung 316; Ver-  
silberung 217.

Rabl-Rückhard Salmoniden 287.

Racovitza Schleimdrüsen 417.

Radiolarien 445.

Radiumbromid gegen Elektrizität 97.

Rählmann Färbung 135.

Raffaele Fischeier 288.

Rahmen zum Aufspannen 215.

*Raja* Elektrisches Organ 378; Haut 315.

Raimann Marchis Methode 354.

Ramón (y Cajal) Axencylinder 356; De-  
generirte Nerven 354; Doppelte Im-  
prägnation 364; Golgis Methode 368,  
369; Methylenblau 360; Nervenenden  
321; Neurofibrillen 343; Retina 376;  
Silbernitrat 371.

*Rana* Blut 396; Cornea 319; Darmzellen  
54; Eier 61; Embryonen 284, 285;  
Harnblase 324; Haut 314, 402; Larven  
16, 64; Muskeln 259; Nebenniere 408;

Nervenenden 321; Nervensystem 326;  
Pharynx 402; Zunge 318.

Randolph Acetonchloroform 16.

Ranke s. Nissl & Ranke.

Ransom Vogeltänien 431.

Ranvier Absoluter Alkohol 57; Am-  
moniakkarmin 153; Becherzellen 402;  
Berlinerblau zum Imprägniren 225;  
Berlinerblau zum Injizieren 247, 251;  
Chinolinblau 207; Chromsäure 33;  
Clasmatocyten 386; Cornea 318;  
Drittel-Alkohol 57; Entkalken 266,  
391; Goldchlorid 220; Golgische Kör-  
perchen 322; Harnblase 324; Haut-  
nerven 317; Jodserum 227; Karmin-  
gelatine 246; Maceriren 256, 257, 259,  
260; Markhaltige Nerven 347; Nerven-  
enden 321; Ödeme 379; Osmiumsäure  
29; Paraffinzellen 241; Pikrokarmin  
153, 154; Purpurin 209; Retina 374;  
Schleifen 389; Siegelack 243; Silber-  
gelatine 249; Silbernitrat 214, 215;  
Tastkörperchen 317.

Ranviers Alkohol 57.

*Raphiderus* Regeneration 296.

Rasirmesser s. Messer.

Rath (O. vom) Centrosomen 311; Pikrin-  
(osmium) platinchlorid 54; Pikrin-  
osmiumsäure 53; Sublimatgemische 45.

Rawitz Alizarin und Alizarincyanin 209;  
Azosäureblau 207; Beizen 172; Bleichen  
269; Cörulein S 206; Färbung 133,  
136; Fixirgemisch 37; Gefrieren 117;  
Glycerin-Karmalaun 149; Glychäm-  
alaun 164; Hirn 330, 331; Holzeßig-  
farben 151; Indaminblau 207; Indulin  
207; Kobaltcochenille 151; Messer-  
stellung 90; Mucikarmin 403; Muci-  
karminsäure 404; Nitrocochenille 150;  
Nitrohämatein 164; Orange G 194;  
Osmiumsäure 31; *Pecten* 416; Pikrin-  
gemische 54; Säure-Alizarinblau oder  
-grün 209; Schnittfärbung 144; Tan-  
nin nach Osmiumsäure 224; Terpen-  
tinöl 71; Wachszellen 241.

Reaktionen mikrochemische 305.



- Recklinghausen Silbernitrat 215, 216.  
 Redding Ferrieyankalium 223.  
 Reddingius Nucleolen 313.  
 Redenbaugh Alkohol 55; Betäuben 18.  
 Rees (J. van) Dipteren 294.  
 Reflektor parabolischer 93.  
 Regaud Aufkleben 122; Blut 396; Eelectosomen 138; Mitochondrien 312; Safranin 180; Silbernitrat 215; Spermatogenese 409 — s. auch Barjon & Regaud.  
 Regaud & Dubreuil Protargol 216.  
 Regressive Färbung 133.  
 Regressive Farbstoffe 177 ff.  
 Rehm Kolophonium 236; Methylenblau 335; Nervenzellen 337.  
 Reich Markscheiden 354; Weigerts Färbung 350.  
 Reichenbach *Astacus* 298.  
 Reichert Brasilin 160; Hämatoxylin 160.  
 Reid *Anguilla* 315.  
 Reifung des Hämatoxylins 159.  
 Reinbach Blut 399.  
 Reinigen der Deckgläser 11; der Objektträger 11, 121.  
 Reinke Aufkleben 124; Dreifachfärbung 195; Horn 316; Macerieren 261.  
 Rejsek Injizieren 263.  
 Rekonstruktion nach Schnitten 273.  
 Remak Bittermandelwasser 16; Embryonen 285; Sublimat 43; Zenkers Gemisch 46.  
 Renaut Cornea 319; Eosin 203; Gummi arabicum 235; Hämalun 165; Silbernitrat 215.  
 Rengel Hermanns Gemisch 48.  
 Reptilien Embryologisches 281 ff.  
 Resegotti Safranin 179; Substitution 178 — s. auch Martinotti & Resegotti.  
 Resorcin zum Beizen 374; für Formol 117; für Methylenazur 204; nach Pyronin 182, 384; zum Reduzieren 371.  
 R. u. Fuchsin 387.  
 Resorcinfuchsin 387; für Glykogen 307; für Knorpel 393.  
 Resorcinsafranin 387.  
 Retina der Vertebraten 374 ff.  
 Retterer Bindegewebe 379; Elastisches Gewebe 386; Injektionen 254; Knochen 394; *Lepus* 276; Muskeln 322; Sehnen 322; Zenkers Gemisch 46.  
 Reuter A-Methylenblau 205.  
 Rezzonico Markhaltige Nerven 347.  
 Rhabdocölen 432.  
 Rhizopoden Schalen 116.  
*Rhizophysa* Fixieren 439.  
 Rhodamin 141; für Blut 396.  
 Rhodanammonium s. Ammoniumrhodanat.  
*Rhopalaea* Betäuben 18.  
 Rhumbler Einbetten 80; Eosin u. Methylgrün 203; Foraminiferen 446.  
 Ribaucourt Lumbriciden 425.  
 Ribbert Bindegewebe 379; Hämatoxylin-Molybdän 171.  
 Ribesin 212.  
 Richard Betäuben 17.  
 Richtebenen und -linien 274, 275.  
 Ricinusöl s. Rizinusöl.  
 Riechorgane der Vertebraten 318.  
 Rievel *Ophryotrocha* 425.  
 Rillen in den Paraffinschnitten 94.  
 Rindfleisch Nelkenöl 69.  
 Ringe für Membranen 214.  
 Ringers Gemisch 227, 188.  
 Ripart & Petit Fixiergemisch 51, 229, 305.  
 Ritter (R.) *Chironomus* 294.  
 Ritter (W. E.) Ascidien 290.  
 Rizinusöl Brechungsahl 68; als Medium 238.  
 R. u. Celloidin 106; R. u. Kolloidum 126; R. u. Thymianöl 112; R. u. Xylol 109.  
 Robert *Aplysia* 414.  
 Roberts Fuchsin 183; Pikrinsäure 194.  
 Robertson Intravitalfärbung 138; Myelin 355; Platinierung 370.  
 Robin Injizieren 245, 246, 249; Natürliche Injektionen 254.  
 Robinski Linse 319; Silbernitrat 215.  
 Robinson s. Nuttall, Cooper & Robinson.



- Rochon-Duvigneaud Retina 375.  
 Rocking Microtome 76.  
 Rodier Normalsalzwasser 227.  
 Röhrenwürmer 424.  
 Röse Zähne 389.  
 Röthig Embryologische Technik 271;  
     Hämatoxylin 161; Kresofuchsin 183.  
 Rolle Aufkleben 127.  
 Rollen der Paraffinschnitte 92.  
 Rollett Cornea 319; Gefrieren 118;  
     Maceriren 260; Muskeln 320.  
 Romanowskis Methode 203.  
 Rongalit u. Methylenblau 452.  
 Rongalitweiß 452.  
 Rosa s. Dalla Rosa.  
 Rose B à l'eau 202.  
 Rose bengale 202.  
 Rosein 182.  
 Rosenheim & Tebb Protagon 354.  
 Rosenstadt Dekapoden 423 — s. auch  
     Weiss & Rosenstadt.  
 Rosenthal Fett 383.  
 Rosin Eosinsaures Methylenblau 205;  
     Nervenzellen 337; Triacid 197.  
 Ross Blut 398.  
 Rossbach & Sehrwald Golgis Methode  
     363.  
 Rossi (E.) Nervenzellen 337.  
 Rossi (U.) Blut 396; Myelin 352.  
 Rossi (?) s. De' Rossi.  
 Rossolimo & Murawjeff Axencylinder  
     358.  
 Rotatorien 427, 452; Betäuben 17, 19;  
     Embryologisches 301.  
 Rothholz 211; für Nerven 352, 371 — s.  
     auch Fernambukholz.  
 Rouget Methylenblau 188; Muskeln 320;  
     Silbernitrat 215, 216.  
 Rousseau Entkalken 264; Entkieseln  
     267.  
 Rousselet Kitte 240, 242; Präparate  
     umrahmen 241; Rotatorien 427.  
 Rubaschkin Aufkleben 128; Golgis Me-  
     thode 366; Neuroglia 372.  
 Rubenthaler Fixirmittel 22.  
 Rubin s. Fuchsin.  
 Rubin S s. Säurefuchsin.  
 Rubinstein Blut 399.  
 Rudneff s. Schultze & Rudneff.  
 Rudnew Celloidinlösung 58.  
 Rückenmark s. Centralnervensystem.  
 Ruffini Goldchlorid 220; Sehnen 322.  
 Ruhland Intravitalfärbung 138.  
 Ruprecht Knochenkanäle 391.  
 Ruppricht Resorcinfuchsin 393.  
 Ruß für Richtebeinen 274.  
 Russel s. Brodie & Russel.  
 Russo Echinodermen 433, 435.  
 Rutheniumchlorid 417.  
 Rutheniumoxychlorid 225.  
 Rutheniumroth 225; u. Thionin 176.  
 Rutherford Muskeln 320.  
 Ružička Intravitalfärbung 137; Nu-  
     cleolen 313; Orcein 212.  
 Ryder Doppelte Einbettung 112.  
 Sabin Mallorys Methode 380.  
 Sabrazès Thionin 176.  
 Sabussow Doppelte Einbettung 112.  
 Sachs Nervenenden 321.  
 Sadowsky Nervenzellen 337.  
 Säftigen Acanthocephalen 428.  
 Säugethiere Embryologisches 275 ff.  
 Säure-Alizarinblau BB 209.  
 Säure-Alizarin grün G 209.  
 Säurefuchsin 196—198; für Axen-  
     cylinder 357, 358.  
     S. u. Anilinblau 340; S. u. Anilin-  
     wasser 312; S. u. Ammoniumpikrat  
     197; S. u. Methylgrün 197; S. u.  
     Orange G 196, 197, 392, 405; S. u.  
     Pikrinsäure 170, 196, 358, 373, 381.  
 Säuregelb 196.  
 Säurerubin s. Säurefuchsin.  
 Säureviolett 206, 340; u. Pikrinsäure  
     374.  
 Saffrosin 202.  
 Safranelin 387.  
 Safranin 179; für Celloidin 129; für  
     elastische Fasern 182, 386, 387; für  
     Knorpel 392, 393; für Myelin 358;  
     für Schleim 401.



- S. u. Alaunhämatoxylin 180; S. u. Anilinblau 208; S. u. Gentianaviolett 181, 195; S. u. Hämalan 385; S. u. Lichtgrün 385; S. u. Methylgrün 313; S. u. Natriumcarbonat 175; S. u. Nigrosin 207; S. u. Orange G 195.
- Sagartia* Tentakel 437.
- Sahli Axencylinder 358; Cedernöl 235; Härten 327, 328.
- Saint-Hilaire Nucleohiston 306.
- Sainmont s. Winiwarter & Sainmont.
- Sala Golgis Methode 365, 367.
- Salamandra* Embryonen 284; Epithel 261; Hoden 46; Nervensystem 326; Zelltheilungen 54.
- Salicylsäure als Antisepticum 149, 150 etc.; zum Betäuben 427; zum Fixiren 54; zum Maceriren 259.
- Salicylsäurekarmin 155.
- Saling *Tenebrio* 295, 421.
- Salmoniden Embryologisches 287, 85.
- Salpen Fixiren 412.
- Salpeter s. Kaliumnitrat.
- Salpetersäure zum Bleichen 269; zum Entchromen 33; zum Entkalken 264; zum Erweichen 450; zum Fixiren 37, 277, 279; zum Korrodiren 263, 264; zum Maceriren 260; für Myelin 346; für Neurofibrillen 341; zum Reinigen von Glas 11.
- S. u. Aceton 342, 345; S. u. Alaun 265; S. u. Alkohol 34, 49, 58, 264, 265, 270, 295, 344, 407, 410, 419, 421 — 423; S. u. Chloroform 421; S. u. Chromsäure 267, 282, 288, 332, 377, 419, 421; S. u. Essigsäure 260, 418; S. u. Formol 64, 279, 345, 346; S. u. Glycerin 260; S. u. Kaliumbichromat 288; S. u. Kaliumchlorat 260, 268; S. u. Methylenblau 312; S. u. Orcein 386; S. u. Osmiumsäure 37, 332; S. u. Phloroglucin 266; S. u. Pikrinsäure 54, 421; S. u. Salzsäure 270, 423, 426; S. u. Silbernitrit 215, 216, 279; S. u. Sublimat 44, 291, 295, 418, 420, 421.
- Salpetrige Säure nach Resoreinfuchsin 387.
- Salzlösung physiologische s. Normal-salzwasser.
- Salzsäure zum Auswaschen 162; zum Bleichen 269; für Chromatin 306; zum Entkalken 266; zum Maceriren 260; zum Reinigen von Glas 11.
- S. u. Alkohol 58, 270, 308; S. u. Chromsäure 266, 377, 412; S. u. Eau de Labarraque 351; S. u. Kaliumchlorat 268; S. u. Karmin 156; S. u. Natriumfluorid 267; S. u. Orcein 386; S. u. Pepsin 261, 294; S. u. Phloroglucin 266; S. u. Pikrinsäure 54, 288; S. u. Salpetersäure 270, 423, 426.
- Salzsäure-Alkohol 33, 155 — s. auch Salzsäure.
- Salzsäurekarmin 156.
- Samassa Ctenophoren 440; Doppelte Einbettung 113; Golgis Methode 368; Petroläther 73.
- Samter Einbetten 80; *Leptodora* 299; Orientiren 89.
- Sand Acineten 446; Neurofibrillen 345.
- Sandarak 238.
- Sandmann Maceriren 261.
- Sankey Anilin-Blue-Black 334.
- Sanzo Fixirapparat 272.
- Sapphirina* Fixiren 418.
- Saragnone Binnennetze 367.
- Sargent Rückenmark 335 — s. auch Oviatt & Sargent.
- Sattler Silbernitrat 216.
- Sauer Niere 407.
- Saure Theerfarbstoffe 140.
- Saurer Alkohol zum Differenziren 178 — s. auch Alkohol und Salzsäure-Alkohol.
- Savini Methylenazur 205; Tigroid 338.
- Saxer Blut 399.
- Sazepin Entpigmentiren 421.
- Scala Protozoen 444.
- Scarpattetti Axencylinder 357.
- Schacht Chlorcalcium 228; Glycerin-gelatine 231; Maskenlack 242.



- Schäfer Muskeln 320.  
 Schaeffer s. Fauré-Fremiet, Mayer & Schaeffer.  
 Schällibaum Aufkleben 125.  
 Schaffer (J.) Bindegewebe 381; Entkalken 264 ff.; Kalk 308; Knochen u. Knorpel 388 ff.; Mastzellen 385; Mikrotom 76; Platinsieb 7; Rekonstruktion 273; Retina 376; Säurefuchsin u. Pikrinsäure 196; Schleim 402; Schneideapparat 76; Zuschneiden des Blocks 97.  
 Schaffer (K.) Marchis Methode 353.  
 Schalen von Mollusken 416.  
 Schaper Rekonstruktion 275; Sublimat 42.  
 Scharlach Biebricher 201.  
 Scharlach R 383; u. Fuchselin 388.  
 Schaudinn Blut 397; Brasilin 211; Intravitalfärbung 137; Protozoen 445, 446; Sublimatgemisch 205, 397; Tardigraden 419.  
 Schaukelmikrotom 76, 96, 97.  
 Schellack zum Aufkleben 125; zum Einbetten 114; für Paraffinschnitte 95; Reinigung 243; zum Schleifen 115.  
 S. u. Kanadabalsam oder Tolu balsam 243.  
 Schellackfirnis 243.  
 Schellackkitt 241, 243.  
 Schellackmasse zum Injizieren 253.  
 Schenk Uranacetat 51.  
 Schiefferdecker Anilingrün 206; Aufkleben 128; Blut 400; Celloidin 103, 105, 107; Celloidinmasse 253; Congo-roth 335; Filtriren 175; Indigkarmin 210; Knorpel 393; Lävulose 230; Markhaltige Nerven 347; Methylgemisch 256; Methylviolett 181; Orcein 386; Pankreatin 262; Retina 376; Weigerts Färbung 349 — s. auch Neelsen & Schiefferdecker.  
 Schiefferdecker & Vobis Mallorys Gemisch 335.  
 Schießbaumwolle 103, 105; zum Aufkleben 126.  
 Schildkröten Embryonen 281.  
 Schimmel & Co. Ätherische Öle 68 ff.  
 Schlagenhauer Gipsmantel 333.  
 Schlater Hertwigs Fixirgemisch 64.  
 Schlegel Eugenol 450.  
 Schleifmassen 115 ff.  
 Schleim Färbung 401 ff.  
 Schleimdrüsen 401, 417.  
 Schlemmer Silberbad 345.  
 Schlemmkreide zum Putzen 121.  
 Schlittenmikrotome 75.  
 Schmaus Anilin-Blue-Black 334; Uran-  
 karmin 155, 334.  
 Schmelzer Schwefeleisen 308.  
 Schmidt (A.) Niere 409.  
 Schmidt (F.) Pulmonaten 291.  
 Schmidt (F. W.) Formol 450.  
 Schmidt (G.) Methylenblau 191.  
 Schmirgel zum Schleifen 389, 390.  
 Schmorl Färben der Paraffinschnitte 10; Knochenkörperchen 390.  
 Schnecke (Cochlea) 376 ff.  
 Schneiden von Celloidin 109; von Paraffin 90 ff.  
 Schneider (Aimé) Injektionen 423.  
 Schneider (Anton) Essigsäurekarmin 151.  
 Schneider (R.) Eisen 308.  
 Schnellhärtung mit Formol 62.  
 Schnittbänder 96.  
 Schnitte Aufkleben 119 ff.; Färben 10, 134, 143 — s. auch Schneiden.  
 Schnittstrecker 93, 94.  
 Schockaert Hämatoxylin-Eisen 169.  
 Schoebel Waschapparat 7 — s. auch Mayer & Schoebel.  
 Schoenemann Aufkleben 126; Celloidin 105; Wachsplatten 274.  
 Schönlein *Aplysia* 414.  
 Schollen in Nervenzellen 338, 344 — s. auch Tigroid.  
 Scholtz Neutralroth 427.  
 Scholz Aceton 58; Osmirtes Fett 382.  
 Schreiber Golgis Methode 366.  
 Schridde Blut 397; Entkalken 265; Plasmazellen 385; Zellgranula 312.  
 Schridde & Naegeli Blut 394.



- Schröder Protozoen 445 — s. auch Schuberg & Schröder.
- Schrötter Alizarin 335, 352.
- Schrumpfen der Gewebe beim Fixiren 10; in Paraffin 86, 88.
- Schuberg Ciliaten 442; Dahlia 181; Wasserblau 208.
- Schuberg & Schröder Maceriren 260.
- Schürmayer Ciliaten 442.
- Schütz Neurofibrillen 345.
- Schuhlack für Richtebenen 274.
- Schultz Muskeln 323.
- Schultze (L.) *Ciona* 412.
- Schultze (M.) Jodserum 227; Kaliumacetat 228; Maceriren 257, 259—261; Osmiumsäure 27.
- Schultze (M.) & Rudneff Osmiumsäure 27, 32.
- Schultze (O.) Amphibien 285; Eau de Javelle 452; Fixirgemisch 40; Formol 61; Hämatoxylin-Chrom 168; Maceriren 259; Medium 228; Osmiumsäure u. Hämatoxylin 452; Skelett 388.
- Schulze (F. E.) Diffusionsapparat 7; Osmiumsäure 27; Palladiumchlorür 48; Schnittstrecker 94.
- Schumacher Milz 407.
- Schwalbe Muskeln 323; Nervensystem 325; Schnecke 376.
- Schwannsche Scheide 346.
- Schwarz Pikrinsäure 194.
- Schwarze Cercarien 431.
- Schwefel Brechungszahl 68.
- Schwefeläther s. Äther.
- Schwefelammonium nach Goldchlorid 221; für Golgis Methode 369; als Reagens 308.
- Schwefelblei s. Bleisulfid.
- Schwefelkalium s. Kaliumsulfid.
- Schwefelkohlenstoff 73, Brechungszahl 68.
- Schwefelmetalle zum Imprägniren 225.
- Schwefelnatrium s. Natriumsulfid.
- Schwefelsäure in Chromsäure 32; zum Entchromen 33; zum Maceriren 261; zum Reinigen von Glas 11.
- S. u. Alkohol 309, 389; S. u. Chromsäure 428; S. u. Formol 316; S. u. Kaliumbichromat 11; S. u. Pikrinsäure 53, 428.
- Schwefelwasserstoffwasser u. Formol 371.
- Schwefflige Säure zum Bleichen 30, 269; zur Entchromung 33; zum Entkalken 266; zum Fixiren 37; zum Maceriren 261.
- Schweigger-Seidel Ammoniakkarmin 154.
- Schweinfurter Grün zum Injiziren 249.
- Schwenter Mastzellen 385.
- Schydlowski Orientiren 89.
- Sclavo Geißelfärbung 449.
- Scott (F. H.) Phosphor 307.
- Scott (W. B.) & Osborn *Triton* 283.
- Scutigera* Augen 423.
- Scyllium* Betäuben 16, 19.
- Scyphistomen Fixiren 438.
- Scyphomedusen 438.
- Seaman Schellackkitt 243.
- Seeigel Stacheln 115.
- Seeliger *Antedon* 436.
- Seesalz u. Sublimat 43.
- Seethiere Versilberung 217.
- Seewasser Brechungszahl 68.
- Segall Markhaltige Nerven 347.
- Sehnen von Vertebraten 322.
- Sehrwald Golgis Methode 367, 368 — s. auch Rossbach & Sehrwald.
- Seifen zum Einbetten 100; für Methylenblau 338.
- Seifen und Fette 384.
- Seifenlösung zum Schleifen 115.
- Seifenwasser beim Schneiden 353.
- Seignettesalz u. Kupferacetat 349.
- Seiler Alkoholbalsam 235; Entkalken 267; Indigkarmin 210.
- Sekretgranula 312.
- Sekundäre Osmirung 383.
- Selachier Embryologisches 286; Flossennerven 326; Haut 315; Suprarenalorgane 408; Uterus 64.
- Selenka *Didelphys* 278; Einbettrohr 78; *Mus* 277.
- Seligmann Retina 374.



- Selterwasser zum Betäuben 19.  
 Semen psyllii zum Lähmen 443.  
 Semichon Einbetten 296.  
 Senn s. Wasielewski & Senn.  
*Sepia* Augen 415; Embryonen 290; Leber 414.  
*Sepia* für physiol. Injektionen 408.  
 Sereni Metachromasie 135.  
 Serienklammer von Apáthy 10.  
 Serum künstliches 228 — s. auch Blutserum.  
 Serval Gummiglycerin 114.  
 Severeanu Ölfarben 253.  
 Shakespeare s. Norris & Shakespeare.  
 Sharpeysche Fasern 391.  
 Shearer *Histriobdella* 450.  
 Sheldon *Peripatus* 298.  
*Sida* Embryonen 299.  
 Siebdosen 7.  
 Siebenmann Labyrinth 377.  
 Siebenrock Äther 104.  
 Siedlecki s. Kostanecki & Siedlecki.  
 Siegellack 243; für Knochen 389.  
 Siemerling Hirn 331.  
 Sihler Nervenenden 321.  
 Silberacetat 216.  
 Silberbichromat 362, 363.  
 Silberchromat 364.  
 Silbercitrat 216.  
 Silberfluorid 367; für Neurofibrillen 344.  
 Silbergelatine 248, 249.  
 Silberlaktat 216; für Golgis Methode 365.  
 Silbermann & Ozorowitz Tinte 211, 307.  
 Silbernitrat zum Erweichen 450; zum Fixiren 343; für Golgis Methode 362 ff.; für Harnsäure 407; für Imprägnierungen 214 ff.; für Kalk 309; für Myelin 355; nach Osmiumsäure 289; Reduktion 216.  
 S. u. Gelatine 248, 249; S. u. Jod-silber 216; S. u. Kaliumchromat 390; S. u. Osmiumsäure 365; S. u. Phosphormolybdänsäure 366; S. u. Pyrogallussäure 248; S. u. Salpetersäure 279.  
 Silbernitratammonium 344, 345.  
 Silbernitrit für Golgis Methode 365.  
 Silberoxyd u. Methylenblau 205.  
 Silberphosphat u. Äthylendiamin 339.  
 Silberpikrat 216.  
 Silberurat 407.  
 Sinéty Spermatogenese 409.  
 Singuläre Färbung 133.  
 Sjöbring Formol 59, 61.  
 Sjövall Binnennetz 340.  
 Siphonophoren 439; Betäuben 15.  
*Siphonostomum* Fixiren 424.  
*Sipunculus* Fixiren 426, 427.  
*Siredon* Embryonen 285, 283; Haut 314, 315.  
 Skelettbildung 388, 393.  
 Skorpioniden Embryologisches 297.  
 Skrobansky Bleu de Lyon 208.  
 Smaragdgrün 173.  
 Smirnow Golgis Methode 365; Orcein 386; Tastkörperchen 317.  
 Smith (G.) Pulmonaten 416.  
 Smith (S.) Färben der Paraffinschnitte 10.  
 Snessarew Bindegewebe 380.  
 Sobieransky Niere 407.  
 Sobotta *Amphioxus* 272, 288; Aufkleben 124; *Belone* 286; Corpora lutea 277; Einbetten 85; Mus 279; Sublimat 43.  
 Soda zum Lösen des Eiweißes 292 — s. auch Natriumcarbonat.  
 Sodakarmin 155.  
 Sodor-Flaschen 19.  
 Solferino 182.  
 Solger Bleichen 269; Gefrieren 117; Muskeln 320; Speicheldrüsen 404.  
 Solidgrün 175.  
 Sollas Gefrieren 118; Gelatine 101.  
 Sommer (A.) Anilin 82; Rahmen 214.  
 Sommer (F.) s. Landois & Sommer.  
 Sonnenbrodt Fixirgemisch 38.  
 Sorby Betäuben 18.  
*Sorex* Embryonen 278.  
 Sorgo s. Luithlen & Sorgo.  
 Soulier Maceriren 258.  
 Souza Pyridin 58.



- Spalteholz Einbetten 88; Maceriren 255.  
 Spee Bandschneiden 97; *Cavia* 277;  
 Paraffin 100.  
 Speichel künstlicher 258; für Objekt-  
 träger 121.  
 Speicheldrüsen der Vertebraten 404.  
 Spermatogenese 28, 409.  
 Spermien 409; Maceriren 257.  
 Spezifische Färbung 132.  
*Sphaerechinus* Eier 313.  
*Sphyranura* Fixiren 431.  
 Spiegel (L.) Resorcinfuchsin 388.  
 Spiegel (O.) Blut 396.  
 Spinalganglienzellen 339.  
 Spinnen Embryologisches 297.  
*Spirochaete* Färbung 449.  
*Spirostomum* Fixiren 444.  
*Spongilla* Fixiren 440; Larven 442.  
 Spongioplasma Fixirmittel 309.  
 Sporozoen 446.  
 Spritblau 207.  
 Spriteosein 202.  
 Spuler Eisencochenille 152; Knochen-  
 kanäle 391; Knorpel 393; Plasma-  
 zellen 385.  
*Squilla* Ovarien einbetten 85.  
 Squire Benzol 72; Biondis Gemisch 199;  
 Congoroth 335; Entkalken 266, 267;  
 Glyceringelatine 232; Goldsalze 219;  
 Hämatoxylin 166; Methylgrün 175;  
 Organumöl 70; Säurefuchsin 196.  
 Srdínko Nebenniere 408.  
 Ssobolew Aufkleben 128.  
 Stabilit für Celloidin 109.  
 Stachelzellen 315.  
 Stad (van der) Mikrotom 76.  
 Stärke zum Injiziren 254.  
 Stäubli Blutparasiten 394.  
 Stappers Cumaceen 64, 420.  
 Starke Fettzellen 382.  
 Statkewitsch Protozoen 443.  
 Statoblasten von *Cristatella* 290.  
 Stauffacher *Cyclas* 293.  
 Stein (A.) Schnellhärtung 62.  
 Stein (R.) s. Bartel & Stein.  
 Stein (S. v.) Entkalken 264; Ohr 377.  
 Steinach Siebdose 7.  
 Stempell Methylenazur 205; Myxo-  
 sporidien 446; *Nosema* 446.  
*Stentor* Lähmen 442.  
 Stepanow Anethol 71; Celloidin 105,  
 108; Doppelte Einbettung 114.  
 Stephenson Medium 232.  
 Sternberg Methylenazur 205.  
 Stevens Spermatogenese 409.  
*Stichopus* Fixiren 434.  
 Stieda Ätherische Öle 68 ff.  
 Stilling & Pfützner Muskeln 323.  
 Stintzing Magen 405.  
 Stirling Chromsäure 32; Maceriren 258.  
 Stöhr Eosin 203.  
 Stoeltzner (H.) Sublimat 44.  
 Stoeltzner (W.) Kalk 309; Myelin 352.  
 Stoerk s. Albrecht & Stoerk.  
 Stomatopoden 420; Larven 420.  
 Storch Celluloidmasse 253; Neuroglia 372.  
 Stovaïn für Rotatorien 427.  
 Strahl *Lacerta* 282.  
 Stransky Paraffinum liquidum 238.  
 Strassen (zur) s. Zur Strassen.  
 Strasser Aufkleben 126, 130; Embryonen  
 278; Formol 60; Golgis Methode 368;  
 Mikrotom 76; Paraffin 99; Rekon-  
 struktion 273—275; Riesenschnitte 81,  
 333; Schnittstrecker 94.  
 Strauss Gammariden 50, 423.  
 Streeter Myelin 352.  
 Stricht (O. van der) Entkalken 267;  
 Jod als Beize 139; *Thysanozoon* 302.  
 Stricker Gummi arabicum 114.  
 Strobell s. Foot & Strobell.  
 Ströbe Axencylinder 359.  
 Strong *Acanthias* 332; Fixirgemisch 49,  
 64; Golgis Methode 366; Injiziren 326.  
*Strongylus* Fixiren 429.  
 Strontiumbichromat 38.  
 Strontiumchlorid u. Hämateïn 166; u.  
 Karminsäure 156.  
 Stroud Formol 59.  
 Strychninnitrat für Ciliaten 442.  
 Studnicka Bindegewebe 380.  
 Stückfärbung 11, 134, 142.



Stuhlmann Osmiumsäure 28.

Styrax 238, 391.

Styron 184.

Sublamin 47.

Sublimat 41 ff; als Antisepticum 245; zum Beizen 401; für Embryonen 272; nach Formol 278, 286; für Golgis Methode 339; für Medien 228, 229; für Methylenblau 191; für Osmiumsäure 28; zum Vergiften 18.

S. u. Aceton 44; S. u. Alaun 43; S. u. Alkohol 44, 45, 205, 277, 294—297, 299, 303, 332, 421, 425, 429, 431, 435, 445; S. u. Borsäure 448; S. u. Calciumbichromat 38; S. u. Chloroform 44; S. u. Chromsäure 36, 45, 46, 64, 284, 285, 421; S. u. Eserinsulfat 444; S. u. Essigsäure 36, 41, 43—47, 277, 286, 295, 300, 303, 332, 339, 418, 420, 435; S. u. Fols Gemisch 374; S. u. Formol 64, 279, 286, 405, 406; S. u. Glycerin 435; S. u. Goldchlorid 371; S. u. Hermanns Gemisch 48; S. u. Jod 44, 395; S. u. Kaliumbichromat 46, 370, 405, 428, 445; S. u. Kaliummonochromat 370; S. u. Kupfersulfat 49, 64; S. u. Natriumchlorid 43—45; S. u. Natriumsulfat 397; S. u. Osmiumsäure 29, 36, 45, 46, 223, 301, 339, 407, 428, 438; S. u. Perényis Gemisch 423; S. u. Phenol 44; S. u. Pikrinsäure 45, 300, 332, 346, 420, 421; S. u. Pikrinschwefelsäure 43, 415; S. u. Platinchlorid 45, 47, 272, 277, 339, 418; S. u. Salpetersäure 44, 291, 295, 418, 420, 421; S. u. Seesalz 43; S. u. Tannin 45; S. u. Trichloressigsäure 52; S. u. Zucker 44.

Sublimatalkohol von Schaudinn 419.

Substitution der Farbstoffe 178.

Subtraktive Färbung 311.

Subtriessig 52.

Suchannek Anilin 72; Bergamottöl 69; Objektträger 121; Siebdose 7; Terpentin 237.

Sudan III 382; u. Brillantkresylblau 398.

Suida Färbung 135.

Sulfocyanammonium s. Ammoniumrhodanat.

Sulfocyankalium s. Kaliumrhodanat.

Sulima Betäuben 16.

Sumita Eisen 308.

Summers Aufkleben 126, 128.

Sumner Knochenfische 286.

Suprarenalorgan 408.

Sus Embryonen 277, 278; Schnauze 317; Zahnbein 392.

Suschkin *Gallus* 280.

Sussdorf Schleim 401.

Sympathicus 340.

*Sympodium* Fixiren 437.

*Synapta* Fixiren 434; Betäuben 18.

Syrup s. Zuckersaft; von Apáthy s. Gummisyrup.

Tabakrauch zum Betäuben 15.

Tachiol 344, 367.

*Taenia* Embryonen 302.

Tänzer Orcein 386.

Tafani Schnecke 377.

Taguchi Tusche 252.

Tait Rothkohl 212.

Tallquist & Willebrand Eosin u. Methylenblau 203.

*Talpa* Embryonen 278; Schnauze 317.

Tandler Gelatine 249.

Tannin nach Ammoniumvanadat 371; als Beize 173; nach Dahlia 182; nach Eisenchlorid 224; zum Fixiren 444; für Glykogen 307; nach Methylenazur 205; nach Osmiumsäure 54.

T. u. Brechweinstein 339; T. u. Chromsäure 448; T. u. Eisensalze 448; T. u. Fuchsin 448; T. u. Gallussäure 345; T. u. Natriumacetat 345; T. u. Orange 447; T. u. Sublimat 45 — s. auch Gallussäure u. Gerbsäure.

Tardigraden 419; Embryologisches 297.

Tartuferi Cornea 319.



- Tasthaare, -körperchen, -menisken von Vertebraten 317.
- Tebb s. Rosenheim & Tebb.
- Teichmann Leinölkitt 254.
- Teleostier s. Knochenfische.
- Teljatnik Tigroid 339.
- Tellyesniczky Alkohol 55; Fixirgemisch 39; Fixirmittel 22, 309; Formolgemisch 63; Friedenthals Gemisch 51; Kaliumbichromat 38; Osmiumsäure 31; Perényis Gemisch 34; Salpetersäure 37.
- Tellyesniczky's Gemisch 39.
- Temnocephala* Embryonen 302.
- Tempère Fixirgemisch 51.
- Tenebrio* Embryonen 295; Larven 418, 421.
- Terpentin zum Umrahmen 242; venetianischer 237.
- T. u. Wachs 255.
- Terpentinöl 70; Brechungszahl 68; für Harze 233 ff.; als Intermedium 284, 285, 410; als Medium 366, 385; nach Osinium 303.
- T. u. Celloidin 106.
- Terpineol 71, Brechungszahl 68; für Celloidin 110, 112, 129; für Glycerin-gelatine 101; als Medium 13, 238.
- Terrazas Knorpel 392.
- Tetraäthylgrün 173.
- Tetraäthylphenosafranin 141.
- Tetrabromfluoresceïn 202.
- Tetrachlorkohlenstoff 74.
- Tetramethylthionin 184.
- Tetrander-Mikrotrom 75.
- Thalassicolla* Fixiren 444.
- Thanhoffer Silbernitrat 216.
- Theerfarbstoffe Allgemeines 140; für Kerne 172 ff.; für Plasma 193 ff.
- Theridium* Embryonen 297.
- Thermostaten für Paraffin 86.
- Thiem Maceriren 260.
- Thiersch Boraxkarmin 155; Indigkarmin 210; Injektionsmassen 247--249.
- Thilo Fischskelett 388.
- Thin Maceriren 256; Retina 376.
- Thionin 176; für Knorpel 393; von Nicolle 404; Zusammensetzung 402, 403.
- T. u. Alkohol 385; T. u. Bordeauxroth 201; T. u. Formol 402; T. u. Karbolsäure 176; T. u. Methylgrün 201; T. u. Natriumcarbonat 175; T. u. Pikrinsäure 176; T. u. Rutheniumroth 176.
- Thionine phéniquée 176.
- Thiophengrün 206.
- Thoma Entkalken 265; Indigkarmin 251; Pikrinsäurekarmin 155.
- Thoma & Fromherz Korrodiren 264.
- Thomé Biondis Gemisch 198.
- Thompson Medium 233.
- Thonerdehydrat u. Mucikarminsäure 404.
- Thränendrüse Fixiren 52.
- Threlfall Aufkleben 127.
- Thrixion* Larven 295.
- Thrombocyten 399.
- Thus s. Gum Thus.
- Thymianöl 71.
- T. u. Nelkenöl 111, 401; T. u. Rizinusöl 112.
- Thymol als Antisepticum 151, 190 etc.
- Thysanozoon* Embryonen 302.
- Tichanoff Injiziren 254.
- Tigroid (Tigroidkörper) 338, 344.
- Timofejew Methylenblau 192; Spinalganglien 340.
- Timpe Äther 104.
- Tinctura ferri perchlorati 48.
- Tinktion Allgemeines 213; mit Gold 218 — s. auch Färbung.
- Tinktorielle Präoccupation 311.
- Tirelli Markhaltige Nerven 347.
- Tirmann Eisen 308.
- Tizzoni Alaunkarmin 150; Nerven 347.
- Tödtung 5, 14 ff.
- Tolubalsam Brechungszahl 68; als Kitt 243.
- Toluidinblau 177; für Knorpel 393; statt Methylenblau 192; für Neurofibrillen 341; für Neuroglia 373; polychromes 184.



T. u. Alkohol 385; T. u. Borax 356;  
 T. u. Lithiumcarbonat 184; T. u. Natriumcarbonat 175.  
 Toluol 72, 113, Brechungszahl 68; für Paraffinschnitte 98.  
 Toluylenroth s. Neutralroth.  
 Tomaselli Neurofibrillen 342.  
 Tonkoff Bleu de Lyon 208.  
*Torpedo* Elektrisches Organ 378, 43, 46.  
 Torre s. Bizzozero & Torre.  
 Tourneux & Herrmann Silbernitrat 215.  
 Tower Cestoden 430; Coleopteren 418.  
 Trachealknorpel 392.  
 Tracheaten 418, 421.  
 Tracheen 422.  
 Traganth zum Gefrieren 118; zum Lähmen 443.  
 Trambusti Biondis Gemisch 199.  
 Traubenzucker als Medium 230; zum Reduzieren 345 — s. auch Dextrose.  
 Traumaticin zum Aufkleben 127.  
 Trematoden 431; Miracidien 302.  
 Trenkmann Geißelfärbung 449.  
 Tretjakoff *Ascaris* 303.  
 Triacidgemisch von Ehrlich etc. 197, 198.  
*Triaenophorus* 430.  
 Tribondeau s. Grand-Moursel & Tribondeau.  
 Trichinen lebende 429.  
 Trichohyalin 316.  
 Trichloressigsäure 51, 63; zum Entkalken 266.  
 T. u. Uranacetat 51.  
 Trichlormilchsäure 51.  
*Trichosphaerium* Fixiren 445.  
 Trichromin 206.  
 Tricloden 433; Embryonen 302.  
 Trichter zum Waschen 7.  
 Triepel Orcein 386.  
 Trinchese Nervenenden 321.  
 Trinitrophenol s. Pikrinsäure.  
 Trinkler Maceriren 257.  
 Triphenylrosanilinsulfosäure 208.  
*Triton* Auge 374; Embryonen 283, 285; Magenmuskeln 323.  
 Trockenpräparate von Blut 395.

Tropäolin O 196.  
 Tropfen hangender 5.  
*Tropidonotus* Embryonen 282.  
 Trypanosomen 447.  
 Trypsin 388.  
 Trzaska Natürliche Injektionen 254.  
 Trzebiński Rückenmark 329.  
 Tschernyscheff Kolloxylin 104 — s. auch Karusin & Tschernyscheff.  
 Tubby Celloidin 105.  
 Tuben zum Schnittfärben 10.  
 Türk Blut 394.  
 Tullberg Betäuben 18.  
 Tunikaten 411; Eier 54; Embryologisches 289 ff.  
 Turbellarien 432; Embryologisches 301 ff.  
 Tusche für Embryonen 298; zum Injizieren 252; lithographische 423.  
 Überfärben mit Hämatoxylinen 162.  
 Überfixirte Zellen 31.  
 Überhitztes Paraffin 100.  
 Überlebende Gewebe 4.  
 Überosmiumsäure s. Osmiumsäure.  
 Überruthensäure für Becherzellen 402.  
 Uexküll Betäuben 18, 19.  
 Uhrgläser zum Einbetten 79.  
 Ullmann Blut 395.  
 Ultramarinblau zum Injizieren 254.  
*Ulva* zum Einbetten 89, 301.  
 Underwood Vergoldung 222; Zähne 393.  
*Unio* Embryonen 293; Nerven 189.  
 Unna Bindegewebe 379; Bleichen 269; Blut 398; Celloidin 106; Entchromung 33; Entfärbung im Balsam 235; Fibrin 399; Gaultheriaöl 71; Granoplasma 306; Hämalan 162; Hämatein 158; Keratin 316; Keratohyalin 315; Mastzellen 385; Metaphenylendiamin 176; Muskeln 322; Neuromucin 354; Neutraler Balsam 235; Nitrochrysophansäure 452; Orcein 386; Osmiumsäure 29; Plasmasfasern 317; Plasmazellen 384; Polychromes Methylenblau 184; Rongalitweiß 452; Schleim 401; Sekundäre Osmirung 383; Tinktorielle



- Präoccupation 311; Xylol 73 — s. auch Golodetz & Unna.  
 Unna & Golodetz Fett 383; Haut 316.  
 Unna & Pappenheim Plasmazellen 384.  
 Untersalpetersäure zum Maceriren 260.  
 Upson Karmin 334.  
 Uranacetat zum Beizen 331; zum Fixiren 51.  
 Urankarmin 155.  
*Uroglena* Fixiren 448.  
 Usow Cephalopoden 290.  
 Uterus Einbetten 85; Fixiren 63, 64; von *Homo* 409.  
 Uvea Nerven 326.  
  
 Vacuum beim Einbetten 86.  
 Valle s. Della Valle.  
 Vallet Blutplättchen 400.  
 Vanadiumchlorid als Beize 376.  
     V. u. Aluminiumacetat 356.  
 van Beneden s. Beneden.  
 van der Stad s. Stad.  
 van der Stricht s. Stricht.  
 van Ermengem s. Ermengem.  
 Vaney s. Meunier & Vaney.  
 van Gehuchten s. Gehuchten.  
 van Gieson s. Gieson.  
 van Heurck s. Heurck.  
 van Leeuwen s. Leeuwen.  
 van Rees s. Rees.  
 van Walsem s. Walsem.  
 van Wart s. Wart.  
 van Wijhe s. Wijhe.  
 Vaseline für Celloidinschnitte 109; als Intermedium 333; als Rahmen 4.  
     V. u. Paraffin 93.  
 Vasodilatoren 244.  
 Vassale Marchis Methode 353.  
 Vassale & Donaggio Golgis Methode 366.  
 Vastarini-Cresi Berlinerblau 252; Glykogen 307; Knorpel 392; Milchsäure 245; Myelin 355; Paraffinschnitte 94; Silbergelatine 248.  
 Vecchi s. De Vecchi.  
 Vejdovský *Gordius* 429; Kritik Fischers 22.  
 Veiel s. Klingmüller & Veiel.  
*Veilella* Fixiren 439.  
 Venetianische Seife 338.  
 Venetianischer Terpentin 237.  
 Veraschung von Schnitten 452.  
 Veratti Fixirgemisch 366.  
 Verblasste Präparate 11.  
 Verdauen 261 ff.  
*Veretillum* Fixiren 438; Tödten 15.  
 Vergiften 18.  
 Vergolden 217 ff.; nach Arnstein 318; für Golgis Methoden 367, 368; der Zähne 393.  
 Verhoeff Elastisches Gewebe 388.  
 Verjüngung für Golgis Methode 364.  
 Verknöcherung 394.  
 Verocay Bindegewebe 381.  
 Versilbern 214 ff.; von Seethieren 217, 412 — s. auch Silberacetat etc.  
 Vert en cristaux 173.  
 Verworn Betäuben 17.  
 Vesuvium 175.  
     V. u. Malachitgrün 176; V. u. Salzsäure 385.  
 Viallanes Augen 335; Celloidin 107; Goldchlorid 221.  
 Vialleton *Gallus* 279; *Sepia* 290.  
 Vignal Osmiumsäure 29.  
 Viktoriablau 182; für Neuroglia 374.  
 Viktoriagrün 175.  
 Ville Karmingelatine 246.  
 Violet B 209.  
 Violet rouge u. Pikrinsäure 381.  
 Virchow Chromsäure 32; Salmoniden 287; Schneideapparat 76.  
 Vitalfärbung s. Intravitalfärbung.  
 Vivante Knochenzellen 390.  
*Vlès Mya* 417.  
 Vobis s. Schiefferdecker & Vobis.  
 Vögel Embryologisches 278 ff.  
 Völtzkow Holzeisigfarben 151.  
 Vogt & Yung Arachniden 423; *Lumbricus* 426; *Sipunculus* 426.  
 Voigt *Planaria* 432.  
 Volk Betäuben 19; Quittenschleim 427.  
 Vom Rath s. Rath.



- Vormedien 65.  
 Vorvergoldung 218, 219.  
 Vorversilberung 344.  
 Vosmaer Poriferen 440; Rekonstruktion 273 — s. auch Johnston-Lavis & Vosmaer.  
 Vosmaer & Pekelharing Aufkleben 127; Entkalken 266; Poriferen 441.  
 Vosmaer & Wijsman Entkieseln 267.  
 Vosseler Eiweißglycerin 123; Kolophonium 236; Terpentin 237, T. u. Wachs 242; Wachsfüße 255.  
  
 Wachs zum Korrodieren 264.  
     W. u. Kolophonium 116, 242; W. u. Terpentin 242, 255.  
 Wachsfüße 255.  
 Wachskerzen für Zellen 240.  
 Wachsplatten zur Rekonstruktion 274.  
 Wachszellen 240.  
 Waddington Betäuben 16; Bleichen 269; Ciliaten 444; Gummi 127; Medusen 438; Schweflige Säure 37.  
 Waele s. De Waele.  
 Wagnerella Kieselnadeln 67.  
 Waite *Homarus* 298.  
 Waldeyer Anilinroth 183; Schnecke 377.  
 Walker Blut 397.  
 Wallengren Silbernitrat 215.  
 Walsem (van) Aufkleben 127; Myelin 352; Paraffin 98; Paraffinschnitte 93, 98. *Ward's Cement* 241.  
 Ward Ersticken 18; Gephyreen 426.  
 Wart (van) Neuroglia 373.  
 Waschapparate 7.  
 Waschen s. Auswaschen.  
 Washburn *Limax* 292.  
 Wasielewski (Th.) Medium 227; Sporozoen 446.  
 Wasielewski (Th.) & Senn *Herpetomonas* 447; Methylenazur 206.  
 Wasielewski (W.) Perényis Gemisch 34.  
 Wasser destillirtes Brechungszahl 68, heißes zum Tödten 14, luftfreies zum Ersticken 18, warmes zum Lähmen 19; im absoluten Alkohol 57; zum Aufkleben 119; zum Macerieren 256; als Medium 226.  
     W. u. Eiweiß zum Aufkleben 124.  
 Wasserbäder für Paraffin 86, 87.  
 Wasserblau 207, 208; u. Orcein 380, 386.  
 Wassercirculation 3.  
 Wasserglas zum Injizieren 254.  
     W. u. Glycerin als Medium 353.  
 Wasserluftpumpe beim Einbetten 86.  
 Wasserstoffhyperoxyd zum Betäuben 19; zum Bleichen 30, 31, 268; nach Chromsäure 33; zum Oxydieren 153, 158, 160.  
 Wasserstrahlgebläse beim Schneiden 93.  
 Wasserthiere lebende 3; Ersticken 18.  
 Watasé Cephalopoden 290.  
 Watte als Unterlage beim Härten 26.  
 Webb Gefrieren 118.  
 Weber Echinodermen 434; Rotatorien 427; Siphonophoren 440.  
 Webster Naphtha 82.  
 Wedl Lävulose 230; Orseille 212.  
 Weidenreich Blut 394, 396; Milz 407; Normalsalzwasser 227; Plasmafasern 317; Sekundäre Osmirung 383.  
 Weigert Anilin 72; Aufkleben 130; Axencylinder 357; Bismarckbraun 175; Celloidin 112; Eisenkarminat 151; Fibrin 399; Gentianaviolett 181; Golgis Methode 363; Hämatoxylin 348; Hämatoxylin-Eisen 170; Härten in der Wärme 327; Hirn 330; Marchis Methode 353; Myelin 348 ff.; Neuroglia 372; Pals Methode 351; Pikrokarmin 154; Resorcinfuchsin 387; Xylol 73.  
 Weil Zähne 389.  
 Weinsteinssäure zum Auswaschen 162, 164; nach Goldchlorid 221.  
 Weiss & Rosenstadt Zellgranula 312.  
 Weiße Masse zum Injizieren 249.  
 Welker Wachszellen 241.  
 Weltner Formol 59.  
 Wermel Blut 397.  
 Werner Muskeln 323.  
 Wester Chitin 421.



- Westphal Mastzellen 385.  
 Weyss *Sus* 278.  
 Wheeler Blattiden 296; *Myzostoma* 301, 424; Perényis Gemisch 34.  
 White Bindegewebe 379; Knochenkanäle 391.  
 Whiting Milz 407.  
 Whitman Anuren 285; Fischeier 288; Hirudineen 426; Laich 283; Merkels Gemisch 47 — s. auch Agassiz & Whitman.  
 Wickersheimer Legirung 406; Medium 229.  
 Widakowich *Mus* 277.  
 Widmann Arachniden 423.  
 Wieger s. Born & Wieger.  
 Wierzejski s. Kostanecki & Wierzejski.  
 Wijhe (van) Ammoniakkarmin 153; *Amphioxus* 326; Knorpel 392; Methode von Cox 370, von Golgi 367; Pikrokarmin 154.  
 Wijsman s. Vosmaer & Wijsman.  
 Wilhelmi Apáthys Fixirgemisch 64; Balsam 235; Bindegewebe 381; Doppelte Einbettung 112; Orange G 194; Säurefuchsin 197; Tricladen 433.  
 Wilkie s. Harvey & Wilkie.  
 Will Reptilien 282.  
 Willebrand Eosin u. Methylenblau 203 — s. auch Tallquist & Willebrand.  
 Willey Enteropneusten 424.  
 Wilson (E. B.) Alcyonarien 437; *Nereis* 299.  
 Wilson (J. F.) Definirlinien 275.  
 Wilson & Cramer Protagon 354.  
 Wilson & Hill Aufkleben 125.  
 Wimmer Neuroglia 372.  
 Winiwarter Embryonen von *Lepus* 277.  
 Winiwarter & Sainmont Dreifachfärbung 195.  
 Winkler Absoluter Alkohol 57.  
 Wintersteiner Aufkleben 130.  
 Wissozky Blut 398.  
 Wistinghausen Hämatoxylin 166; *Nereis* 299, 300; Pikrinschwefelsäure 53.  
 Witt (L. M.) s. De Witt.  
 Witt (N.) Färbung 135; Farblacke 140; Schellack 243; Styrax 238.  
 Wlassak Marchis Methode 354; Myelin 346; Osmirtes Fett 382; Petroläther 73.  
 Wolf s. Kolmer & Wolf.  
 Wolff (E.) Celloidin 106; Fibrin 399; Orcein 212; Thionin 176.  
 Wolff (M.) Gefrieren 116 — s. auch Bielschowsky & Wolff.  
 Wolff (W.) Harnblase 324; Nervenenden 321.  
 Wolfrum Kollagen 380; Resorcinfuchsin 387.  
 Wollschwarz für Geißeln 448.  
 Woltereck *Cypris* 420.  
 Wolters Axencylinder 356; Hautnerven 317; Knorpel 392; Myelin 351.  
 Woodland Kalkkörper 434; Plutei 436.  
 Wood-naphta in Alkohol 55.  
 Woodward Boraxkarmin 155.  
 Woodworth Orientiren 89; Rekonstruktion 273.  
 Worcester Sublimatgemisch 286.  
 Wright Blutplättchen 451.  
 Wright & Macallum *Sphyrana* 431.  
 Würmer 424 ff.; Embryologisches 299.  
 Wunderer Nervenenden 321.  
 Xylol 72, Brechungszahl 68; als Antisepticum 250; für Harze 234 ff.; für Paraffinschnitte 98.  
 X. u. Aceton 342; X. u. Anilin 112, 317, 349, 372—374; X. u. Cajepöl 338; X. u. Jod 307; X. u. Karbolsäure 112, 350; X. u. Kreosot 338; X. u. Pikrinsäure 419; X. u. Rizinusöl 109.  
 Yamagiwa Neuroglia 374.  
 Yatsu Festkleben 13; Orientiren 89.  
 Young Methylenblau 188.  
 Yung s. Vogt & Yung.  
 Yvon Wasser im Alkohol 57.



- Zacharias (E.) Phosphor 307; Zellkern 306.  
 Zacharias (O.) Copepoden u. Cladoceren 420; Eisenkarminat 151; Fixirgemisch 50; Flagellaten 448.  
 Zähne der Vertebraten 388 ff.  
 Zander Chitin 421.  
 Zaponlack für Richtebenen 274.  
 Zelle 304 ff.  
 Zellen zum Einschließen 2.  
 Zellen für Präparate 240, 241.  
 Zellen überfixierte 31.  
 Zellgranula 312.  
 Zellkern Fixirmittel 309; Färbmittel 310.  
 Zellplasma Fixirmittel 309; Färbmittel 309.  
 Zenker Injektionen 254; Sublimat 46.  
 Zenkers Gemisch 46.  
 Zenthöfer Orcein 386.  
 Zerneck *Ligula* 430.  
 Zettnow Geißelfärbung 449; Methylenazur 205.  
 Ziegler (E. H.) Compressorium 3, 4.  
 Ziegler (P.) Entkalken 266.  
 Ziehen Imprägnierung mit Gold 371.  
 Ziehl Karbolfuchsin 182.  
 Zielina Blut 399.  
 Zimmer Gemisch 52.  
 Zimmermann (A.) Nucleolen 313; Zellkern 306.  
 Zimmermann (K. W.) Bindegewebe 380; Golgis Methode 363, 369; Knochenkanäle 391.  
 Zimmtöl 71, 299; Brechungszahl 68.  
 Zink in Geweben 308; u. Indigo 422.  
 Zinkbichromat 38, 365.  
 Zinkchlorid zum Fixieren 49; für Hirn 330, 331; für Methode von Cox 370.  
 Zinkjodat für Medium 231.  
 Zinkoxyd zum Injizieren 254.  
 Zinksulfat als Beize 171; u. Kupfersulfat 439.  
 Zinnammonchlorid 171; u. Formol 356.  
 Zinnchlorid nach Silbernitrat 216.  
 Zinnchlorür nach Ammoniummolybdat 225.  
 Zinnober zum Injizieren 254.  
 Zograf Protozoen 444; Rotatorien 428.  
 Zoja *Ascaris* 303; Bioblasten 312.  
 Zoth Luftbläschen 233.  
 Zschiesche *Alcyonidium* 412.  
 Zschokke Benzoazurin 182; Benzopurpurin 201; Deltapurpurin 201; Knorpel 392.  
 Zucker u. Dextrin 131; Z. u. Gummi 190; Z. u. Sublimat 44.  
 Zuckersaft (Zuckersyrup) zum Betäuben 427; zum Gefrieren 117; als Medium 228.  
 Zürn Retina 375, 376.  
 Zunge von *Lepus* und *Rana* 318.  
 Zuppinger Dahlia 181.  
 Zur Strassen *Accaris* 302; *Bradynema* 429.  
 Zwaardemaker Safranin 180.









