

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Lehrbuch der praktischen vergleichenden Anatomie

**Vogt, Carl
Yung, Emil**

1888

Allgemeines über die Technik

Allgemeines über die Technik.

Seit etwa dreissig Jahren hat die anatomische und histologische Technik eine solche Ausdehnung gewonnen, dass man ihre Methoden als einen besonderen Zweig behandeln kann, dessen Kenntniss dem Naturforscher durchaus nothwendig ist. Indessen kann man zur Zeit nur allgemeine Winke über die Art und Weise geben, in welcher man bei Untersuchungen zu Werke gehen soll. Der Forscher muss von Fall zu Fall seine Erfindungsgabe bethätigen, um die sich ihm entgegenstellenden Schwierigkeiten zu bekämpfen. Die grosse Zahl allgemeiner und specieller Untersuchungsmethoden, die täglich angepriesen werden, verwirren den Anfänger mehr, als sie ihm helfen. Wir beschränken uns deshalb hier auf die wesentlichsten Methoden der Technik, welche uns sichere Resultate geliefert haben.

Wir verweisen hinsichtlich der eingehenden Beschreibung der dem Anfänger nöthigen Instrumente auf die bezüglichlichen Lehrbücher. Ein gutes Mikroskop, das Vergrösserungen von 20 bis 800 Durchmessern giebt, eine Stativ- und eine Handlupe, zwei grössere und zwei kleinere bauchige Skalpelle, eine grössere und eine feine Scheere, ein paar Nadeln zum Zerzupfen mit festen Griffen, eine starke Zange und eine feinere Pincette, ein Rasirmesser, Schleifstein und Riemen zum Abziehen, eine Injectionsspritze — das sind die nothwendigen Instrumente, welche dem Anfänger genügen können. Es hält schwer, über die weitere Wahl der Instrumente Rath zu ertheilen, da Jeder darüber seine eigenen, aus der Angewöhnung hervorgegangenen Ansichten hat. Je einfacher, desto besser. Der jetzige Instrumentenluxus ist eher eine Klippe für den Anfänger, der sich bestreben soll, mit gewöhnlichen Instrumenten gute Resultate zu erzielen. Man darf fast auf den Anatomen das Wort Franklin's über den Chemiker anwenden, dass er fähig sein müsse, mit einer Säge zu feilen und mit einer Feile zu sägen. Mit anderen Worten, man soll sich gewöhnen, aus einem Instrumente jeden

möglichen Vortheil zu ziehen, selbst wenn dasselbe nicht ganz dem Zwecke entspricht.

Geduld und Reinlichkeit sind die ersten Bedingungen des Erfolges.

Sich allzusehr beeilen heisst Zeit verlieren. Die Uebereilung ist ein gewöhnlicher Fehler der Anfänger, die schnell viel sehen wollen und sich daran gewöhnen, hastig und oberflächlich zu Werke zu gehen. Es bedarf einer gewissen Zeit, um vollständig und richtig zu sehen. Die besten Beobachter wiederholen ihre Beobachtungen, bevor sie derselben sicher sind. Wie viel mehr ist dies für den Anfänger nöthig, der meist erst lernen muss, zu sehen!

Wir können nicht genug darauf aufmerksam machen, dass das Zeichnen eine wesentliche Beihülfe bildet. Man sollte in den Laboratorien darauf halten, dass die Studirenden alle ihre Präparate zeichnen. Die Nothwendigkeit, jedes Detail genau ins Auge zu fassen, um es naturgetreu nachbilden zu können, erzieht förmlich das Auge und gewöhnt es daran, nichts unbeachtet zu lassen.

Die Unreinlichkeit ist eine beständige Quelle von Fehlern und Irrthümern. Dies gilt namentlich den optischen Instrumenten gegenüber. Eine schlecht gewaschene Glasplatte, eine fettige Linse, ein schlecht gereinigtes Uhrglas bedingen oft wesentliche Beobachtungsirrhümer. Man muss sich deshalb von Anfang an daran gewöhnen, die Reinlichkeit auf die Spitze zu treiben, um so den Irrthümern zu entgehen, welche durch Staub und Schmutz jeder Art die mikroskopischen Untersuchungen beeinträchtigen.

A. Härtungs- und Conservirungsmethoden.

Da alle organischen Gewebe Wasser und leicht zersetzbare Eiweissstoffe enthalten, so beruhen diese Methoden auf der Anwendung von Reagentien, welche das Wasser entziehen und die Eiweissstoffe coaguliren und unzersetzlich machen. Die wesentlichsten Reagentien sind folgende:

Der Weingeist steht allen anderen Mitteln voran. Man benutzt ihn in drei Graden der Concentrirung: zu 70⁰/₀, 90⁰/₀ und als absoluten Alkohol. Letzterer wird nur dann angewendet, wenn man den Geweben gänzlich alles Wasser entziehen will, um sie später mit fetten Oelen oder Flüssigkeiten wie Nelkenöl, Terpentinöl, Kreosot etc. zu tränken. Man darf den absoluten Alkohol nicht unmittelbar anwenden, da er das Wasser so begierig an sich zieht, dass er die Gewebe zerstört; man beginnt also mit 70 procentigem Alkohol und steigert nach und nach den Concentrationsgrad. Zur Erhärtung benutzt man Glasgefässe mit eingeriebenem Stöpsel. Der 70 procentige Weingeist und selbst der noch schwächere, den man im Handel findet, genügen

zur Erhaltung der Thiere unter der Bedingung, dass dieselben vorher mit mehrfach erneuertem stärkerem Alkohol durchtränkt worden sind. Ohne diese Vorsichtsmaassregel zersetzen sich die vieles Wasser enthaltenden Gewebe leicht.

Die Gewebe, welche zu mikroskopischen Schnitten verwendet werden sollen, müssen in Stücke von 1 bis 2 cm Durchmesser zerlegt und dann erst in ein 10- bis 20 faches Volumen von absolutem Alkohol gebracht werden.

Paul Mayer empfiehlt für Conservirung in Museen einen Zusatz von 3 proc. Salzsäure, der etwaige Niederschläge verhindern soll. Für Gliederthiere, wo Chitin in das Spiel kommt, ist die Anwendung von kochendem Alkohol vorzuziehen; der leichter die Gewebe durchdringt.

Glycerin. Viele Präparate können in Glycerin aufbewahrt werden, das nicht verdunstet und die Gewebe aufhellt. Wegen seiner grossen Verwandtschaft zum Wasser entstellt es aber leicht die Gewebe, wenn man es unmittelbar in reinem Zustande verwendet. Reines Glycerin löst sich in allen Verhältnissen im Wasser und Weingeist. Man thut deshalb am besten, die Präparate zuerst mit einer Mischung von 1 Vol. Glycerin mit 2 Vol. Wasser zu durchtränken und nach und nach reines Glycerin zuzusetzen. Um Schimmelbildung zu vermeiden, kann man ein Minimum von Alkohol zufügen.

Wir erwähnen unter den Glycerin enthaltenden Mischungen folgende:

Jäger'sche Flüssigkeit: 1 Thl. Glycerin, 1 Thl. Alkohol, 10 Thle. Meerwasser. Vortrefflich für kleinere Seethiere. Zur Erhaltung grösserer Thiere kann man den Gehalt von Glycerin und Weingeist verdoppeln und verdreifachen. Um Foraminiferen, Kalkschwämme und andere Seethiere mit Kalkskelet zu erhalten, muss das Glycerin vollkommen neutral sein. Das im Handel vorkommende ist oft etwas sauer, weshalb es vorher mit Laekmuspapier zu untersuchen ist.

Langer'sche Flüssigkeit: 100 Thle. Glycerin, 15 bis 17 Thle. Carbonsäure und 11 Thle. Weingeist, dient zur Injection der Gefässe grösserer Thiere, deren Gewebe auf diese Weise durchtränkt werden. Man kann grössere Thiere, die präparirt werden sollen, längere Zeit darin erhalten, bevor das Präparat in Alkohol kommt.

Hantsch's Flüssigkeit: 3 Thle. absoluten Alkohol, 2 Thle. Wasser, 1 Thl. Glycerin, besonders für Crustaceen zu empfehlen, da die Farben sich darin erhalten.

Chromsäure kommt besonders bei histologischen Untersuchungen in Anwendung, da sie das Protoplasma erhärtet und unlöslich macht. Da ihre Titrirung in einzelnen Fällen sehr wichtig ist, so thut man am besten nach Ranvier's Vorschlag von der im Handel vorkommenden reinen, krystallisirten Säure eine 1 proc. Lösung in destillirtem Wasser vorrätzig zu halten, welche man zum Gebrauche beliebig ver-

dünnen und mit gutem Erfolge rein zur Aufbewahrung kleinerer wirbelloser Thiere benutzen kann. Die Chromsäure fixirt zwar die Gewebselemente, darf aber nur mit grosser Vorsicht angewendet werden, indem man in jedem einzelnen Falle den Concentrationsgrad der anzuwendenden Lösung zu bestimmen suchen muss; zu starke Lösungen machen die Gewebe leicht brüchig. Man thut am besten, anfänglich ganz schwache Lösungen in grosser Menge anzuwenden.

Die Chromsäure findet besonders ihre Verwendung bei Thieren, deren Gewebe man erhärten will, während man zugleich die Kalkskelette langsam auflöst. Sehr schwache Lösungen sind zu dieser Behandlung der Kalkschwämme, der Korallen, der Echinodermen unerlässlich.

Das doppelt-chromsaure Kali und Ammoniak können die Chromsäure in manchen Fällen ersetzen. Letzteres Salz, in Lösungen von 1 bis 5 Proc. angewendet, ist der brüchig machenden Chromsäure für Härtung des Centralnervensystemes der Wirbelthiere vorzuziehen, verlangt aber längere Zeit zur Erhärtung der Präparate.

Die Müller'sche Flüssigkeit (2 bis $2\frac{1}{2}$ Thle. doppeltchromsaures Kali, 1 Thl. schwefelsaures Natron und 100 Thle. Wasser) dient vorzugsweise zur Erhärtung kleiner Weichthiere, Würmer und ganzer Organe, z. B. der Augen der Wirbelthiere, um Schnitte der Retina zu machen.

Pikrinsäure. Man benutzt eine gesättigte Lösung, die man leicht erhält, indem man einen Ueberschuss von krystallisirter Säure mit Wasser übergiesst und die ungelösten Theile sich absetzen lässt. Vortrefflich zur Erhaltung und angehender Erhärtung sehr wasserreicher Gewebe, Embryonen etc. Sie gewährt vor der Chromsäure den Vortheil, dass sie sich durch wiederholte Aussüßungen mit Wasser oder 70 proc. Alkohol ganz aus den Geweben entfernen lässt.

Pikrin-schwefelsäure (Kleinenberg'sche Flüssigkeit). Man mischt eine gesättigte Lösung von Pikrinsäure mit 2 Proc. rauchender Schwefelsäure. Es bildet sich ein Niederschlag, den man absitzen lässt. Zu der abgegossenen Flüssigkeit setzt man 2 bis 3 Vol. Wasser zu. Für Gliederthiere kann man die Flüssigkeit unverdünnt benutzen (Paul Mayer); in der angegebenen Weise verdünnt, dient sie für Embryonen und kleinere Thiere. Die Flüssigkeit tödtet die Gewebe, lässt ihnen aber ihre ursprüngliche Form. Sie erhärtet nicht und muss durch wiederholte Waschungen mit 70 proc. Alkohol oder Wasser ausgezogen werden, bevor man zur Härtung schreitet.

Bei Thieren, welche Kalkskelette enthalten, die mit der Schwefelsäure Gyps bilden, kann man die Schwefelsäure durch 8 Proc. Salzsäure oder 5 Proc. Salpetersäure ersetzen; doch muss man die Mischung anfangs sehr stark verdünnen und nur sehr langsam einwirken lassen, um eine tumultuarische Entwicklung von Kohlensäure zu vermeiden, welche die Gewebe zerreißen würde.

Alle Gewebe, die 24 bis 48 Stunden in Kleinenberg'scher Flüssigkeit gelegen haben, müssen nachher durch Wasser oder Alkohol vollständig ausgewaschen werden, ehe man sie härtet.

Osmiumsäure. Wegen ihrer Giftigkeit und Flüchtigkeit mit äusserster Vorsicht zu behandeln. Man findet sie im Handel in Gestalt gelblicher Krystalle in kleinen zugeschmolzenen Glasröhren, welche 1 g enthalten. Man zerbricht diese Röhren in einem 50 g Wasser enthaltenden Fläschchen mit weiter Oeffnung und eingeriebenem Stöpsel von schwarzem Glase, das höchst sorgfältig gereinigt sein muss, da alle organischen Stoffe, eben so wie das Licht, die Lösung, die nur sehr langsam sich vollendet, zersetzen. Um der Menge der angewendeten Säure sicher zu sein, kann man das Röhren vor dem Zerbrechen und nachher wiegen. Man hat so eine Lösung von 2 Proc., die man zur Herstellung verdünnter Lösungen benutzt.

Die Osmiumsäure ist eines der besten Fixierungsmittel für die Gewebeelemente. Man benutzt sie auch, sei es in wässriger oder Gasform, um kleine Thiere augenblicklich zu tödten, ohne dass sie ihre Gestalt ändern. Leider ist ihr Durchdringungsvermögen nur sehr gering.

Die Säure schwärzt alle fettigen Gewebeelemente augenblicklich und auch das Protoplasma nach längerer Einwirkung; das Myelin wird blauschwarz, das Fett braunschwarz, die Muskelsubstanz hellbraun (Ranvier). Leider dunkeln auch die sorgfältigst ausgewaschenen Präparate fast immer nach, und solche schwarz gewordene Stücke zeigen nichts mehr. Man kann sie etwas aufhellen, indem man sie in eine Atmosphäre von Chlor bringt. Man streut auf den Boden eines Glases, worin das Präparat aufgehängt wird, chloresaures Kali und entwickelt dann das Chlor durch Aufträufeln einiger Tropfen Salzsäure mittelst einer Pipette. Durch Erwärmen der Flasche im Wasserbad kann man die Reaction beschleunigen (Paul Mayer)¹⁾. Nach Hertwig verhindert die Färbung mit Beale's Carmin (s. S. 21) das Nachdunkeln der mit Osmiumsäure behandelten Präparate.

Sublimat (Quecksilberchlorid). In gesättigter Lösung, kalt oder warm angewendet, ist der Sublimat ein vortreffliches Fixationsmittel für kleinere Thiere und für Gewebe²⁾. Er macht einen Bestandtheil folgender Lösungen aus.

Owen'sche Flüssigkeit zur Aufbewahrung niederer weicher Thiere ohne Kalkskelet. 1680 Thle. Wasser, 137,5 Thle. Kochsalz, 79 Thle. Alaun und 0,014 Thle. Sublimat.

¹⁾ Paul Mayer entfärbt die Augen der Gliederthiere auf dieselbe Weise durch Chlorentwicklung.

²⁾ In der zoologischen Station in Neapel wird die Sublimatlösung im Grossen von Dr. A. Lang angewandt. Die kalte Flüssigkeit fixirt ausgezeichnet die Hydrozoen, Bryozoen etc. Die warme Lösung kann für grössere Thiere, wie z. B. Mollusken, verwendet werden. Sublimat hat vor der Osmiumsäure den Vortheil, dass er die spätere Färbung der Gewebe nicht hindert.

Goadby'sche Flüssigkeit: 2250 Thle. Wasser, 140 Thle. Kochsalz, 70 Thle. Alaun und 0,3 Thle. Sublimat. Dient wie die vorige. Beide Flüssigkeiten dürfen für Thiere, die später zu mikroskopischen Schnitten gebraucht werden sollen, nicht verwendet werden, da sie die Gewebe brüchig machen, so dass sie unter dem Messer in Staub zerfallen.

Lang'sche Flüssigkeit. Anfänglich für Trematoden und Planarien empfohlen, erweist sie sich auch sehr günstig für andere Wirbellose, besonders Coelenteraten, die sich beim Tode kaum zusammenziehen. 100 Thle. Wasser, 6 bis 10 Thle. Kochsalz, 5 bis 8 Thle. Essigsäure, 3 bis 12 Thle. Sublimat, $\frac{1}{2}$ Thl. Alaun. Sollen Schnitte gefertigt werden, so dürfen die Gegenstände nur eine halbe bis ganze Stunde, je nach der Grösse, in der Flüssigkeit bleiben, um nachher mit Alkohol ausgewaschen und gehärtet zu werden.

B. Maceration, Dissociation.

Krystallisirbare Essigsäure. Helt das Binde- und Muskelgewebe durch Quellung auf und lässt die Kerne hervortreten. In 1 proc. oder noch schwächerer Lösung ist die Säure unersetzlich für das Studium niederster Thiere. Die Brüder Hertwig empfehlen als Macerationsmittel für niedere Thiere, das ihnen bei der Untersuchung der Medusen vortreffliche Dienste geleistet hat, eine Mischung von 0,2 proc. Essigsäure und 0,05 proc. Osmiumsäure zu gleichen Theilen. Man taucht die Objecte, je nach ihrer Grösse, während 2 bis 3 Minuten in diese Mischung, wäscht sie dann mehrere Male in 0,1 proc. Essigsäure aus, in der man sie vor der Zerzupfung einen Tag liegen lässt. (O. und R. Hertwig, das Nervensystem und die Sinnesorgane der Medusen. Leipzig, 1878, S. 5.)

Drittel-Alkohol. 1 Thl. absoluter Alkohol auf 2 Thle. Wasser, von Ranvier mit Recht empfohlen. Man legt die zu zerzupfenden Theile, in kleine Stücke zerschnitten, während einiger Stunden oder selbst Tage in die Flüssigkeit.

Chromsäure. 2 bis 3 Thle. auf 10 000 Thle. Wasser. Erweist sich besonders vortheilhaft für Nervengewebe. Kleine Stückchen in grossen Mengen von Flüssigkeit.

Jodserum. Für feinere histologische Untersuchungen ist Amnios-Flüssigkeit oder Blutserum vorzuziehen. (Ranvier.) Da dieselben aber nicht immer leicht zu beschaffen sind, so kann man sich mit Eiweiss nach der Formel von Frey behelfen: 135 Thle. Wasser, 15 Thle. Eiweiss, 0,2 Thle. Kochsalz. Man tröpfelt in die filtrirte Flüssigkeit 3 Thle. Jodtinctur und legt, da dieselbe leicht verdunstet, einige Plättchen Jod auf den Boden der Flasche.

Ranvier rath in frische Amniosflüssigkeit Jodtinctur zu tröpfeln, bis sie eine weingelbe oder selbst etwas dunklere Farbe hat. Sollen

die Theile lange darin liegen, so muss man, um Fäulniß zu verhüten, täglich so viel Jodtinctur zuträufeln, bis die ursprüngliche Farbe hergestellt ist.

Das ammoniakhaltige Pikrocarminat (S. 22) wird von A. Lang empfohlen. Es muss, je nach der Natur der Objecte, mehrere Wochen lang einwirken.

C. F ä r b u n g.

Alle Färbungsmethoden beruhen auf der Anziehung, die das in den Geweben differenzirte Protoplasma auf die verschiedenen Farbstoffe in verschiedenem Grade ausübt.

Man glaubte früher, dass das lebende Protoplasma sich nicht färbe. Man kann in der That Infusorien und andere Protozoen Tage lang in Lösungen von Pikrocarmin oder Carmin lebend erhalten, ohne dass die mindeste Färbung Platz greift. Indessen hat man in den letzten Jahren sich überzeugt, dass dieser Widerstand des lebenden Protoplasma gegen Färbungen durchaus nicht allgemeine Geltung hat. Gewisse Anilinfarben, wie Bismarckbraun und Quinoleinblau geben diffuse Färbungen der lebenden Thiere und Gewebe. Anodonten z. B. leben in vollkommen neutralen Lösungen von Bismarckbraun ohne merklichen Uebelstand sehr gut fort. Die Lösung entfärbt sich allmählich, während alle Gewebe des Thieres eine tiefbraune Färbung annehmen. Infusorien und Rhizopoden verhalten sich nach Brandt und Henneguy ebenso. Injicirt man, wie Henneguy gethan hat, unter die Haut eines Frosches eine ziemliche Quantität von Bismarckbraun, so färben sich alle Gewebe, besonders aber das Muskelgewebe, nach einigen Stunden dunkelgelb, ohne dass das Thier zu leiden scheint. Junge Forellen färben sich ebenso, während sie in der Flüssigkeit umherschwimmen.

Da diese Färbung eine allgemeine und diffuse ist, so kann sie dem Anatomen kaum nützen. Doch sollen nach Brandt die Kerne lebender Protozoen sich häufig in wässriger Lösung von Hämatoxylin färben. Im Allgemeinen können aber nur todte, frische oder gehärtete Gewebe zur Färbung verwendet werden. Da die färbenden Flüssigkeiten nur schwierig eindringen, so müssen grössere Objecte vor der Färbung in Stücke zerlegt werden, während man kleinere Gegenstände im Ganzen vor dem Schneiden färben kann.

Carmin. Die Lösungen dieses Farbstoffes werden in verschiedener Form zur Färbung der Zellkerne benutzt. Wir geben hier nur die hauptsächlichsten Lösungen, wie sie in Laboratorien allgemein benutzt werden.

Neutraler Carmin, 1 Thl. Carmin, 1 Thl. Ammoniak, 100 Thle. Wasser. Man löst zuerst den Carmin in mit wenig Wasser verdünntem Ammoniak und setzt dann das nöthige Wasser zu. Ist ein Ueber-

schuss von Ammoniak vorhanden, so verdunstet man ihn durch Erwärmung im Wasserbade, bis sich ein Niederschlag von Carmin zu bilden beginnt, lässt erkalten und filtrirt. Die Färbung in dieser concentrirten Flüssigkeit geht sehr rasch von Statten; lässt man die Gewebe länger darin, so färben sie sich vollständig und diffus. Es ist im Allgemeinen vorzuziehen eine verdünnte Lösung anzuwenden, die langsamer, aber auch sicherer wirkt. Es gelingt zuweilen, überfärbte Schnitte dadurch zu entfärben, dass man sie mit ammoniakhaltigem Wasser auswäscht, indessen tritt dann leicht diffuse Färbung ein und es ist stets besser, von Anfang an gute Kernfärbungen dadurch zu erhalten, dass man eine verdünnte Lösung anwendet und die Objecte entfernt, sobald die Kerne hinlänglich gefärbt sind.

Gewebe, die in Chromsäure oder doppeltchromsaurem Kali gelegen haben, sollen nach Ranvier zuerst durch Auslaugen in Wasser während 1 bis 2 Tagen von der Chromsäure befreit, dann in Alkohol oder einer Mischung von Alkohol und Essigsäure gewaschen und nach erneuter Auslaugung mit Wasser schliesslich gefärbt werden.

Für Gegenstände, die in Pikrinsäure gelegen haben, ist schnelle und intensive Färbung der langsamen, für Alkoholpräparate empfohlenen vorzuziehen. Mit Osmiumsäure behandelte Gegenstände färben sich nur langsam und schwer, aber in derselben Reihenfolge, was die Elemente betrifft, wie die Alkoholpräparate, so dass also diese Säure in ihrer Wirkung von der Chromsäure verschieden ist.

Alle gefärbten Präparate sind vor jeder weiteren Behandlung sorgfältig auszuwaschen.

Beale's Carmin, vortrefflich zur Färbung der Kerne von mit Osmium- oder Chromsäure behandelten Protozoen. 60 Thle. Wasser, 60 Thle. Glycerin, 15 Thle. Alkohol, 3,5 Thle. Ammoniak, 0,64 Thle. Carmin. Man löst den Carmin in Ammoniak, giesst die übrigen Flüssigkeiten umschüttelnd zu und filtrirt, nachdem der Niederschlag sich abgesetzt.

Schneider's essigsaurer Carmin. Fixirt sich gut in den Kernen und hellt zugleich die Gewebe auf. Man löst so viel Carmin als möglich in verdünnter kochender Essigsäure auf (100 Thle. Wasser, 45 Thle. Essigsäure) und filtrirt die Flüssigkeit von dem überschüssigen Carmin ab.

Thiersch's oxalsaurer Carmin. Man löst 1 Thl. Carmin in 3 Thln. Wasser und 1 Thl. Ammoniak und in einer zweiten Flasche 1 Thl. Oxalsäure in 22 Thln. Wasser. In 8 Thle. der oxalsäuren Lösung werden 1 Thl. der carminhaltigen gegossen und nach Umschütteln 12 Thle. absoluten Alkohols zugefügt. Einen etwa entstehenden Niederschlag löst man durch Zutropfeln von Ammoniak auf.

Grenacher's Alauncarmin. Man löst in einer, während 10 bis 20 Minuten kochenden, 1 bis 5 proc. Lösung von gewöhnli-

schem oder Ammoniakalaun so viel pulverisirten Carmin als möglich und filtrirt nach dem Erkalten. Die Färbung ist sehr intensiv, eher lila als roth und hat den Vortheil, dass sie selbst bei längerem Verweilen der Gewebe in der Flüssigkeit nicht diffus wird.

Grenacher's Boraxcarmin. Man verfährt wie oben, nur dass man eine 1 bis 2 proc. Lösung von Borax statt der Alaunlösung nimmt. Man erhält eine purpurfarbene Flüssigkeit, die vor dem Niederschlage abfiltrirt und vorsichtig tropfenweise mit Essigsäure versetzt wird, bis sie die gewöhnliche rothe Farbe des Carmins zeigt. Man filtrirt aufs Neue nach 24 Stunden. Die Flüssigkeit giebt jetzt nur eine diffuse Färbung. Man wäscht, um die Kernfärbung zu erhalten, die Schnitte in reinem Wasser und legt sie dann in ein Uhrglas, das 50 bis 70 proc. Alkohol mit einem Tropfen Salzsäure enthält. Der Farbstoff löst sich und concentrirt sich schnell an den Kernen. Das Verfahren ist nur bei Schnitten verwendbar, dann aber zur ausschliesslichen Färbung der Kerne vortrefflich. — Zur Färbung ganzer Thiere empfiehlt Grenacher eine Lösung von 2 bis 3 Proc. Carmin in einer 4 proc. Boraxlösung, zu der man ein gleiches Volumen 70 proc. Alkohols zusetzt. Man lässt die Thiere bis zu vollständiger Durchfärbung in der Lösung und wäscht sie dann in Wasser aus, dem man auf 100 ccm 4 bis 6 Tropfen Salzsäure zugesetzt hat.

Ammoniakhaltiges Pikrocarminat. Ranvier'sche Formel dieses allgemein angewandten Färbemittels: Man neutralisirt eine concentrirte Lösung von Pikrinsäure mittelst einer concentrirten Lösung von Carmin in Ammoniak und dampft in mässiger Wärme bis zu einem Volumen von $\frac{1}{5}$ ab. Die erkaltende Lösung bildet einen wenig Carmin enthaltenden Niederschlag, den man abfiltrirt. Die weiter abgedampfte Flüssigkeit liefert ein krystallinisches Pulver aus Pikrocarminat von rother Ockerfarbe, das sich vollständig in Wasser löst. Man benutzt eine 1 proc. Lösung.

Die Präparate nehmen die doppelte Färbung des rothen Carmins und der gelben Pikrinsäure an. Man kann letztere durch wiederholte Waschungen mit Wasser ausziehen.

Cochenille-Tinctur (Paul Mayer). Diese Tinctur giebt eine dem Carmin ähnliche Färbung und ist besonders für solche Fälle zu empfehlen, wo die anderen Färbemittel nicht leicht eindringen, wie z. B. für Gliederthiere mit Chitinhüllen. Man erhält die Tinctur, indem man pulverisirte Cochenille mit 70 proc. Alkohol während mehreren Tagen behandelt. Der Alkohol löst 8 bis 10 Proc. Farbstoff auf. Die filtrirte Lösung hat eine tiefrothe Farbe. Man kann sie ohne Weiteres für in gleichprocentigem Alkohol behandelte Gegenstände verwenden. Schnitte und kleine Thiere sind in wenigen Minuten durchgefärbt. Man kann die Einwirkung auf Schnitte verzögern, indem man die Lösung mit Wasser verdünnt. Ueberfärbung entfernt man durch wie-

derholte Waschungen mit kaltem oder selbst warmem Alkohol von 70 Proc. Kerne und Protoplasma werden intensiv gefärbt. Alkohol von stärkeren Concentrationsgraden als 70 Proc. löst weniger Cochenille auf und die Flüssigkeiten sind zu wenig gefärbt, um benutzt werden zu können. Säuren geben der Farbe einen gelblichen, kaustische Alkalien einen bläulichen Ton. Metallsalze bilden bläuliche, bräunliche oder grünliche Niederschläge, die benutzt werden können. Behandelt man z. B. ein schon mit Cochenille gefärbtes Präparat mit einer weingeistigen Lösung eines Eisen- oder Kalksalzes, so wird die rothe Färbung tief blau. Diese Färbung tritt zuweilen ungesucht auf, wenn Kalksalze sich in dem lebenden Organismus finden und ist dann von der blauen, durch Hämatoxylin hervorgebrachten Farbe schwer zu unterscheiden. Präparate, die mit Chrom- oder Pikrinverbindungen erhärtet wurden, färben sich mit Cochenille recht gut.

Hämatoxylin, der Farbstoff des Campecheholzes. Findet sich im Handel in Gestalt braunrother Krystalle. Bereitung: Man macht eine Lösung von 0,35 Thln. Hämatoxylin in 10 Thln. absoluten Alkohol und eine andere von 0,10 Thln. Alaun in 30 Thln. Wasser. Man tröpfelt so viel von der ersten Lösung in die zweite, bis die Flüssigkeit eine gesättigt violette Farbe angenommen hat. Diese Flüssigkeit färbt sehr intensiv und kleinere Objecte dürfen nur wenige Minuten darin bleiben; dagegen entfärben sich die Präparate nach und nach selbst in Canadabalsam. Die Flüssigkeit zersetzt sich sehr leicht und verschimmelt, so dass man sie am besten zu jedesmaligem Gebrauch frisch bereitet.

Kleinenberg's Hämatoxylinlösung, welche die Kerne vollständiger färbt und besser hält, wird folgendermaassen hergestellt. Man bereitet eine gesättigte Lösung von Chlorcalcium in 70 proc. Alkohol und versetzt dieselbe bis zur Sättigung mit Alaun, setzt dann dieser Lösung 6 bis 8 Vol. 70 proc. Alkohol und dann eine um so grössere Menge von in absolutem Alkohol gelöstem Hämatoxylin zu, eine je intensivere Färbung man erzielen will. Nach der Färbung werden die Präparate in 90 proc. Alkohol ausgewaschen.

Kleinere Thiere werden am besten mit schwachen Hämatoxylinlösungen behandelt, die Färbung geschieht weit langsamer, ist aber regelmässiger. Ueberfärbte Präparate dürfen nicht mit Alkohol, sondern nur mit der Alaunchlorcalciumlösung ausgewaschen werden. Man kann indessen auch mit Oxalsäure (Kleinenberg) oder Salzsäure (Paul Mayer) angesäuerten Alkohol zum Waschen verwenden. Die violette Färbung wird roth, erhält aber durch erneute Waschung mit reinem Alkohol die ursprüngliche Farbe.

Die Hämatoxylinlösung wird zuweilen durch Entwicklung von Säure roth, kann aber dann durch Verstopfung des Glases mittelst eines in Ammoniak getränkten Stöpsels in normaler Farbe hergestellt werden.

Quinoleinblau. Wir verwenden es nach der von Ranvier in seinem „Traité technique“ gegebenen Formel. Man löst das Quinolein in 36 proc. Alkohol und fügt der Lösung 1 Vol. Wasser zu. Würde das Wasser sogleich dem Alkohol zugefügt, so bliebe das Quinolein ungelöst. Dieses Blau hat eine sehr grosse Färbekraft und lässt sich in sehr verdünnten Lösungen verwenden. Man kann es sowohl für frische als auch für in Alkohol oder Pikrinsäure gehärtete Präparate verwenden. Die gefärbten Präparate werden in Wasser ausgewaschen und in Glycerin aufbewahrt. In manchen Fällen kann man die mit Quinolein gefärbten Präparate vortheilhaft mit einer 40 proc. Lösung von Aetzkali behandeln. Es findet dann sofort eine vollständige Selection statt; die Kerne bleiben ungefärbt, das Zellenprotoplasma, Muskel- und Nervensubstanz werden hellblau, das Fett tiefblau.

Anilinfarben. Wir müssen hier noch die bekannte, von Hermann und Flemming eingeführte Färbungsmethode der Zellenkerne erwähnen, wozu Anilinfarben verwendet werden und welcher Flemming so schöne Erfolge verdankt. Die Methode kann nur für Schnitte und sehr kleine Objecte in Anwendung kommen. Man fixirt zuerst die Präparate mit Chromsäurelösung von 0,1 bis 0,5 Proc., wäscht sie dann sorgfältig in destillirtem Wasser aus und bringt sie hierauf in eine Anilinlösung in absolutem Alkohol, worin sie 12 bis 24 Stunden liegen bleiben. Man kann verschiedene Anilinfarben hierzu verwenden.

Nach der Färbung wäscht man die Präparate in gewöhnlichem Weingeist aus und bringt sie dann in ein weisses Porzellanschälchen mit absolutem Alkohol, worin man sie so lange schüttelt, bis keine Farbe mehr ausgezogen wird. Die Kerne färben sich sehr schön. Wir verweisen hinsichtlich der Einzelheiten auf Flemming's Abhandlung. (Ueber das E. Hermann'sche Kernfärbungsverfahren. Archiv für mikroskopische Anatomie Bd. XIX. 1881, S. 317.)

Jodtinctur lässt sich sehr gut für Färbung von Muskeln und Fettkörpern verwenden, vorzüglich bei Gliederthieren. Da aber das Jod sich schnell verflüchtigt, so kann die Tinctur nicht zur Anfertigung von Dauerpräparaten verwendet werden, sondern nur zu vorübergehender Erforschung. Etwas haltbarer ist die Ranvier'sche, mit Jod gesättigte Lösung von 2 Thln. Jodkalium in 100 Thln. Wasser.

Salpetersaures Silberoxyd (Höllensteinlösung). Man verwendet es in 1 proc. Lösung, die je nach Bedarf verdünnt werden kann, in einzelnen Fällen. Zur Untersuchung der Endothelien unentbehrlich. Man lässt die Theile einige Zeit in der Lösung und setzt sie dann dem Lichte aus, welches das Silber an den Contouren der Zellenwände reducirt und ein schwarzes Netzwerk sehen lässt. Die Behandlung ist sehr umständlich und wir verweisen hinsichtlich der dabei einzuhaltenden Vorsichtsmaassregeln auf die histologischen Lehrbücher (Ranvier, Traité technique p. 104).

Goldchlorid. Vortrefflich zur Untersuchung des Nervensystems der Coeleleraten. Die 1 bis 2 proc. Lösung muss in schwarzen Fläschchen mit eingeriebenem Glasstöpsel vor dem Lichte bewahrt werden. Es ist noch nicht gelungen, allgemeine Regeln für die Anwendung dieses werthvollen Reagens aufzustellen; jeder Fall bedarf einer besonderen Technik, worüber die Originalabhandlungen einzusehen sind.

D. I n j e c t i o n s m a s s e n .

Man wendet Injectionen zur Untersuchung der Wasser-, Blut- und Lymphgefässe und zur Darstellung der interstitiellen Hohlräume zwischen den Geweben an. Der Anfänger muss lernen, Injectionen mit der Handspritze in Canälen verschiedener Dicke zu machen. Wir verweisen auf die technischen Handbücher hinsichtlich der Beschreibung und Anwendung der zahlreichen Apparate mit constantem oder wechselndem Drucke, welche den Handdruck durch regelmässige Wirkung ersetzen und in neuester Zeit empfohlen worden sind. Wir erwähnen nur die gebräuchlichsten Injectionsmassen.

Kalte Massen. Wenn man nur die Vertheilung der kleineren Gefässe in Präparaten studiren will, die nicht aufbewahrt werden sollen, so kann man irgend einen beliebigen, zu feinstem Pulver zerriebenen festen Farbstoff verwenden, den man in Wasser, Alkohol oder noch besser in einer Mischung von 2 Thln. Glycerin, 1 Thl. Wasser und 1 Thl. Weingeist suspendirt. Handelt es sich aber darum, die Präparate aufzubewahren, so muss eine dichtere Flüssigkeit verwendet werden, die sich später erhärtet. Eine solche, zugleich leicht eindringende und fest werdende Masse ist noch zu finden. Wir benutzen meist eine gut filtrirte Lösung von arabischem Gummi, die um so gesättigter sein muss, je grösser die einzuspritzenden Gefässe sind und in welcher man Chromgelb, Carmin oder Berlinerblau suspendirt. Da das Chromgelb leicht Klümpchen bildet und sich nicht so fein pulverisiren lässt, so wählt man zur Injection von Capillaren am besten die letztgenannten Farbstoffe. Anilinfarben sind zu vermeiden, da sie meist nur in Weingeist löslich sind, der das Gummi gerinnen macht und ausserdem in die Gewebe diffundiren, so dass die Capillaren sich nicht mehr unterscheiden lassen.

Das frisch injicirte Thier wird in Weingeist gebracht, der das Gummi gerinnen macht und ihm einige Consistenz giebt. Freilich bilden sich besonders in grösseren Gefässen durch die Coagulation des Gummis oft Hohlräume und die Continuität beeinträchtigende Lücken. Bei der Anwendung von Eiweiss, welches ebenfalls durch Weingeist oder Wärme zum Gerinnen gebracht wird, ist dieses aber in noch höherem Grade der Fall.

Warme Massen. Diese bei gewöhnlicher Temperatur meist wachsfesten Massen werden zwischen 30 bis 50° C. flüssig. Das zu injicirende Thier muss also vorher, am besten in einem Wasserbade von 40° C. so lange gehalten werden, bis alle Theile vollständig durchwärmt sind. Je nach der Grösse wechselt die dazu nöthige Zeit.

Zur Einspritzung der grösseren Gefässe dienen die alt hergebrachten Massen von Talg und Oel, die mit Oelfarben gefärbt sind.

Besser dringen die Leimmassen ein, die mit einem der oben angeführten Farbstoffe verrührt sind. Die Lösungen dürfen nicht zu concentrirt sein. In den meisten Lehrbüchern werden die Leimmassen zu dicht angegeben. 1 Thl. Gelatine auf 10 bis 20 Thle. Wasser ist vollkommen hinreichend. Je wässriger der Leim, desto besser dringt er ein. Die Lösung muss im Wasserbade bereitet und sorgfältig durch Flanell oder Musselin filtrirt werden.

Gelbe Leimmasse nach Thiersch. Man giesst 20 ccm einer gesättigten Lösung von doppelchromsaurem Kali in 80 ccm Leimlösung. Andererseits mischt man 40 ccm einer gesättigten Lösung von salpetersaurem Bleioxyd mit 80 ccm Leimlösung. Man mischt beide warm gehaltene Flüssigkeiten, während man sie beständig mit einem Glasstabe umrührt.

Nach Frey kann man das salpetersaure Bleioxyd folgendermaassen durch Bleiessig ersetzen. Man mischt eine Lösung von 36 Thln. neutralem essigsäurem Bleioxyd in 50 Thln. Wasser mit einer Lösung von 15 Thln. doppelchromsaurem Kali in 50 Theilen Wasser, lässt den Niederschlag absetzen, wäscht ihn mehrmals aus und rührt ihn dann in die Leimlösung ein.

Für andere Farben benutzt man am besten die im Handel in Bleiröhrchen zu findenden Aquarellfarben.

Robin'sche Masse. 40 Thle. Talg, 40 Thle. Walrath, 10 Thle. weisses Wachs, 15 Thle. Terpentinöl werden sorgfältig in der Wärme zusammengemischt und die nöthige Menge von Oelfarbe zugefügt. Die Masse schimmelt leicht; um dies zu verhüten, bewahrt man sie in einem verschlossenen Glasgefässe unter Weingeist auf.

Mojsisovics von Mojsvar empfiehlt für grössere Thiere folgende Masse: 420 g gelbes Wachs, 335 g Talg, 210 g Terpentinöl, 210 g Zinnober. Man schmilzt den Talg mit dem Wachs in einer Schale zusammen, bis sie vollkommen flüssig sind und fügt dann unter beständigem Umrühren den im Terpentinöl zerriebenen Zinnober zu.

Lösliches Berlinerblau, sehr intensiv blau färbend, kann mit allen wässerigen Injectionsmassen verwendet werden, sowie auch allein bei Untersuchungen. Die Bereitung dieses nicht im Handel vorkommenden Farbstoffes ist bei Ranvier (Traité p. 119) nachzusehen.

Mikroskopische Präparate.

Kleinere Thiere und Larven, Zupfpräparate und ganz besonders feine Schnitte werden auf einer Glasplatte, dem Objectträger, in eine geeignete Erhaltungsflüssigkeit gebettet und mit einem Deckgläschen bedeckt. Eine Sammlung solcher Präparate ist äusserst nützlich und jeder Naturforscher muss eine solche herstellen können. Wir geben die nothwendigsten allgemeinen Regeln; die Technik kann nur durch Uebung erworben werden.

Die beiden gebräuchlichsten Erhaltungsmittel sind Canadabalsam und Glycerin.

Der im Handel vorkommende **Canadabalsam** ist eine harzige, durchsichtige Flüssigkeit. Man wählt am besten eine Sorte, deren Brechungsvermögen des Lichtes demjenigen des Glases gleichkommt, und erkennt dies daran, dass ein hineingesteckter Glasstab unsichtbar wird. Der Balsam löst sich in Terpentinöl, Benzin und Chloroform. Letztere beiden Lösungsmittel verdunsten sehr rasch, so dass der Balsam schneller trocknet als im Terpentinöl. Da das Chloroform so rasch verdunstet, dass der Balsamtropfen, in welchen man ein Präparat bringen will, sich schon an der Oberfläche erhärtet, ehe man Zeit hat, das Präparat einzulegen, so wird man in den meisten Fällen das Benzin vorziehen.

Da der Balsam sich nicht mit Wasser mischt, so muss das einzulegende Präparat vollständig entwässert sein. Man legt es zu diesem Behufe zuerst in gewöhnlichen, dann in absoluten Alkohol, den man mehrmals erneuert. Man entfernt den überschüssigen Alkohol durch Fliesspapier oder auch durch Abtropfenlassen auf der Fingerspitze und legt das Präparat dann in Terpentinöl, Nelkenöl oder Kreosot. Da der Alkohol den Balsam gerinnen macht, so muss er vollständig durch eine der genannten Flüssigkeiten ersetzt sein. Für Präparate, die kalkige Theile enthalten, darf das stets säuerliche Kreosot nicht verwendet werden. Für feine und zarte Präparate wird man das Nelkenöl dem Terpentinöl vorziehen, da letzteres sie bei längerem Verweilen durch Zusammenziehung entstellt.

Ist das Präparat ganz von einer der genannten Flüssigkeiten durchdrungen und durchsichtig geworden, so wird es in einen entsprechend grossen Tropfen von Balsam auf den Objectträger gebracht und mit dem Deckgläschen gedeckt. Sind an einigen Stellen Luftbläschen zurückgeblieben, so entfernt man diese, indem man mittelst einer Feder oder eines zweckmässig eingerichteten Gewichtes einen leichten, aber beständigen Druck auf das Deckgläschen wirken lässt.

Der Balsam trocknet im Innern nur sehr langsam. Die Ränder

des Präparates können seit Wochen erhärtet sein, während der Balsam im Innern noch flüssig ist. Man muss also die Präparate, die aussen herum nicht verkittet zu werden brauchen, während einiger Monate mit Vorsicht behandeln. Ist ein Ueberschuss von Balsam unter dem Deckgläschen hervorgequollen, so entfernt man ihn mit einem feinen Messer und reinigt die letzten Reste mit einem in Terpentinöl angefeuchteten Leinwandläppchen.

Feste Stoffe (Knochen, Zähne, Nadeln etc.) kann man in harten Balsam einbetten, den man durch mässige Erhitzung erweicht, indem man die Glasplatte wie das Deckgläschen erwärmt. Die Präparate werden sehr schnell hart beim Erkalten, so schnell, dass man Luftbläschen nicht durch Druck, sondern nur durch Eröffnen mittelst einer erhitzten Nadel beseitigen kann. Die ganze Manipulation erfordert bedeutende technische Geschicklichkeit und wird deshalb diese Präparationsmethode nur selten geübt.

Man kann zur Aufbewahrung in Balsam nur gefärbte Präparate verwenden, da in den ungefärbten die Gewebe durch den Balsam zu durchsichtig werden. Mit Ausnahme des Hämatoxylin halten alle übrigen Farbstoffe sehr gut in Balsam, ohne abzublassen.

In Terpentinöl aufgelöstes **Dammarharz** kann den Balsam in den meisten Fällen ersetzen und wäre, als farbloses Medium, dem stets gelblichen Balsam vorzuziehen, wenn es beim Trocknen nicht brüchig würde. Eine Mischung von gleichen Theilen Balsam und Dammarharz liefert vortreffliche Resultate.

Mastix in Tropfen, Kolophon und andere Harzlösungen sind ebenfalls, aber ohne Vortheil, versucht worden.

Das **Glycerin** wird allgemein zur Anfertigung von Wasser enthaltenden Präparaten angewandt. Reines Glycerin bringt Schrumpfung der Präparate hervor, da es mit Begierde das in den Geweben enthaltene Wasser an sich zieht; man muss die Präparate also zuerst in verdünntes Glycerin legen und nach und nach reines Glycerin zusetzen. Man wartet mit dem Decken einige Zeit, um die Luftbläschen an die Oberfläche steigen zu lassen. Die Farbstoffe blässen nach und nach in dem Glycerin ab. Um dies möglichst zu verhüten, setzt man dem Glycerin etwas Essigsäure (1 Tropfen auf 30 g) zu. Da das Glycerin nicht trocknet, so müssen die Präparate mit einer Verkittung von Paraffin etc. umzogen werden, wovon später die Rede sein wird. Die Ränder der Deckplatte müssen, um die Verkittung fest zu machen, vollkommen trocken und von Glycerin befreit sein. Man erreicht dies, indem man den Ueberschuss der Flüssigkeit mit einem Stückchen Fließpapier aufsaugt und den Rand mit einem feinen, mit Weingeist befeuchteten Pinsel abwischt.

Farrant'sche Flüssigkeit. 0,11 g arsenige Säure werden in 35 g kochenden Wassers gelöst und nach dem Erkalten mit 35 g Gly-

cerin versetzt. Dann löst man in der Masse 35 g ausgesuchtes arabisches Gummi. Sie erhärtet weniger als der Balsam, aber doch hinlänglich, um eine Verkittung entbehren zu können; doch muss man immerhin bei dem Reinigen der damit gefertigten Präparate vorsichtig sein. Man kann nur mit Wasser befeuchtete Gegenstände darin aufbewahren; da der Alkohol das Gummi niederschlägt, so müssen aus dem Weingeist entnommene Gegenstände vorher sorgsam ausgewaschen werden.

Glycerin und Gelatine zu gleichen Theilen wird für Gewebe angewendet, die im reinen Glycerin zu durchsichtig würden. Man quillt die Gelatine in Wasser auf und löst sie durch Erwärmen im Glycerin auf. Die Mischung erhärtet hinlänglich, um die Verkittung der Präparate entbehrlich zu machen.

D u r c h s c h n i t t e .

Die Anfertigung von Schnitten ist unentbehrlich zum Studium der histologischen Structur eines Gewebes oder der Lagerung der Organe kleiner Thiere. Man fertigt die Schnitte aus freier Hand, wenn man nur einige nöthig hat, oder mit dem Mikrotom, wenn man Schnittserien von gleicher Dicke zu haben wünscht. Wir gehen auf die Beschreibung der Instrumente nicht ein; jeder Forscher hat sein eigenes System, das ihm bei gehöriger Uebung gute Resultate liefert. Wir wenden vorzugsweise das Handmikrotom von Ranvier und das Schlittenmikrotom von Spengel an. In neuerer Zeit hat man die Mikrotome bedeutend vervollkommenet und englische wie deutsche Fabrikanten stellen Instrumente her, welche Schnitte von $\frac{1}{200}$ mm Dicke mit Sicherheit anzufertigen gestatten. Wir verweisen hinsichtlich dieser verbesserten Instrumente auf die mikroskopischen Zeitschriften.

Die gehärteten Gewebe können direct in Stücken von Hollundermark geschnitten werden, deren Länge und Dicke durch das Instrument, das man anwenden will, bestimmt wird. Man kann das Hollundermark durch in Alkohol gehärtete Stücke von Kalbs- oder Schaffleber ersetzen. Die Klinge des Rasirmessers muss stets mit Weingeist befeuchtet sein, um das Aufrollen der Schnitte zu verhüten. Man färbt und präparirt die Schnitte einzeln.

Zarte Gegenstände, die keinen Druck vertragen können, müssen mit arabischem Gummi, Leim oder noch besser mit Collodion in entsprechende Höhlungen des gespaltenen Hollundermarkes eingeklebt werden. Man bedeckt das Object mit mehreren Schichten dieser Substanzen, bis es vollkommen eingebettet ist, fügt die beiden Hälften des

Hollundermarkes zusammen und lässt trocknen. Man schneidet dann und entfernt die Klebmasse von den Schnitten mit lauem Wasser (Gummi und Leim) oder mit Aether (Collodion).

Diese für die Histologie zureichenden Methoden genügen nicht, wenn es sich darum handelt, die Lagerung der Organe im Verhältniss zu den Höhlen des Körpers zu studiren (z. B. Amphioxus, Embryonen etc.). In solchen Fällen müssen Massen angewendet werden, welche in die Körperhöhlen eindringen, sie ausfüllen und durch ihre Erhärtung die Organe in ihrer wechselseitigen Lage erhalten. Unter den zahlreichen angewendeten Substanzen, die in der gewöhnlichen Temperatur erhärten oder umgekehrt in der Wärme, erwähnen wir nur drei.

Paraffin. Allgemein angewendet und sehr zufriedenstellend, wenn man genau die anzugebenden Vorsichtsmaassregeln befolgt. Nehmen wir an, es sei ein Embryo vom Hühnchen zu behandeln. Nachdem man ihn in Kleinenberg'scher Flüssigkeit oder Sublimatlösung fixirt hat, wäscht man ihn wiederholt in Alkohol von 70, von 90 Proc. und schliesslich in absolutem Alkohol, in welchem er 24 Stunden verweilt. Dann wird er für einige Stunden in Nelkenöl, Kreosot oder Benzol gebracht, bis er durchsichtig geworden ist und schliesslich in Paraffin getaucht, das im Wasserbade geschmolzen ist. Es ist von höchster Wichtigkeit, dass das Paraffin kaum über den Schmelzpunkt erwärmt ist; zu heisses Paraffin bringt entstellende Schrumpfungen hervor. Man versucht den Wärmegrad, den man durch wiederholte Versuche besser als durch das Thermometer bestimmt, indem man mit der Pincette einen Tropfen des geschmolzenen Paraffins herausnimmt. Er muss augenblicklich erstarren. Man lässt den Embryo, je nach seiner Grösse, eine viertel bis halbe Stunde in dem Paraffin, bis er vollkommen durchtränkt ist und bringt ihn dann in ein mit geschmolzenem Paraffin gefülltes Uhrglas, Papierkästchen oder sonstiges Gefässchen, in dem man ihn langsam erkalten lässt, nachdem man ihn mittelst einer erwärmten Nadel in der für die Schneidung zweckmässigen Lagerung orientirt hat.

Das erstarrte Paraffin bildet mit dem Embryo eine Masse, die man leicht so zuschneiden kann, dass sie ein für die Zange des Mikrotoms geeignetes Prisma bildet, welches man in feine Schnitte zerlegt, deren jeder einen in Paraffin eingebackenen Durchschnitt des Embryo enthält. Man bringt die Schnitte in numerirter Reihenfolge auf den Objectträger und sucht zuerst das Paraffin zu entfernen, ohne die Reihenfolge zu stören. Man erwärmt zuerst die Glasplatten mässig, um das Paraffin zu erweichen, wodurch die Schnitte an dem Glase ankleben, dann pinselt man mit einem in Terpentinöl getauchten Pinsel vorsichtig das Paraffin weg. Ist dieses geschehen, so deckt man das Deckgläschen auf und lässt in Terpentinöl gelösten Canadabalsam langsam einfließen. Ist das zu Gebote stehende Paraffin zu hart, so kann

man es durch einige Tropfen Olivenöl oder Vasselin erweichen und sein Penetrationsvermögen durch einige Tropfen Terpentinöl erhöhen.

Die Einschliessungsmethode in Paraffin ist durch Giesebrecht (Zur Schneidetechnik. Carus Anzeiger, 12. Septbr. 1881, p. 483) wesentlich verbessert worden. Das gehärtete Object wird in ein Cylinderglas mit absolutem Alkohol gebracht und nun mit einer Pipette Chloroform langsam von unten her zugefügt, welches den leichteren Alkohol verdrängt. Das Object sinkt nach und nach in das Chloroform und ersetzt dabei seinen Alkohol durch Chloroform. Sobald es untergesunken, die Verdrängung geschehen ist, wird der Alkohol abgehoben und das Object im Chloroform allmählich zum Schmelzungspunkte des Paraffins erwärmt. Während dessen thut man nach und nach Stückchen Paraffin hinein. Sobald keine Dampfbläschen mehr aufsteigen, ist das Chloroform ohne Schrumpfung des Objectes durch das Paraffin verdrängt.

Die geschnittenen Objecte werden auf Objectträger gebracht, die man vorher mit einer dünnen, gleichmässigen Schicht von Schellack überzogen hat. Diese Schicht wird um so tauglicher, je heller der verwandte braune Schellack ist, den man in absolutem Alkohol gelöst und filtrirt hat. Die Lösung darf nicht concentrirt sein; der Objectträger wird angewärmt und mittelst eines dicken Glasstabes, den man der Länge nach darüber hinführt, die Schicht ausgebreitet. Je dünner und gleichmässiger diese Schicht, desto besser. Ehe man die Schnitte darauf zu ordnen beginnt, bestreicht man den Schellacküberzug mittelst eines Pinsels ganz dünn mit Kreosot oder Nelkenöl und legt dann die Schnitte mit möglichst wenig Paraffin darauf. Sodann setzt man das Objectglas mit den Schnitten etwa eine viertel Stunde auf einem Wasserbade der Schmelztemperatur des angewandten Paraffins aus. Durch die Wärme gehen Nelkenöl oder Kreosot an den Rand des Objectträgers, wo man sie abwischen kann. Man erwärmt so lange, bis sie gänzlich verdampft sind. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte durch den Schellack so gut fixirt, dass man nun Terpentin frei darüber laufen lassen und damit das Paraffin lösen kann, ohne sie aus der Lage zu bringen. Nach Einschluss in Canadabalsam lässt sich von dem Schellacküberzug, sofern er dünn und gleichmässig war, nichts mehr wahrnehmen. Nach Caldwell kann man statt der alkoholischen Lösung von Schellack eine solche in Kreosot benutzen.

Pölzam's Seifenmasse. Man hobelt gewöhnliche Seife zu feinen Spänen, die man mehrere Tage dem Sonnenlicht aussetzt, bis sie weiss geworden sind, dann pulvert man sie fein und vermischt sie mit Spiritus zu einer breiförmigen Masse. Man mischt 10 Gewichtstheile dieser Masse mit 22 Thln. Glycerin und 35 Thln. 90 proc. Alkohol und lässt das Ganze sieden, bis man eine vollkommen durchsichtige, syrupähnliche etwas gelbliche Flüssigkeit erhält, mit welcher man die Objecte

übergiesst. Die Masse erhärtet bald, ist vollkommen durchsichtig und lässt sich leicht schneiden. Man entfernt den Ueberschuss mit warmem Wasser oder verdünntem Alkohol und hebt die Präparate in Glycerin oder Farrant'scher Lösung auf. (Salensky, Morphol. Jahrbuch v. Gegenbaur. Vol. III, 1877, p. 558.)

Eiweiss. Für topographische Studien sehr verwendbar. Man legt das vorgängig mit einer wässerigen Farblösung gefärbte Object in Eiweiss, in dem es wegen des langsamen Eindringens des Eiweisses mehrere Stunden wenigstens liegen muss, bringt es dann in eine Kapsel mit Eiweiss, die man, um das Austrocknen der Oberfläche zu verhüten, am besten mit einem Glasrichter deckt und erwärmt nun im Wasserbade bis fast zur Siedhitze. In einer Viertelstunde etwa ist das Eiweiss geronnen. Man legt das Käpselchen in gewöhnlichen Weingeist, den man mehrmals wechselt und schliesslich in absoluten Alkohol.

Das Eiweiss wird hart wie Knorpel und lässt sich sehr fein schneiden. Die eingebetteten Stücke erhalten sich unverändert lange Zeit im Alkohol, so dass man sich mit dem Schneiden nicht zu eilen braucht. Wenn das Object nicht orientirt sein sollte, so kann man das erhärtete Stück Eiweiss in Nelken- oder Terpentinöl legen, worin es nach einigen Stunden so durchsichtig wie Bernstein wird. (Selenka im Carus Anzeiger 1878, p. 130.)

In Alkohol gehärtete Stücke können nur dann mit Eiweiss behandelt werden, wenn vorher der Weingeist vollständig mit Wasser ausgezogen ist. Solche Präparate sind aber nur zum Studium der gegenseitigen Lage der Organe, nicht zu histologischen Untersuchungen brauchbar, weil die zuerst im Weingeist geschrumpften, dann im Wasser wieder aufgequollenen Gewebe zu grosse Veränderungen eingehen.

Verkittung der Präparate.

Die Glycerinpräparate müssen verkittet werden. Gewöhnlicher **Asphaltlack** (Asphalt mit Terpentinöl) wird am häufigsten verwendet; man bestreicht den Rand mit einem Pinsel in der Weise, dass Objectträger und Deckplättchen zugleich mit einer zusammenhängenden Schicht verkittet werden. Da er leicht Risse bekommt, so rätth Ravier, den Lack lange Zeit im Wasserbade zu kochen. Es ist zu rathen, mehrere feine Schichten in Intervallen aufzutragen.

Feinster Siegellack in Weingeist aufgelöst bis zur Syrupconsistenz kann den Asphaltlack für Präparate ersetzen, die nicht mit Carmin gefärbt sind. Der Weingeist diffundirt leicht in das Präparat und schlägt den Carmin nieder.

Für Präparate, die nicht transportirt werden sollen, genügt **Paraffin**, das leicht weggenommen werden kann. Man erhitzt ein Eisen-

stäbchen und nimmt damit vom Paraffin, das bei 50° C. schmilzt, einen Tropfen, den man mittelst des geneigten Stäbchens so an eine Ecke des Präparates laufen lässt, dass Deckgläschen und Objectträger verkittet sind. Nachdem man so die vier Ecken befestigt hat, füllt man in derselben Weise die Zwischenräume längs der Ränder. Hierauf erhitzt man das Stäbchen aufs Neue und indem man es parallel den Rändern horizontal auf das Paraffin wirken lässt, verbreitet man dieses in der Weise, dass das Paraffin 2 bis 3 mm über den Rand des Deckgläschens und etwa ebensoviel auf den Objectträger übergreift. Während der ganzen, auf allen Seiten wiederholten Operation muss das Präparat genau horizontal gehalten werden, um ungleiche Anhäufungen des geschmolzenen Paraffins zu vermeiden. (Ranvier, *Technique*, p. 140.)

Im Handel kommen verschiedene, in den Laboratorien gebräuchliche Lacke vor (Bourguignonlack, Maskenlack etc.), deren jeder seine Vorzüge und Nachteile hat.

Z e l l e n .

Zarte Präparate, die durch den Druck der Decklamelle leiden könnten, oder solche von etwas grösserer Dicke müssen in Zellen eingeschlossen werden. Wir benutzen ausschliesslich runde, ovale oder viereckige Glaszellen, die mit einem besonderen Lack fest auf den Objectträger aufgeklebt sind. Man findet sie mit den entsprechenden Deckgläschen in beliebiger Form, Grösse und Dicke im Handel. Wir benutzen die von Professor Denis Monnier erfundenen Glaszellen, welche von Cogit (Lerebours et Secrétan, opticiens, quai de l'Horloge-Paris) oder von Madame Vve. Crozet, place des Grottes E. 63 in Genf bezogen werden können. Sobald die Objecte in einem Tropfen der Conservirungsflüssigkeit eingebettet sind, wird das Deckplättchen mit einem der angegebenen oder einem besonderen, im Handel vorkommenden Lack festgekittet.

Literatur. H. Frey, *Das Mikroskop*. — Ch. Robin, *Traité du Microscope*. Paris 1871. — H. Grenacher, Einige Notizen zur Tinctionstechnik, besonders zur Kernfärbung. *Archiv für mikrosk. Anatomie*. Bd. XVI, 1879. — Paul Mayer, Ueber die in der zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. *Mittheil. aus der zool. Station zu Neapel*. Bd. II. — A. Mojsisovics von Mojsvar, *Handbuch der Zootomie*. 1881. — Ranvier, *Traité technique d'histologie*. Paris 1882.