

Finally a series of trials were made in which the apparatus was altered so that the layer of water and ink was of uniform thickness, thus casting an area of light of equal intensity into the experimenting dish. The trials were made with the sun's rays entering at various angles but in nearly every case the starfish moved about "aimlessly" sometimes in the direction of the rays, sometimes opposite to the direction of the rays, and often from side to side.

From these experiments it is evident that *Echinaster* moves from the region of least intensity to that of greater intensity without reference to the direction of the sun's rays.

It may be claimed that the ink particles at the thin end of the prism (see figure) scatter the sun's rays so that the starfish in moving toward the brightly lighted end of the field is really moving in response to rays reflected from these particles; but it is also true that there is a greater scattering of rays by particles at the thick end of the prism and a greater number impinging on the surface of the starfish from a direction opposite to which the creature is moving.

2. Die Fischelsche Alizarinfärbung und ihre Anwendbarkeit für die Polychaeten, speziell *Pectinaria koreni* Mgrn.

Von David Nilsson, cand. phil., Upsala, Zool. Institut.

(Mit 4 Figuren.)

eingeg. 27. September 1909.

In einem sehr interessanten Artikel, betitelt »Untersuchungen über vitale Färbung an Süßwassertieren, insbesondere bei Cladoceren«¹, teilt Prof. Fischel unter anderm die Resultate mit, die er mittels Alizarin erhalten hat, eines Stoffes, der bisher keine große Anwendung in der mikroskopischen Technik gefunden hat, und dessen Eigenschaft, spezifische Gewebselemente im tierischen Körper vital zu färben, absolut unbekannt gewesen ist. Dem Verfasser ist es gelungen, dadurch, daß er Süßwassercladoceren (einige Arten von *Daphnia* und *Bosmina*) in einer stark verdünnten Alizarinlösung hielt, das Nervensystem oder wenigstens gewisse Teile desselben dunkelviolet bis schwarz gefärbt zu erhalten. Später (Okt. 1908) wird mitgeteilt, daß auch eine Copepode sich hat färben lassen². Die Nerven nehmen den Farbstoff in Form von »Schollen und Körnchen von verschiedener Größe und Gestalt« an, und die Untersuchung ergibt, daß es die perifibrilläre Substanz sein

¹ Fischel, A., Untersuchungen über vitale Färbung an Süßwassertieren, insbesondere bei Cladoceren. Internat. Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie. Bd. 1. 1908.

² Fischel, A., Zur Anatomie des Nervensystems der Entomostraken. Zool. Anz. Bd. XXXIII. S. 698. 1908.

muß, welche die Einwirkung erfährt. Die Ganglien sind durch größere oder kleinere Anhäufungen derartiger Körnchen und Klumpen ausgezeichnet.

Die Verteilung der Alizarinkörnchen auf die verschiedenen Zellen, d. h. die Struktur derselben, hat Fischel jedoch nicht an dem dicken und ziemlich undurchsichtigen Objekt beobachten können. Was das Gehirn und das Bauchmark betrifft, so ist es nach Fischel sogar sehr fraglich, ob es wirklich Ganglienzellen und nicht vielmehr die proximalen Teile der Nerven sind, die sich gefärbt haben; diese Ganglienzellen sollen nicht chromophil sein — gleich wie die »Punktsubstanz«.

Betreffs des peripheren Systems hat Fischel mehrere Lücken in unsrer Kenntnis von dem Nervensystem der Cladoceren ausfüllen können, besonders bezüglich der feineren Nervenverzweigung in der Muskulatur der Extremitäten, im Darm usw. Eine Verbindung mit Sinnesnervenzellen wird jedoch nirgends erwähnt, wenn nicht möglicherweise die im ersten Antennenpaar gelegenen Ganglienzellen als solche gedeutet werden dürfen. Die Beschreibung ist jedoch unklar, und die mitgeteilte Figur spricht nicht hierfür.

Die Methode soll völlig spezifisch für das Nervensystem sein, und da es dem Verfasser nicht gelungen ist, mittels anderer Stoffe, z. B. Methylenblau, eine Färbung desselben zu erhalten, wird die Hypothese aufgestellt, daß die Elemente, die gefärbt werden, »präformierte, konstante und unveränderliche Bestandteile sind, deren Elektivität eine so ausgesprochene ist, daß bei den verschiedenen Tierarten anscheinend nur mit einem dieser Farbstoffe (Methylen und Alizarin) eine Verbindung möglich ist« (1, S. 136).

Da ich seit einiger Zeit mit nervenhistologischen Studien an sedentären Polychaeten, speziell Amphicteniden, beschäftigt bin, erregte natürlich Prof. Fischels Entdeckung mein größtes Interesse, und ich beschloß, die Methode an *Pectinaria koreni* Mgrn. zu prüfen, welche Art ich in Masse an der zoologischen Station Kristineberg auf der schwedischen Westküste während des Junis dieses Jahres habe erhalten können.

Mein Verfahren war das folgende: 1 bis 2 Liter Seewasser wurde bis zum Sieden erwärmt, worauf Alizarin sicc. von Merck im Überschuß zugesetzt wurde. Nach einigen Minuten wurde die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt und das ungelöste Alizarin abfiltriert. In die konzentrierte, schwach violette Flüssigkeit wurden dann höchstens 10, von ihren Röhren befreite *Pectinaria* gelegt, die danach im Dunklen aufbewahrt wurden. Nach 12—24 Stunden wurden die noch lebenden Tiere aufgeschnitten und auf einem Objektglas ausgebreitet, worauf

das Resultat der Färbung unter dem Mikroskop festgestellt wurde. In den meisten Fällen war die Färbung vollständig mißlungen, in einigen aber wurden sehr schöne und instruktive Bilder erhalten. Auch bei den Polychaeten ist das Resultat demnach sehr ungewiß.

Die Exemplare, die zu einer näheren Untersuchung einluden, wurden in Glycerin eingeschlossen und mit Deckgläschen überdeckt. Die Färbung erwies sich indessen — wie man erwarten konnte — als unhaltbar in diesem Medium, und ebenso war Härtung in Alkohol unmöglich, weshalb die Färbung in kurzer Zeit verblaßte und schließlich ganz verschwand. Hiernach zu urteilen, kann es keines von den Metallsalzen des Alizarins sein, das sich gebildet hat, denn teils sind diese der Regel nach in Wasser, Glycerin und Alkohol unlöslich, und teils entstehen sie erst bei Erwärmung oder länger dauernder Einwirkung. Die Alkalisalze dagegen bilden sich leicht, z. B. die Kaliumverbindung, deren Farbe große Ähnlichkeit mit der hat, welche das Nervensystem nach der Einwirkung des Alizarins annimmt, weshalb die Annahme nahe liegt, daß die Färbung auf der Gegenwart von Alkalien in gewissen Gewebeelementen beruht.

Fischel ist es nicht gelungen, Dauerpräparate anzufertigen (1, S. 123). Durch sorgfältiges Einschließen der Objekte hat er es aber doch dahin gebracht, daß sie sich einige Tage lang hielten. Formalin, auch in kleinen Quantitäten, wie Fischel vorschlägt, zuzusetzen, erwies sich als unzweckmäßig, da das Präparat hierdurch weniger durchsichtig und infolgedessen zu weiterer Untersuchung ungeeignet wird. Das Formalin konserviert natürlich die Gewebe des Tieres, wirkt aber nicht auf die Färbung fixierend ein. Ein anderer Stoff mußte daher als Fixiermittel gesucht werden, und ich fand dieses im Kaliumacetat, das Herr Prof. G. Retzius, der sich zu gleicher Zeit an Kristineberg aufhielt, mir zu prüfen riet. Es zeigte sich, daß, wenn das Präparat schnell in destilliertem Wasser abgespült und mit einigen Tropfen starker Kaliumacetatlösung begossen wurde, die Färbung sich nicht weiter veränderte; — vermutlich infolge von Aussalzung. Nach einigen Minuten wurde das meiste von der Lösung entfernt und Glycerin zugesetzt, worauf das Objekt mit Deckglas versehen wurde. Auf diese Weise montierte Präparate sind sehr durchsichtig, und noch nach 3 Monaten ist keine Abnahme der Färbungsintensität zu bemerken.

Die Fischelsche Alizarinmethode erhebt den Anspruch, eine spezifische Nervenfärbungsmethode zu sein, und wäre solchenfalls die einzige bekannte. Methylenblau z. B. färbt auch andre Elemente des Gewebes, nicht zum wenigsten bei den sedentären Polychaeten, wo die Methode in mehrfacher Weise modifiziert werden muß, um ein genügendes Resultat zu liefern. Indessen zeigt das Alizarin tatsächlich

denselben Nachteil wie Methylenblau, obwohl in geringerer Ausdehnung. Bei *Pectinaria* werden nicht nur Nerven gefärbt, sondern auch die Borstenspitzen, das Secret von Mucusdrüsen im Vorder- und Hinterende und vor allem die peripherischen Teile der Blutgefäße, welche in den Kopflappen z. B. so scharf hervortreten wie die Flüsse auf einer Karte. Um mich davon zu überzeugen, daß es sich hier nicht um eine »Injektion« handelt, präparierte ich Stücke der Gefäße heraus, die dann in destilliertem Wasser abgespült und auf gewöhnliche Weise behandelt wurden. Die Gefäße hatten andauernd denselben Farbenton, so daß kein Zweifel darüber besteht, daß wirklich die Wände färbbar sind. — Es wurde dies an völlig lebenskräftigen Individuen konstatiert.

Fig. 1.



Waren die Würmer vor der Dissektion gestorben, zeigten oft Partien des Hautmuskelschlauches einen intensiv roten (bisweilen violetten) Farbenton.

Fischels Annahme, daß bei einer und derselben Tierart das Nervensystem vital nur mittels des einen oder andern der Stoffe, Methylenblau oder Alizarin, gefärbt werden soll, scheint verfrüht. Jedenfalls ist die Elektivität der nervösen Elemente nicht so stark ausgesprochen bei den sedentären Polychaeten. Bei *Pectinaria koreni* kann man schöne Nervenfärbungen, sowohl in dem peripheren als in dem centralen System, mittels der Methylenblaumethode erhalten, wenn

diese angemessenen Modifikationen unterworfen wird. Das Alizarin ergibt gleichfalls gute Resultate, besonders was die peripheren Nervenverzweigungen betrifft. Mit Vorteil ist das Alizarin in drüsenreichen Körperteilen angewandt worden, so z. B. in der Scapha, wo man mittels Methylen meistens nicht nur Nerven und Sinneszellen, sondern auch andre Gewebe stark blaugefärbt erhält.

Die Alizarinreaktion ist, was die Nerven betrifft, ausschließlich an die perifibrilläre Substanz gebunden. Die Neurofibrillen selbst habe

Fig. 2.



ich nirgends beobachten können, und hierin liegt der größte Unterschied zwischen der Wirkungsweise des Methylen und des Alizarins. Mittels des ersteren werden nämlich die Neurofibrillen entwickelt, und nur bei Überfärbung nimmt die perifibrilläre Substanz Methylenblau auf.

Betrachtet man nun Fig. 1, die einige Zipfel vom Rande der Scapha zeigt, in welchen die Sinnesnervenzellen und die davon ausgehenden Nervenfasern stark von Alizarin gefärbt sind, so sieht man sofort einen bedeutenden Unterschied gegenüber dem Bilde, das man

mit Methylenblau erhalten würde. In dem Kopfnerv kann man nicht mehr als drei oder möglicherweise vier längsverlaufende, relativ breite Stämme unterscheiden, deren jeder einem der größeren Zweigkomplexe in der baumartigen Verzweigung entspricht; in diesen wieder lassen sich einige dünnere Nerven unterscheiden, die sich ihrerseits in ein Bündel von Fasern auflösen, deren jede sich nach einer Sinneszelle begibt. Außerdem finden sich in dem Hauptstamm einige feine Fasern, die sich direkt zu einer Gruppe von vier paarweise angeordneten Zellen begeben, welche etwas größer als die gewöhnlichen Sinneszellen, im übrigen aber von genau demselben Aussehen sind und vermutlich auf dieselbe Weise funktionieren. Es ist klar, daß wir hier einen rein sensorischen Nerv vor uns haben, aus einer Anzahl »sensorischer Bündel« von der gleichen Beschaffenheit zusammengesetzt, wie sie Apáthy bei Hirudineen und Oligochaeten mittels »Nachvergoldung« nachgewiesen hat³. Sie bestehen also zu äußerst aus einer Gliascheide, die auf Alizarin reagierende interfibrilläre Substanz einschließt, in welcher die Neurofibrillen eingebettet liegen. Die größeren Nerven sind miteinander durch Brücken verbunden, vermittels welcher deutlich ein Austausch von Fasern stattfindet, so daß sie also zur Entstehung eines Plexus Anlaß geben. Dagegen stehen die proximalen Fortsätze der Sinneszellen in diesem Teile des Tieres nicht unmittelbar in Verbindung mit dem subepithelialen Nervennetz.

Dies tritt in Alizarinpräparaten an manchen Stellen äußerst scharf hervor, so z. B. an der Basis der Cirren (Fig. 2). Ein ziemlich dicker, wahrscheinlich gemischter Nervenstamm, *a*, gibt hier unter spitzem Winkel einen kräftigen Ast ab, der eine Strecke lang dem Hauptstamm parallel läuft, um sich dann seinerseits zu teilen und Zweige abzugeben; außerdem gehen von *a* mehrere kleinere Zweige unter rechtem Winkel ab, die mit Fortsätzen des Nerven *b* anastomosieren und zusammen mit diesen einen reichen Plexus bilden. In dem abgebildeten Präparat sind keine Sinneszellen gefärbt worden, dagegen aber sieht man einige Fasern, die das subepitheliale Nervennetz verlassen und in das Epithel hinaufsteigen, um hier umzubiegen und parallel mit der Oberfläche verlaufen. Es dürfte wahrscheinlich sein, daß dies sog. freie Nervenendigungen sind, ich kann jetzt aber nicht mit Sicherheit entscheiden, ob die Fasern sich oberhalb des Epithels ausbreiten und demnach eine Andeutung von dem »superficialen« Nervennetz geben, das Dechand bei *Lumbricus* nachgewiesen hat⁴. Ich will indessen hier nicht näher auf diese Frage

³ Apáthy, St., Das leitende Element des Nervensystems und seine topographischen Beziehungen zu den Zellen. Mitth. Zool. St. zu Neapel Bd. 12. 1897.

⁴ Dechant, E., Beitrag zur Kenntnis des peripheren Nervensystems des Regenwurmes. Arb. Zool. Inst. Wien. Bd. XVI. 1906.

eingehen, sondern hoffe später in einer ausführlicheren Darstellung auf sie zurückzukommen.

Motorische Nervenverzweigungen treten weniger oft als bei den Cladoceren hervor, in den Parapodien aber und auch in dem Hautmuskelschlauch sind sie mittels Alizarin nachweisbar. Fig. 3 zeigt eine solche Nervenverzweigung in der Ringmuskulatur. Sie erinnert sehr an die Bilder, die Retzius mit Methylenblau bei *Nereis*⁵ und mit Chromsilber bei *Lumbricus*⁶ erhalten hat. Die größeren Granulaanhäufungen möchte ich als Eintritt der Nervenfasern in die Muskelfaser deuten.

Bei stärkerer Vergrößerung (Hartnack Obj. 4, Oc. 7) erscheint eine Nervenfasern, die von einer Sinneszelle ausgeht und demnach nur eine Primitivfasern enthält, als eine Reihe mehr oder weniger dicht liegender Körnchen und Klümpchen von beträchtlich wechselnder Größe,

Fig. 3.



gewöhnlich ohne sichtbaren Zusammenhang, nur manchmal durch einen helleren Strang verbunden (Fig. 4). Diese sind, wie mir scheint, als Varicositäten in demselben Sinne aufzufassen, wie man sie bei Methylenfärbung erhält und ihnen ist wohl solchenfalls keine vitale Bedeutung zuzuschreiben? Der feine Strang zwischen ihnen stellt Partien der perifibrillären Substanz dar, die den Farbstoff weniger stark aufgenommen haben. In den gröberen rein sensorischen Nerven, Fig. 1, kann man deutlich mehrere parallele Reihen von Klümpchen unter-

⁵ Retzius, G., Das Nervensystem der Lumbricinen. Biol. Unt. N. F. Bd. III. 1892.

⁶ Derselbe, Zur Kenntnis der motorischen Nervenendigungen. Biol. Unt. N. F. Bd. III 1892.

scheiden, die, wie erwähnt, »sensorische Bündel« markieren; in den gemischten Nerven dagegen, wie auch in dem Bauchmark, läßt sich eine solche Anordnung nur mit Schwierigkeit nachweisen.

Die Sinneszellen erhalten, wenn sie mittels Alizarin entwickelt werden, eine robustere und mehr gleichmäßig dicke, häufig gekrümmte Form (Fig. 4), als wie sie bei Anwendung der Methylen- oder Golgi-Methoden hervortritt. Bisweilen nehmen sie indessen die bekannte Spindelform mit etwas angeschwollenem distalen Teil an. Innerhalb der größeren und kleineren Klümpchen, die sich auch in den Zellen bilden, kann man eine feine Granulastruktur unterscheiden, die wohl dem Plasma an und für sich zugehört.

In dem Centralnervensystem ist die Alizarinfärbung weniger geeignet, über die histologischen Verhältnisse Aufschluß zu geben, es folgt

Fig. 4.



das aus der Natur der Methode. Wie bei den Hirudineen scheint nämlich die Perifibrillärsubstanz der Polychaeten in dem Bauchmark zusammenzufließen, vermutlich auch hier nur unvollständig durch hineinragende Gliabalken zerteilt. Eine Übersicht über den größeren Bau kann jedoch erhalten werden. Das Bauchmark bei *Pectinaria* besteht, wie bei allen andern Polychaeten, aus zwei Stämmen, die bei der fraglichen Gattung zu einem einzigen Strang verschmolzen sind. Zu äußerst findet sich eine dicke Neurilemmscheide und nach innen davon 2 Züge von Nervenfasern, die durch Bindegewebe voneinander geschieden sind. In den Ganglien kann man deutlich vereinzelt Nervenzellen unterscheiden, die dieselbe feine Granulastruktur wie die Sinnesnervenzellen aufweisen. Die, welche gewöhnlich hervortreten, gehören den lateralen Gruppen an, welche den Nervenfortsatz in den Nerv der entgegengesetzten Seite entsenden. — Die »Punktsubstanz« ist in meinen Präparaten nicht hervorgetreten.

U p s a l a , September 1909.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zoologischer Anzeiger](#)

Jahr/Year: 1909

Band/Volume: [35](#)

Autor(en)/Author(s): Nilsson David

Artikel/Article: [Die Fischelsche Alizarinfärbung und ihre Anwendbarkeit für die Polychaeten, speziell Pectinaria koreni Mgrn. 195-202](#)