

EINLEITUNG

ZU DEN ZUNÄCHST FOLGENDEN MITTEILUNGEN ÜBER DAS VERHALTEN DES CHROMATINS IN VERSCHIEDENEN PHYSIOLOGISCHEN ZUSTÄNDEN.

Die eigentliche Veranlassung zu der in den hier zunächst folgenden drei Abhandlungen hervortretenden Richtung in der Problemstellung und der Wahl der Untersuchungsmethoden ist von Anfang an besonders der Wunsch, dass ich versuchen wollte, eine Methode zu finden, welche es in irgend einer Weise ermöglichen konnte, bei der Befruchtung der Eier von Echinodermen und anderen Tieren eine spezifische Färbung der Chromosomen des Spermiums und des Eies hervorzurufen, um dadurch diese hochwichtigen Teile des Spermiumkerns und des Eikerns in den nach der Befruchtung eintretenden Stadien der Entwicklung verfolgen zu können.

Durch die Färbung der in Sublimat oder in Pikrinessigsäure oder in Carnoy'scher Flüssigkeit fixierten Eier von *Echinodermen* mit der Ehrlich-Biondi'schen Mischung hatte ich gefunden, dass die Chromosomen des in das Ei eingedrungenen Spermiumkopfes bis zum Zusammentreffen mit dem Eikern ihre intensiv *methylgrüne* Farbe behalten, wogegen die Chromosomen des Eikerns stark *rötlich* gefärbt erscheinen.

Als ich dann solche Eier aufsuchte, in denen der männliche und der weibliche Kern miteinander ganz verschmolzen waren, hatten sich *alle* Chromosomen dieser Eier *rot* gefärbt. Zu meinem Erstaunen liessen sich die kurz vorher leuchtend und intensiv blaugrün gefärbten Chromosomen des Spermiumkerns nicht mehr spezifisch erkennen. Ich versuchte deshalb, durch verschiedene Abänderungen der Biondi'schen Methode die hell blaugrüne Farbe dieser Chromosomen zu bewahren oder auch von neuem hervorzurufen. Aber vergebens.

Dagegen zeigte es sich, dass, nachdem der nunmehr als der ruhende Kern bezeichnete Eikern mit den durch und durch rot sich färbenden Chromosomen in das sich teilende Stadium übergeht, sämtliche Chromosomen sich wieder *methylgrün* färben lassen. Diese Färbung erhielt sich durch das ganze Spindelstadium und noch in dem Anfang des Tochterzellstadiums, um dann wieder der *roten* Farbe zu weichen.

Diese Ergebnisse setzten mich also in der Tat in Erstaunen, denn in den von mir studierten Arbeiten anderer Forscher über die Befruchtung und die erste Entwicklung des Eies hatte ich meines Wissens von derartigen Befunden nichts erfahren. Zwar hatte ich irgendwo gelesen, dass die Chromosomen der *Eier* im allgemeinen durch die Biondi'sche Methode nicht *grün*, sondern *rot* gefärbt werden, und dies schon in dem ovarialen Stadium. Als ich dies nun selbst genauer untersuchte, zeigte es sich, dass sich in der Tat im Keimbläschen der Eier in den Ovarien der Echinodermen *nichts grün* färbt, sondern nur *rot*; nur der grosse Nucleolus färbt sich nicht *rot*, sondern stark *dunkelblau* mit etwas *violettem* Anstrich.

Das sogenannte Lininnetz und besonders die an ihm befindlichen zahlreichen feinen als Chromosomkörnchen aufgefassten Gebilde werden immer *rot* oder *violettrot*.

Ich versuchte dann, mir ein anderes, für die Lösung dieses Problems, wenn möglich, noch mehr geeignetes Eimaterial zu verschaffen und wählte dazu die Eier von *Ascaris megalcephala*, das alte bekannte ideale Objekt für Chromosomenforschung.

Falls überhaupt möglich, durfte ich gerade bei diesen Eiern hoffen, meinen oben erwähnten ursprünglichen Wunsch, eine spezifische Färbung der so lange getrennt liegenden spärlichen und grossen männlichen und weiblichen Chromosomen zu erhalten, erfüllt zu sehen. Aber auch in diesen Eiern wurde diese Hoffnung nicht erfüllt. Die Biondi'sche Methode gab zwar sehr schöne und interessante Färbungen der Chromosomen, die Resultate stimmten aber in der Hauptsache mit den bei den Eiern der Echinodermen gewonnenen Befunden überein. Diese Befunde schienen mir aber schon an sich von so interessanter Beschaffenheit zu sein, dass ich neben einer eingehenderen Untersuchung über das betreffende Verhalten der Chromosomen der befruchteten Eier der Echinodermen, auch eine solche über dasjenige bei den Eiern von *Ascaris* vornahm. Und zugleich dehnte ich auch diese Untersuchung auf ein noch grösseres Gebiet aus, indem ich eine Anzahl von verschiedenen Geweben des Organismus mehrerer Tiere auf ihr Verhalten zu der Biondi'schen Färbungsmethode prüfte. Es sind nun die hierbei gemachten wesentlicheren Befunde, welche in den zunächst folgenden Abteilungen dieses Bandes dargelegt worden sind.

Durch diese Untersuchungen wurde ich immer mehr mit dem so äusserst schwierigen, aber so hochinteressanten Gebiet der Zellechemie in Berührung geführt. Da ich indessen leider von Anfang an kein Fachmann auf dem fraglichen Gebiete bin, so werde ich nicht mehr, als eben für mein Thema nötig ist, die eigentlich chemischen Fragen eingehender besprechen.

Es erscheint mir im ganzen recht merkwürdig, dass die Ehrlich-Biondi'sche Methode zur Erforschung der Morphologie und der Biologie der verschiedenen Zellarten nicht mehr benutzt worden ist, als dies in der Tat der Fall ist. Es liegen zwar besonders schöne und erfolgreiche Untersuchungen hierüber von MARTIN HEIDENHAIN sowie auch einzelne Befunde von anderen Forschern auf speziellen Gebieten vor. Im übrigen waren mir wenigstens keine umfassenderen Arbeiten hierüber bekannt.

Schon die merkliche Sache, welche den Ausgangspunkt meiner eigenen betreffenden Studien bildete, dass die Chromosomen des Eikerns und des Spermiumkerns sich gegen die Biondi'sche Färbungsmethode so verschieden verhalten, war mir, wie erwähnt, nicht näher bekannt, und ich habe sie in den allermeisten Hand- und Lehrbüchern, sowie in der Fachliteratur nicht erwähnt gefunden. Ich erinnerte mich indessen, irgendwo eine hierauf bezügliche Notiz gesehen zu haben, die mir aber damals unklar erschien. Deshalb nahm ich mir eine eingehendere Nachforschung in der betreffenden Literatur vor. Und in der Tat fand ich die fragliche Angabe wieder. In der ersten Auflage der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik von EHRlich-KRAUSE-MOSSE-ROsIN ist sie in dem Artikel Zellechemie (von MAGNUS) enthalten, und in der im J. 1910 herausgegebenen zweiten Auflage findet sie sich noch mit folgenden Worten dargestellt: »Die Kerne der Ganglienzellen ebenso wie die der tierischen Eizelle... sind mit Methylgrün nicht zu färben«. Man weist auch hier besonders auf zwei Arbeiten von Mosse hin. Infolgedessen suchte ich diese Arbeiten von Mosse auf.

In seiner ersten, ganz kurz abgefassten Mitteilung von J. 1902 äusserte Mosse:¹⁾ »Eine besondere Stellung unter allen Körperzellen nimmt die Nervenzelle einerseits, die Eizelle andererseits ein; a) bei beiden ist zwar ebenso wie bei den anderen Körperzellen das Kernkörperchen basophil geringeren Grades, dagegen ist das Chromatin *nicht basophil*, und zwar das Chromatin der Nervenzelle, soweit ich feststellen konnte, nach dem Ausfall der Eosin-Methylenblaufärbung neutrophil; b) das Protoplasma der Nervenzelle ist, wie bekannt, zum Theil basophil (Nissl'sche Schollen), zum Theil oxyphil (Zwischensubstanz); c) die Dotterelemente haben keinen einheitlichen Charakter; sie verändern sich mit der Zunahme der Reife.« Die betreffenden Untersuchungen Mosse's waren in dem Anatomisch-biologischen Institut von OSCAR HERTWIG ausgeführt worden.

In seiner zweiten, auch ganz kurzen (etwa 5 Seiten umfassenden und keine Abbildungen enthaltenden Mitteilung bespricht Mosse²⁾ von neuem diese Fragen. »Um nun«, sagt er in derselben, »die Ergebnisse meiner eigenen, nach den verschiedenen erwähnten Methoden angestellten Färbungen zusammenzufassen, so kann gesagt werden, dass diese entsprechend der Verteilung des Basis- und Oxychromatins HEIDENHAIN'S ausfielen. Dagegen hat sich nach einer anderen Richtung hin ein durchgreifender Unterschied herausgestellt. Die Kernkörperchen, die bisher — wie aus den obigen Ausführungen hervorgeht — als oxyphil bezeichnet werden, nehmen durchgehends die Farbe des *basischen* Farbstoffes auf, d. h. also, sie werden *blau* bei Anwendung des neutralen Methylenblau-eosins, *rot* bei der Neutralrotfärbung und färben sich entsprechend bei den UNNA'schen Tinktionen mit dem pol.

¹⁾ MAX MOSSE, *Ueber das färberische Verhalten der tierischen Zelle gegenüber Farbegemischen*, Berliner Klin. Wochenschrift (39. Jahrg., 1902, S. 1148).

²⁾ MAX MOSSE, *Ergebnisse farbenanalytischer Untersuchungen der tierischen Zelle*. 1. Allgemeiner Teil. Beiträge zur wissenschaftl. Medicin und Chemie, Festschrift zu Ehren d. 60. Geburtstages von E. Salkowski. Berlin 1904. Nr XXVI, S. 265.

Methylenblau und dem Safranin. Aus dieser Tatsache folgt, dass wir nicht alle Teile der Zelle, die bei der Färbung mit dem EHELICH-BIONDI'schen Gemisch das Methylgrün annehmen, schlechthin als *basophil* bezeichnen können. Als *absolut* entscheidend für die Frage, welche Substanzen als basophil, welche als oxy- oder neutrophil anzusehen sind, wird eben die Anwendung eines nicht Methylgrün enthaltenden neutralen Farbstoffes, wie des neutralen Methylenblauosins, in Betracht kommen. Zu diesem Ergebnisse war ich bereits gelangt, als von PAPPENHEIM (1902) darauf aufmerksam gemacht wurde, dass das Methylgrün die ganz spezifische Eigentümlichkeit habe, dass es aus allen sonstigen chromophilen Substraten bloss Nuklein chemisch tingiere. Allein das Kernnuklein sei stark genug, um diesen ganz besonders konstituierten Farbstoff zu dissoziieren und chemisch-färberisch aufzunehmen.»

MOSSE geht dann auf die Frage ein, inwieweit die Art der Fixation Einfluss hat auf das Ergebnis der Färbung, welche in zwei Unterfragen zerfällt, einmal nämlich, inwieweit überhaupt die fixierte Zelle von der nicht fixierten abweicht, d. h. ob wir Schlüsse, die wir aus dem Verhalten der fixierten Zellen ziehen, einfach auf die nicht fixierte übertragen können, und zweitens, ob und inwiefern ein Unterschied in der Art der Fixation besteht. Der erste Einwand ist, sagt er, durch die Ergebnisse der vitalen Färbung zu widerlegen, und zwar durch diejenigen mit Neutralrot. »Ziehen wir«, sagt er, »dann aber weiterhin in Betracht, dass derjenige Teil, der sich bei den angewandten differenzierenden Färbungen als basophil erweist, das Chromatin, als identisch mit der Nukleinsäure aufzufassen ist, dass also hier die rein chemische Betrachtung zu demselben Ziele führt, wie die mikrochemische, so dürfte wohl auch der weitergehende Schluss gestattet sein, dass basophil überhaupt identisch mit sauer, azidophil identisch mit basisch ist.»

Was dann die Frage von dem Einfluss der Fixation auf die Ergebnisse farbenanalytischer Untersuchungen betrifft, äussert MOSSE nach seinen Ergebnissen folgendes: Als das indifferenteste Härtungsmittel ist in dieser Beziehung der *absolute Alkohol* aufzufassen. In zweiter Reihe kommt das Sublimat in Betracht (wenn man von dem Gefrierverfahren und der Ausfällung durch Hitze absieht). Ferner hatte es sich ihm erwiesen, dass das Carnoy'sche Gemisch das Ergebnis der Untersuchung nicht beeinflusst. Dagegen betrachtet er die Zenker'sche Flüssigkeit und das Formalin wegen der starken Säuerung der Gewebe als absolut ungeeignet. Ebenso sind Gemische mit Osmium nicht zu benutzen, und gechromtes Material liefert nicht immer eindeutige Ergebnisse. MOSSE verspricht eine eingehendere Darstellung, die aber meines Wissens nicht erschienen ist.

In seinem neuen ausgezeichneten umfassenden Werke »*Plasma und Zelle*« hat MARTIN HEIDENHAIN¹⁾ die Frage von der Kernfärbungstechnik und dem Begriff des Chromatins näher besprochen, um dann die Chemie des Kerns im allgemeinen von dem jetzigen Standpunkt unserer Kenntnis davon zu berühren. Nachdem er betont hat, dass die Chromatine natürlich in der lebenden Substanz nicht als solche enthalten sind, sondern vielmehr Zersetzungsprodukte der lebenden Masse darstellen, welche bei Gelegenheit der Fixierung zur Ausfällung kommen, erinnert er daran, dass man, wie er nachgewiesen hat, zweierlei typisch verschiedene Chromatine im Kern zu unterscheiden hat. »Die technischen Bedingungen der Kernfärbung sind nun im allgemeinen darin gegeben, dass alle Eiweisskörper gewissermassen nach zwei Seiten hin reagieren, da sie nämlich sauerbasischer Natur sind, d. h. sowohl Farbbasen wie Farbsäuren aufzunehmen vermögen, wobei sich indessen zeigt, dass bestimmte Eiweisskörper vorzugsweise nach der einen, andere Eiweisskörper nach der anderen Seite hin zu reagieren befähigt sind. Dies tritt gerade beim Kern sehr deutlich hervor, da die als Chromatine bezeichneten Substanzmassen, welche in der Kernstruktur ihren Sitz haben, teils stärker sauer sind und die basischen Farben bevorzugen (*Basichromatin*), teils stärker basisch sich verhalten und die sauren Farbstoffe begieriger aufnehmen (*Oxychromatin*). Mithin kommt es beim Färben des Kernes auf eine qualitative Scheidung des Stoffgemenges an, welche zunächst allerdings nur histologisch-differenzieller Natur ist, während chemische Trennungen sicherer Art durch die färberische Reaktion allein zur Zeit nicht möglich sind. Der Begriff der Chromatine ist also allerdings in erster Linie *morphologischer* Natur (ähnlich auch A. FISCHER und E. ZACHARIAS), denn wir gehen zunächst immer darauf aus, durch die färberische Reaktion morphologische Gestaltungen nachzuweisen. Die Chromatine sind daher für uns nicht gestaltlos, vielmehr stellen wir sie uns immer in bestimmten Formen vor. In chemischer Beziehung mögen sie Stoffe sein, welche in verschiedenen Fällen, je nach der Art der Vorbehandlung des Gewebes, von verschiedener Beschaffenheit sind. Trotzdem suchen wir bei allen möglichen Objekten möglichst übereinstimmende und möglichst reine Farbenreaktionen zu gewinnen und gehen sogar auf färberische Trennung verschiedener Chromatine aus, weil diese

¹⁾ MARTIN HEIDENHAIN, *Plasma und Zelle*, erste Abteilung, erste Lieferung, 1907. Handbuch der Anatomie des Menschen, herausg. von Prof. Dr. KARL VON BARDELEBEN, Band VIII, 1.

morphologisch im Kern sich in verschiedenartiger Weise lokalisieren. *Die Möglichkeit einer solchen Trennung beruht nun allerdings auf chemischen Eigenschaften der Masse, aber nur auf solchen allgemeiner Natur, auf einer überwiegenden Säuren- und Basenkapazität; benutzt man diesen Umstand zur Herstellung differenter Färbungen (BRONDI'sche Lösung), so mag dies in gewissem Sinne ein Anfang der mikrochemischen Analyse durch Farbenreaktion sein, indessen ist es eben auch nur ein solcher.*

Nachdem HEIDENHAIN dann eine kurze Übersicht über den jetzigen Standpunkt der Mikrochemie des Kerns gegeben und dabei die Differenz der phosphorhaltigen Eiweisskörper desselben, der *Nucleoproteide* und der *Nucleoalbumine*, von denen die ersteren den Komplex der Nukleinsäure, die letzteren ihn nicht enthalten, führt er nach KOSSEL und LILIENFELD das Schema von dem Zerfall der Nucleoproteide an. Nach diesem Schema kommen in den Kernen nur die Nucleoproteide als natürliche Produkte des Lebens vor, während die Nukleine und Nukleinsäuren auf künstlichem Wege erhaltene Spaltungsprodukte sind, ferner erweist sich, dass alle Nucleoproteide in letzter Linie Verbindungen von Eiweiss und Nukleinsäure sind, sowie auch dass die Aufspaltung der Nucleoproteide gewöhnlich stufenweise erfolgt, so dass gewisse Zwischenprodukte, die Nukleine, erhalten werden.

In einem besonderen Abschnitt bespricht dann HEIDENHAIN die »feinere Mikrochemie des Kerns«. »Die ersten Versuche, die spezielle Chromatophilie des Kernes mit chemischen Verhältnissen in Einklang zu setzen, gingen von KOSSEL und seiner Schule aus. LILIENFELD (1893) kam zu folgenden Resultaten. Aus einer Methylgrün-Fuchsinmischung nimmt Eiweiss das Fuchsin, Nukleinsäure das Methylgrün mit intensivem Farbentone auf. Da nun die Nukleinsäure in den Kernen im allgemeinen nur in Verbindung mit Eiweiss vorkommt, so ist es notwendig, die makrochemisch dargestellten Nucleoproteide und ihre Spaltungsprodukte auf ihre Färbbarkeit zu prüfen; wir erhalten alsdann folgende Skala:

Nukleohiston färbt sich deutlich grünblau, mit Vorherrschaft des *blauen* Tones, *Nuklein* färbt sich *blaugrün*, *Nukleinsäure* intensiv *grün*.

Daher folgert LILIENFELD: 'Alle Kernsubstanzen, von den eiweissreichsten bis zu den eiweissärmsten und eiweissfreien, färben sich im Tone des Kernfarbstoffes.' Nur wird der Ton durch das daransitzende Eiweiss in der Richtung nach Blau modifiziert.

Leider sind die betreffenden Versuche der Chemiker für die Histologen nicht vollständig brauchbar. Indessen mögen die LILIENFELD'schen Färbungsergebnisse an Nukleinsäure, Nuklein, Nukleohiston eine Bedeutung haben für solche histologische Färbungen, bei denen die Ansäuerung unterlassen wurde. MALFATTI fällte Eiweiss mit Nukleinsäure und erhielt daraus die seit ALTMANN bekannten nukleinartigen Körper, welche, je nachdem, von verschiedenem Eiweissgehalte waren. Eine alkoholische Lösung von Säurefuchsin und Methylgrün färbte nun reine Nukleinsäure rein grün, phosphorärmere Nukleine bläulichviolett, bei grosser Phosphorarmut selbst rein rot. »Dieses Resultat«, betont HEIDENHAIN, »ist sehr bemerkenswert, weil daraus hervorzugehen scheint, dass Nucleoproteide von hohem Eiweissgehalt, wenn wir sie im Kern selbst mit EHRlich'schen Gemischen färben, unter Umständen eine rein rote Färbung annehmen werden. Daraufhin habe ich mich«, bemerkt HEIDENHAIN, »1894 geäussert, wie folgt: — — — so hätten wir demnach in dem Basichromatin oder dem Chromatin der Autoren phosphorreiche, in dem Oxychromatin... phosphorarme Nukleine vor uns. Danach sind ferner die Basi- und Oxychromatine durchaus nicht als für die Dauer unveränderliche Körper aufzufassen, sondern durch Aufnahme und Abgabe von Phosphor (Nukleinsäure, saure Gruppen) könnte eventuell auch die Färbbarkeit sich ändern. Meine heutige Meinung geht also dahin, dass die Affinitäten der chromatophilen Mikrosomen der Kerngerüste gegenüber den basischen und sauren Anilinfarbstoffen sich nach gewissen physiologischen Zuständen des Kernes oder der Zelle regulieren, inbetreff deren wir bisher eine genauere Einsicht noch nicht haben.»

»Am auffallendsten jedoch«, fügt nun HEIDENHAIN hinzu, »ist das Verhalten des Oxychromatins zur Mitose. Das völlige Schwinden desselben während der Prophasen und der Wiederaufbau dieses Körpers in den Tochterkernen bezeugt unserer Ansicht nach, dass die Oxychromiolen unter dem Einfluss der lebhaften Assimilation und Substanzvermehrung in den frisch gebildeten Tochterkernen entstehen. Ueber diese Vorgänge kann man sich eine nähere Vorstellung zur Zeit noch nicht bilden. Da aber in den wachsenden Kernen um diese Zeit eine Anreicherung an P-haltigen Gruppen wirklich vor sich geht, da ferner das Plasma des Zelleibes P-arm ist, so kann man schliessen, dass der P gleichsam auf vielem Eiweiss sitzend, in den Kern seinen Einzug hält und dass im Kern infolge einer aufsteigenden Synthese alsdann P-reichere Gruppen erzeugt werden, welche in das Basichromatin übergehen. Demnach wäre der Gedanke naheliegend, dass die eiweissreichen Oxychromiolen in erster Linie

vegetative Funktion erfüllen, P-reichere Gruppen durch Synthese zu erzeugen und *abzuspalten*, welche dann von den Basichromiolen assimiliert werden.»

»Eine andere belangreiche Beziehung der beiden Chromatine zur Biologie der Zellen scheint mir in den Umstand enthalten zu sein, *dass Kerne, welche der Regel nach nicht mehr in Mitose eintreten, häufig arm an Basichromatin, reich an Oxychromatin sind.* Diese meine Wahrnehmung ist oftmals bestätigt worden. Sie betrifft in erster Linie die Kerne der Nervenzellen.»

Ich habe hier diese HEIDENHAIN'S Äusserungen in seinem neuen Werke eingehender angeführt, weil dieselben eben von histologisch-biologischem Standpunkte aus eine zusammenfassende Übersicht unserer Kenntnis der für die vorliegende Frage in mikrochemischer Beleuchtung geben und in den hier unten folgenden Darstellungen auf sie hingewiesen wird. Gerade die zuletzt angeführten wichtigen Befunde hinsichtlich des Verhaltens des Chromatins unter verschiedenen physiologischen Zuständen und Phasen des Kerns, und zwar vor allem während des Teilungsprozesses der Zellen, sind in der letzten Zeit ein Gegenstand meiner eigenen Untersuchungen gewesen. Als ich dieselben ausführte, hatte ich noch keine nähere Kenntnis von diesen Angaben HEIDENHAIN'S.¹⁾

Der Ausgangspunkt meiner eigenen betreffenden Studien war, wie oben erwähnt, der Befund bei der Befruchtung der Eier der Echiniden, dass die Chromosomen des angeschwollenen Spermienkopfes beim Zusammentreffen mit dem Eikern noch ihre durch Biondigemisch grün gewordene Farbe behalten, während das Chromatin des Eikerns rot erscheint, sowie dass nach dem Verschmelzen der beiden Kerne das sämtliche Chromatin sich rot zeigt, wogegen später in dem Spindelstadium alle Chromosomen intensiv grün erscheinen. Um diese Phänomene näher zu eruieren, plante ich eine Reihe von Untersuchungen, nämlich:

1. Eine systematische Verfolgung der betreffenden Chromatinfärbung in den Eiern der Echinodermen, vor allem des *Parechinus miliaris*, und zwar von dem Stadium der jungen Ovarialeier zum Stadium der Reife und durch den Befruchtungsprozess bis zum Larvenstadium.

2. Weil das *Stadium der Bildung der Richtungskörper* bei den Echinodermen sich bei den Echiniden nur schwer verfolgen lässt, wünschte ich, dasselbe bei einem Seestern zu ermitteln, wo dies bekanntlich viel leichter ist, indem man es in seiner Hand hat, den Prozess hervorzurufen. Ich wählte hierzu die Eier von *Asterias rubens* L.

3. Die Untersuchung der Chromatinfärbung in *parthenogenetisch* sich entwickelnden Eiern, und zwar auch bei Echinodermen.

4. Die systematische Verfolgung der betreffenden Chromatinfärbung in den verschiedenen Stadien der Eier eines anderen Repräsentanten der Tierreihe. Hierzu wählte ich in erster Linie die Eier von *Ascaris megalocephala*, deren Entwicklung für eine solche Untersuchung besondere Vorteile darbietet.

5. Die Verfolgung der betreffenden Chromatinfärbung in *anderen Zellarten*, und zwar in solchen *verschiedener Organe*, sowohl im Ruhestadium als während der Mitose, beim Embryo und im erwachsenen Zustande, bei Vertretern verschiedener Tierklassen.

Zum *Fixieren* der Eier und Gewebe benutzte ich folgende Lösungen und Methoden: das Carnoy'sche Gemisch, das Zenker'sche Gemisch, Pikrinsäure-Essigsäure in verschiedener Stärke, Alkohol, das Flemming'sche und das Hermann'sche Gemisch, Sublimatlösungen und Sublimat-Essigsäure in wechselnder Stärke. Von Färbungsmethoden wurden am meisten die HEIDENHAIN'sche *Eisenalaun-Hämatoxylin*methode und die EHRLICH-BIONDI'sche Methode angewandt. Die letztgenannte Färbung liefert, sobald man erst mit ihren Eigenschaften gut vertraut wird, ausgezeichnet schöne und relativ konstante Resultate für das Studium des Chromatins. Zwar ist, wie vor allem MOSSE betont hat, die Beschaffenheit der voraus angewandten Fixierung von besonderem Einfluss auf die Ergebnisse. Wie er, fand auch ich das Carnoy'sche Gemisch und den Alkohol hierfür am geeignetsten. Aber auch Sublimatlösungen gaben mir gute Resultate; unter diesen, im Gegensatz zu MOSSE'S Angabe, das Zenker'sche Gemisch.

¹⁾ Zwar hatte ich das betreffende Werk, das ich durch die Güte des Verfassers erhalten hatte, schon vor einigen Jahren gleich nach seinem Erscheinen, mit grossem Interesse gelesen. Die kurzgefasste Besprechung vom verschiedenartigen Verhalten des Chromatins zur Mitose (Plasma und Zelle, I, 1, S. 163) hatte damals meine Aufmerksamkeit nicht gefesselt, weil ich mit diesem Gegenstand nicht näher vertraut war und sie, aufrichtig gesagt, infolgedessen nicht genau aufgefasst hatte. Als ich aber nach der Ausführung meiner Untersuchungen die betreffende Literatur eingehender studierte, stiess ich auf diese Bemerkungen HEIDENHAIN'S, welche mir nun verständlich wurden. Ich konnte jetzt ahnen, dass er selbst das Verhalten des Chromatins zur Mitose mittelst der geeigneten Färbungsmethoden genauer untersucht hatte, und ich suchte in seinen Arbeiten nach eingehenderen Angaben darüber. Da es mir nicht gelang, solche zu finden, schrieb ich schliesslich an den Verfasser hierüber und erhielt von ihm die Antwort, dass er schon vor längerer Zeit derartige Untersuchungen ausgeführt hat. Er konnte dieselben aber wegen anderer Beschäftigung nicht sogleich zum Abschluss und Druck bringen; als er später die Präparate durchmusterte, waren sie so erbleicht, dass er sie nicht mehr benutzen konnte, was sehr zu bedauern ist. Ich finde es richtig, dies hier zu erwähnen, um die betreffende Darstellung des hochverdienten Histologen hervorzuheben und meine eigene Stellung zu derselben zu beleuchten. An welchen Objekten und Geweben HEIDENHAIN diese seine betreffenden Untersuchungen ausgeführt hatte, ist mir nicht näher bekannt. Es scheint aber an Zellen und Geweben von Urodeten zu sein.

Sobald es möglich war, färbte ich zur Kontrolle die betreffenden Gewebsteile auch in frischem, unfixiertem Zustande mit der Biondilösung. Für die richtige Beurteilung der Ergebnisse sind, wie Mossæ und andere Autoren hervorheben, in erster Linie die Fixationslösungen ohne Säuren (Essigsäure etc.) die geeignetsten. So oft es möglich ist, benutzt man deshalb mit Vorteil den reinen Alkohol, ohne anderen Zusatz. Eine kurze Nachbehandlung der mikrotomierten Schnitte des fixierten Materiales mit einer sehr schwachen Essigsäurelösung (1 T. auf 500 T. Wasser) scheint, wie M. HEIDENHAIN empfiehlt, für die Dauerhaftigkeit der Präparate nützlich zu sein; für die Färbung derselben ist diese Nachbehandlung aber im allgemeinen nicht nötig. Bei der Überführung der betreffenden Präparate aus dem Biondigemisch in Xylol und Harz muss man dieselben sehr schnell durch den Alkohol führen; sonst wird von den Farben zuviel ausgezogen. Das von mir mit dem grössten Vorteil benutzte Biondigemisch hatte folgende Zusammensetzung: Von den gesättigten Rubin-, Orange- und Methylgrün-Wasserlösungen wurden resp. 4, 7 und 8 K.-cm. genau gemischt. Von dieser Stammlösung wurde eine zum Färben benutzte Mischung von 1 Teil auf 50 Teile Wasser gemacht. Ich versuchte auch verschiedene andere Zusammensetzungen des Gemisches, kam aber immer zu dieser hier genannten zurück, weil sie mir die besten Färbungen lieferte. Von der Orangefarbe hat man zwar bei den betreffenden Versuchen wenig Nutzen; sie schädigt indessen nicht die Resultate.

Nach dieser kurzen Einleitung gehe ich zu der eigentlichen Darstellung der Befunde über und benutze in den hier folgenden Kapiteln dieselbe Ordnung, wie in den hier oben angegebenen Momenten.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologische Untersuchungen](#)

Jahr/Year: 1911

Band/Volume: [NF_16](#)

Autor(en)/Author(s): Retzius Gustaf Magnus

Artikel/Article: [Einleitung 1-6](#)