

gesagt — durch die ganze Krümmungszone der Wurzelspitze, wobei besonders die mächtigen, in den Pleromzellen vorhandenen Faserbündel aktiv sein dürften, obzwar sich auch aus der Wurzelhaube Reize in die Periblemzellen fortpflanzen können. Dass sich Reize aus der Wurzelhaube weit in die Plerom- und Periblemzellen mit ungeschwächter Intensität fortpflanzen können, habe ich durch Untersuchung der traumatischen Reaktion sicher gestellt. Die erwähnten Gruppen von besonders differenzierten Zellen in der Haube, welche zahlreiche leicht bewegliche Stärkekörner enthalten, sind in einigen Wurzeln (*Brosimum macrocarpum*) zu einem förmlichen besonderen Organ geworden, das sich wohl mit den mit Statolithen versehenen statischen Organen mancher Metazoen im Prinzip vergleichen lässt.

Nach all dem ist zu sehen, dass die Gefäßpflanzen in einigen Organen reizleitende Strukturen besitzen, welche eine auffallende Ähnlichkeit mit den Nervenfasern, wie man dieselben bei den höheren Metazoen festgestellt hat, zeigen. Wenn nun manche Reflexbewegungen bei den Pflanzen nach Czapek prinzipiell nicht von den tierischen Reflexbewegungen verschieden sind, so wird diese Ähnlichkeit durch die Auffindung von reizleitenden speziell differenzierten Strukturen bei den Pflanzen noch vollständiger. Es ist auch sicher, dass dann nicht alle Reizbewegungen der Pflanzen als Antitypen den Reflexbewegungen der höheren mit einem Nervensystem ausgestatteten Metazoen, gegenüber gestellt werden können.

In allen Einzelheiten verweise ich auf eine bald erscheinende Abhandlung, in welcher ich die reizleitenden Strukturen beschreiben sowie ihre physiologische Funktion begründen werde.

Prag, botanisches Institut der böhmischen Universität. [45]

## Färbetechnisches zur Kenntnis der *Spermatosomata hominis*.

Dr. med. A. Pappenheim (Königsberg i. Pr.).

Es sind keineswegs neue Einzelheiten und Bestandteile des Baues und der Struktur der Samentierehen, welche die mitzuteilenden Methoden aufzudecken beanspruchen können; sie wären deshalb auch gar nicht veröffentlicht worden, wenn es sich bloß darum gehandelt haben würde, Altes und Bekanntes auf eine andere neue Weise darstellen zu können, zumal wenn diese „neue“ Weise weder wirklich eine eigentlich „neue“ ist, noch an Praktikabilität und Bequemlichkeit, oder irgendwie durch besonders hervorragende Schönheit der Resultate mit dem früher Erreichten konkurrieren kann. Da es vielleicht aber zeitgemäß und von gewissem wissenschaftlichen Interesse sein dürfte, wenn die Bestrebungen der Histologie auch der biochemischen Valenz der in deskriptiver Hinsicht bereits genügend erforschten Objekte zugewandt werden, so möchte ich mir erlauben, das gelegentlich mit einigen auf die Spermien angewandten Färbemethoden erzielte Ergebnis kurz bekannt zu geben, ohne

vorläufig aber, bis hinreichend genug Kontrolluntersuchungen auch noch mit anderen Färbungen vorliegen, irgendwie weittragende Folgerungen daraus ziehen zu wollen.

I. Nachdem die Romanowsky'sche Färbung so ausgezeichnete und wertvolle Resultate für die Biologie der Hämamöba *Malariae* ergeben hatte, hat man angefangen, auch andere Protisten dieser Färbemethode zu unterwerfen. Bei den verschiedensten Protozoön wurde gleiches oder äquivalentes Verhalten wie bei den Malaria-parasiten von Ziemann<sup>1)</sup>, Rabinowitsch-Kempner<sup>2)</sup> und andern gemeldet und auch bei den Protophyten, speziell den Bakterien, scheinen die Untersuchungen von Zettnow<sup>3)</sup> und Feinberg<sup>4)</sup> analoge Resultate, d. h. Vorhandensein eines erythrophilen „Kerns“ in cyanophilem Cytoplasma ergeben zu haben. Mir deutet nun, dass man hier auf einen Punkt von ganz besonderer theoretischer Wichtigkeit gestoßen ist, weil einerseits die Bakterien bisher als nur aus Kernsubstanz bestehend gegolten haben<sup>5)</sup>, andererseits die Ergebnisse der „Plasmodien“-färbung uns gezeigt haben, dass es einmal Zellkörper giebt, die sich nicht oxyphil verhalten (denn Malariaparasiten färben sich nicht mit dem sauren Farbstoff des Methylenblau-Eosinmischtes) dann aber Zellkerne, die im Gegensatz zu der Auerbach'schen Lehre erythrophil sind. In dem eben geschilderten Verhalten erweisen sich alle diese einzelligen niedersten Lebewesen identisch geformt mit den den Amöben und Myxomyceten oft zum Vergleich entgegengehaltenen Leukoeyten höherer Tiere, speziell aber nur mit den sogenannten „Lymphocyten“, welche ja als die niederste und wenigst differenzierte Stufe der Leukoeyten zu gelten haben. Färbt man Lymphocyten mit Unna's polychromem Methylenblau, welches ja, wie Nocht's<sup>6)</sup> schöne und glänzende Untersuchungen gezeigt haben, im Prinzip weiter nichts wie eine Romanowsky'sche Farblösung ist, so erweist sich ihr Kern als matt erythrophil, während der schmale, basophile Zelleib, wie bei den Plasmazellen, kräftig dunkelblau wird. Die Hoffnung, bei diesem Verfahren etwa den Nukleolus der Lymphocyten vom Kern differenziert gefärbt zu erhalten, erfüllt sich leider nicht. Erythrocyten erhalten bei dieser Färbung einen dunkelvioletten Kern und einen gelbgrünlichen Zelleib; die groben Körnungen der Mastzellen nehmen das „Rot aus Methylenblau“ auf, verhalten sich hier also nicht wirklich

1) Ziemann, Centralbl. f. Bakteriol., XXIV, 1898, S. 945.

2) Rabinowitsch-Kempner, Zeitschr. f. Hygiene, XXX, 1899.

3) Zettnow ibidem.

4) Feinberg, Verh. d. Ver. f. innere Med., 8, I, 1900; cf. Deutsch. med. Wochenschr., 1900, V. Bd., S. 18 und Centralbl. f. Bakteriol., 1900.

5) cf. hierzu Nakinishi, Münchner med. Wochenschr., 1900, S. 187.

6) Nocht, Centralbl. f. Bakteriol., XXIV, 1898, S. 839 u. XXV, 1899, S. 17 u. 764 ff.

metachromatisch, wie bei Methylviolett, Kresylviolett, Thionin, Toluidinblau und Amethyst, welche Farbstoffe sie wie ein Alkali alterieren.

Während die Romanowsky-Nocht'sche Malariafärbung gewöhnlich sehr schöne Resultate ergibt, erzielt man bei ihrer Anwendung auf Deckglaspräparate von sonstigen Gewebszellen meist ziemlich unansehnliche, wenn schon instruktive Präparate, was wahrscheinlich durch die alkalische Reaktion der Farblösung verursacht ist. Distinkter werden die Resultate, wenn man die Nocht'sche Lösung durch Essigsäure neutralisiert, am besten nach meiner Erfahrung, wenn man gewöhnliches reines Methylenblau (3 Teile) mit roten basischen Farbstoffen wie Fuchsin, Acridinrot, Chinolinrot, Pyronin, Safranin, Magdalarot, Neutralrot (2 Teile) versetzt und somit einerseits jeden alterierenden Zusatz vermeidet, andererseits rationellere Mischungsverhältnisse zwischen dem roten und blauen Farbstoff verwendet wie in den polychromen Lösungen, wo der blaue viel zu stark prävaliert.

Verwendet man ein anderes Gemisch zweier basischer Farbstoffe, etwa Methylgrün und Pyronin<sup>1)</sup>, oder Methylgrün und „Rot aus Methylenblau“ (welch letzteres man durch Ausschütteln von polychromem Methylenblau durch Chloroform oder Epichlorhydrin erhält), so sind die Resultate ganz andere und z. B. bei Lymphocyten der Auerbach'schen Lehre entsprechend: Kern rötlichblau, Plasma dunkelrot, was aber nur in den Besonderheiten des Methylgrüns liegt, eines Farbstoffs, der geradezu eine innige und einzige Affinität zum Nukleïn besitzt, aber andere basophile Substanzen nicht färbt. Der Kern der Erythrocyten wird hierbei blaugrün, ihre Leiber gelblichrot, Mastzellenkörnchen ebenfalls rot.

Wo durch Schleim, Chondromucoid, Amyloid, absterbendes Plasma Methylgrün „metachromatisiert“ wird, handelt es sich um unreinen, mit Methylviolett versetzten Farbstoff. Dasselbe gilt von Safranin, falls solches durch die erwähnten Substanzen nicht gelb, sondern schmutziggelblich wird.

Es wäre interessant und für die Frage der Kernmatur wichtig, die Methylgrün-Pyroninfärbung auch auf die Hämatozoën der Malaria etc. anzuwenden, was bisher noch nicht geschehen sein dürfte. In Bezug auf Bakterien hat sich bei meinen gelegentlichen Beobachtungen — viele Formen habe ich nicht durchgeprüft — ergeben, dass sich dieselben im großen und ganzen schwer mit Methylgrün färben, ja, bei Methylgrün enthaltenden Gemischen, entweder ungefärbt bleiben (Triacid, wo daneben nur saure Farbstoffe vorhanden sind) oder andere basische Farbstoffe aufnehmen: hiervon kann man sehr bequem Gebrauch machen dort, wo es darauf ankommt, Gonokokken und Zellkerne, different gefärbt, zu erhalten. Im Methylgrün-Pyroningemisch gefärbt, erscheinen die Kerne der polynukleären Leukoeyten grün, ihre oxy-

1) cf. Pappenheim, Virch. Arch., 157, 1899.

philen Leiber ungefärbt, ihre neutrophilen Granula unsichtbar, die Kokken hingegen rot. Aus den Ergebnissen der Färbungen mit Methylgrün scheint aber soviel hervorzugehen, dass die Kernsubstanz der Bakterien von der der sonstigen Zellen verschieden ist. Dieses vorausgeschickt, wollen wir nun die Färbungsergebnisse bei den Spermatozooten betrachten.

a) Die große Ähnlichkeit dieser Gebilde mit Infusorien, speziell Flagellaten, legte den Gedanken nahe, auch hier die Romanowsky'sche Kernfärbung anzuwenden, zumal dieselbe ja bei den spermatozoiden Mikrogameten des Hämosporidion Malariae durchaus positive Ergebnisse zeitigt zu haben scheint. Deckglaspräparate eines Ejaculats werden hergestellt am besten durch Absaugen des Spermatröpfchens mittels Fließpapiers (cf. Pappenheim, Dissert., Berlin 1895) oder Abschleudern (E. Neumann), da beim Abziehen eines zweiten Deckgläschens die Schwanzfäden leicht abbrechen; das lufttrockene Präparat wird dann durch dreimaliges Flambieren (wasserentziehende Mittel Nikiforoff, Benario etc. ergeben Niederschläge, chemische corrosive Ingredienzen, Sublimat, Pikrinsäure, Lugol alterieren die natürlichen chemischen Affinitäten) fixiert.

Wird nun nach der Nocht'schen Modifikation 24 Stunden im Brutschrank gefärbt, so ergibt sich, dass das „Mittelstück“ des Geißelfadens ziemlich gleichmäßig rein dunkelblau erscheint, auch das Endstück des Schwanzes erschien mir eher blau als rosa; das Köpfchen dagegen zeigt eine deutliche und eklatante Differenzierung. Der dem Geißelschwanz unmittelbar knospenförmig aufsitzende basale Binnenkegel erscheint rot mit leichtem Stich ins violette, die restierende periphere Hülle um ihn, die Kopfkappe, in reinem Mattblau (s. Figur).

b) Färbt man in gleicher Weise hergestellte Deckglaspräparate nach der Methylgrün-Pyroninmethode, so ist auch hier, wie bei den Lymphocyten, das Ergebnis verschieden. Der innere Basalkegel des Köpfchens wird nicht rot, auch nicht allein für sich grün, was man vielleicht beides nach den Resultaten der vorigen Methode hätte erwarten können, weil etwa nur hier das eigentliche Kernklein zu suchen sei, sondern das Köpfchen nimmt in toto die grüne Färbung an, nur erscheint, was man auch bei gelungener Hämatoxylinfärbung wahrnehmen kann, der kleine Innenkegel dunkler, die Kappe matter gefärbt. Dagegen erscheint das „Mittelstück“ bei dieser Färbung leuchtend rot, besonders schön und deutlich bei etwaigen unreiferen und daher noch breiteren und stärker protoplasmatischen Samenfäden, während der Rest der Schwanzgeißel ungefärbt bleibt.



II. Auch die Löffler'sche Geißelfärbung lässt sich mit positivem Erfolg auf die Spermatozoen anwenden, wodurch man die Köpfe und Schwänze different gefärbt erhält, was mir bei Versuchen, die Köpfe mit basischen, die plasmatischen Schwänze mit sauren Anilinfarben zu tingieren, auch bei Verwendung des Gram'schen Verfahrens nie ausreichend gelungen war, da die sauren Farben diffus färbten, eine etwaige zweite basische Farbe sich aber stets zu der ersten Kernfarbe im Köpfchen hinzusummerte. Man färbe nun die Deckglaspräparate erst mit einer Hämatoxylinlösung, lasse dann  $\frac{1}{4}$  Stunde in der Kälte Löffler'sche Beize einwirken und färbe mit verdünnter Karbolfuchsinlösung (Ziehl) nach: die Köpfe erscheinen violett, die Schwänze in toto distinkt rot, die „Mittelstücke“ nicht besonders färberisch differenziert.

Im Anschluss an vorstehendes möchte ich noch ganz kurz hier einige Thatsachen aus dem Gebiete der Farbchemie anführen, welche bei der Deutung der hier mitgeteilten Thatsachen vielleicht mit in Betracht kommen dürften<sup>1)</sup>.

Wir stehen im Gegensatz zu Auerbach, der auf Grund seiner Färbungen mit Gemischen blauer und roter Farben cyanophile und erythrophile Spermatozoen- und Ovula (scil. Kerne) unterscheidet, auf dem Standpunkt, dass der Färbekt in allererster Linie ein chemischer ist und erst in zweiter Linie von dem physikalischen Zustande des zu färbenden Substrates oder des Farbstoffes abhängig ist. Dafür sprechen in erster Linie die Resultate differentieller Kombinationsfärbung, soweit sie sich auf Gemische basischer und saurer Farben beziehen. Stets nämlich wird sich bei Kombination von gelben oder roten basischen (Fuchsin, Pyronin, Acridinrot, Safranin, Magdalarot, Neutralrot, Phosphin, Auramin, Chrysoidin, Vesuvium) mit blauen oder roten oder violetten sauren Farbstoffen (Wasserblau, Azoblan, Benzazurin, S. Violett, Indulin), selbstverständlich bei entsprechenden quantitativen Konzentrationsverhältnissen, der Kern nicht cyanophil und das Plasma nicht erythrophil erweisen, sondern umgekehrt. Gegen Auerbach sprechen ferner die Resultate der sogenannten „vitalen“ Färbung „überlebender“ Zellen. Ich habe zu frischem, unfixiertem leukämischem Blute die verschiedensten basischen und sauren Farbstoffe zugesetzt: niemals trat eine Färbung der Kerne mit sauren Farben ein, auch nicht mit den oben erwähnten blauen und violetten, wohl aber stets mit basischen, selbst mit den hellroten und gelben<sup>2)</sup>.

Dass eine Cyanophilie und Erythrophilie der Gewebsteile existiert, ist nicht zu bestreiten, dieselbe ist aber nicht der Ausdruck essentieller Differenzen und beruht nicht auf chemischen, sondern nur graduellen physikalischen Unterschieden<sup>3)</sup>. Die Differenz verschiedener Gewebsteile darf daher nicht in erster

1) cf. A. Pappenheim, Virch. Arch., 151, 1898, S. 122.

2) Ich will an dieser Stelle bemerken, dass von sämtlichen, so ziemlich allen mir zugänglichen Farbstoffen sich am brauchbarsten für die „vitalen“ Kernfärbung isolierter Zellen in erster Linie Thionin, Toluidinblau und Neutralrot, nicht ganz so gut Methylblau und Acridinrot erweisen haben, während bekanntlich für „abgestorbene“ Kerne Methylgrün (Strasburger) und Vesuvium (E. Neumann) in Verbindung mit Essigsäure am meisten leisten.

3) Es ist richtiger, statt Cyanophilie und Erythrophilie, Cyanophilie und Xanthophilie in Gegensatz zu stellen. Die mit roter Farbe tingierten Gewebsteile verhalten sich zu anderen, blau und violett gefärbten, allerdings erythrophil, dagegen „cyanophil“ zu mit gelben Farben tingierten. Die fuchsinophilen Erythrocyten verhalten sich „cyanophil“ zu den orangeophilen, dagegen die eosinophilen Granulationen „xanthophil“ zu den indulinophilen u. s. w.

Linie nach dem Gesichtspunkte, ob dieselben sich cyanophil oder erythrophil verhalten, beurteilt werden, sondern in erster Linie danach, ob sie basophil oder oxyphil sind; erst dann nach Feststellung dieses allgemeinen chemischen Verhaltens mag innerhalb der oxyphilen Plasmen oder Granulierungen bzw. innerhalb der basophilen Kerne<sup>1)</sup> etc. eine quantitative Abstufung zwischen Cyanophilie und Xantophilie konstatiert werden. Zur Bestimmung dieser quantitativen, physikalischen Differenz innerhalb oxyphiler oder innerhalb basophiler Gewebsteile hat Ehrlich<sup>2)</sup> zwei Farbgemische angegeben, deren eines, das Glyceringemisch, aus drei sauren Farbstoffen, Indulin, Eosin und Aurantin, das andere aus drei basischen Farbstoffen, aus Chromgrün, Fuchsin und Vesuvin besteht; dagegen bilden die verschiedenen von Ehrlich empfohlenen neutralen Mischungen Reagentien zur Feststellung der allgemeinen chemischen Oxyphilie und Basophilie. Während das Wesen der chemischen Färbung auf dem verschiedenen elektropositiven oder elektronegativen Verhalten der Gewebsteile beruht, ist in der Cyanophilie ein Ausdruck des mehr lockeren Gefüges, in der Xantophilie ein Zeichen der Verdichtung der färbaren kleinsten Gewebsteilchen zu sehen; erstere kann dann weiter unter Umständen einen Ausdruck der Jugendlichkeit<sup>3)</sup>, letztere einen Ausdruck des Alters<sup>4)</sup>, der höheren Differenzierung und plastischen Progression bedeuten, selbst dann, wenn diese bereits degenerativen Charakter an sich trägt. Bei der ersteren sind die Internicellar-Spatien groß und weit, also für Farbstoffe mit großem Molekularvolumen inbibibel, bei letzteren lassen die dichten wasserarmen (geschrumpften) Internicellar-Spatien nur Farbstoffe mit kleinem Molekularvolumen eindringen. Wie nämlich R. Nietzki empirisch gefunden, Schütze<sup>5)</sup> und Gräbe<sup>6)</sup> wissenschaftlich durch Spektralanalyse bestätigt haben, geht durch Anhäufung von Gruppen in dem Molekül eines Farbstoffes, die Farbnuance desselben von Grünlichgelb und Orange über Rot und Purpur zu Violett und schließlich zu reinem Blau hinüber. Die einfachst konstituierten Farbstoffe der verschiedensten Chromogene sind überall bei Acridinen, Thiazolen, Oxyketonen etc., stets gelb gefärbt. Sie haben meist sehr schwachen Farbcharakter und liefern ziemlich unechte diffuse und leicht diffundierende substantive Färbungen (z. B. Monamidotriphenylmethan). Bei grünen (Diamidotriphenylmethan) (Bindscheider's Grün) und bei roten (Rosanilin-Neutralrot) Farbstoffen ist infolge genügend vorhandener Anzahl anrochromer Gruppen der Farbstoffcharakter meist völlig ausgesprochen.

Werden die auxochromen Amidogruppen alkyliert, so entstehen oft violette Farbstoffe (Methylviolett-methyliertes Rosanilin, Amethyst-aethyliertes Safranin), die umso blautichiger sind, je mehr Radikale eingetreten sind. Die Pikrinsäure, ein Trinitrofarbstoff, ist hellgelb, das Aurantia, ein Hexanitrofarbstoff schon mehr rötlich, orangefarben und weil durch größere Zahl salzbildender Nitrogruppen saurer, auch echter als ersterer. Hexamethylviolett ist blauer als Monomethylviolett, Triphenyl-Rosanilin blauer als Monophenyl-Rosanilin.

1) cf. Hermann, Anat. Anz., 1888, welcher ebenso wie Flemming, zwischen gentianophilen und safranophilen Kernen unterscheidet.

2) Ehrlich, Anämie, S. 25.

3) cf. Ehrlich, Farbenanalytische Untersuchungen, S. 14 u. ff. und S. 89 über das Verhältnis der indulinophilen Granula zu den eosinophilen.

4) cf. Hermann l. c. dessen safranophile Kerne die pyknotischen sind, ferner Bettmann, Ziegler's Beiträge, XXIII, S. 482, sowie R. Hertwig, Verh. der deutsch. zool. Gesellschaft, 1892.

5) Schütze, Zeitschrift für phys. Chemie, IX, 1892, S. 109.

6) Gräbe, Zeitschrift für phys. Chemie, X, 1892, S. 673.

Dieses Gesetz gilt nun zwar sowohl für basische wie auch für saure Farbstoffe, jedoch nicht allgemein, sondern nur unter bestimmten Umständen. Nicht überall und nicht ohne weiteres nämlich, bestimmt die Zahl der auxochromen und salzbildenden Gruppen, d. h. also die Molekulargröße, die Nuance eines Farbstoffes. Methylenblau ist im Prinzip ziemlich ebenso konstituiert wie Pyronin. Die Moleküle sind fast gleich gebaut, nur ist hier der Ring durch ein Sauerstoffatom, dort durch Schwefel geschlossen. Trotzdem ist der Farbstoff hier rot, dort blau; durch Alkylierung der zwei Amidogruppen im violetten Thionin entstehen rein blaue (methylenblaue) im roten Safranin violette (Amethyst-) Farben. Eine weitere Ausnahme machen die Salze der Farbsulfosäuren, für welche eigene Gesetze gelten. Auch hier nämlich ist die Nuance präformiert. Durch den Eintritt einer Sulfogruppe wird zwar der betreffende Farbstoff sofort in einen sauren verwandelt, dabei aber seine Nuance nicht geändert, sondern nur seine Wasserlöslichkeit erhöht, d. h. seine Echtheit vermindert. Je mehr saure salzbildende Sulfogruppen eintreten, desto saurer wird der Farbstoff, desto mehr nimmt seine Löslichkeit und Diffusibilität zu, seine Echtheit und Tinktorialkraft ab, aber seine Nuance bleibt unverändert. Hier bei den Sulfosäuren nimmt also die Dunkelheit der Nuance nicht mit der Zahl der Sulfogruppen zu, sondern blaue Sulfofarbstoffe entstehen nur durch Sulfurierung schon vorher blauer, großmolekularer basischer Farbstoffe. Die Sulfosäuren dieser (S. Violett, Wasserblau) sind nun auch echter als die Sulfosäuren roter oder gelber basischer Farbstoffe (Orange, S. Fuchsin, Lichtgrün). Also auch hier geht die Echtheit mit dem Molekularvolumen, d. h. der dunkeln Nuance, parallel, nur ist dieselbe hier nicht, wie sonst bei basischen und sauren Farbstoffen, bedingt durch die Menge des auxochromen resp. salzbildenden Gruppen, ist also nicht Funktion des stark ausgesprochenen Farbcharakters, der Acidität; sondern hier ist die Nuance präformiert und die Acidität ist der Diffusibilität proportional, die Echtheit also umgekehrt proportional. Hieraus ist ersichtlich, dass nicht schlechthin die Molekulargröße und die Nuance des Farbstoffes, wie Auerbach will, sondern nur die besondere chemische Natur seiner Gruppen sein chemisches Verhalten, seine Basicität oder Acidität und somit seine Karyophilie oder Plasmophilie bestimmt. Schon die bloße Thatsache des Vorhandenseins roter basischer und blauer und violetter saurer Farbstoffe könnte dieses bestätigen. Die beste Illustration hierfür liefert aber die Geschichte des Anramins<sup>1)</sup>, dessen Nuance allein durch Substitution eines seiner Radikale durch andere Gruppen also nicht durch Vergrößerung des Mol. Vol. geändert wird, derartig, dass eine helle gelbe Farbe nur an basische Amidogruppen geknüpft ist. Substituiert man das eine nicht alkylierte Amidoradikal in verschiedener Weise durch andere Gruppen, so geht die Farbe bei Abnahme der Basicität dieser substituierenden Gruppe von Gelb, je nachdem in gelbrot und rot über; führt man direkt einen Säurerest ein, so erhält man einen dunkel-bräunlich violetten Farbstoff. Ebenso zeigte E. Nöltling, dass die Farbnuancen des roten basischen Rosanilins, abgesehen von ihrer Stellung, von der Zahl der basischen Amidogruppen abhängig ist, also nicht von der Zahl der Radikale überhaupt. Eliminiert man nämlich in dem roten Triamidotriphenylmethan eine  $\text{NH}_2$ -Gruppe oder schwächt man ihre Basicität durch Acetylierung oder durch Umwandlung in eine Chinolin-Gruppe oder Ammoniumbase ab, so sind die entstehenden Diamido-Triphenylmethane stets dunkelgrüne (malachitgrüne) Farbstoffe. Wir sehen schon hieraus,

1) cf. Stock, Journal für praktische Chemie, XLVIII, 1894.

dass die grünen Farbstoffe von Auerbach mit Unrecht zur Prüfung der Cyanophilie herangezogen wurden. Erstens haben viele derselben, wie oben erwähnt, ein viel kleineres, einfacher konstituiertes Molekül als rote und blaue Farbstoffe, ferner aber oft auch, wie hier, eine viel geringere Basicität als rote Farbstoffe.

Hieraus ergibt sich aber weiter ein wesentlicher Gesichtspunkt, auf den man bei der Kombination von Farbgemischen und der Beurteilung ihrer Ergebnisse sehr achten muss und der einen Augenblick lang scheinbar, aber auch nur scheinbar zu Gunsten Auerbach's sprechen könnte.

Nicht alle basischen oder saueren Farbstoffe sind eben gleich stark basisch oder sauer. Malachitgrün ist weniger basisch als Methylgrün, ebenso Chrysoidin weniger als Vesuvin, Oxonin weniger als Thionin und Kresylviolett weniger als Methylviolett. Desgleichen sind Amidoazosulfosäuren weniger sauer als die gleich nuancierten Oxyazosulfosäuren, die Oxy-sulfosäuren weniger als die Dioxysulfosäuren etc. Basische und saure Gruppen gemischt enthaltende oder wenigstens basische und saure Prinzipien in sich vereinende Farbstoffe sind also mehr oder weniger in sich neutral und können für sich allein angewandt, sowohl als Basichromatinfärber, wie Plasmafärber, auftreten. Hier bestimmt lediglich das Ueberwiegen der Acidität, beziehungsweise Basicität der aurochromen Gruppen den chemischen Farbcharakter. Basisch konstituierte Farbkörper mit viel Oxygruppen, wie bei dem Aurin, Sudan, Resorfin, Ehrhodol wirken eben schon als schwache Farbsäuren, Chromgrün und Rhodamin enthalten neben zwei Amidoradikalen einen Karbonsäurerest, sind aber doch noch basisch, wem schon ihre Basicität schwach ist; dagegen verwandelt die salzbildende Nitro- oder Sulfogruppe einen Farbkörper ohne weiteres in einen sauren Farbstoff, mag er daneben noch so viel basische Amidgruppen besitzen. Entsprechend werden umgekehrt auch die meisten Gewebe, ja selbst auch die Bacillen sich schließlich stets, bei Anwendung immer nur eines einzelnen Farbstoffes, mehr oder weniger gut mit diesem, sei er nun sauer oder basisch, anfärben lassen, und sich nur in den seltensten Fällen absolut refraktär gegen irgend einen verhalten. Freilich über den Chemismus der Gewebe sagen diese singulären Färbungen nichts aus. Deshalb ist aber noch lange kein Grund vorhanden, mit Auerbach eine chemische Elekion überhaupt ganz zu leugnen und die Färbung nur nach physikalisch maßgebenden Gesetzen der Dichtigkeit des Gewebes und Molekulargröße (Nuance) des Farbstoffs sich vollziehen zu lassen, bloß weil basische Farbstoffe auch Plasma färben können und saure Farbstoffe Kerne. Dass sich das allgemein als oxyphil geltende Hb auch mit basischen<sup>1)</sup> Farbstoffen anfärben lässt, dürfte z. B. ebenso bekannt sein wie die Färbung der basophilen Kerne im dreifach sauren Glyceringemisch mit dem blauen Indulin, einem der sauren Komponenten. Auf die Färbung von Bindegewebskernen<sup>2)</sup> mit dem sauren roten Eosin hat u. a. Renant mit dem blauen, sauren Benzazurin Bonnet<sup>3)</sup> hingewiesen.

Die elektive Affinität, die allgemeine Basophilie oder Oxyphilie der Gewebe kann eben nur durch differentielle Kombinationsfärbung mittels basisch-sauren Farbgemischen bestimmt werden, und zwar müssen die Komponenten ausgesprochenen basischen und saueren Charakter haben, da bei in sich neutralen schwach basischen und schwach saueren Komponenten die Elekion sich

1) Vergleiche Unna, Monatsschrift f. prakt. Dermatologie, XXVIII, 1895)

2) Es scheint aber fraglich, ob diese „Kernfärbung“ auch mit „Basichromatinfärbung“ identisch ist.

3) Auch Zschokke, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, V, 1888, S. 468 und Martin, *ibid.* VI, 1889, S. 193.



allerdings auch nur nach dem physikalischen Prinzip der Cymophilie vollzieht wie eben bei Gemischen aus Farbstoffen gleichen Charakters. Gewöhnlich pflegt man in neutralen Gemischen einen dunklen Kern- oder einen hellen Plasmafarbstoff anzuwenden, was Auerbach für seine Lehre ausnützt. Wählt man also einen ausgesprochenen basischen gelben und einen feinen violetten Farbstoff (Auramin- S Violett) so fällt das Färbeergebnis im Sinne der chemischen Elektion aus. Dass diese existiert und die Ergebnisse neutraler „triacider“ Farbgemische nicht auch etwa bloß von der Molekulargröße der angewandten Farbstoffe abhängen, beweist ferner das Vorkommen von histologischen Elementen höchster Basophilie (Mastzellengranula) sowie solcher absoluter Oxyphilie (Eosinophile Körnungen). Die Mastzellenkörner färben sich lediglich mit basischen Farbstoffen und retinieren den aufgenommenen Farbstoff sogar gegenüber Essigsäureeinwirkung (säure recht), und die  $\alpha$ -Granula nehmen keinerlei basische Farbstoffe auf, echtfärbende saure Farben (blaue Sulfosäuren, starksaure, dunkler nuancierte Nitrofarben und Phtalein) wie das Eosin) aber sogar bei gleichzeitiger Anwendung von Entfärbungsmitteln, wie Glycerin<sup>1)</sup>. Aber wie diese eosinophilen Granulationen Gebilde höchster Oxyphilie vorstellen und sich mit ausgesprochenen echten basischen Farbstoffen, die keine sauren Gruppen enthalten, selbst bei gewaltsamsten Einwirken der letzteren nicht anfärben oder mechanisch imprägnieren lassen<sup>2)</sup>, so scheint auch umgekehrt die Indulinsulfosäure ein Farbstoff zu sein, gegen den sich verschiedene Bacillen (Milzbrand, Typhus) unbedingt resistent und refraktär verhalten. Jeder Farbstoff hat eben seine besonderen Eigentümlichkeiten und Vorzüge für bestimmte Zwecke, die sich aus seiner Konstitution ergeben und dann den Index für das biochemische Verhalten des betreffenden histologischen Substrates abgeben. Es ist also unzulässig, alle möglichen grünen, blauen und roten Farben als äquivalent in einen Topf zu werfen. Allerdings färbt bei regressiven Verfahren Azoviolett und S Violett ziemlich distinkt und echt Kerne ebenso wie etwa Methylviolett oder Thionin bei progressiven, während helles gelbes basisches Phosphin und Vermin sie viel diffus und unechter färbt. Trotzdem sieht ein mit Methylgrün gefärbtes Präparat ganz anders aus als ein mit Malachitgrün, Chromgrün oder Lichtgrün gefärbtes; desgl. wird Fuchsin nur von den Mastzellkörnungen aufgenommen, S Fuchsin aber nur von den Eosinophilen.

Aus dem voranstehenden ist also wohl soviel jedenfalls ersichtlich, dass zur Deutung der Färbungsergebnisse mit Farbmischungen in Betracht kommt, einmal die besondere Natur des Farbstoffs; (Indulin S färbt Bacillen nicht, Methylgrün nur basophiles Nuklein). Ferner kommt es darauf an, ob die Gemische nur Farbstoffe desselben Charakters enthalten, wie das Glyceringemisch, oder ob sie neutrale Mischungen, wie die Triacide sind. Aus den Ergebnissen mit letzteren darf man stets einen Schluss auf das chemische Verhalten der Gewebsteile ziehen. Methylgrün aber als einzigen basischen Farbstoff enthaltende triacide Gemische sind am besten zu vermeiden, weil dieser Farbstoff nicht alle basophilen Substanzen sondern nur Nuklein färbt; besser

1) Die wasserreichsten gequollenen oder jungen Körner nehmen aus dem Glyceringemisch die blaue Sulfosäure, die reiferen und dichteren Körner die rote Karbonsäure, stärker erhitzte (aurantiophile) sogar die gelbe Nitrofarbe von noch kleineren Molekularvolumen auf.

2) Mit basischen Farben, die saure Gruppen enthalten (Chromgrün, Rhodamin) lassen sich die pseudoeosinophilen, amphophilen und indulinophilen Spezialkörnungen färben.

ind Gemische aus Methylenblau - Eosin, Methylenblau - Fuchsin - Orange G oder aber Methylgrün-Pyronin-Narcein. Nur in dem einen Fall, wenn man Gemische von Farbstoffen gleichen Charakters (Chromgrün-Fuchsin-Vesuvin; Glycingemisch) angewandt hat, darf man von Cyanophilie und Xantophilie im Sinne Auerbach's reden, und aus dem Ergebnis einen Schluss auf das mechanische Gefüge des histologischen Substrats ziehen, vorausgesetzt, dass nicht auch hier wieder Besonderheiten der Farbstoffe im Wege stehen, wie es bei dem von uns oben angewandten Methylgrün-Pyroningemisch betreffs des Methylgrüns der Fall sein dürfte. Ueber den Grad der Basophilie oder Oxyphilie darf man aus solchen Färbungen aber ohne weiteres nichts folgern.

Für die freundliche Durchsicht und Prüfung meiner Präparate fühle ich mich Herrn Geh. Rat Neumann dankbarst verpflichtet. [41]

Königsberg im Februar 1900.

## J. P. Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen.

(Schluss.)

Wir kommen nun zu den speziellen Beobachtungen.

### Beginn der Sekretion.

Hund mit großem und kleinem Magen.

Hund nüchtern, kleiner Magen völlig leer.

Hund frisst, kleiner Magen beginnt 5 Minuten nach der Fütterung zu sezernieren.

### Menge des Sekretes.

Die Menge des Sekretes ist der Menge der Nahrung proportional, wie folgende Zahlen zeigen.

Auf Verfütterung von 100 g Fleisch	wurden abgesondert	26 ccm,
"    "    200 g    "    "	"    "	40 ccm,
"    "    400 g    "    "	"    "	106 ccm.
Bei einer bestimmten Ration gemischten Futters	"    "	42 ccm,
bei einer doppelt so großen Ration	"    "	83 ccm.

Verlauf der Sekretion beim Magen und beim Pankreas.

a) Hund mit großem und kleinem Magen erhält 100 g Fleisch		b) Hund mit Pankreasfistel erhält 600 ccm Milch	
Sekret in der 1. Stunde	11,2 ccm,		8,75 ccm,
"    "    "    2.    "	8,2 ccm,		7,5 ccm,
"    "    "    3.    "	4,0 ccm,		22,5 ccm,
"    "    "    4.    "	1,9 ccm,		9,0 ccm,
"    "    "    5.    "	0,1 ccm,		2,0 ccm.

Die stärkste Sekretion zeigt den Magen schon in der ersten Stunde nach der Nahrungsaufnahme, das Pankreas dagegen erst in der dritten.

### Eigenschaften der Sekrete.

Dass qualitative Aenderungen bei den Sekreten vorkommen, ist längst bekannt. Ihr Wasser-, Salz- und Säuregehalt hängt u. a. von der Blutzufuhr zu den Drüsen und von der Zusammensetzung des Blutes ab. Aber auch der Fermentgehalt, auf den es doch vorwiegend ankommt, unterliegt ziemlich großen Schwankungen.

Zur Bestimmung des Pepsins und Trypsins bedienten sich Pawlow und seine Mitarbeiter einer von S. Mett ausgearbeiteten Methode. Sie

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1900

Band/Volume: [20](#)

Autor(en)/Author(s): Pappenheim A.

Artikel/Article: [Färbetechnisches zur Kenntnis der Spermiosomata hominis. 373-382](#)