

slowly to the shore, where she hid under an overhanging bush. If treading had gone on much longer, she would undoubtedly have been drowned.

To sum up: in the Wild Duck the time during which the males possess the sexual instinct is extended through the period of incubation. While the female is actually on the nest, this instinct cannot be satisfied; hence when a female leaves her nest she is often pursued by a number of unsatisfied males. Since in the Duck family copulation takes place in the water, this pursuit of one female by many males may end in the death of the female by drowning. At Tring Reservoirs a considerable number (probably 7—10%) of the females are killed in this way every year. Even if we take the percentage at half the probable figures, the loss to the species is very considerable, and this loss is caused by a property of the species itself, i. e., is due to a Disharmony in the constitution of the species.

Similar fatal results arising from similar disharmonies of the reproductive system are recorded of other species (cf. Judges, XIX, 25).

Die mikroskopische Strahlenstichmethode, eine Zelloperationsmethode.

Von Dr. Sergeï Tschachotin.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Aus der parasitologischen Abteilung [Vorstand: Prof. Dr. Th. v. Wasielewski] des Instituts für Krebsforschung in Heidelberg, Direktor: Prof. Dr. V. Czerny, Exz., und aus dem pharmakologischen Institut der Universität Genua, Vorstand: Prof. Dr. A. Benedicenti.)

Manche Gründe bewegen mich, einer Serie von Arbeiten, die noch nicht ganz abgeschlossen sind, diese vorläufige Mitteilung voranzuschicken.

Den Anstoß zu den zu erwähnenden Untersuchungen gab die sich allmählich immer dringender einstellende Überzeugung, dass wir unsere erfolgreiche experimentelle Methodik, die in den letzten Jahrzehnten zu einem ungeahnten Fortschritt auf allen Gebieten der biologischen Forschung geführt hat, dimensional verfeinern und auf die kleinsten materiellen Einheiten des Lebens, auf die Zelle als Individuum, auszudehnen versuchen müssten.

Wie wir beim Experiment in größerem Maßstabe praktisch-methodisch einen eingreifenden und einen registrierenden, beobachtenden Teil unterscheiden, so würde auch beim Mikroexperiment unser Augenmerk auf die Ausarbeitung erstens der Mikroläsions- und zweitens der Mikroobservationstechnik zu richten sein. Letztere kann bekanntlich subjektiv und objektiv (z. B. Mikrophotographie

u. s. w.) sein. Ich brauche über dieselbe keine Worte zu verlieren, denn sowohl subjektive wie objektive Observationsmikrotechnik sind im Laufe der Jahrzehnte parallel mit der Entwicklung der mikroskopischen Untersuchungsmittel noch in der Periode der rein deskriptiven Morphologie zu hohem Grade der Vollkommenheit gelangt. Schulung und Scharfsinn des Beobachters tragen hier das ihrige bei. In der objektiven Observationstechnik müssen wir jedoch danach streben, Methoden zu ersinnen, die uns eine Messung der an einzelnen Mikroobjekten nachzuweisenden Veränderungen gestatten würden. Ich meine vor allem die Ausarbeitung von quantitativen mikrochemisch-photographischen Methoden. Vielleicht kann uns eines Tages die von Dr. A. Köhler in Jena so vorzüglich ausgearbeitete Methode der Mikrophotographie mit monochromatischem, speziell ultraviolettem Licht¹⁾ hierbei behilflich sein. Darauf abzielende Versuche sind meinerseits im Gange.

Anders steht es mit dem ersten Teil des Experiments, mit der mikroskopischen Läsionstechnik. Hier sind wir noch ganz im Anfange. Gewiss haben scharfsinnige Geister zum Teil schon seit langer Zeit die Notwendigkeit solcher Experimente erkannt und eine ganze Reihe von ihnen haben geistreiche Versuche ersonnen, die vielfach zu schönen, ja glänzenden Ergebnissen geführt haben. Ich brauche nur an verschiedene Arbeiten mikrochemischen Inhalts zu erinnern, weiter an die entwicklungsphysiologischen Arbeiten von Herbst, Loeb, Delage u. a., die die Zellen chemisch angriffen, an die mechanischen Läsionen von mikroskopischen Zellaggregaten, von ganzen Zellen oder gar größeren Teilen derselben durch Chabry, Driesch, Roux, Boveri, O. Hertwig, durch thermische Beeinflussungen (O. Hertwig), elektrische (Verworn), photische (Hertel) u. a. Vielfach wurden auch zellphysiologische Experimente an solchen Zellmassen ausgeführt, die dann ohne weiteres die gezogenen Schlüsse auf die Lebenseigenschaften der einzelnen Zellen zu verallgemeinern erlaubten, wie es z. B. die Arbeiten von Miescher, Kossel, Burian, Warburg, Höber u. a. verfolgten. Hierher gehören bekanntlich auch die meisten bakteriologischen und Immunitätsforschungen der letzten Jahre und überhaupt Arbeiten an homogenem Zellmaterial.

Was speziell das Studium der Ausfallserscheinungen nach Abtöten oder Entfernen von Teilen von Zellen anbetrifft, ähnlich den Methoden, die in der Makrophysiologie so schöne Resultate gezeitigt haben, so haben sich bekanntlich Driesch, Roux, Chabry, Boveri große Verdienste erworben. Sie beschädigten meist Teile von Zellen durch Anstechen derselben mit heißen Nadeln, durch

1) A. Köhler, Mikrophotographische Untersuchungen mit ultraviolettem Licht. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXI, 1904, p. 129—165 und 273—304.

Abschneiden und Abschnüren von kernhaltigen und kernlosen Plasmabezirken u. a.

Selbstverständlich war man in diesen Fällen sehr ans Material, das relativ groß sein musste (meist Froscheier), an persönliche manuelle Geschicklichkeit der Forscher und manche andere Nebenumstände gebunden. Die Eingriffe waren dementsprechend nicht beliebig leicht und sicher zu lokalisieren und abzustufen. Die operierten Zellen lebensfähig zu erhalten war infolge der leicht eintretenden Sepsis derselben schwer. Infolgedessen konnte von den beschädigten Zellen nur ein gewisser, meist kleiner Prozentsatz am Leben erhalten werden und die Anstellung solcher Versuche war somit mit großer Mühe und Zeitverlust verbunden: sie mussten eben meist nach den Prinzipien der Statistik, also an großen Mengen von einzeln operierten Zellen geführt werden.

Diese Erwägungen, das Erkennen der dringenden Notwendigkeit feiner mikrooperativen Methoden und eingehendes Studium der Grundlagen der sogen. wissenschaftlichen Mikroskopie brachten mich auf den Gedanken, außer einer neuen, demnächst zu veröffentlichen mechanischen mikrooperativen Methode, eine feinere, photische oder besser photochemische zu versuchen, die uns eine verhältnismäßig leichte Handhabung und feinste Präzision in operativen Eingriffen an Zellen gestatten würde. Es ist mir nun gelungen, diese Methode, die ich mikroskopische Strahlenstichmethode nennen möchte, soweit zu bringen, dass ich einiges über dieselbe hier berichten kann.

Das Prinzip der Methode ist folgendes: auf Teile von Zellen, z. B. den Kern oder gar Teile des Kerns, wird ein äußerst feiner Strahl von ultravioletter Licht gerichtet und mittelst desselben der belichtete Teil beschädigt.

Bekanntlich wirken ultraviolette Strahlen, wie es die schönen Arbeiten von Hertel²⁾ bewiesen haben, auf die meisten Zellen rasch zerstörend. Sterilisieren von Trinkwasser mit Quecksilberdampflampen, das neuerdings vielfach in größerem Maßstabe Anwendung findet, beruht ja auf dieser Eigenschaft kurzwelligigen Lichts.

Hertel³⁾ hat bereits selbst die ultravioletten Strahlen zur Beeinflussung von Zellteilungsprozessen (und zwar bei Seeigeleiern) mit gutem Erfolg verwendet. Er hat auch versucht, von Eiern im Zwei- und Vierzellenstadium die eine Blastomere abzutöten, indem er das Ei so auf dem Objektische verschob, dass die eine Blastomere in dem von ultravioletten Strahlen belichteten Teile des Sehfeldes sich befand, während die andere im dunklen Teile verweilte.

2) E. Hertel, Über die Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. *Zeitschr. f. allgem. Physiol.*, Bd. 4, 1904.

3) E. Hertel, Über die Einwirkung von Lichtstrahlen auf den Zellteilungsprozess. *Zeitschr. f. allgem. Physiol.*, Bd. 5, 1905, p. 535.

Wetzel⁴⁾ hat nun vorgeschlagen, Strahlenwirkungen (gemeint waren speziell Röntgen- und Radiumstrahlen) auf Teile von Zellen dadurch zu beschränken, dass die Zellen (es handelt sich hauptsächlich um die relativ großen Froscheier) mit schützenden Platten bedeckt würden, so dass die Strahlen nur durch einen feinen Schlitz auf den zu beeinflussenden Teil der Zelle fallen könnten. Wetzel selbst hat jedoch seinen Vorschlag nicht ausgeführt.

Für ultraviolette Strahlen wurde eine ähnliche Methode von Stevens⁵⁾ auf Vorschlag von Boveri an *Ascaris*-Eiern angewandt.

An und in den Zellen beliebig fein zu operieren ermöglichten uns jedoch die erwähnten Versuchsanordnungen nicht.

Das ist erst mit dem Ausbau der mikroskopischen Strahlenstichmethode möglich geworden.

Und nun will ich dieselbe kurz beschreiben.

Zur Erzeugung des ultravioletten Lichtes bediene ich mich, wie es auch bereits Hertel⁶⁾ getan hat, des von Dr. Köhler⁷⁾ in Jena für seine schöne Methode der Mikrophotographie im ultravioletten Licht zusammengestellten Apparates, also eines Magnesiumfunkens (als Kondensator dienen zwei Leydener Flaschen), der durch Quarzprismen zerlegt wird und von welchem die ultraviolette 280 $\mu\mu$ -Liniengruppe in ein Fenster unter dem Mikroskop geleitet wird. Auf dem Wege zwischen dem Mikroskop und dem Prisma stelle ich nun einen feinen in der Ultramikroskopie verwendeten regulierbaren Präzisionsspalt, der auf einem zentrierbaren Reiter sitzt, der seinerseits auf einer optischen Bank angebracht ist. Zwischen dem Spalt und dem Prisma ebenfalls auf der optischen Bank sind geeignete Quarzsammellinsen angebracht, die die Aufgabe haben, die ultravioletten Strahlen auf die Öffnung des Spaltes zu konzentrieren. Die Anordnung ist ähnlich der von Siedentopf und Zsigmondy bei ihrem Spaltultramikroskop⁸⁾ getroffenen. Wenn es nicht darauf ankommt, ein besonders kleines Bildchen zu verwenden, so kann man den Spalt weglassen und den Quarzkondensator allein, der dann auf der optischen Bank montiert wird, verwenden; der Kondensator entwirft dann ein in der Luft schwebendes reelles verkleinertes Bildchen der Lichtquelle. Die Größe des letzteren kann man dadurch etwas regulieren, dass man den Kondensator auf der optischen Bank verschiebt.

4) Wetzel, Artikel über experimentell-embryolog. Methoden in Enzyklop. d. mikroskop. Technik. 2. Aufl. 1910. S. 393.

5) Stevens, N. M. The effect of ultra-violet light upon the developing eggs of *Ascaris megaloc*. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, S. 622—639. 1909.

6) Hertel, l. c. Fußnote 2.

7) Köhler, Mikrophotogr. Untersuch. mit ultraviolettem Licht. Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXI, p. 129.

8) H. Siedentopf und R. Zsigmondy. Über Sichtbarmachung und Größenbestimmung ultramikroskopischer Teilchen etc. Ann. d. Physik, 4. F., Bd. 10, 1903.

Der Spalt mit den ihn passierenden ultravioletten Strahlen, resp. das reelle Bildchen im zweiten Fall, wird nun in der Objektischebene durch ein als Kondensator dienendes Zeiß'sches Monochromatobjektiv aus Quarz verkleinert abgebildet, und zwar, wenn die Eigenvergrößerung des Objektivs z. B. 50 ist und die Größe des Spaltes (resp. des reellen Lichtquellenbildchens) 0,25 mm beträgt, so wird die Größe des zum Anstechen verwendeten ultravioletten Bildchens, also 5μ , d. h. von der Größenordnung eines kleinen Zellkerns sein.

Da nun aber ultraviolette Strahlen bekanntlich für unser Auge unsichtbar sind, so benutze ich zum Einstellen des Stichbildchens ein Standardpräparat mit einer fluoreszierenden Substanz (Fluoreszeinlösung). Dieses Präparat muss natürlich dieselbe Schicht- und Objektträgerdicke haben wie das Experimentpräparat. In beiderlei Präparaten sind die Objektträger aus für ultraviolette Strahlen durchlässigem sogen. Uviolglas von Schott und Gen. in Jena oder aus Quarz zu nehmen. Die Deckgläschen dürfen aus gewöhnlichem Glas bestehen.

Außerdem ist noch ein Kreuztisch mit Skalen und ein sogen. Zeigerokular von Zeiß notwendig.

Die Anstichoperation gestaltet sich folgendermaßen: Zunächst wird das Fluoreszenzpräparat aufgelegt und auf dasselbe der Mikroskoptubus eingestellt. Dann wird das ultraviolette Spaltbildchen durch Heben oder Senken des Triebes des Abbe'schen Beleuchtungsapparates, dessen optischer Teil durch das Quarzobjektiv ersetzt ist, in dieselbe Ebene wie das Objekt eingestellt. Arbeitet man aber mit relativ dicken Objekten, z. B. Eiern, so wird es notwendig, das Stichbildchen innerhalb des Eies in vertikaler Richtung zu verschieben. Dann verfährt man am besten in der Weise, dass man zunächst den zu operierenden Teil der Zelle mit Hellicht scharf einstellt und sich die Stellung des Zeigers an der Mikrometerschraube des Tubus notiert. Diese Stellung darf bei weiteren Manipulationen nicht mehr geändert werden. Erst dann kommt das Fluoreszenzpräparat u. s. w., wie oben geschildert.

Dann wird der Spalt auf die gewünschte Größe zugezogen.

Nun muss der Zeiger im Okular verschoben werden bis seine Spitze mit dem fluoreszierenden Bildchen zusammenfällt; in dieser Stellung bleibt er stehen.

Jetzt kommt das Objekt an Stelle des Fluoreszenzpräparates.

Der Objektträger wird mit den Mikrometerschrauben des Kreuztisches so lange verschoben, bis der anzustechende Teil der Zelle mit der Spitze des Zeigers im Okular zusammenfällt. Diese Operation geschieht natürlich mit Hellicht. Dann wird der Strom geschlossen und somit der eingestellte Zellteil (z. B. der Kern allein) dem ultravioletten Lichtstrahl ausgesetzt, welcher nach Dauer und

Stärke (für letztere kommen Intensität des Primärstromes und Elektrodenabstand in Betracht) genau dosierbar ist.

Um unser Auge für die Wahrnehmung des schwachen Fluoreszenzlichts und dazu noch von so kleinem Umfang, wie es das Stichbildchen bietet, empfindlicher zu machen und so besser einstellen zu können, geschieht alles Arbeiten in einem Dunkelzimmer. Um nun aber die Zellen beim Verschieben, Belichten u. s. w. sehen zu können, habe ich folgende Versuchsanordnung getroffen:

Ich lasse den von unten ins Mikroskop gelangenden feinen ultravioletten Strahl durch ein kleines zentrales Loch im Spiegel gehen: auf den letzteren fällt das Licht einer elektrischen Lampe und beleuchtet das Sehfeld. Beim Einstellen des Fluoreszenzbildchens wird dieses Licht durch einen Schirm abgeblendet.

In einem und demselben Präparat von z. B. Seeigeleiern befinden sich zugleich Versuchseier und Kontrolleier, so dass die äußeren Bedingungen für beide genau gleich eingehalten werden können. Durch Markieren der Stellungen der Skalen am Kreuztische werden operierte Eier gekennzeichnet. Für Objekte, die längere Zeit hindurch beobachtet werden müssen und die somit nach der Operation von dem Quarzobjekttträger entfernt und einzeln in Mikroaquarien untergebracht werden müssen, bediene ich mich einer, demnächst in anderem Zusammenhange zu beschreibenden Mikropipettiermethode. Um die relative Größe des in die Zelle projizierten, zur Operation verwendeten Stichbildchens und seine Schärfe objektiv zu demonstrieren, will ich bereits an dieser Stelle folgende Mikrographien anführen. Es sind rote Blutzellen vom Frosch; der weiße Fleck in und neben denselben ist das mitgenommene ultraviolette Stichbildchen (s. Figur).

Was nun den Bereich der Anwendbarkeit der beschriebenen Zelloperationsmethode mittelst ultravioletten Strahlenstichs anbelangt, so werde ich über dieselbe in den eingehenden Arbeiten berichten, wo auch die Abbildung des Apparates und alle Einzelheiten der hier nur kurz gestreiften Technik, die auf den Erfolg einen großen Einfluss haben, angegeben sein werden. Hier möchte ich nur noch anzeigen, dass die mit der Methode unternommenen Untersuchungen, deren Ausbau ich mir vorbehalte, sich in zwei Hauptrichtungen bewegen, deren Erwähnung zugleich den großen Wirkungsbereich der Methode zur Analyse von Lebensvorgängen vor Augen führen soll. Der prinzipielle Unterschied der beiden Richtungen liegt darin begründet, dass jede derselben in den Bereich je einer von den beiden methodologisch sich als unterschiedlich ergebenden Hauptzweigen der experimentellen analytischen Biologie, wie ich letzteres bald in einer theoretischen Abhandlung auseinandersetzen hoffe, fällt, nämlich: der autonomen oder Biologie in engerem Sinne (der Kürze wegen als Bionomik zu bezeichnenden) und der

Biomechanik oder der Lehre von der „Erklärung“ von Lebensvorgängen auf Grund physikalischer und chemischer Gesetze. Dementsprechend sind die beiden angedeuteten Richtungen, in denen sich meine Versuche mit der mikroskopischen Strahlenstichmethode nunmehr bewegen, folgend:

1. Beschädigen, eventuell Abtöten von einzelnen Organellen der Zelle, resp. Blastomeren des Eies und somit Studium der Bedeutung von einzelnen Teilen für das Leben der Zelle, resp. Ermitteln der prospektiven Potenzen der überlebenden Blastomeren im zweiten Fall.

2. Einführen von photolabilen Substanzen in Zellen und deren lokalisierte Spaltung innerhalb der Zelle unter Einfluss von ultra-



violettem Lichtstrahl und somit in gewissen Fällen lokalisierte intrazelluläre chemische Reizung, wenn wir hier kurzweg Reizung nennen wollen, was eigentlich moderner und zweckentsprechender als physikalisch-chemische Veränderung der Bestandteile des Zelleibes anzusprechen wäre.

In Verbindung mit gewissen mikrochemischen Methoden erlaubt uns die erwähnte Strahlenstichmethode eine Analyse von Vorgängen in den Zellen, die sonst schwer zugänglich sind. Ich hoffe bald in der Lage zu sein, in dieser Hinsicht zur Lösung der Frage nach sogen. biologischer Strahlenwirkung, die neuerdings durch die von Werner⁹⁾ in der Sitzung des Naturhistorisch-medizinischen Vereins zu Heidelberg vom 5. Juli 1912 mitgeteilten Resultate der chemotherapeutischen Behandlung von Krebsgeschwülsten wieder aktuell zu werden verspricht, einiges beisteuern zu können.

9) Siehe auch: Werner, Über die chemische Imitation der Strahlenwirkung und Chemotherapie des Krebses. Medizin. Klinik, 1912; Nr. 28.

Ein anderes Problem, das mir die Methode vielleicht zu klären berufen erscheint, wäre das von Loeb so geistreich aufgeworfene Problem nach dem Mechanismus von Befruchtung und Zellteilung vom physikalisch-chemischen Standpunkt aus, und hoffe ich, in naher Zukunft auch darüber einiges berichten zu können.

Endlich, um aus der Fülle der sich aufdrängenden, nunmehr praktisch ausführbaren Versuche noch einen herauszugreifen: es ist die Frage nach der Lichtempfindlichkeit gewisser als Photorezeptoren vermuteter Organellen von Zellen, besonders z. B. der sogen. „roten Flecke“ der Flagellaten; auch die physiologische Analyse von Sehvermögen bei niederen mikroskopischen Tieren, wie gewissen Würmern, Mollusken, Crustaceen gehört hierher, sowie das Studium von lichtempfindlichen Apparaten der Pflanzenzelle, d. h. der Chlorophyllkörper. Die in dieser Richtung unternommenen orientierenden Versuche, also an speziell photosensiblen Einrichtungen der lebenden Objekte, geben auch Hoffnung auf Ermittlung wichtiger Schlüsse.

Am Schluss sei es mir gestattet, schon an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank folgenden Herren auszusprechen: Herrn Prof. Dr. V. Czerny Exz. und Herrn Prof. Dr. v. Wasielewski in Heidelberg, sowie Herrn Prof. Dr. A. Benedicenti in Genua für die freundliche Überlassung von wissenschaftlichen Mitteln der von ihnen geleiteten Institute, ferner Herrn Dr. A. Köhler in Jena für freundliche Einführung in die Handhabung seiner Methode der Mikrophotographie im ultravioletten Licht und schließlich Herrn Prof. Dr. O. Wülfig in Heidelberg für liebenswürdige Einführung in die Praxis der geometrischen Optik.

Effetti della decapitazione in *Calotermes flavicollis* e in altri Artropodi.

Del Dott. Salvatore Comes.

(Libero docente di Zoologia e Anatomia Comparata nella R^a Università di Catania, Professore di Steria Naturale nel R^o Liceo di Modica [Sicilia]).

Riferisco brevemente su una semplicissima esperienza, e pur tuttavia importante, non tanto in se stessa, quanto per le considerazioni a cui essa prestasi. Studiando da qualche tempo i flagellati dei Termitidi, ho dovuto procurarmi, in una certa quantità, questi insetti delle due specie *Termes lucifugus* e *Calotermes flavicollis*, le sole che vivano nella Sicilia. Ora nella manipolazione che ne facevo per poterne estrarre il tubo digerente e spappolarne ed esaminarne il contenuto, trovavo opportuno troncare con un colpo netto il capo dell'animale ed estirpare colla punta dell'ago l'estremo posteriore dell'intestino, che riuscivo in tal modo a trar fuori in tutta la sua estensione.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1912

Band/Volume: [32](#)

Autor(en)/Author(s): Tschachotin Sergei

Artikel/Article: [Die mikroskopische Strahlenstichmethode, eine Zelloperationsmethode. 623-631](#)