

## Nachtrag.

Herr Privatdozent Dr. M. KOERNICKE, Sohn des Herrn Geh. Regierungsrats Prof. Dr. Koernicke, in Bonn, hat die jetzt erhaltenen violetten Weizenkörner untersucht und bestätigt zu meiner Freude meinen Befund. Er schreibt mir unter dem 8. Mai:

„Was den Weizen anbetrifft, so fand ich die rote Färbung in der Fruchthaut lokalisiert und zwar vorwiegend in der sog. Chlorophyllschicht (das sind die Querzellen S. W.). Die Samenschale erschien auch mir gelb, ebenfalls traten mir die Epidermiszellen meist gelblich entgegen.“

### **Das Photomikroskop für ultraviolette Strahlen und seine Bedeutung für die histologische Untersuchung, insbesondere der Hartgewebe.**

Von W. DIECK.

(Aus dem Referierabend vom 17. April 1906.)

Die ehrende Aufforderung, vor dieser angesehenen Versammlung über das Photomikroskop für ultraviolette Strahlen und seine Bedeutung für die histologische Forschung zu berichten, verdanke ich dem Umstande, daß ich mich ein wenig mit dem neuen Hilfsmittel der mikroskopischen Untersuchung beschäftigte, um festzustellen, ob durch dasselbe die Histologie der Hartgewebe des Körpers, im besonderen von Zahn und Knochen eine Förderung erfahren könnte.

Dieser Aufforderung bin ich gern nachgekommen; es muß jedoch gleich betont werden, daß bisher nur vereinzelte Versuche vorliegen, die neue Untersuchungsmethode der histologischen Forschung dienstbar zu machen und daß deshalb ein abschließendes Urteil über den Umfang ihres Wertes heute noch nicht gefällt werden kann. Soviel aber hat sich bereits ergeben, daß die Richtungen zu erkennen sind, nach welchen hin die Mikrophotographie mit Hilfe des ultravioletten Lichtes eine Steigerung wissenschaftlicher Aufschlüsse in Aussicht zu stellen vermag. In dem Maße, in welchem einschlägige Untersuchungen fortgesetzt werden, wird sich eine schärfere Umgrenzung derjenigen Strukturgebiete der organischen Materie ergeben, welche mehr als andere die Vorbedingungen erfüllen, auf welche die nutzbare Anwendung des neuen wissenschaftlichen Hilfsmittels gestellt ist.

Daß gewisse Erschwerungen solcher Untersuchungen vorhanden sind, muß freilich zugegeben werden, aber sie lassen sich überwinden. Die Kostspieligkeit der Einrichtung — der Preis stellt

sich auf etwa 3000 Mk. — ist wohl nur von untergeordneter Bedeutung. Es dürfte nicht ohne Interesse sein, wenn ich die Tatsache erwähne, daß die drei ersten Einrichtungen, welche von der Firma Zeiß zum Verkaufe hergestellt wurden, nach Japan gegangen sind.

Um die erweiterte Wirkung des Photomikroskops für ultraviolette Strahlen auch demjenigen verständlich zu machen, welcher nicht gewohnt ist, mit dem Mikroskop zu arbeiten, müssen wohl einige allgemeine Betrachtungen vorausgeschickt werden, und ich folge damit einer Anregung des Herrn Vorsitzenden.

Die gewaltigen Fortschritte, welche die mikroskopische Forschung im Laufe der Zeiten von den primitivsten Anfängen bis heute gemacht hat, waren nur möglich durch den wissenschaftlichen Ausbau der optischen Technik und die praktische Nutzbarmachung der theoretischen Erkenntnisse. Unsere mikroskopischen Instrumente haben mit allen ihren Hilfsapparaten und ihrer großartigen Präzisionsmechanik einen erstaunlichen Grad von Vervollkommenung erfahren, aber es sind Grenzen gezogen, über welche auch die höchste Technik nicht hinweghilft, und zwar einerseits durch optische Gesetze, andererseits durch die Leistungsfähigkeit unseres Auges.

Wenn der Laie von einem Mikroskop sprechen hört, so pflegt er bekanntlich die Frage zu stellen: Wieviel mal vergrößert es? und drückt damit seine Auffassung aus, daß das Leistungsvermögen desselben von der Höhe der Vergrößerung abhängt. Das ist aber keineswegs der Fall; es kommt ja nicht darauf an, wie sehr die Einzelheiten des Bildes auseinander gezogen werden, sondern wie scharf die Details in der Abbildung sind, und das ist von ganz anderen Faktoren abhängig, als nur von der Vergrößerung.

Die Fehler, unter denen die mikroskopische Abbildung, im besonderen bei höheren Vergrößerungen litt: Lichtmangel, die sphärische und chromatische Abweichung der Objektivlinsen, wurden von ABBE und seinen Mitarbeitern ziemlich vollkommen beseitigt durch Herstellung neuer optisch reiner Glassorten von verschiedenem Brechungs- und Farbenzerstreuungsvermögen und durch zweckmäßige Kombinierung derselben bei der Konstruktion der sogenannten Apochromate.

Die sphärische und chromatische Korrektur vorausgesetzt, ist nun das Leistungsvermögen des Mikroskops in bezug auf den Grad der Detailauflösung des Objektes, das Auflösungsvermögen, abhängig von der sogenannten numerischen Apertur des verwendeten Linsensystems, womit ABBE das Produkt aus dem Sinus des halben Öffnungswinkels des Systems und dem Brechungsindex des

Mediums bezeichnete, welches zwischen dem Objekte bezw. dem Deckglase und der Frontlinse des Objektivs sich befindet.

Bei den Immersions-Systemen, wo dieses Medium eine Flüssigkeit mit höherem Brechungsindex als dem der Luft ist, muß deshalb die numerische Apertur und mit ihr die Auflösung des Linsensystems in gleichem Maße zunehmen gegenüber dem entsprechenden Trockensystem. Ein Zeiß'sches apochromatisches Trockenobjektiv von 3 mm Brennweite z. B. hat eine numerische Apertur von 0,95; bei einem Apochromaten für homogene Immersion von gleicher Brennweite dagegen kann dieselbe bis 1,40 gesteigert werden, das würde heißen, daß das Auflösungsvermögen des äquivalenten Öl-Immersionssystems um etwa 40 Proz. höher ist. Bei einem noch höher brechenden Immersionsmittel, dem Monobromnaphthalin, ist gegenüber den Trockensystemen eine Steigerung der Auflösung bis zu 60 Proz. erzielt worden, jedoch ist diese Immersion praktisch nur in Ausnahmefällen verwendbar, weil ja auch das Objekt in dieses hochbrechende Medium eingebettet werden muß und organisches Gewebe in demselben unhaltbar ist.

Da es im Wesen der Sache liegt, daß bei höherer numerischer Apertur eines Systems mehr Lichtstrahlen von jedem einzelnen Punkte des Objekts im Bereiche des Gesichtsfeldes, nämlich auch die schräg auffallenden, noch in das Objektiv gelangen und zur wirksamen Abbildung der Objektdetails beitragen, so wächst gleichzeitig auch die Helligkeit des mikroskopischen Bildes. Es soll aber schon hier besonders darauf hingewiesen werden, daß mit steigender Apertur oder, was nach dem Gesagten dasselbe bedeutet, mit zunehmendem Auflösungsvermögen eines Objektivsystems das Tiefenunterscheidungsvermögen abnimmt, d. h. es ist die Schärfe des Bildes bei zunehmender Vergrößerung mehr und mehr an eine ganz bestimmte Einstellungsebene gebunden, deren Unveränderlichkeit bei photographischer Wiedergabe des Bildes allerdings einen gewissen Mangel gegenüber der subjektiven Untersuchung bedeutet.

Sind nun für die Erlangung einer möglichst scharfen und farbenreinen mikroskopischen Abbildung alle Vorbedingungen erfüllt, sowohl jene, welche wir an die heutige Technik der mikroskopischen Instrumente stellen können, als auch diejenigen mehr subjektiver Natur auf Seiten des Mikroskopikers selbst in bezug auf die richtige Beleuchtung des Objektes, so ist mit den Immersions-Apochromaten in der Leistung des Mikroskops eine Stufe erreicht, die sich kaum noch weiter erhöhen läßt, aber es liegt die Möglichkeit einer Steigerung noch in einem anderen Momente, nämlich in der Art des zur Beleuchtung benutzten Lichtes.

Man weiß, daß die äußerste Grenze des Auflösungsvermögens in der mikroskopischen Abbildung die halbe Wellenlänge des verwendeten Lichtes ist. Die mittlere Wellenlänge des weißen Lichtes, wie sie beim Gebrauche des Mikroskops optisch wirksam ist, beträgt 550  $\mu\mu$ , also 550 Millionstel Millimeter. Mithin wäre dann die Grenze der Auflösung bei weißem Lichte 275  $\mu\mu$ , d. h., daß bei diesem Abstände zwei Strukturlinien im Mikroskopbilde sich gerade noch bemerkbar machen, wenn auch nicht mehr in scharfer Kontur. In dem Maße nun, in welchem die Wellenlänge bei Verwendung anderen Lichtes abnähme, müßte das Auflösungsvermögen zunehmen, mit anderen Worten, müßte man Einzelheiten im Objekte mit noch kleineren Abständen getrennt wahrnehmen.

Auch für die erhöhte Leistung der Immersionssysteme gegenüber den Trockensystemen ist ja die Verringerung der Wellenlänge des verwendeten Lichtes der maßgebende Faktor. Da die Wellenlänge sich ergibt aus den Quotienten von Fortpflanzungsgeschwindigkeit und Schwingungszahl, so kann ihre Verkleinerung entweder durch Abnahme der Fortpflanzungsgeschwindigkeit oder durch Erhöhung der Schwingungszahl erzielt werden. Das erstere ist der Fall bei Verwendung eines Immersionsmittels mit höherem Brechungsindex als 1, das letztere bei Benutzung von Lichtarten, welche im Spektrum nach der Seite des Violett hin eine zunehmende Schwingungszahl haben oder gar der Strahlen jenseits des Violett, welche zwar optisch garnicht mehr dafür aber in hohem Grade chemisch wirksam sind.

Die mikroskopische Forschung steht natürlich in erster Linie auf der direkten Untersuchung mit unserem Auge. Bei stärkeren Vergrößerungen wird dabei durch Benutzung der Mikrometerschraube die Einstellung nach Bedürfnis geändert, so daß das Auge die scharf erscheinenden Details verschiedener optischer Ebenen im Objekte zu erfassen vermag und dadurch die körperliche Umgrenzung der Strukturelemente wahrnimmt. Aber diese subjektive Tätigkeit des Untersuchenden ist nicht ausreichend. Die Wissenschaft will kontrollieren, will prüfen und verlangt die objektive Wiedergabe des Gesehenen, die zuverlässige bildliche Darstellung. Die Zeichnung des Bildes direkt aus dem Mikroskop, so wertvoll sie sein kann, entbehrt doch dieser objektiven Zuverlässigkeit, weil die schwankenden Momente subjektiver Natur in Auffassung, Deutung und zeichnerischer Abbildung nicht auszuschalten sind. Hier tritt die Photographie in ihre Rechte. Sie ist heute zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel der mikroskopischen Forschung geworden und wird es ohne Zweifel in immer höherem Maße werden.



Die photographische Platte zeichnet nicht nur objektiv, sie vermag auch vielfach mehr zu sehen als das Auge. Wir müssen bedenken, daß auch das weiße Licht außer den optischen chemisch wirksame Strahlen enthält, auf welche wohl die Silberschicht der Platte, nicht aber, oder nur ungenügend, unser Auge reagiert. Und wenn wir nun noch die gesteigerte Leistung des kurzwelligen Lichtes inbezug auf die mikroskopische Definition in Betracht ziehen, so wird leicht zu verstehen sein, warum man sich bemüht hat, die Mikrophotographie nach dieser Richtung hin weiter auszubauen.

Von den Spektralfarben kamen in erster Linie das blaue und violette Licht in Frage. Man hat diese Farben aus dem Spektrum isoliert und als Lichtquelle benutzt. Blaues Licht kann ja in weniger vollkommenem Grade auch durch Einschaltung eines blauen Filters, etwa einer Lösung von Kupferoxydammoniak zwischen die weiße Lichtquelle und das Objekt erlangt werden.

Da die Wellenlänge des blauen Lichtes auf 448  $\mu\mu$ , diejenige des violetten Lichtes auf 383  $\mu\mu$  angegeben wird (wenn man den elektrischen Entladungsfunken zwischen Magnesiumelektroden als Lichtquelle benutzt), so wäre die Steigerung des Auflösungsvermögens bei Verwendung dieser Lichtarten im Vergleiche zum weißen Lichte auszudrücken durch das Verhältnis der genannten Zahlen 550 : 448 bezw. 550 : 383. Das bedeutet freilich nur 18 Proz. für blaues Licht bezw. für violettes Licht 30 Proz.

Nun haben ja die chemisch wirksamen ultravioletten Strahlen eine erheblich viel kleinere Wellenlänge, nämlich beim Magnesiumfunken 280, beim Kadmiumfunken 275  $\mu\mu$ . Das bedeutet aber bereits die Hälfte der mittleren Wellenlänge des weißen Lichtes und muß mithin eine Steigerung des Auflösungsvermögens auf das Doppelte ergeben, als um 100 Proz.

Die Hoffnung auf diese Nutzbarmachung der ultravioletten Strahlen hatte man schon seit Jahren, aber es fehlte an den nötigen Hilfsmitteln.

Nach jahrelangen Versuchen ist es der Firma Carl Zeiß gelungen, einen mikrophotographischen Apparat für ultraviolette Strahlen herzustellen, an dessen Konstruktion die wissenschaftlichen Mitarbeiter der Firma Zeiss, Dr. von ROHR und Dr. KÖHLER, vorwiegend beteiligt sind, einerseits durch Berechnung der erforderlichen Linsensysteme, andererseits durch die experimentelle Ausprüfung bis zur praktischen Verwendbarkeit. Die Resultate sind in der ausführlichen und wohl vielseitig bekannten Arbeit von Dr. KÖHLER niedergelegt: „Mikrophotographische Untersuchungen mit ultraviolettem Lichte“ in der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie

und mikroskopische Technik, Bd. XXI, 1904. Auf diese Arbeit muß auch verwiesen werden für die genauere Orientierung über die einschlägigen optisch-wissenschaftlichen und technischen Verhältnisse.

Weil die Strahlen nicht nur optisch unwirksam sind, sondern auch vom Glase absorbiert werden, so war eine große Schwierigkeit zu überwinden bei der Herstellung der Linsensysteme. Nur bestimmte, eigens für diese Versuche hergestellte Glassorten hat man bis zu einem gewissen Grade für die ultravioletten Strahlen durchlässig machen können, aber doch nicht ausreichend genug, daß dieselben für diesen Zweck verwendbar waren. Man hat deshalb zu Bergkristall seine Zuflucht genommen und die gesamten Linsen des Mikroskops daraus hergestellt, mit Ausnahme der Objektivlinsen und Deckgläschen, welche aus geschmolzenem Quarz bestehen. Wegen der Undurchlässigkeit der Medien unseres Auges für diese Strahlen hat auch die Einstellung des Mikroskops seine Schwierigkeit, welche jedoch, soweit es ging, auf folgende Weise behoben wurde. Über den Mikroskoptubus wird ein Sucher gesetzt, bestehend aus einer Lupe, in deren Fokus sich eine Uranglasplatte befindet, und einem darunter gelegenen besonderen Linsensystem aus Quarz. Dieses letztere nun entwirft das mikroskopische Bild auf der Uranglasplatte, welche unter der Wirkung der ultravioletten Strahlen fluoresziert und deshalb eine durch die Lupe zu betrachtende Bildzeichnung schafft. Da diese aber konturell nur verhältnismäßig schwach ist, so gehört Übung zur richtigen Einstellung. Ist die Einstellung erfolgt, so kommt an die Stelle des Suchers der Tubus der photographischen Kamera, und bei einer bestimmten, je nach der Stärke der Vergrößerung in kleinen Grenzen variablen Balgenlänge entsteht dann das Bild scharf auf der photographischen Platte.

Die Einrichtung dieses Suchers ist ebenso einfach wie feinsinnig. Würden die Medien unseres Auges für ultraviolettes Licht durchlässig und die Retina dafür empfindlich sein, so könnte die Einstellung des Bildes direkt mit dem Auge geschehen, vorausgesetzt natürlich, daß die Gewebe desselben durch die Strahlen nicht geschädigt würden. So hat KÖNIGER eine Art künstlichen Auges konstruiert, dessen brechende Medien aus Quarz bestehen und dessen Retina die Uranglasplatte darstellt. Das auf dieser entstehende Bild wird dann erst mit der Lupe betrachtet.

Die Quarzobjektive, welche den Namen Monochromate erhielten, sind in drei Größen konstruiert worden: von 6 mm, 2,5 mm und 1,7 mm Brennweite; die beiden letzteren für Immersion.

Die numerische Apertur dieser Monochromate ist also nach den vorangegangenen Erklärungen doppelt so wirksam wie die der entsprechenden Achromate. Das Objektiv z. B. von 1,7 mm hat eine Apertur von 1,25, die aber inbezug auf das Auflösungsvermögen einer solchen von 2,50 entsprechen würde, wenn man sie bei Achromaten schaffen könnte. Diese Größe hat KÖHLER das „relative Auflösungsvermögen“ genannt. Auch inbezug auf das Einbettungs- und Immersionsmedium ist man naturgemäß von der Durchlässigkeit für die ultravioletten Strahlen abhängig. Als Einschlußmittel der Präparate können Glycerin, Wasser, physiologische Kochsalzlösung und Vaselineöl benutzt werden, zur Immersion Glycerin mit Wasserzusatz.

Als Lichtquelle dient der Entladungsfunke einer mit einem Induktor verbundenen Leydener Flasche zwischen Magnesium- oder Kadmiumelektroden. Die Einrichtungen für die Röntgenröhren können dazu benutzt werden. Dieses primäre Licht wird durch 2 Prismen geschickt, um die ultravioletten Strahlen aus dem Spektrum der optischen Achse des Photomikroskops zuzuführen.

KÖHLER zieht den Kadmiumfunken vor, wenn es sich darum handelt, besondere Schärfe der Details zu erzielen, und bei Vergleichsaufnahmen mit beiden Lichtquellen ließ sich wohl auch an denjenigen Stellen des Bildes, welche gerade im Fokus lagen, eine etwas bessere Auflösung erkennen; bei meinen eigenen Aufnahmen aber habe ich fast ausschließlich den Magnesiumfunken als Lichtquelle benutzt, einerseits weil die größere Helligkeit der Magnesiumlinie eine ganz beträchtlich geringere Expositionszeit erlaubte und dann wegen der größeren Tiefenzeichnung. Gerade diese Wirkung der ultravioletten Strahlen aus dem Magnesiumfunken scheint mir besonderer Beachtung wert zu sein. Wer mit dem Mikroskop umgeht, weiß einerseits, daß bei einer starken Vergrößerung von etwa 1000 oder mehr wegen der Beugung der Bildfläche zur Zeit immer nur ein Teil des Gesichtsfeldes, entweder das Zentrum oder die Peripherie, eine scharfe Einstellung aufweisen kann, und andererseits, daß man auf das genaueste an die bestimmte optische Ebene gebunden ist, für welche die Einstellung erfolgte, wenn das Bild photographisch wiedergegeben werden soll. Die ultravioletten Strahlen aus dem Magnesiumfunken leisten mehr, sie bilden im Spektrum eine Doppellinie, umfassen gewissermaßen eine Anzahl optischer Ebenen gleichzeitig und bringen dabei in einer Bildausdehnung scharfe Details heraus, wie weißes Licht und homogene Immersion es unmöglich können.

Ich weise schon hier auf eine Aufnahme vom Knochen hin<sup>1)</sup>, welche bei einer Bildgröße von 13 × 18 scharfe Details bis in die Randpartien

<sup>1)</sup> Fig. 8.

zeigt und das bei einer Vergrößerung von 1800. Die Ausläufer der Knochenlakunen sind auf lange Strecken ohne Unterbrechung ihrer Kontinuität sichtbar, was nur möglich sein kann bei einer so erheblichen Tiefenzeichnung, wie wir sie eben bei den ultravioletten Strahlen aus dem Magnesiumfunken haben, denn sie liegen bei ihrer Ausdehnung und der Unregelmäßigkeit ihres Verlaufes natürlich nicht ihrer ganzen Länge nach in ein und derselben optischen Ebene.

Den ultravioletten Strahlen kommt für die Mikrophotographie noch eine andere Wirkung zu, welche vielleicht nicht weniger von Bedeutung ist, als das höhere Auflösungsvermögen. Die verschiedenen organischen Gewebelemente haben nicht alle eine gleich gute oder gleich schlechte Durchlässigkeit für die Strahlen, sodaß diese Verschiedenheit sich auf der photographischen Platte in analoger Weise bemerkbar machen muß. Die durchlässigeren Teile werden im Negativ tiefer, die weniger durchlässigen Teile heller zeichnen, was sich im Positiv dann umgekehrt präsentiert. Dadurch kommen bei den ungefärbten Präparaten ähnliche Wirkungen zustande, wie sie etwa bei der Aufnahme mit weißem Lichte gefärbte ergeben. Sowohl pflanzliche wie tierische Objekte wurden in dieser Beziehung von KÖNLER durchgeprüft. Verholzte Zellwände beispielsweise und die Cuticula an Blattstielen zeigten sich fast ganz undurchlässig für die ultravioletten Strahlen und hoben sich dementsprechend im positiven Photogramm ganz dunkel aus dem Bilde heraus, wie mit Farbstoff imprägniert; tierische Zellen mit Kernteilungsbildern zeigten Undurchlässigkeit der chromatischen Substanz und erhebliche Durchlässigkeit des Protoplasmas.

In der letzten Zeit ist noch eine kleine Arbeit von Prof. GRAWITZ und Dr. GRÜNEBERG veröffentlicht worden unter dem Titel:

„Die Zellen des menschlichen Blutes im ultravioletten Lichte“. Da es mir noch im letzten Augenblick gelang, einen Abdruck dieser Arbeit zu erhalten, so kann ich denselben hier vorlegen.

---

Meine eigenen Aufnahmen beziehen sich auf eine Diatomee, auf die harten Gewebe des Zahnes, besonders das Zahnbein, und auf den Knochen.

Den Aufnahmen mit ultraviolettem Lichte habe ich Parallelaufnahmen mit weißem Lichte gegenübergestellt, damit der Unterschied im Auflösungsvermögen und in der Tiefenzeichnung erkannt werden kann.

Wenn ich noch einmal kurz zusammenfassen darf, so bezieht sich die erweiterte Wirkung des Photomikroskops für dieses kurz-



wellige Licht unter der Voraussetzung genügender Durchlässigkeit der betreffenden Objekte auf 2 Hauptpunkte:

einmal auf das gesteigerte Auflösungsvermögen, welches ja von der geringeren Wellenlänge des verwendeten Lichtes direkt abhängig ist, wozu bei Benutzung des Magnesiumfunkens noch die Tiefenzeichnung kommt, und

zweitens auf die Möglichkeit bei manchen ungefärbten organischen Präparaten eine Differenzierung von Gewebselementen dadurch im photographischen Bilde zu erhalten, daß dieselben einen verschiedenen Grad von Durchlässigkeit für die ultravioletten Strahlen haben. KÖHLER weist darauf hin, daß ein weiterer Gegenstand solcher Untersuchungen die Frage sein könnte, in welcher Weise sich die Durchlässigkeit der Objekte ändert, wenn man sie mit Färbungsmitteln behandelt. Als „Färbungsmittel“ könnten in diesem Falle auch Stoffe wirken, die bei Tageslicht keine Spur von Färbung aufweisen, wenn nur sie selbst oder Verbindungen, die sie etwa mit der Substanz des untersuchten Objektes eingehen, für das ultraviolette Licht undurchlässig sind. Da sehr viele ungefärbte Stoffe im Ultraviolett undurchlässig sind, so würde sich vielleicht eine Anzahl solcher „farbloser Farbstoffe“ finden lassen.

Nach den bisherigen Erfahrungen scheinen die pflanzlichen und tierischen Hartgewebe besonders gute Untersuchungsobjekte für das ultraviolette Licht zu sein.

Inbezug auf die Weichgewebe dürfte eine systematische Durchprüfung nötig sein, damit zunächst übersehen werden kann, welche Gewebe die Bedingungen am meisten erfüllen, von denen eine erfolgreiche Untersuchung mit dem neuen Hilfsmittel der mikroskopischen Forschung abhängt. Wie ich vernommen, ist im hiesigen Zoologischen Institute auch schon der Anfang damit gemacht worden.

## Erklärungen der Abbildungen und Photogramme.

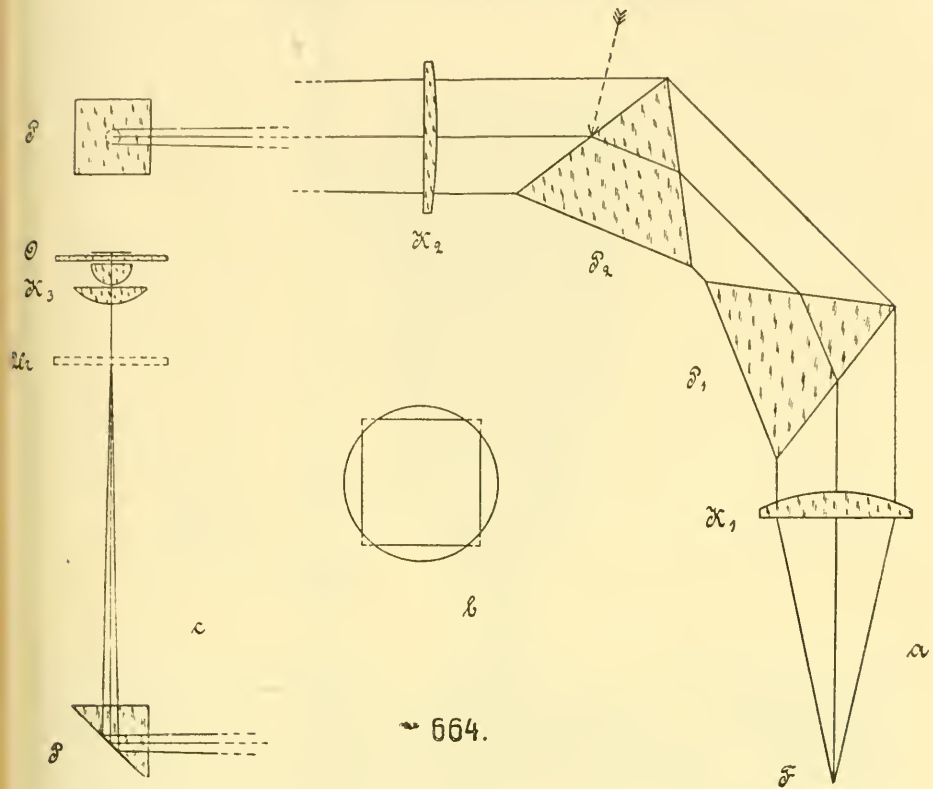


Fig. 1.

Fig. 1. Schema des Strahlenganges von der Lichtquelle bis zum Objekte: in F der Entladungsfunkens einer Leydener Flasche zwischen Magnesium- (bezw. Kadmium-) Elektroden; P<sub>1</sub> und P<sub>2</sub> zwei Prismen aus Bergkristall, durch welche das Licht zerlegt wird; P ein totalreflektierendes Prisma unter dem Fuße des Mikroskops. Die Aufstellung der Lichtquelle und Prismen ist eine derartige, daß die ultravioletten Strahlen des Spektrums genau auf das reflektierende Prisma fallen, um in die optische Achse des Mikroskops gelangen zu können, wie das kleine Nebenschema c (links im Bilde) zeigt. Die punktierte Linie Ur stellt eine Uranglasplatte dar, welche mit dem Träger der Irisblende ein- und ausgeklappt werden kann und zur Kontrolle des genauen axialen Durchganges der Strahlen dient; K<sub>2</sub> ist der Quarzkondensator und O Objektträger mit Deckglas.

Die Anordnung der optischen Bank ist eine derartige, daß die ganze Einrichtung auch ohne weiteres für die Verwendung des blauen Lichtes aus dem Spektrum benutzt werden kann, wenn die beiden Bergkristallprismen durch solche aus Flintglas ersetzt werden. Der Strahlengang des blauen Lichtes ist dann ein derartiger, daß er ebenfalls von dem Reflexionsprisma aufgenommen und in die optische Achse des Mikroskops geleitet wird.

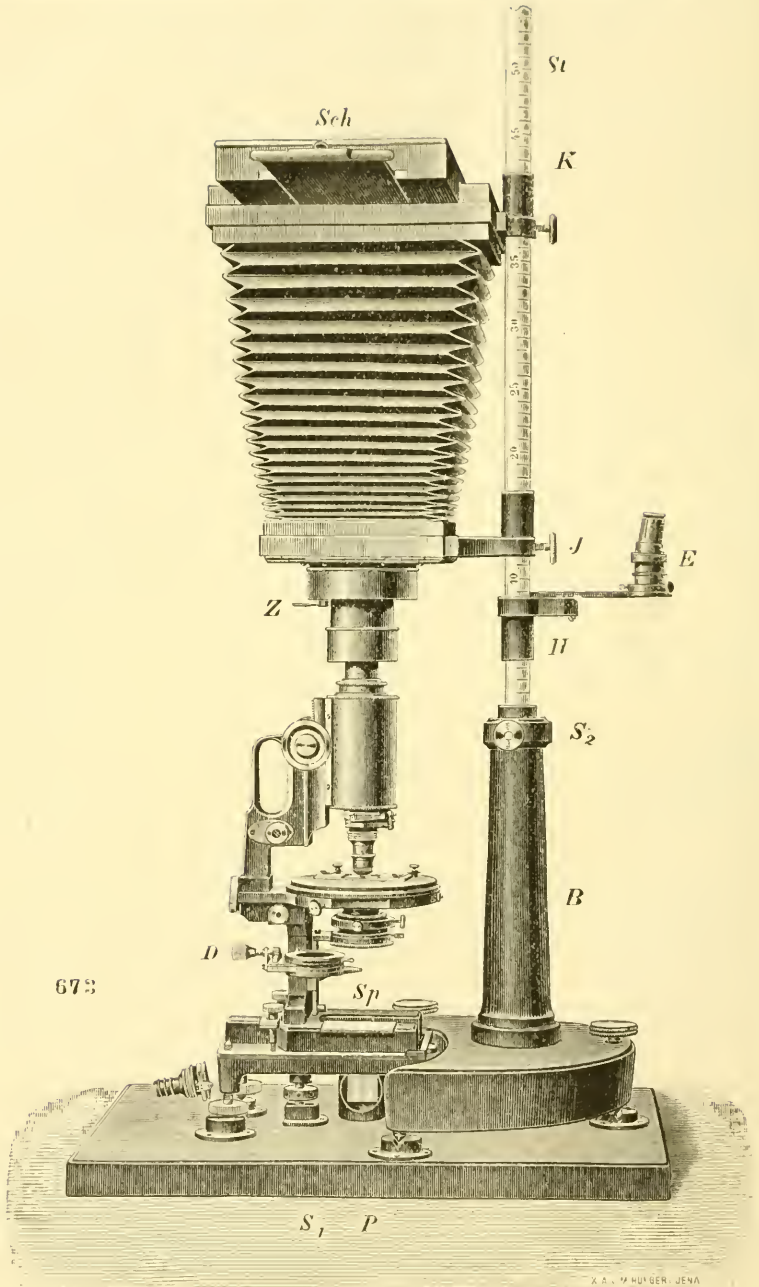


Fig. 2.

Das Photomikroskop mit übersetzter Kamera.

*Das Photomikroskop für ultraviolette Strahlen und seine Bedeutung etc.* 119

Das Stativ des Mikroskops ist die gewöhnliche Form Zeiss 1 c für Mikrophotographie und Projektion, jedoch kann auch jedes andere Stativ benutzt werden, sofern nur Kondensator und der Schraubengang für die monochromatischen Objektive passen oder adaptiert werden. Sämtliche Linsen hergestellt aus Bergkristall, bezw. diejenigen der Objektive sowie das Deckgläschen aus amorphem Quarz; P unter dem Stativfuße das erwähnte Reflexionsprisma, D der ausgeklappte Blendenträger mit der Uranglasplatte, welche, in die Achse des Mikroskops eingeschoben, infolge der auffallenden U.-V.-Strahlen flooresziert und durch den Spiegel Sp auf dem Mikroskopfuße auf den richtigen Strahlengang geprüft werden kann. Der Sucher E ist zur Seite geschlagen, wird zur Einstellung des Bildes mit dem graduierten Kameraträger herumgedreht und über das Okular des Mikroskops gestellt, um nach der Einstellung des Bildes wieder zurückgeschlagen zu werden und dem Tabus der Kamera Platz zu machen.

Der Einstellung für die photographische Aufnahme hat natürlich die Untersuchung des Objektes mit weißem Lichte voranzugehen, und das kann ohne Umständlichkeit geschehen. Seitlich ist für diesen Zweck eine besondere weiße Lichtquelle (Lampe oder elektrische Glühbirne) aufgestellt, der Revolver des Mikroskops enthält ein gewöhnliches Objektiv, welches nach Bedürfnis ausgewechselt wird, das Quarzokular wird durch ein gewöhnliches Okular ersetzt und alles andere kann in situ zur subjektiven Untersuchung benutzt werden. Zu bemerken wäre nur, daß man sich für diese Voruntersuchung mit weißem Lichte auf Trockenobjektive zu beschränken hat, weil bei homogener Immersion der Korrektionszustand des Objektivsystems nicht auf die Verwendung des Quarzdeckgläschens abgestimmt ist.

Die vier folgenden Bilder sind Aufnahmen von Dr. KÖHLER, welche in der genannten Arbeit des Autors bereits veröffentlicht wurden.

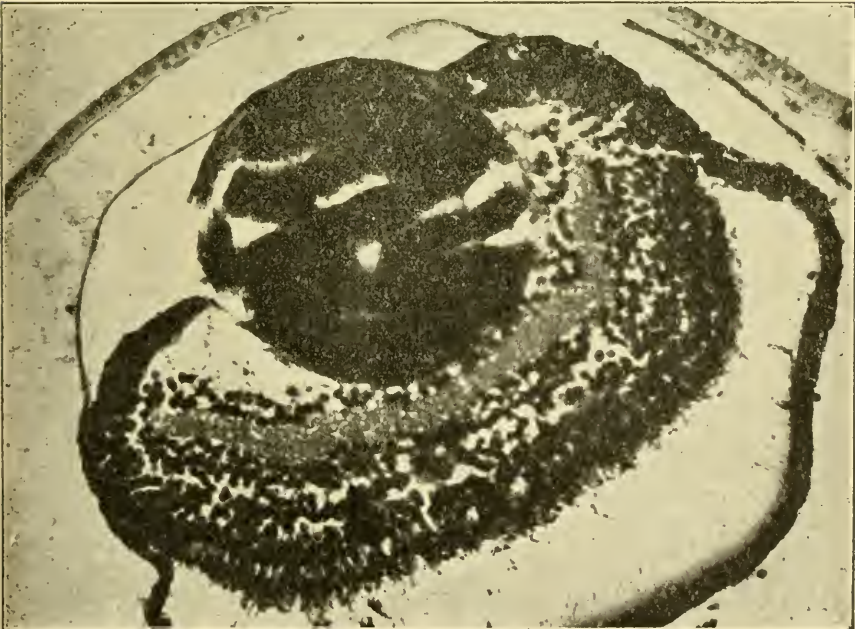


Fig. 3



Fig 3. Aufnahme mit ultravioletten Strahlen von einem Mikrotomschnitt durch das Auge einer Kaulquappe. Sie zeigt, daß die Cornea teilweise, Linse und Retina aber für das ultraviolette Licht so gut wie ganz undurchlässig sind. Das beweist die optische Unwirksamkeit desselben.

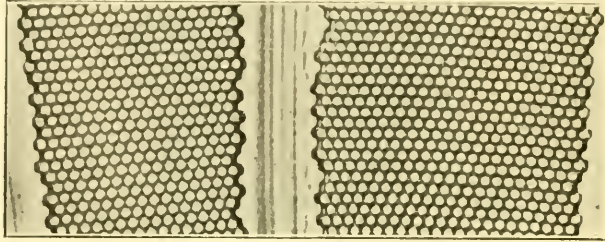


Fig. 4.

*Pleurosigma angulatum*. Aufn. mit blauem Lichte. Vergr. ca. 2500—3000.

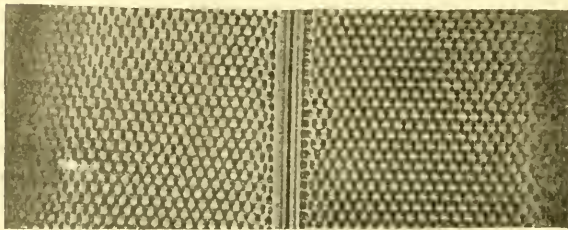


Fig. 5.

Dasselbe Objekt. Aufn. mit ultravioletten Strahlen aus Kadmiumlicht. Monochr. 1,7 mm mit Immersion, Okul. 10, Expos. 6 Min., Vergr. 2500.

Die beiden Bilder (Fig. 4 u. 5) sind von besonderem Interesse, weil sie zwei Parallelaufnahmen darstellen. Wenn sie nebeneinander betrachtet werden, können sie als etwas ganz Verschiedenes erscheinen, so abweichend voneinander sind die Struktureinheiten. In der Aufnahme mit blauem Lichte, welches ja bereits in bezug auf das Auflösungsvermögen das weiße übertrifft, ist die Gitterung honigwabenhähnlich, die Öffnungen des Gitters anscheinend nur von gleichmäßigen Leisten begrenzt. Die Details neben der mittleren Raphe sind so gut wie garnicht aufgelöst.

Die Vergleichsaufnahme mit ultravioletten Strahlen zeigt ganz etwas anderes, wie ein Blick auf das Bild lehrt. Nicht nur die allgemeine Gitterung der Schalen weist Einzelheiten auf, die in der Aufnahme mit blauem Lichte nicht in geringster Andeutung zu finden sind, sondern auch die Begrenzung der Raphe, auf welche in beiden Fällen die Einstellung erfolgt war, ist bis zu einem hohen Grade definiert. Es könnte gefragt werden: „Warum ist denn die zweite Aufnahme richtiger, objektähnlicher, als die erste?“ Darauf muß geant-

wortet werden, daß unter sonst gleichen Voraussetzungen die ultravioletten Strahlen schon nach den optischen Gesetzen wegen der kleineren Wellenlänge geringere Abstände der Strukturdetails getrennt sichtbar machen müssen als weißes oder blaues Licht. Was das Bild wiedergibt, muß dann den wirklich vorhandenen Strukturverhältnissen näher kommen, wenn Fehler in der Aufnahme nicht gemacht wurden. Ein Fehler wäre mangelhafte Einstellung oder ungenügender Öffnungswinkel des Beleuchtungskegels, in deren Folge Diffraktions säume entstehen könnten. Die erkennt man aber und kann deshalb über die Richtigkeit der Einstellung und Beleuchtung urteilen. Unschärfen in den Randpartien des Bildes als Folge der sphärischen Abweichung der Linsen oder von Unebenheiten im Objekte herrührend, wird man natürlich zu deuten und bei der Beurteilung auszuschalten haben, und chromatische Abweichung kommt ja gar nicht in Betracht, weil wir es mit einfarbigem Lichte zu tun haben.

Eine andere Frage wäre freilich die, ob denn das erlangte Bild eine objektiv richtige Wiedergabe, ob die Struktur wirklich so ist, wie die U.-V.-Strahlen sie auf der photographischen Platte abgebildet haben. Diese Frage kann man nicht ohne weiteres mit ja beantworten; es wäre möglich, aber wir wissen es nicht. Sicher ist nur, daß wir der Objektähnlichkeit näher gekommen sind. Wären wir in der Lage, chemisch wirksame Strahlen von noch kürzerer Wellenlänge zu verwenden als die ultravioletten und würden dabei die sonstigen notwendigen Vorbedingungen inbezug auf Durchlässigkeit u. s. w. erfüllt sein, so könnten wir wohl eine noch beträchtlichere Detailauflösung erwarten, vorausgesetzt, daß die betreffenden Strukturen überhaupt noch feiner differenziert sind.

Hier anknüpfend möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß KÖHLER auch Aufnahmen von *Amphipleura pellucida* mit U.-V.-Strahlen gemacht hat, welche in gleicher Weise die hohe Leistung derselben inbezug auf das Auflösungsvermögen dartun.

Dieses bekannte und beliebte Testobjekt für die Prüfung mikroskopischer Leistungsfähigkeit besitzt Querstreifungen, welche einen Abstand von 225—250  $\mu$  haben. Es läßt sich rechnerisch feststellen, daß homogene Immersion diese Querstreifen bei gerader Beleuchtung mit weißem Lichte überhaupt nicht auflösen kann; nur bei extrem schiefer Beleuchtung sind sie sichtbar zu machen, wie NEUHAUS in seinem Lehrbuch der Mikrophotographie, 2. Aufl. 1898, es wiedergegeben hat. Die U.-V.-Strahlen aber haben die Auflösung bereits bei gerader Beleuchtung in vollkommener Weise und bei schiefer Beleuchtung in so hoher Definition herausgebracht, daß diese Querstreifen sich in schön differenzierter perlschnurartiger Form präsentieren.

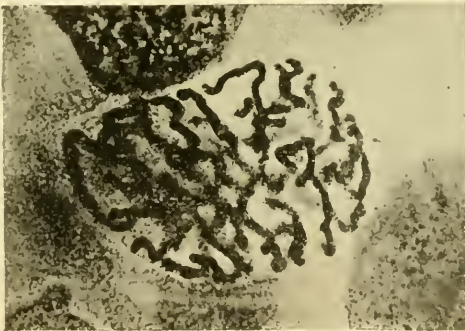


Fig. 6.

Fig. 6. Spirem aus dem Epithel eines Kiemenblättchens der Larve von *Salamandra maculosa*. Monochrom. 1.7 mm, num. Ap. 1,25. Okul. 7, Exp. 50 Sek. Vergr. 1300.

Das Bild zeigt die besondere Leistung der ultravioletten Strahlen, ungefärbte organische Gewebe, deren Elemente einen verschiedenen Grad von Durchlässigkeit für sie haben, auf der photographischen Platte differenziert abzubilden. Das

Protoplasma ist durchlässig, die chromatische Substanz nicht, daher die schöne Zeichnung der Kernfäden.

Die eigenen Aufnahmen, soweit ich mir erlauben möchte, sie hier zur Darstellung zu bringen, beziehen sich auf eine Diatomee, auf Zahnbein und Knochen.

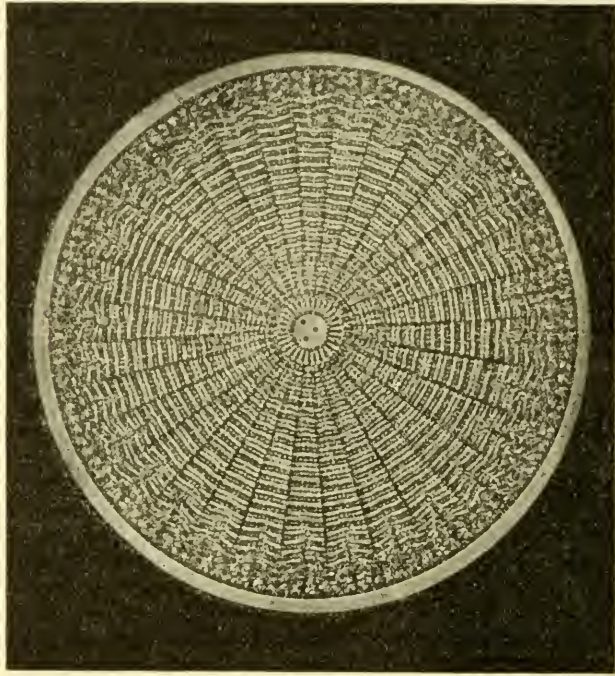


Fig. 7. *Arachnoidiscus ornatus*. Übersichtsaufnahme mit weißem Lichte.

Fig. 7 stellt eine (meines Wissens rezente) Diatomee aus Japan *Arachnoidiscus ornatus* dar, welche kreisrunde Panzerschalen besitzt und mit ihrer schön ornamentierten Gitterung ein sehr geeignetes Objekt zu sein schien. Ich möchte die Aufmerksamkeit auf das Zentrum dieser Panzerschale lenken, welches in radiärer Anordnung einen Kranz von nagelförmigen Leisten zeigt. Dieser Leistenkranz wurde bei etwa 1400facher Vergrößerung mit weißem Lichte und Blaufilter und bei 1800facher Vergrößerung mit ultravioletten Strahlen photographiert. Beide Parallelaufnahmen

1. Photogr. Tafel, Fig. 9 und 10<sup>1)</sup>

sind zum Vergleiche nebeneinander gestellt.

<sup>1)</sup> Fig. 8 (Knochenaufnahme) findet am Schlusse Erwähnung.



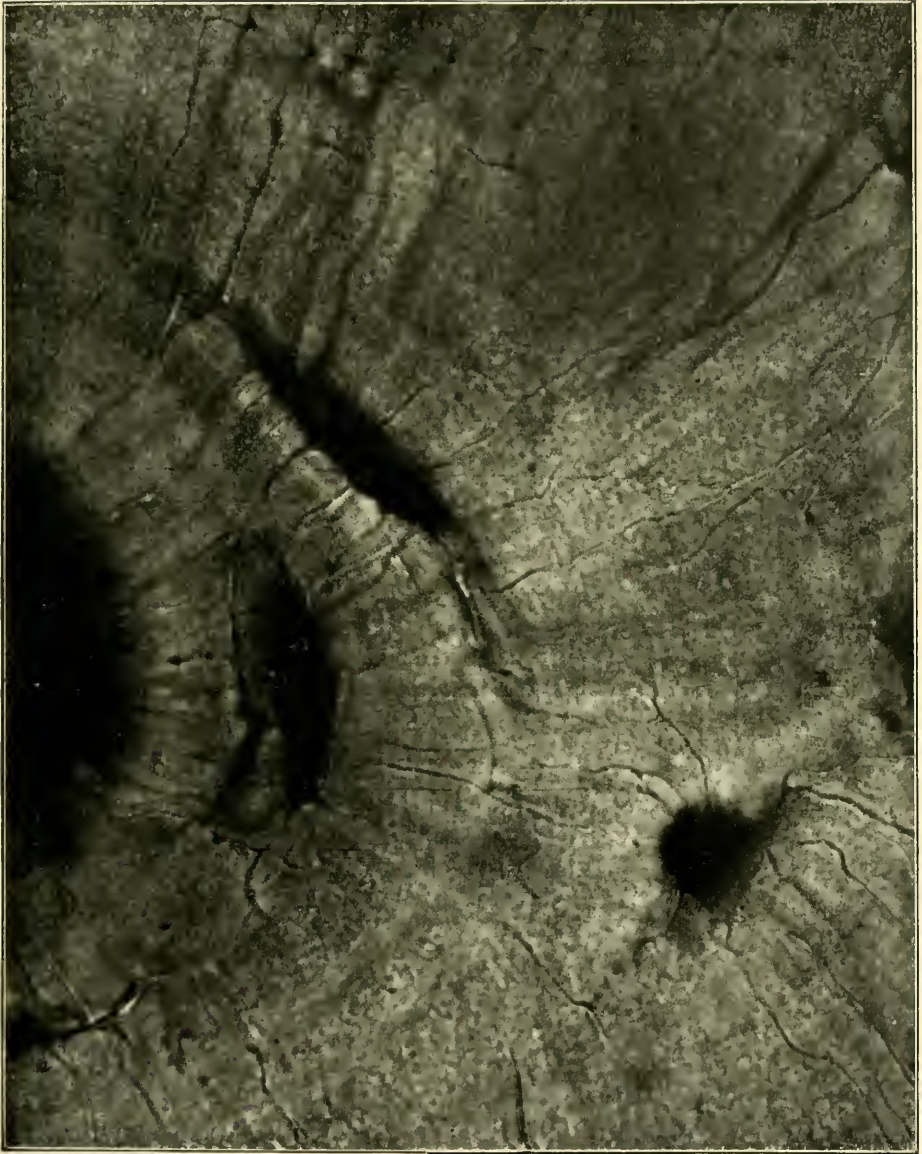


Fig. 8. Knochen. Monochrom. 1.7 mm. Okul. 10, Expos. 30 Sek., Magnesiumfunke.





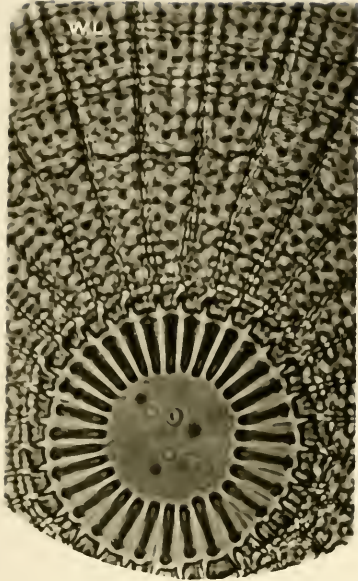


Fig. 9.

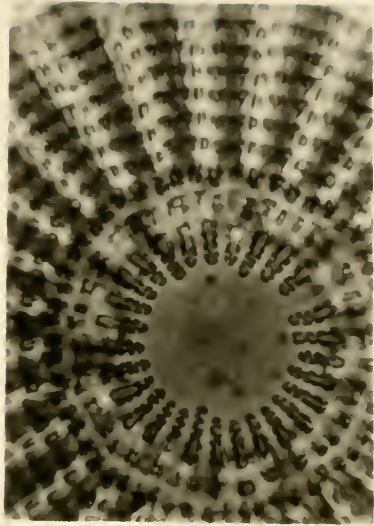


Fig 10.

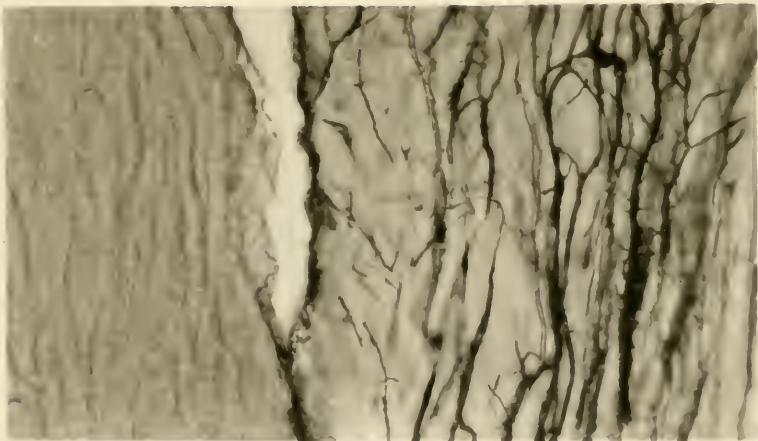


Fig 11.





Fig 12

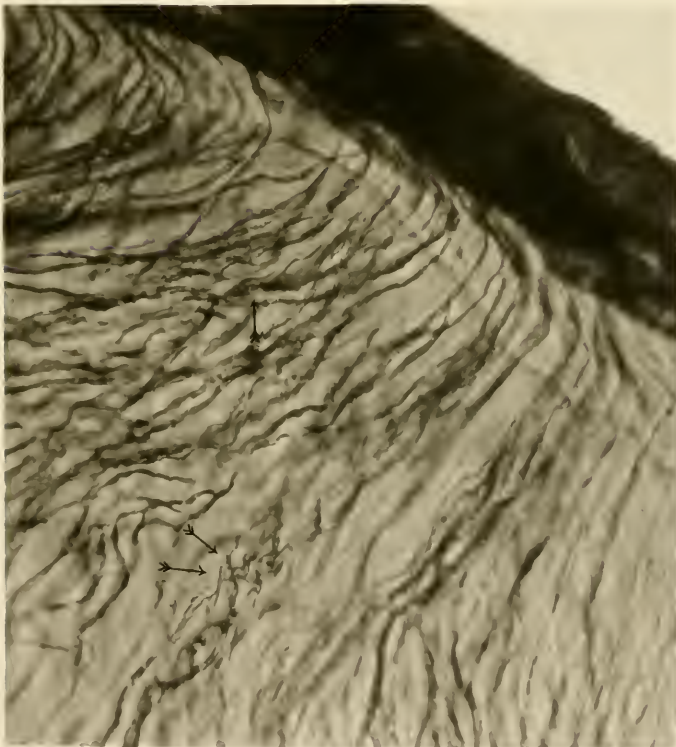


Fig 13





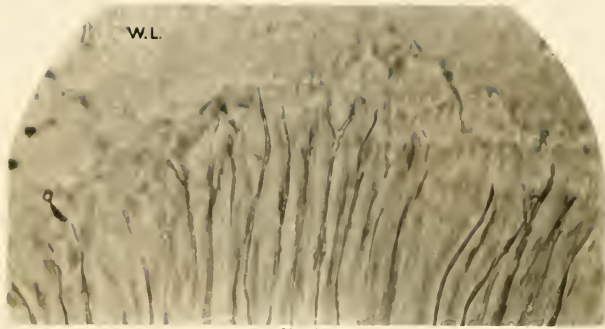


Fig. 14.

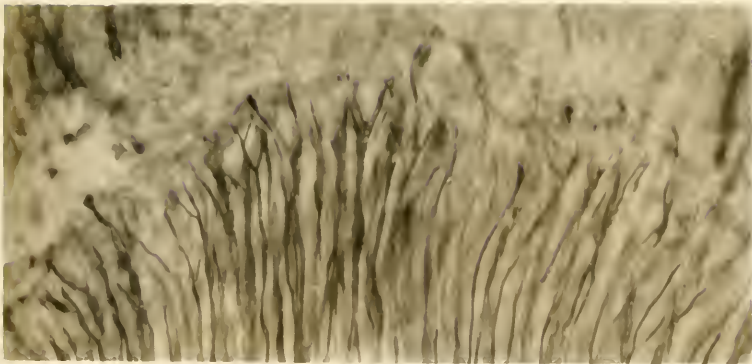


Fig 15.



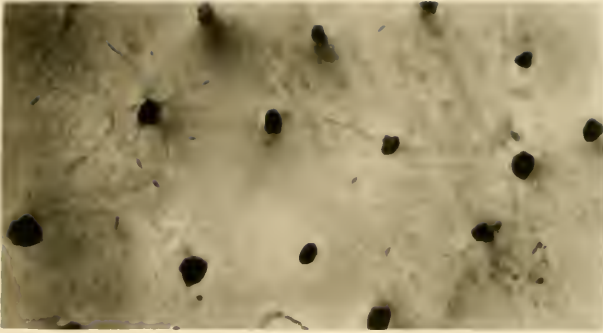


Fig 16.

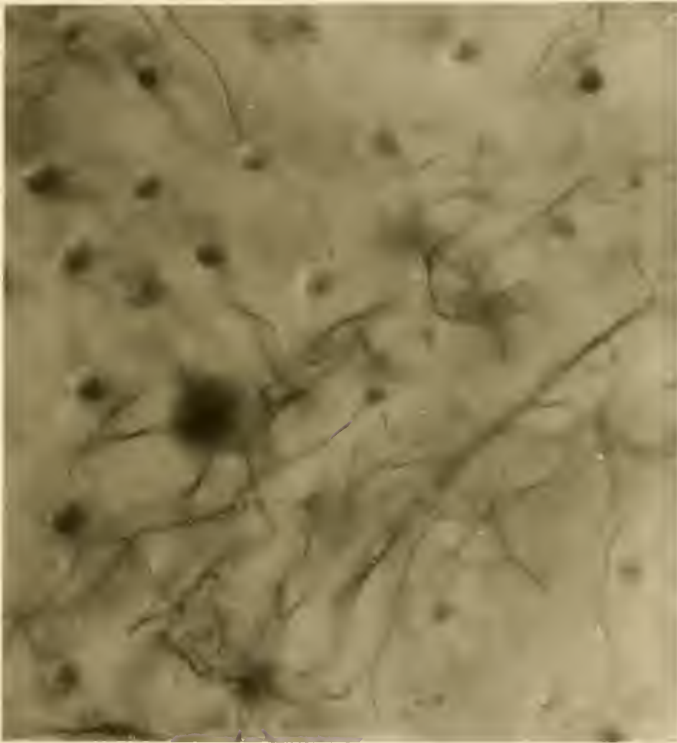


Fig 17

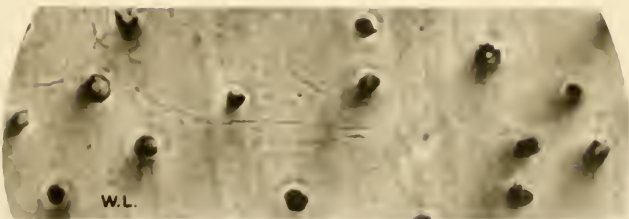


Fig 18





Die Aufnahme mit weißem Lichte (Apochromat 1,5 mm für homogene Immersion) läßt gute zentrale Einstellung erkennen. Die Diffraktionssäume um die zentralen Enden der Leisten sowie in den radiären Strahlen außerhalb des Leistenkranzes hätten möglicherweise weniger hervortreten können, ich konnte sie aber bei keiner Einstellung vermeiden. Die inneren Enden der Stäbchen zeigen keine Differenzierung in Form oder Struktur. Vergleicht man damit nun die zweite Aufnahme mit ultraviolettem Licht, so tritt eine ganz andere Definition hervor: die Leisten sind an ihrem inneren Ende schlüsselbartartig ausgeschnitten mit scharf begrenzten Konturen und ohne Diffraktionssäume. Man wird anerkennen müssen, daß diese Detailauflösung eine erhebliche Überlegenheit in der Leistung der ultravioletten Strahlen beweist. Auch bei subjektiver Untersuchung mit weißem Lichte habe ich weder bei zentraler noch bei schiefher Beleuchtung eine Andeutung dieser Differenzierung wahrnehmen können.

Für die Aufnahme von Zahnbein wurde zunächst sogenanntes sekundäres Zahnbein gewählt. Zur Erklärung sei hinzugefügt, daß mit diesem Ausdruck diejenige Form von hartem Zahnbein bezeichnet wird, welche von Seiten der Zahnpulpa bei chronischem Verlaufe der Zahnkaries oder bei starken Schläffflächen gebildet wird und anzusehen ist als das Produkt einer reaktiven Lebens-tätigkeit der Pulpa zur Ausgleichung des äußeren Substanzverlustes. In der Struktur unterscheidet sich dieses Ersatzzahnbein von dem normalen durch geringere Zahl und größere Unregelmäßigkeit der Kanälchen, sodaß die mehr differentiellen Details einen bequemeren Vergleich der Parallelaufnahmen versprechen.

Fig. 11 (Monochr. 6 mm, Okul. 10, Expos. 3 Sek., Vergr. 500.)

Um auch die Frage zu entscheiden, welchen Grad von Durchlässigkeit entkalktes Zahnbein gegenüber dem nicht entkalkten besitzt, ob also auch für das Studium des kariösen Zahnbeins eine Förderung zu erwarten wäre, habe ich eine Aufnahme von sekundärem Zahnbein aus der Spitze eines Milch-zahnes gemacht. Der Schliß wurde durchgeschnitten, die eine Hälfte entkalkt und gleichzeitig mit der nichtentkalkten anderen Hälfte photographiert.

Während das harte Zahnbein rechts im Bilde eine scharfe Zeichnung der Kanälchen und ihrer Seitenäste aufweist, ist das entkalkte Zahnbein im Bilde nur undeutlich differenziert. Die Durchlässigkeit für die Strahlen ist also bei den Kanälchen viel erheblicher geworden, fast ebenso groß wie bei der Grund-substanz, nur die Wandungen der Kanälchen sind hier und da, wenn auch schwach erkennbar, hervorgetreten.

Danach scheint es also, daß kariöses Zahnbein viel weniger gut sich mit den ultravioletten Strahlen mikroskopisch studieren läßt, als nichtentkalktes.

Die beiden folgenden Bilder

## 2. Photogr. Tafel, Fig. 12 und 13

dürften aufmerkamer Betrachtung zu empfehlen sein. Es sind Parallelaufnahmen von sekundärem Zahnbein bei fast gleicher (500facher) Vergrößerung, die eine mit weißem, die andere mit ultraviolettem Lichte. Die breite dunkle Be-grenzungszone ist verdichtetes Pulpagewebe mit teilweiser Verkalkung.

Vergleichen wir beide Aufnahmen, so sehen wir in derjenigen mit weißem Lichte die Kanälchen nur scharf, soweit sie in der Einstellungsebene liegen, alle anderen unscharf mit Diffraktionssäumen; sie überschatten die ersteren vielfach so, daß dieselben gar nicht mehr zu erkennen sind. In der Aufnahme

mit ultravioletten Strahlen können wir nicht nur viel mehr Kanälchen in weitem Verlaufe deutlich verfolgen bis in ihre Endigung, sondern erkennen auch an manchen Stellen bei Kreuzungen, daß die tiefer gelegenen Kanälchen ebenso scharf hervortreten wie die darüber liegenden. Im besonderen möchte ich auf die beiden mit den Pfeilen bezeichneten Stellen hinweisen. Der obere Pfeil zeigt auf eine deutliche Schleifenbildung im Verlaufe des Kanälchens und der Doppelpfeil auf mehrere scharfe Krümmungen und Wellenbiegungen, welche bis in die Tiefe gute Konturen zeigen. Bei der Aufnahme mit weißem Lichte ist die Schleife überhaupt nicht zu finden, die andere Stelle wohl aufzufinden, aber die Biegungen der Kanälchen nicht zu sehen, obgleich diese Aufnahme als eine wohlgelungene bezeichnet werden kann. Das beweist uns die hervorragende Tiefenwirkung der ultravioletten Strahlen aus dem Magnesiumfunken, welche gleichzeitig eine ganze Anzahl optischer Ebenen scharf umfaßt und deshalb die Details nicht flächenhaft zeichnet, sondern mehr körperlich hervortreten läßt. Auch die Schattenwirkung der noch tiefer gelegenen und nicht mehr abgebildeten Kanälchen ist eine viel geringere als bei weißem Lichte.

### 3. Photogr. Tafel, Fig. 14 und 15.

Zwei analoge Parallelaufnahmen mit weißem und ultraviolettem Lichte von normalem Zahnbein eines oberen Prämolaren an der Grenze eines Kronenhöckers. Die Zahl der scharf abgebildeten Kanälchen und ihrer gabeligen Endverzweigungen ist bei der zweiten Aufnahme etwa dreimal so groß als bei der ersten.

### 4. Photogr. Tafel, Fig. 16, 17, 18.

Aufnahmen von Zahnbein im Querschnitte der Kanälchen. Das Präparat war ein Schliff aus der Krone eines jungen Prämolaren quer zur Längsachse des Zahnes über einem Höcker; 16 und 17 mit ultravioletten Strahlen bei 1800facher Vergrößerung bieten deshalb besonderes Interesse, weil sie Aufnahmen desselben Präparats an genau derselben Stelle darstellen, nur mit dem Unterschiede: die erstere ist auf die Oberfläche eingestellt und zeigt die Querschnitte der Kanälchen deshalb in scharfer Umrandung; Seitenästchen läßt sie nur hier und da andeutungsweise erkennen; die letztere dagegen mit Einstellung auf eine tiefere optische Ebene hat gewissermaßen die Details aus der Tiefe herausgeholt, und die Konturen der Kanälchenquerschnitte an der Oberfläche sind demgemäß unscharf. Wenn wir auf diesem Bilde den teilweise sehr langen Verlauf der Seitenästchen sehen und bedenken, daß es sich während desselben doch nicht um ein und dieselbe optische Ebene handeln kann, so erkennen wir wieder den hervorragenden Effekt in bezug auf die Tiefenzzeichnung, die das weiße Licht bei einer gleichen Vergrößerung (1800) niemals hervorbringen kann. Ein ähnliches Bild vom Zahnbein mit der objektiven Zuverlässigkeit des Photogramms dürfte wohl bisher noch nicht publiziert worden sein.

Das Photogramm Fig. 18 ist eine Parallelaufnahme mit weißem Lichte und annähernd gleicher Vergrößerung. Die Einstellung ist mit aller Vorsicht erfolgt, aber nur ein Seitenästchen hat mit einiger Deutlichkeit in das Bild hineingebracht werden können, und auch das ist nicht frei von Diffraktionslinien; was die Aufnahme an Seitenästchen sonst noch hervorgebracht hat, ist weniger als eine Andeutung im Vergleiche zu der Aufnahme mit ultraviolettem Lichte.

Die Aufnahmen vom Knochengewebe sind nicht minder befriedigend ausgefallen als diejenigen vom Zahnbein. Ich benutzte einen Querschiff vom Unterkiefer nahe der Mittellinie. Es wurde mit Monochromat 6 mm, Okul. 10, Vergr. 500 und ultravioletten Strahlen sowohl aus dem Magnesium- wie Kadmiumfunken photographiert und in beiden Fällen ein gutes Resultat erzielt. Wie nun aber bereits zu erwarten war, zeigten die Aufnahmen mit der Magnesiumlinie größere Tiefe, diejenigen mit der Kadmiumlinie allerdings an den Stellen, welche gerade im Fokus lagen, etwas größere Schärfe. In dem früher (S. 122) bereits erwähnten Bilde

Fig. 8

gebe ich aber eine Aufnahme bei 1800 facher Vergrößerung wieder.

Die Platte hatte eine Größe von 13 : 18 cm und wies bis in die Ränder hinein eine beträchtliche Definition auf.

Man wird ohne weiteres anerkennen müssen, daß nach den optischen Gesetzen mit weißem Lichte scharfe Details in einer solchen Bildausdehnung unmöglich erhalten werden können. Links am Rande ein Havers'sches Kanälchen im Querschnitt. Ich möchte auch auf die Granulierung aufmerksam machen, welche besonders im unteren Teile des Bildes hervortritt. Wenn wir dieselbe als Querschnitte der Fibrillenbündel in der Grundsubstanz anzusprechen haben, so ist es interessant zu sehen, daß man hier und da recht deutlich eine sternförmige Anordnung unterscheiden kann. Die dunkle Partie in der rechten oberen Ecke dürfte wohl so zu deuten sein, daß hier in den tiefen Schichten des Präparats eine Knochenlakune gelegen hat, welche die höheren Schichten überschattete.

## Experimentelles über Eihäute und Rückenbildung bei Frosch- und Schwanzlurchen.

(Vorläufige Mitteilung).

Von GUSTAV TORNIER.

### Teil I: Wieviel Eihüllen gibt es am Frosch- und Schwanzlurchen-Ei?

Zahlreiche Belegstücke aus verschiedenartigen Experimenten ergeben mit Sicherheit, daß folgende zur Zeit vorherrschende Anschauungen über die Embryologie der Frosch- und Schwanzlurche den wirklichen Tatsachen nicht entsprechen:

Es wird z. B. zur Zeit angenommen, daß das Froschei in seinen ersten Furchungsstadien, wenn von seinen Gallerthüllen abgesehen wird, nur eine Eihaut (Einmembran, Dotterhaut, Membrana vitellina: ZIEGLER, Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere 1902 p. 242) besitzt, zwischen die (Fig. 1, a) und den Keim — bestehend aus dem schwarzen Bildungs- und dem weißen Nährdotter — nach der Befruchtung eine „perivitelline Flüssigkeit“ so eingeschoben wird, daß der Keim sich dadurch in

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

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin](#)

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [1906](#)

Autor(en)/Author(s): Dieck W.

Artikel/Article: [Das Photomikroskop für ultraviolette Strahlen und deren Bedeutung für die histologische Untersuchung insbesondere der Hartgewebe 108-125](#)