

gebogen ist; Ocellen groß; Stirnfläche mit undeutlicher Längsfurche, auch die Quersfurchen wenig ausgebildet; Schnabel die Hinterbüften nicht erreichend. Auf der Schriflschwiele nur 4—5 hohe und weit von einander entfernte Leisten. Deckflügel  $2\frac{1}{3}$  mal so lang wie breit, Costalrand vor und hinter dem Stigma fast gerade; aderfreier Saum breit; äußerer Arm des Arculus fast verschwunden, sodaß die Media dicht am Radius entspringt und die Basalzelle keilförmig ist; Cubitus stark gebogen. Flügel ebenfalls spitz zulaufend.

♀: Long. cum tegm. 22 mm; Exp. tegm. ca. 42 mm.

Hab. — Argentina: Santiago del Estero (Mus. Straßburg; STEINBACH coll., Typus!)

## Über Fixationsgemische mit Trichloressigsäure und Uranylacetat.

Von HANS FRIEDENTHAL-Nicolassee.

(Aus dem Referierabend vom 15. Juli 1907).

Die Frage nach dem besten Fixationsmittel wurde bisher gewöhnlich dahin beantwortet, daß für verschiedene Objekte verschiedene Fixationsgemische sich am Besten bewährt hätten. Für embryonale Gewebe finden noch heute so primitive Fixationsmittel wie Salpetersäure oder die Pikrinsäuregemische Anwendung, für Kernteilungsbilder kämpfen Flemmingsche Lösung und Herrmannsche Lösung um den Vorrang. Für das Zentralnervensystem sind die Gemische mit Kalium bichromicum und Formalin in vielen Fällen spezifischer Eigenschaften dieser Füllungsmittel wegen gar nicht zu entbehren. Der Arbeitstisch eines Histologen zeigt gewöhnlich eine große Zahl von Fixationsgemischen, um für jeden vorkommenden Fall gerüstet zu sein.

Fixation bedeutet Überführung der Gewebsbestandteile aus dem gelösten oder halbgelösten Zustand in den festen Zustand nebst Erhaltung der bereits in festem Zustand befindlichen Zellteile. Bei der Gleichartigkeit der chemischen Zusammensetzung aller Lebewesen scheint die Auffindung eines Universalfixationsmittels nicht unmöglich. Eingehende Untersuchungen von TELLYESNICZKY und WASIELEWSKI haben ergeben, daß sich pflanzliche und tierische Zellen und Gewebe den Fixierungsflüssigkeiten gegenüber gleichartig verhalten.

Die Verschiedenartigkeit der molekularen Konzentration der Gewebssäfte und Zellsäfte bedingt nur schwach fällenden Fixier-

gemischen (schlechten Fixationsmitteln) gegenüber eine Berücksichtigung der molekularen Konzentration der Fixiergemische zur Vermeidung von Schrumpfung und Quellung vor der Härtung. So kann ein Zusatz von 0,6 Prozent Kochsalz zur üblichen zehnprozentigen Formalinlösung Volumänderungen empfindlicher Wirbeltierorgane hintanhaltend. Die wässrige Formalinlösung gehört zu unsern schlechtesten Fixationsmitteln, hat sich aber wegen ihrer bequemen Anwendung und wegen der nachträglichen Versilberungsmöglichkeit der fixierten Gewebe ein ausgedehntes Anwendungsgebiet zu behaupten verstanden. Bei gut fixierenden Flüssigkeiten wie der Flemmingschen oder Herrmannschen Lösung spielt die Isotonie zwischen Gewebssaft und Fixationsgemisch keine nachweisbare Rolle. Ein Überschuß gelöster Moleküle in der Fixierungsflüssigkeit erscheint sogar erforderlich, da die Gewebe während der Fixation fortwährend gelöste Stoffe aus dem Fixierungsgemisch an die ausfallenden Colloide ketten und somit die molekulare Konzentration beständig vermindern. Das Ausbleiben der Gewebeschrumpfung bei Anwendung des ganz absoluten Alkohols gegenüber der Schrumpfung nach Alkohol-Wassergemischen zeigt deutlich in wie hohem Grade die Geschwindigkeit der Fällung für die Erhaltung des Organvolumens maßgebend ist, wie unwesentlich dagegen die Isotonie.

Die bisher benutzten Fixationsgemische lassen sich in zwei große Gruppen einteilen.

Fixationsgemische, welche vorzüglich konservieren aber schwer in die Tiefe dringen (hierher gehörten die Osmiumgemische namentlich die Flemmingsche Lösung) und zweitens Fixationslösungen, welche weniger gut konservieren aber in die Tiefe dringen und bequem zu handhaben sind. Hier ist vor allem die Zenkersche Lösung zu nennen. Eine Lösung, welche vorzüglich konserviert und rasch in die Tiefe dringt gab es bisher noch nicht. Die Anwendung der Trichloressigsäure in Verbindung mit Uranylacetat erlaubt die Herstellung von Gemischen, welche bei guter Fixation außerordentlich rasch in die Tiefe dringen und die Färbbarkeit der fixierten Gewebe günstig beeinflussen. Die Trichloressigsäure ist in Wasser außerordentlich löslich. Man kann sich eine fünfzigprozentige Stammlösung herstellen, welche unbegrenzt haltbar ist.

Die ganz besonders gute Färbung der mit Trichloressigsäure fixierten Gewebe beruht wahrscheinlich auf der Geschwindigkeit der Ausfällung der Kolloide. Sublimat und Trichloressigsäure besitzen nach EHRLICH eine ganz spezifische Fähigkeit die Färbbarkeit der Gewebe zu erhöhen.

Trichloressigsäure fällt alle Eiweißkörper und geht mit den basischen Kernstoffen praktisch unlösliche Verbindungen ein.

Trichloressigsäure besitzt eine so hohe Dissoziationskonstante  $120000 \times 10^{-5}$  gegenüber  $1.8 \times 10^{-5}$  der Essigsäure, daß schon bei ganz geringen molekularen Konzentrationen der zur Eiweißfällung erforderliche  $H^+$  Ionengehalt erreicht wird. Trichloressigsäure ist fast so stark wie Salzsäure, gehorcht aber trotzdem dem Ostwaldsehen Verdünnungsgesetz. Die Diffusion der Trichloressigsäure in lebende Gewebe ist unvergleichlich schneller als die der anderen starken Säuren. Bei Salzsäure z. B. ist das Chlorion praktisch unlöslich in Plasma, nur das  $H^+$  Ion kommt für die Diffusion in Betracht.

Bei der Trichloressigsäure ist nicht nur das  $H^+$  Ion, sondern auch das Säureanion ( $CCl_3 - COO^-$ ), vielleicht auch das undissoziierte Molekül  $CCl_3 - COOH$  im Plasma löslich. Bisher hat man bei der Auswahl von Fixationsmitteln noch nicht Wert darauf gelegt Substanzen zu wählen, deren beide Ionen plasmalöslich sind. Da die Chloride zu den gebräuchlichsten Salzen gehören, das Chlorion aber so gut wie gar nicht plasmalöslich ist, war die Wahl der Fixiersalze nicht immer eine glückliche. Sublimat dringt bedeutend schwerer ein als trichloressigsäures Quecksilber, eben wegen der Unlöslichkeit des  $Cl^-$  Ions.

So allgemein die Eiweißkörper durch Trichloressigsäure gefällt werden, so unvollständig muß eine Fixation bleiben, welche nur durch Trichloressigsäure bewirkt wird, weil alle elektropositiven Kernstoffe ein elektronegatives Colloid zur Ausfällung verlangen.

Das Uranylacetat stellt ein ähnlich vollkommenes Ausfällungsmittel für die elektropositiven Kernstoffe dar, wie die Trichloressigsäure für die elektronegativen Kernbestandteile, auch sämtliche amphotere Eiweißsubstanzen werden durch Uranylacetat in saurer Lösung ausgefällt. Für Fermente und andere eiweißähnliche Substanzen ist Uranylacetat ein wirksames Fällungsmittel.

Uranylacetat dringt unvergleichlich schneller ein als Quecksilberchlorid, weil wie bei der Trichloressigsäure nicht nur das Uranylradikal, sondern auch das Essigsäureradikal als protoplasmalöslich für die Diffusion in Betracht kommt.

Tatsächlich zeigt ein Gemisch von Trichloressigsäure und Uranylacetat als Fixationsmittel die oben theoretisch vorausberechneten Vorteile.

Nimmt man ein Gemisch, welches aus konzentrierter Uranylacetatlösung, 50prozentiger Trichloressigsäure und Wasser zu gleichen Teilen zusammengesetzt ist, so erhält man

eine Lösung, welche bei guter Fixation alle bisherigen Gemische an schneller Tiefenwirkung übertrifft.

Das Gemisch verleiht den Geweben eine gute Färbbarkeit und übertrifft an Bequemlichkeit weit die Sublimatgemische, namentlich die ganz gut fixierende Zenkersche Lösung, weil die Nachbehandlung mit Jod fortfällt und störende Niederschläge nicht auftreten. Da die Osmium enthaltenden Fixationsgemische die Färbbarkeit ungünstig beeinflussen und in vielen Fällen die Entfernung der Osmiumschwärzung durch Wasserstoffsperoxyd notwendig ist, der Fixationszustand der Gewebe aber sehr ähnlich ausfällt bei Anwendung obiger Trichloressigsäure - Uranylacetatgemische, so wird obiges Gemisch in allen Fällen gute Dienste leisten können, wo rasches Eindringen bei guter Fixation und bequeme und schnelle Handhabung gefordert wird. Wie oben schon erwähnt drängen die vorzüglich fixierenden Osmiumgemische schwer oder gar nicht in die Tiefe.

Für alle Fälle bei welchen vorzüglichste Fixation die Hauptsache, Bequemlichkeit der Anwendung und der Färbung aber Nebensache ist, empfiehlt sich aber ein Fixationsgemisch, welches neben der Trichloressigsäure und dem Uranylacetat noch Osmiumsäure und Chromsäure enthält. Die Osmiumsäure wirkt für die Erhaltung von Cilien spezifisch günstig, die Chromsäure für die Erhaltung gewisser Teile des Zentralnervensystems. Eine physikalisch chemische Erklärung für die günstige Wirkung der Osmiumsäure und der Chromsäure ist bisher nicht gefunden. Genauere Untersuchungen in dieser Richtung wären sehr erwünscht, da alsdann das Stadium des experimentellen Herumprobierens mit verschiedenen Fixationsgemischen definitiv zu Ende wäre. Es mag hier Erwähnung finden, daß mit Formalin und mit Phosphorwolframsäure das Trichloressigsäure-Uranylacetatgemisch nicht kombiniert werden kann, weil Fällungen entstehen; mit den übrigen Fixationsmitteln, von denen alle gebräuchlicheren untersucht worden, läßt sich das Gemisch kombinieren<sup>1)</sup>. Die Mischung mit den Imprägnierungsmitteln Silber und Gold erlaubt eine Kombination von Imprägnierung mit vorzüglicher Fixation, wie sie bisher noch nicht erreicht werden konnte. Silbernitrat wird von Trichloressigsäure nicht gefällt, weil keine Chlorionen vorhanden sind trotz Anwesenheit der festgebundenen Chloratome. Nur Chlorionen geben

<sup>1)</sup> Beiläufig mag hier erwähnt werden, daß molybdänsaures Ammonium wie es für die Fixation von Metylenblau nach vitaler Injektion Anwendung findet, mit dem Trichloressigsäure-Uranylacetatgemisch Fällungen gibt, welche im Überschuß des Fällungsmittels wieder in Lösung gehen.

mit Silber Chlorsilberniederschläge. Goldchlorid giebt ebenfalls mit Trichloressigsäure - Uranylacetat klare haltbare Lösungen. Von besonderer Bedeutung erscheint die Möglichkeit, Platinchlorid mit dem Gemisch zu kombinieren, weil nach dessen Anwendung durch Holzessig die Gewebsbestandteile sich ohne Färbung sichtbar machen lassen. Die Herrmannsche Lösung gestattet bekanntlich diese Anwendung des Holzessigs, dringt aber so gut wie gar nicht in die Tiefe. Ein Universalfixationsgemisch für viele Zwecke des Botanikers und Zoologen brauchbar, welches bei vorzüglichster Fixation verhältnismäßig rasch in die Tiefe dringt, erhält man, wenn man das Trichloressigsäure-Uranylacetatgemisch kombiniert mit Osmiumsäure, Chromsäure und Platinchlorid.

Eine Lösung, welche in 100 Teilen 20 gr Trichloressigsäure, 10 gr Uranylacetat, 0,5 gr Osmiumsäure, 1 gr Chromsäure und 0,5 gr Platinchlorid enthält, wird allen Ansprüchen an ein vorzüglich fixierendes und rasch in die Tiefe dringendes Universalfixiermittel, welches bisher anscheinend fehlte, genügen können. Ist seine Anwendung auch nicht ganz so bequem wie die des Trichloressigsäure - Uranylacetatgemisches allein, so spricht der Fixationszustand und die ganz allgemeine Anwendbarkeit für die Verwendung des letztgenannten Gemisches<sup>1)</sup>.

### Referierabend am 15. Juli 1907.

**H. POLL** und **H. FRIEDENTHAL**: Über ein neues Fixationsmittel und dessen Anwendung (s. S. 207).

**L. WITTMACK** teilte mit, daß gelegentlich der LINNÉ-Feier mehrere interessante Arbeiten erschienen seien. U. a. legte er vor:

1) **VEIT BRECHER WITTRÖCK**, *Linnaea borealis* L. *Species polymorpha et polychroma*. (Acta Horti Bergiani Bd. 4 No. 7. Stockholm 1907. 187 S., 13 Tafeln und 18 Textabb.) **WITTRÖCK**, der sich schon durch die eingehenden Studien über die Formen und Farbenvariationen des Stiefmütterchens verdient gemacht, hat die dabei erlangte Übung im Unterscheiden feiner Abweichungen

<sup>1)</sup> Sollte das Volumen gewisser Organe in diesem starken Gemisch eine Änderung erleiden, so wäre diesem Übelstand durch Verdünnen mit Wasser leicht abzuhelfen. Doch ist ein Volumenschwund bisher nicht beobachtet worden. Es braucht wohl kaum eines Hinweises darauf, wie schnell entkalkend ein so saures Gemisch wirken muß, zumal die Löslichkeit des trichloressigsäuren Kalkes eine gute ist.

# 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: 1907

Band/Volume: [1907](#)

Autor(en)/Author(s): Friedenthal Hans Wilhelm Carl

Artikel/Article: [Über Fixationsgemische mit Trichloressigsäure und Uranylacetat 207-211](#)