© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

zum Schatzmeister Herr REICHENOW, zum Schatzmeister-Stellvertreter Herr MATSCHIE. Wir sind insbesondre Herrn REICHENOW, aber auch Herrn MATSCHIE, zu großem Danke verpflichtet, daß sie sich bereit erklärt haben, ihre bewährte Arbeitskraft unserer Gesellschaft auch fernerhin zur Verfügung zu stellen.

Auch unserem Sekretär, Herrn STITZ, darf ich für seine Mühewaltung unsere Anerkennung aussprechen.

Schließlich aber schulden wir noch besonderen Dank jenen Mitgliedern und Gästen, die durch Mitteilung der Ergebnisse ihrer wissenschaftlichen Arbeit allen Besuchern unserer Sitzungen vielfältige Belehrung und Anregung geboten und zum Ausbau der von unserer Gesellschaft gepflegten Wissenschaften beigetragen haben.

A. SCHUBERG.

Ein neues Verfahren zum Bleichen und Erweichen tierischer Hartgebilde.

Von PAUL SCHULZE, Berlin

In einer kürzlich erschienenen Arbeit berichten SCHMIDT und GRAUMANN[1]) über eine Methode zur Reindarstellung pflanzlicher Skelettsubstanzen mit Hilfe von Chlordioxyd. Läßt man ClO_2 auf Holz einwirken, so wird nur das inkrustierende Lignin angegriffen, während Cellulose und Hemicellulosen völlig unverändert bleiben. Es schien nun von hohem Interesse dieses Reagenz auch auf tierische Skelettsubstanzen einwirken zu lassen, um zu ermitteln, ob hier etwa auch härtende Inkrusten vorhanden sind, die sich mittels Chlordioxyd entfernen lassen. Herr Dr. E. SCHMIDT hatte die Freundlichkeit mir schon vor seiner ersten Publikation das Reagenz zur Prüfung für zoologische Objekte zu überlassen, wofür ihm auch an dieser Stelle herzlichst gedankt sei.

Der Erfolg der angestellten Versuche war ein überraschender: in allen untersuchten Hartsubstanzen ließ sich grad wie beim Holz eine durch Chlordioxyd angreifbare Komponente nachweisen, besonders beim Chitin. Es wurden auf diese Weise neue Einblicke in den chemischen Aufbau der Arthropodenkutikula gewonnen. Skeletteile z. B., die normalerweise keine Chitinreaktion ergaben, wie die „Lackschicht"[2]) von *Lucanus cervus* zeigen eine solche nach Vorbehandlung mit Chlordioxyd; es liegt also hier gewissermaßen durch die Inkruste maskiertes Chitin vor.

---

[1]) E. SCHMIDT und E. GRAUMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 54, 1921 p. 1860 u. f.

[2]) P. SCHULZE, Verh. deutsch. zool. Ges. 1913 p. 168 u. f.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Über die chemische Seite der angeschnittenen Frage wird an anderer Stelle eine gemeinsam mit meinem Freunde E. SCHMIDT ausgeführte Arbeit berichten.

Hier möchte ich auf eine weitere Anwendungsweise des ClO_2 hinweisen Das Chlordioxyd, oder besser noch die Chlordioxydessigsäure, welche energischer wirkt, und die angegriffenen Inkrusten gleichzeitig herauslöst und deshalb neuerdings von E. SCHMIDT bei seinen Arbeiten über pflanzliche Inkrusten angewandt wird,[1]) hat Eigenschaften, die sie als ein ganz hervorragendes Hilfsmittel in der mikroskopischen Technik erscheinen lassen.

Zunächst ist ihre überaus große und schnelle Bleichkraft bei allen tierischen Objekten hervorzuheben.

Jeder auch noch so dunkel pigmentierte Chitin wird schneeweiß bei einer Einwirkung in der Kälte von 1/2 Stunde bis zu mehreren Tagen je nach Objekt. Man kann auf diese Weise ganze Insekten beliebiger Größe aufhellen, wie Käfer, Raupen u. dergl.. die dann einen überraschenden Anblick bieten. Auch Chitin anderer Herkunft wird in gleicher Weise angegriffen. Man lege z. B. einmal eine Gemmulakruste von *Euspongilla lacustris* in Chlordioxyd und fertige gebleichte Totalpräparate an: man wird ohne irgend welche Mühe Bilder erhalten, an denen man seine helle Freude hat.

Besonders wertvoll ist die Lösung aber für das Studium kleiner dunkel gefärbter Arten, die auf diese Weise ganz klare Präparate geben; selbst die so schwer zu entpigmentierende *Podura* wird durchsichtig und der Betrachtung zugänglich. Für die genaue Beschreibung und das Wiedererkennen kleiner und kleinster Arthropoden kann die Flüssigkeit unschätzbare Dienste leisten. Sie läßt z. B. gelegentlich deutlich feine Struktureigentümlichkeiten bei geographischen Formen hervortreten, die sonst kaum oder gar nicht morphologisch zu unterscheiden sind.

Auch in anderer Hinsicht dürfte die Methode noch einmal erhöhte Bedeutung gewinnen. Man sieht nämlich öfters, daß bei Insekten mit schwarzer Zeichnung einzelne Elemente dem Chlordioxyd viel länger Widerstand leisten als andere. Selbst bei Tieren mit gleichmäßiger Färbung wie etwa dem Hirschkäfer, läßt sich zeigen, daß bei Behandlung mit dem Reagenz auch bei querdurchschnittenen Elytren die innere Hälfte der Flügeldecken noch deutlich braun ist, während die äußere schon völlig entpigmentiert ist. Diese Beobachtungen scheinen mir von einem gewissen Wert

[1]) E. SCHMIDT u. F. DUYSEN, Ber. deutsch. chem. Ges. 54, 1921 p. 3241 u. f.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

zu sein, wenn sie bei Variabilitätsstudien und Vererbungsexperimenten über Zeichnungsbestandteile herangezogen werden.

Nebenbei sei bemerkt, daß auch mit Überosmiumsäure geschwärzte Gewebe durch CO_2essigsäure gebleicht werden. Gegenüber Kalilauge hat die Methode rein auf das Skelett bezogen den großen Vorteil, daß bei empfindlichen Objekten nicht wie dort oft beim Kochen, die einzelnen Teile gegeneinander verschoben oder zarte Anhangsgebilde abgerissen werden.

Ihr wesentlichster Vorteil besteht darin, daß bei ihrer Anwendung durch Herauslösen der Inkruste das Skelett erweicht, die Gewebe nicht angegriffen werden.[1]) Man kann sich auf diese Weise ohne Schnitte anzufertigen in klarster Weise etwa über die Beinmuskulatur eines Krebses oder Insektes, über den Verlauf großer Drüsen u s. w. orientieren. Bleicht man z. B. ein halb vollgesogenes Ixodiden ♀, so erkennt man ohne Färbung alle Einzelheiten des komplizierten Darmverlaufes Die Lichtbrechungsunterschiede gehen auch in Alkohol nicht verloren, sodaß man ein solches Objekt in einem Gläschen auf schwarzem Grund als schönes Demonstrationsobjekt aufstellen kann, wenn man es nicht in Canadabalsam überführen will. Besonders aber kann man nach geeigneter Färbung bei aufgehellten Arthropodenfühlern oder Extremitäten oft mit überraschender Deutlichkeit den Verlauf der feinsten Nerven und die Struktur der Hautsinnesorgane erkennen. Solche Präparate wurden in folgender Weise hergestellt. Zur Färbung der Gewebe wurde mit Essigsäure oder Salzsäurealkohol stark angesäuertes Haematoxylin nach DELAFIELD (oder Boraxkarmin) angewandt und als Gegenfärbung für das gebleichte Chitin Lichtgrün S. (KAHLBAUM). Im Haematoxylin bleiben die Objekte 24 Stunden und werden nach Differenzierung mit Salzsäurealkohol in Lichtgrün S übertragen (etwa 0,25%ige Lösung in 93% Alkohol, die aber oft noch sehr verdünnt werden muß, um eine klare grüne Färbung des Chitins zu geben). Eine Nachdifferenzierung durch den grünen Farbstoff findet kaum statt. Gelegentlich gelangen prächtige Nervenfärbungen auch bei alleiniger Färbung mit Lichtgrün S. — Ich möchte auf diese schöne Doppelfärbung, auf die ich gelegentlich schon für Suctorien (Biol Zentralbl. 41, 1921 p. 221) hingewiesen habe, hier noch einmal aufmerksam machen. Lichtgrün S, das in neutralem Medium nicht oder schlecht färbt, gibt leuchtende Färbungen nach Behandlung des Objektes mit Säure (bei der Differenzierung mit Salzsäurealkohol) oder Alkalien (z. B.

[1]) Chlordioxyd in Wasser mazeriert!

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

für die Darstellung des Spongiolins der Süßwasserschwämme cf. S. B. Ges. naturf. Freunde 1921 p. 51). Es ist ein ganz hervorragender Farbstoff für die Darstellung gewisser kutikularer oder membranöser Bildungen auch bei nicht durch ClO_2 aufgeschlossenen Präparaten, wie etwa bei Suktorien, wo die Tentekel und die Hülle sich scharf abheben und Bryozoen, wo die Ektocyste und der Lophophor eine gegen Boraxkarmin prächtig abstechende Färbung annehmen. Bei solchen Objekten kann natürlich die Ansäuerung des basischen Farbstoffes fortfallen. —

Das Schneiden von Chitin ist zwar meist nicht ganz so schwierig, wie es dem Ungeübten erscheint, bei guter Einbettung besonders über Tetralin als Vorharz läßt sich vieles erreichen; bei manchen Objekten aber versagen alle Kunstgriffe, vor allem, wenn es auf möglichste Vollständigkeit der Schnitte ankommt. Hier macht nun die Chlordioxydessigsäurebehandlung Gegenstände dem Mikrotomieren zugänglich, die früher dem Messer den größten Widerstand entgegensetzten. Die Gewebe der entkrusteten Tiere unterscheiden sich im allgemeinen im histologischen Bild in keiner Weise von denen nichtbehandelter, auch die Färbbarkeit ist nicht herabgesetzt.

Daß gelegentliche Fehlresultate in Bezug auf die Erhaltung der Gewebe nicht auf einer zerstörenden Wirkung der Chlordioxydessigsäure zurückgehen, scheint mir daraus hervorzugehen, daß Totalpräparate desselben Gegenstandes die feinsten Einzelheiten in tadellosester Erhaltung zeigen. Offenbar sind die Veränderungen dadurch bedingt, daß die Gewebe nach dem Herausnehmen aus dem Reaganz, das auch alle Gewebe weich macht, nicht genügend gehärtet worden sind. Es ist also nach der ClO_2-Behandlung vor dem Einbetten wieder eine sehr gute Härtung der Präparate vorzunehmen. In einzelnen Fällen schien besonders bei stark vakuolisierten Geweben eine Verquellung des Plasmas durch die Essigsäure eingetreten zu sein; in solchen Fällen ist es von Vorteil, die Lösung nicht rein anzuwenden, sondern im Gemisch mit konzentriertem wässrigen Sublimat 1 : 1. (Eine Anzahl anderer besonders quellungshemmender Salze behob den Übelstand viel schlechter; ein Zusatz von Alkohol mußte unterbleiben, da dadurch das Chlordioxyd unwirksam gemacht wird.)

Die Behandlung der Objekte stellt sich wie folgt dar: Die fixierten und gut gehärteten Objekte kommen nach kurzem Abspülen in Wasser in die Lösung bis sie vollständig gebleicht und erweicht sind — bei etwaiger Entfärbung der gelben Flüssigkeit muß diese erneuert werden — und dann direkt in reichlich 63% Alkohol

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

ev. mit Jodzusatz. (Wasser ist zu vermeiden, um eine Verquellung durch etwa noch vorhandene Essigsäure zu verhindern.) Nachdem die Stücke in Alkohol wieder gut gehärtet worden sind, erfolgt die Überführung über Tetralin in Paraffin. Es ist darauf zu achten, daß die Objekte vor der Behandlung möglichst durch- oder angeschnitten, oder wenigstens angestochen werden. Bei der Einwirkung auf die Inkruste entsteht nämlich Kohlensäure, die aus dem Objekte entweichen muß, wenn sie sich nicht später in Bläschenform unangenehm bemerkbar machen soll. Die Methode ist, wie oben erwähnt, nicht nur auf Chitin, sondern auch für andere Hartsubstanzen, Keratin, Gorgonin, Spongiolin etc. anwendbar; so lassen sich z. B. lückenlose dünne Serien durch Polychaeten mit starken Borsten und Kiefern anfertigen, ebenso gelangen 5 μ Schnitte durch Kuhhorn, auch ein Igelfoetus mit Stacheln ließ sich ohne Schwierigkeiten schneiden.

Geringere Kalkmengen im Panzer werden durch die Essigsäure beseitigt, sodaß eine vorherige besondere Entkalkung überflüssig ist.

Erfreulicherweise hat sich die Köln-Rottweil A. G., Berlin N. W, Hindersinstr. 8, bereit erklärt, ein sehr reines nach einem besonderem patentierten Verfahren hergestelltes Chlordioxydessigsäurepräparat unter dem Namen „Diaphanol“ in kleinen Gebinden für zoologische Zwecke in den Handel zu bringen

Hervorzuheben ist, daß diese Lösung keinerlei explosive Eigenschaften zeigt In fest verschlossenen braunen Flaschen kühl und dunkel aufbewahrt, hält sie sich unbegrenzt lange. Das Schwinden des ClO_2 zeigt sich durch das Verbleichen der gelben Lösung an.

Ich gebe die hier behandelte Methode schon jetzt den Fachgenossen bekannt, obwohl im einzelnen noch vieles auszuprobieren bleibt. Dies kann aber in wirksamer Weise dann am besten geschehen, wenn sie von möglichst vielen Seiten bei den verschiedensten Seiten auf ihre Anwendbarkeit geprüft und dann nach diesen Erfahrungen ev. verbessert wird.

Ich glaube, daß sie für viele, wenn auch nicht für alle Fälle, ein sehr willkommenes Hilfsmittel für die Überwindung technischer Schwierigkeiten sein wird.

Vorgetragen in der Sitzung vom 21. Juni 1921.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin

Jahr/Year: 1921

Band/Volume: 1921

Autor(en)/Author(s): Schulze Paul

Artikel/Article: Ein neues Verfahren zum Bleichen und Erweichen tierischer Hartgebilde. 135-139