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

# Beiträge zur histologischen Technik.

Von

Dr. **Hermann Fol,**

o. ö. Professor an der Universität Genf.

---

Zur Erzeugung einer momentanen Erstarrung, resp. Gerinnung, lebendiger Gewebe und kleiner Organismen, sind in den letzten Jahren so zahlreiche und treffliche Mittel bekannt geworden, dass es fast überflüssig erscheinen möchte, noch andere Methoden vorzuschlagen. Wer aber von den bekannten Methoden einen praktischen und ausgedehnten Gebrauch gemacht hat, dem ist es wohl bekannt, dass jede Methode nur unter gewissen Bedingungen und auf bestimmte Fälle passt, in anderen Fällen aber, und bei anderen Objekten, den Dienst versagt.

Unter allen bekannten Fixirungsmitteln zur momentanen Abtödtung und Fixirung kleiner Thiere, stehen wohl die Osmiumsäure, allein oder in Verbindung mit Chrom- und Essigsäure, ferner die Kleinenberg'sche Pikrin-Schwefelsäure, und die Lang'schen Sublimatlösungen obenan. So vortrefflich nun auch diese Mittel sich in den meisten Fällen bewähren, wollte es mir mit keinem derselben gelingen die See-Infusorien aus der Familie der Tintinnodea, mit vorgestrecktem Körper und ausgebreitetem Wimperkranze, zu erhalten. Es lässt sich dieses zwar durch plötzliches Übergießen mit starken Osmiumsäure-Lösungen bewerkstelligen, man erhält aber hierdurch stark geschwärzte und verkrümmte Präparate, welche keine weitere histologische Untersuchung zulassen. Nach vielfachem Herumtappen verfiel ich endlich auf ein bisher in der Histologie, so viel ich weiß, noch nicht angewandtes Reagens: das Eisen-Perchlorid. Was die Anwendungsweise betrifft, so gefiel mir die alkoholische Lösung am besten, und zwar die schwächere Lösung der englischen Pharmakopoe. Zum Gebrauche wird dieselbe stark mit Wasser verdünnt, etwa bis zu 2%. Will man aber alle in einem größeren Gefäße schwimmenden Thiere niederschlagen, so kann man ein etwas stärkeres Gemisch plötzlich zugießen. Es darf aber in keinem

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



Falle die koncentrirte Lösung direkt in Seewasser gegossen werden; denn es entstehen hierdurch voluminöse Niederschläge, welche das Präparat ganz und gar unbrauchbar machen. Nachdem alle Organismen zu Boden gesunken sind, wird das Wasser abgegossen und der Bodensatz mit 70%igem Alkohol ausgewaschen. Will man das den Geweben anhaftende Eisensalz entfernen, so setze man dem zweiten Waschalkohol ein paar Tropfen Salzsäure hinzu. Die Fixirung ist so vollständig, dass die kurze Einwirkung der verdünnten Säure keine nachtheilige Wirkung äußert. Nicht bloß Infusorien und Rhizopoden, sondern auch größere pelagische Thiere, z. B. Medusen, Rippenquallen, Salpen, Heteropoden, ja sogar pelagische Larven, Doliolum, kurz die allerzartesten Formen lassen sich mit vollkommener Erhaltung ihrer äußeren Gestalt, ihrer histologischen Struktur und ihres Wimperkleides in Alkohol übertragen und konserviren. Nach Entfernung der gelblichen Färbung durch den angesäuerten Alkohol ist das Aussehen durchsichtiger Thiere recht gut und die Trübung der Gewebe kaum bemerkbar. Will man nun Querschnitte, oder überhaupt gefärbte Präparate herstellen, so lassen sich die Gewebe mit Karmin färben; es zeigt sich aber hierbei der größte Nachtheil der Methode: die Gewebe nehmen zu viel Farbstoff auf und behalten ihn hartnäckig. Es muss also das Eisensalz durch angesäuerten Alkohol möglichst vollständig entfernt werden; doch lassen sich auch in diesem Falle solche Präparate nur zu ganz dünnen Schnitten gut verwenden. Es giebt aber eine andere Methode, mit welcher man eine sehr gute und wohl differenzirte Färbung erlangt. Man braucht nämlich nur dem Alkohol eine Spur Gallus-Säure zuzusetzen, etwa ein paar Tropfen einer 1%igen Lösung. Nach 24 Stunden wird mit Alkohol ausgewaschen, und nun zeigt sich eine hellbraune Färbung des Protoplasma, während die Kernsubstanz eine intensiv dunkelbraune Farbe annimmt. An den quergestreiften Muskeln sind die Scheiben abwechselnd hell und dunkel gefärbt; Membranen und Zwischensubstanz bleiben fast farblos. Dass die Farbe beständig sei, brauche ich wohl nicht hervorzuheben. In ästhetischer Beziehung lässt sie allerdings viel zu wünschen übrig, und könnte die Methode nur beim Naturforscher, nicht beim Techniker Eingang finden.

---

In der Zubereitung der Gelatine-Injektionsmasse habe ich seit mehr als zwei Jahren eine nicht unwesentliche Verbesserung in meinem Laboratorium eingeführt. Bekanntlich lassen sich die fertigen Massen nur kurze Zeit unverändert aufbewahren. Neuerdings hat zwar Hoyer [1]

[1] H. Hoyer, Beiträge zur histologischen Technik. Biolog. Centralblatt. Bd. II. p. 17.

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


eine Methode vorgeschlagen, um derartige Massen durch Glycerin- und Chloralzusatz eine Zeit lang vor Zersetzung zu bewahren. Wo aber Injektionen nur gelegentlich gemacht werden, bietet ein solches Präparat keine wesentlichen Vortheile, da sich dasselbe doch nicht auf unbestimmte Zeit unverändert hält, und das Dilemma immer noch besteht, entweder öfters geringe Mengen zu bereiten, oder aber, wenn man sich einen größeren Vorrath anlegt, vielleicht den größten Theil desselben durch Zersetzung zu verlieren. Außerdem ist ja bekanntlich die Darstellung einer guten Leimkarminmasse durchaus nicht so leicht, dass man sich etwa auf einen Gehilfen verlassen könnte. Mein neues Verfahren hat nun den Vorzug, dass sich die Masse ganz unbedingt eine unbegrenzt lange Zeit hält, und so leicht darstellen lässt, dass der Erfolg auch in den Händen eines Gehilfen gesichert ist. Mein Verfahren besteht darin, dass ich mir die Injektionsmasse trocken in dünnen Blättern und in verschiedenen Farben herstelle, die ich in Wasser nur ein paar Minuten einzulegen und im Wasserbade einzuschmelzen brauche, um sofort eine zuverlässige Masse von beliebiger Konsistenz zu erhalten.

Ich will nun meine Formeln zur Herstellung von rother, blauer und schwarzer Masse folgen lassen.

Trockene Leimkarmin-Emulsion: Ein Kilogramm von Simeon's Gelatine für photographische Zwecke[1] wird mit Wasser übergossen, und ein paar Stunden bis zur vollständigen Aufweichung darin gelassen. Das überschüssige Wasser wird alsdann abgegossen und die Masse im Wasserbade zur Verflüssigung gebracht. Hierauf wird eine koncentrirte Lösung von Karminammoniak unter beständigem Umrühren zugegossen. Auf ein Kilogramm Leim hat mindestens ein Liter Karminlösung zu kommen.

Die Zubereitung der Karminlösung erfordert keine besondere Sorgfalt. Eine starke Ammoniaklösung wird mit drei bis vier Theilen Wasser versetzt und so viel Karmin zugegeben, dass ein ungelöster Überschuss zurückbleibt; kurz vor dem Mischen mit der Leimmasse muss man diese Flüssigkeit abfiltriren. Dem Leimkarmin-Gemisch, welches stark nach Ammoniak zu riechen pflegt, setzt man alsdann so viel Essigsäure

[1] Man kann diese Leimsorte in den Handlungen photographischer Bedarfsartikel bekommen, oder direkt von Simeon's Gelatine-Fabrik, Winterthur, Schweiz, beziehen. Es giebt zwei Sorten derselben, eine harte und eine weichere. Ich ziehe letztere entschieden vor, weil man sie nicht so warm zu injiciren braucht. In Betreff der photographischen Gelatinen von Hinrichs in Frankfurt und von Coignet in Paris besitze ich keine Erfahrung, zweifle aber nicht, dass sie sich eben so gut werden verwenden lassen.

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


hinzu, dass die dunkel purpurrothe Farbe in die bekannte blutrothe übergeht. Auf genaue Neutralisirung, welche bei den anderen Methoden die größten Schwierigkeiten darbietet, kommt es bei dieser Darstellungsweise gar nicht an. Man stellt das Gefäß bei Seite, bis die Gerinnung erfolgt ist, hierauf zerschneidet man die Masse und bindet die Stücke fest in groben Tüllstoff oder in ein feines Netz ein. Bei energischem Quetschen mit der Hand unter Wasser tritt die Masse in feinen Nudeln durch den Stoff und wird durch mehrstündiges Waschen in einem in fließendes Wasser gestellten Siebe ausgewaschen und vom Säure- oder Ammoniaküberschuss befreit. Die Nudeln müssen nun gesammelt und wieder aufgelöst werden. Die fertige Masse gieße ich auf große Blätter eines mit Paraffin durchtränkten Pergamentpapieres aus und hänge diese Blätter an einem gut gelüfteten Orte auf. Die trockene Gelatine, die sich mit Leichtigkeit vom Papier herunterziehen lässt, schneide ich mit der Schere in lange Streifen und bewahre den Vorrath, gegen Staub und Feuchtigkeit geschützt, auf.

Blaue Emulsion: Den besten Erfolg gewährte mir die von Thiersch vorgeschlagene Formel, die ich für meine Zwecke nur wenig zu ändern brauchte. 120 ccm einer kalt-gesättigten Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul werden mit 300 ccm der heißen Leimlösung vermischt. In einer anderen Schale werden 600 ccm der Leimlösung mit 240 ccm einer gesättigten Oxalsäurelösung und dann noch mit 240 ccm einer kalt-gesättigten Lösung von rothem Blutlaugensalz vermischt; man trägt allmählich, unter starkem Schütteln, das erste Gemisch in das zweite ein, erhitzt das Ganze eine viertel Stunde im kochenden Wasserbade, lässt die Masse gerinnen, presst sie in Nudeln aus, wäscht sie und breitet dieselbe auf dem Wachspapiere aus. Es müssen in diesem Falle die Nudeln direkt eingetrocknet werden, weil sich die Masse ohne Oxalsäurezusatz nicht gut einschmelzen lässt. Will man die trockene Masse gebrauchen, so lasse man dieselbe in kaltem Wasser quellen und setze beim Erwärmen so viel Oxalsäurelösung zu, als nöthig ist, um die vollständige Verflüssigung herbeizuführen.

Schwarze Leimemulsion: Man lasse 500 g Gelatine in zwei Litern Wasser, in welchem man vorher 140 g Kochsalz aufgelöst hat, aufquellen, schmelze die Masse im Wasserbade ein und setze ganz allmählich, unter starkem Schütteln, eine Lösung von 300 g Silbernitrat in 1 Liter destillirten Wassers hinzu. Soll die Masse äußerst feinkörnig sein, so setze man beiden Lösungen das drei- bis vierfache Volumen Wasser hinzu. Die Masse wird in Nudeln gepresst und am hellen Tageslichte mit folgendem Gemisch umgerührt: kalt-gesättigte Lösung von oxalsaurem Kali $1\frac{1}{2}$ Liter, und kalt-gesättigte Lösung des schwefelsauren

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


Eisenoxyduls 500 ccm. Die Operation ist beendet, wenn die ganze Masse durch und durch dunkelschwarz geworden ist. Man wäscht mehrere Stunden, schmilzt wieder ein, und gießt die Masse in dünner Schicht auf Wachspapier aus. Die Farbe zeigt sich bei durchfallendem Lichte dunkel-sepiabräunlich. Will man lieber einen grauschwarzen Ton haben, so setze man in der ersten Lösung 240 g Bromkalium statt des Chlornatriums zu; die übrigen Operationen sind die gleichen wie oben.

Es ließen sich ohne Zweifel noch andersfarbige Leimlösungen herstellen, doch habe ich keine weiteren Versuche gemacht, weil ich mit den drei angegebenen Farben vollständig auskomme. Ich möchte jedoch bei dieser Gelegenheit vor den neulich wieder empfohlenen Anilinfarben warnen, da dieselben, wenn nicht beim Injiciren, so doch bei der nachherigen Behandlung, überall diffundiren. Die Chromfarben sind für trockene Massen nicht verwendbar, weil die Gelatine durch Behandlung mit der Chromsäure oder deren Salzen nach kürzerer oder längerer Zeit in den unlöslichen Zustand übergeht. Zum Schlusse sei noch bemerkt, dass die trockenen Massen alle Eigenschaften der schönsten, frischbereiteten Leimmassen besitzen, und sich durch die größere Sicherheit in der Darstellung und die größere Bequemlichkeit beim Gebrauche vor denselben auszeichnen. Hoffentlich werden bald solche Emulsionen im Handel vorkommen, und werden wir der Mühe des Präparirens überhoben sein.

---

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie

Jahr/Year: 1883

Band/Volume: 38

Autor(en)/Author(s): Fol Hermann

Artikel/Article: Beiträge zur histologischen Technik. 491-495